ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและคุณภาพของสารสกัดจากเปลือกของผลมังคุด *Garcinia mangostana*

นางสาวศนิดา คูนพานิช

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร   ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND QUALITY OF EXTRACTIVES FROM PERICARPS OF MANGOSTEEN *Garcinia mangostana*

Miss Sanida Khoonpanich

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2006
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและคุณภาพของสารสกัดจากเปลือกของผลมังคุด *Garcinia mangostana*
โดย	นางสาวศนิดา คูนพานิช
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ตุลยธัญ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร ชวศิริ

คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ตุลยธัญ)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร ชวศิริ)

.... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศนิดา คูนพานิช : ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและคุณภาพของสารสกัดจากเปลือกของผลมังคุด *Garcinia mangostana*. (ANTIOXIDANT ACTIVITY AND QUALITY OF EXTRACTIVES FROM PERICARPS OF MANGOSTEEN *Garcinia mangostana*) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.วรรณา ตุลยธัญ, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.วรินทร ชวศิริ. จำนวน 60 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและคุณภาพของสารสกัดจากเปลือกของผลมังคุด ซึ่งรวมทั้งการสกัดสาร การทำให้บริสุทธิ์ และทดสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัด ผลการศึกษาพบว่าการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยเครื่อง Soxhlet ให้ประสิทธิภาพการสกัดสูง 19.68% (น้ำหนักสารสกัด ethanol ต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง) เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยวิธี maceration (12.70% น้ำหนักสารสกัด ethanol ต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง) ซึ่งเมื่อนำไปสกัดซ้ำด้วย ethyl acetate และน้ำ จะได้สารสกัด ethyl acetate เข้มข้น 14.53% (น้ำหนักสารสกัด ethyl acetate ต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง) การแยกสารสกัดเข้มข้นด้วย Silica gel column chromatography ด้วยตัวทำละลาย hexane ตัวทำละลายผสม hexane กับ ethyl acetate ตัวทำละลาย ethyl acetate และตัวทำละลายผสม ethyl acetate กับ methanol ตามลำดับ ได้สารสกัดทั้งหมด 14 fractions (B0-B13) ซึ่ง fraction ที่ B3 มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลแดง เมื่อตกผลึกจะได้ผลึกละเอียดสีเหลือง 2.28% (น้ำหนักผลึกละเอียดสีเหลืองต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง) สารประกอบจาก fraction ที่ B3 แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง โดยการฟอกจางสีของ $DPPH^{\bullet}$ วิเคราะห์สูตรโครงสร้างด้วยเทคนิคทาง spectroscopy (IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) พบว่าสารที่ได้คือ α-mangostin การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี $DPPH^{\bullet}$ พบว่า α-mangostin ที่ได้มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง ($DPPH^{\bullet}$) ได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 0.0358 mM และค่ากำลังในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัด (ARP) 27.9330 ผลที่ได้พบว่า α-mangostin มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง นอกจากนี้เมื่อเติมสาร α-mangostin ลงในน้ำมันถั่วเหลือง พบว่ายับยั้งการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันและมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่า BHA

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..........เทคโนโลยีทางอาหาร........ลายมือชื่อนิสิต..

สาขาวิชา.........เทคโนโลยีทางอาหาร........ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..........................

ปีการศึกษา...........2549..........................ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม....................

4672417623 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORDS : EXTRACTIVES / α-MANGOSTIN / MANGOSTEEN / XANTHONES / SOY BEAN OIL / SEPARATION

SANIDA KHOONPANICH : ANTIOXIDANT ACTIVITY AND QUALITY OF EXTRACTIVES FROM PERICARPS OF MANGOSTEEN *Garcinia mangostana*. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF. VANNA TULYATHAN, Ph.D., THESIS COADVISOR : ASST.PROF. WARINTHORN CHAVASIRI, Ph.D., 60 pp.

This research aimed to study the antioxidant activity and quality of extractives from pericarps of mangosteen which included extraction, purification and test the antioxidant activity of the extractive. The results showed that continuous extraction with Soxhlet apparatus significantly increased the yield (19.68% weight of ethanol extractive/ weight dry pericarp) of extractive as compared to maceration extractives (12.70% weight of ethanol extractive/weight dry pericarp). Further extract with ethyl acetate/water yielded ethyl acetate extractives (14.53% weight of ethyl acetate extractive/weight dry pericarp). Separation of the extractive with silica gel column chromatography eluted with hexane, mixture of hexane and ethyl acetate, ethyl acetate and mixture of ethyl acetate and methanol, respectively, yield 14 fractions (B0-B13). Fraction B3 contained red-brown solid which can be crystallized to pure yellow solid (2.28% weight of solid/weight dry pericarp). Pure compound from fraction B3 showed the best anti-oxidative effect by exhibiting the high preventive activity against bleaching of $DPPH^{\bullet}$. Characterization by IR, ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR techniques showed that the purified compound was α-mangostin. α-mangostin exhibited IC_{50} value against $DPPH^{\bullet}$ at 0.0358 mM and anti-radical power (ARP) value was 27.9330. The results suggesting that α-mangostin has high antioxidant activity when apply directly to soy bean oil, α-mangostin strongly inhibited the lipid oxidation and the antioxidant activity is better than BHA.

Department.......Food Technology.......Student's signature Sanida Khoonpanich

Field of study.....Food Technology.......Advisor's signature...

Academic year..........2006.................Co-advisor's signature...

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิตและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ โดยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากรองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ตุลยธัญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร ชวศิริ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำและกำลังใจตลอดการทำวิจัย และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช ที่เป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งชี้แนะแนวทางในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2548 บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอบคุณ พี่ น้องและเพื่อน ๆ ปริญญาโททุกคนและเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือให้คำแนะนำและให้กำลังใจตลอดการวิจัย

ขอขอบคุณนิสิตปริญญาเอก และปริญญาโท ที่ทำงานวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในหน่วย Natural Product Research Unit ที่ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ เป็นอย่างดีตลอดเวลาที่ได้ทำงานวิจัย และผู้ที่มีส่วนช่วยเหลือที่มิได้กล่าวนามก็ขอได้รับความขอบคุณจากผู้วิจัยไว้ ณ โอกาสนี้

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ คุณป้าพรรณี บิดา มารดา ครอบครัวและญาติทุกคนที่ให้คำแนะนำ กำลังใจ การสนับสนุนและช่วยเหลือในทุกด้านแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดีเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย..	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ...	จ
กิตติกรรมประกาศ...	ฉ
สารบัญ..	ช
สารบัญตาราง...	ซ
สารบัญรูป..	ฌ
บทที่ 1 บทนำ..	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	3
2.1 มังคุด..	3
2.2 xanthones...	8
2.3 ออกซิเดชัน..	12
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย...	17
3.1 ขอบเขตงานวิจัย..	17
3.2 วัตถุดิบ..	18
3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย..	18
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..	30
4.1 ผลการศึกษาวิธีการสกัดเปลือกมังคุดที่เหมาะสมด้วยตัวทำละลาย ethanol......	30
4.2 ผลการแยกองค์ประกอบสำคัญจากสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1)..................	32
4.3 การวิเคราะห์สมบัติสารสกัดทางเคมีและทางกายภาพของสารประกอบ (C).......	36
4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method.............................	43
4.5 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin	
และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง..............	47
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง..	50
ข้อเสนอแนะ…………………………………………………………………………	52
รายการอ้างอิง…………………………………..…… ………..	53
ภาคผนวก…………………………………………………………………………………	56
ภาคผนวก ก ……………………..……………..	57
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์………………………………..	60

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	การแยกสารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) ด้วย Silica gel column chromatography……………………………………………………………..	34
4.2	การแยกสารด้วยการตกผลึกแยกส่วน………………………………………..	36
4.3	ค่า IR absorption band assignments ของสารประกอบ (C) ……………...	37
4.4	การเปรียบเทียบค่า ^{13}C-NMR spectrum ระหว่างสารประกอบ (C) และสาร α-mangostin………………………………………………………………...	41
4.5	ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของสาร α-mangostin………………....	42
4.6	การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแบบ UV-Visible Spectrophotometry…….	44
4.7	คำนวณค่า IC_{50} และค่า ARP ของสาร α-mangostin และสาร BHA……….	47

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	มังคุด………………………………………………………………………………...	3
2.2	xanthone structure……………………………………………………………...	9
2.3	α-mangostin………………………………………………………………….......	9
2.4	การเปลี่ยนแปลงสีของ DPPH•…………………………………………………..	15
3.1	สรุปขั้นตอนการสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลาย ethanol……………………..	20
3.2	ขั้นตอนการสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate……………………	22
3.3	สรุปขั้นตอนการแยกสารด้วย Silica gel column chromatography………………	24
4.1	การสกัดเปลือกมังคุดบดแห้งด้วยตัวทำละลาย ethanol …………………………	31
4.2	การสกัดสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และน้ำ…	33
4.3	การตรวจสอบองค์ประกอบของสารส่วนที่ B0 - B13 ด้วย TLC……………………	35
4.4	ค่า IR spectrum ของสารประกอบ (C)……………………………………………..	37
4.5	ค่า ^{1}H-NMR spectrum ของสารประกอบ (C) ในช่วงสัญญาณโปรตอนที่ (a) δ = 0 - 14 ppm และ (b) δ = 0 - 7.4 ppm …………………………………..	39
4.6	ค่า ^{13}C-NMR spectrum ของสารประกอบ (C) …………………………………….	40
4.7	การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแบบ TLC screening for radical scavengers	43
4.8	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร α-mangostin กับ % radical scavenging………………………………………………………………………...	45
4.9	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร BHA กับ % radical scavenging…………………………………………………………………………	46
4.10	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับ % radical scavenging ของสาร α-mangostin เปรียบเทียบกับสาร BHA……………………………………....	46
4.11	ผลการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมันที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง………………………………………………..	49

บทที่ 1

บทนำ

มังคุด หรือ Mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) อยู่ในวงศ์ Guttiferae ถูกเรียกว่าเป็น “ราชินีของผลไม้” เพราะได้รับการยอมรับว่าเป็นผลไม้ที่มีรสชาติที่ดีที่สุดในโลก สามารถปลูกได้ในเขตร้อนชื้น เช่น อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย (Primchanien และคณะ, 2004) มังคุดเป็นผลไม้ยอดนิยมที่สุดชนิดหนึ่งของคนไทย เป็นผลไม้ที่เริ่มส่งออกในปริมาณมากขึ้น และกระทรวงเกษตรกำหนดให้เป็นพืชเศรษฐกิจ แหล่งผลิตที่สำคัญ เช่น จันทบุรี ชุมพร ผลผลิตรวมทั้งประเทศ ประมาณปีละ 160,000 - 190,000 ตัน ปริมาณและมูลค่าการส่งออกปี 2542 ผลสด 5,000 ตัน แช่แข็ง 281 ตัน รวม 5,281 ตัน คิดเป็นมูลค่า 130.72 ล้านบาท (วันทนา บัวทรัพย์, 2541) มังคุดจะมีผลผลิตเพียงปีละครั้ง คือ ช่วงย่างเข้าฤดูฝน ลักษณะของผลกลมขนาดไม่ใหญ่ไปกว่ากำมือมีกลีบเลี้ยงของดอกสีเขียวเป็นกระจุกด้านบน และกลีบดอกสีแดงแข็งเหลือติดอยู่ด้านล่างของผล สีของเปลือกสีม่วงอมแดงหรือม่วงอมน้ำตาล เมื่อแยกเปลือกของผลมังคุดออกจะพบเมล็ด 6 - 8 เมล็ด มีลักษณะเนื้อนุ่ม ฉ่ำน้ำ สีขาว มีรสชาติหวานอมเปรี้ยว (วันดี กฤษณพันธ์, 2541)

เปลือกของมังคุด (pericarp) เป็นแหล่งของ mangostins, tannin, xanthones, chrysanthemin, garcinone, gartanin, vitamin ได้แก่ B1, B2 และ C และ bioactive substances อื่นๆ (Primchanien และคณะ, 2004) คนไทยรู้จักการใช้ประโยชน์จากเปลือกมังคุดเป็นยารักษาโรคมานานแล้ว สารที่พบมากที่เปลือกคือ tannin มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย รสฝาดในเปลือกมังคุดมาจาก tannin และ xanthones ที่มีชื่อเรียกเฉพาะชื่อเดียวกับมังคุดว่า mangostins โดย tannin มีฤทธิ์สมานแผล ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น mangostins มีฤทธิ์ช่วยลดอาการอักเสบ และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง นอกจากนี้ xanthones ในเปลือกมังคุดยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังและกลาก (มหาวิทยาลัยมหิดล, คณะเภสัชศาสตร์, 2547) ยับยั้งเนื้องอกและยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (Primchanien และคณะ, 2004) รวมทั้งพบว่า xanthones ในเปลือกมังคุดเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

สารประกอบฟีนอลิก พบได้ทั่วไปทั้งในพืชที่กินได้และกินไม่ได้ สารสกัดจากผลไม้ สมุนไพร ผัก ธัญพืช และพืชอื่นๆที่มีฟีนอลิก ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นในทางอุตสาหกรรมอาหาร และมีรายงานว่ามีผลทางชีวภาพหลายประการ เช่น ยับยั้งแบคทีเรีย ไวรัส อาการอักเสบ อาการแพ้ เส้นเลือดตีบ ป้องกันโรคหัวใจ การผิดปกติของเซลล์ การเกิดมะเร็ง ชะลอการเสื่อม รวมทั้ง

ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน สามารถลดการเสื่อมเสียเนื่องจากการออกซิเดชันของลิปิด ส่งผลต่อคุณภาพอาหารและสุขภาพ จึงได้รับความสนใจจากผู้บริโภคและมีแนวโน้มว่าจะเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในอนาคต ในปัจจุบันมีรายงานว่า สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHA BHT มีความเป็นพิษ และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง (Velioglu และคณะ, 1998) จึงได้มีการศึกษาสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเพิ่มขึ้น เพื่อใช้ทดแทนสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่าและไม่มีการกำหนดปริมาณในการใช้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการสกัด xanthones ด้วยวิธีการต่างๆ และพบว่า xanthones นั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากรรมวิธีสกัดสารจากเปลือกมังคุด การแยกและทำให้บริสุทธิ์ของสาร α-mangostins และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสาร α-mangostins

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 มังคุด

มังคุด หรือ Mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) อยู่ในวงศ์ Guttiferae (รูปที่ 2.1) เป็นไม้ผลที่ทุกคนรู้จักกันดี นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย มังคุดเป็นไม้ประจำถิ่นของคาบสมุทรมลายู แต่ปัจจุบันมังคุดปลูกอยู่ทั่วไปในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากมังคุดเป็นผลไม้ที่มีรสชาติดี (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530) หอมหวาน อร่อย ชวนรับประทาน เป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ โดยเฉพาะชาวต่างประเทศที่ไม่เคยรู้จักผลไม้เมืองร้อนมาก่อน เมื่อได้ลิ้มรสผลไม้เมืองร้อนชนิดต่างๆ แล้วก็มักติดอกติดใจในรสชาติของมังคุดมากกว่าผลไม้ชนิดอื่น (วารสารเคหการเกษตร, 2531) ซึ่งก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มังคุดได้รับฉายาว่าเป็น “ราชินีของผลไม้” (queen of fruits) หรือ “ผลไม้ที่อร่อยที่สุดในกลุ่มผลไม้เมืองร้อน” (the most delicious of all tropical fruits) ชาวยุโรปรู้จักมังคุดมานานกว่า 300 ปี เพราะมีนักพืชศาสตร์ชาวฝรั่งเศสได้บันทึกเรื่องของมังคุดไว้ สำหรับพืชในสกุล (genus) เดียวกับมังคุดมีหลายชนิด เช่น ส้มแขก รง ชะมวง มังคุดป่า มะพูด มะดันป่า เป็นต้น ลักษณะเด่นของพืชในสกุลนี้คือ มียางเหลือง หรือยางขาวในส่วนต่างๆ ส่วนยางเหลืองในมังคุดเรียกว่า แกมโบก (gamboge) ใช้ประโยชน์ด้านเภสัชได้ เช่น ใช้เปลือกผลตากแห้งต้มกับน้ำปูนใสหรือฝนกับน้ำ กินแก้ท้องเสีย เรื่องคุณค่าทางเภสัชของเปลือกมังคุด ก็มีรายงานเช่นกัน เช่น พบว่ามีสาร xanthones หลายชนิดในเปลือก (นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536)

รูปที่ 2.1 มังคุด
ที่มา: วันทนา บัวทรัพย์ (2541)

2.1.1 นิเวศวิทยาและการกระจายพันธุ์

โดยทั่วไปพืชในวงศ์ Guttiferae กระจายอยู่เฉพาะบริเวณเส้นรุ้ง 10 องศา เหนือ – ใต้ แต่พวกสกุล garcinia พบบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนมังคุดนั้นถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินโดนีเซีย เป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น มีฤดูแล้งสั้น จึงปลูกมากทางภาคตะวันออกเฉียงใต้และภาคใต้ของไทย นอกจากนั้นยังพบในประเทศพม่า ศรีลังกา และประเทศในแถบอินโดจีน ถ้านำไปปลูกนอกบริเวณนี้มักไม่ได้ผล เนื่องจากมังคุดต้องการสภาพภูมิอากาศที่มีลักษณะเฉพาะ เช่น ถ้ามีอุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 38 องศาเซลเซียสแล้ว ต้นมังคุดจะตาย หรือถ้ามีอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส จะทำให้ต้นแคระแกร็น ฉะนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมควรอยู่ช่วง 25 – 35 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่าร้อยละ 80 (นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536)

แหล่งปลูกมังคุดมากที่สุดคือทางภาคใต้ ในระยะหลังมีผู้นำไปปลูกทางภาคตะวันออกเป็นจำนวนมากรวมทั้งภาคกลางด้วย ส่วนทางภาคเหนือก็ยังมีปลูกกันบ้างแต่ยังมีอยู่น้อย ในจำนวนนี้จังหวัดที่มีการปลูกมังคุดมากได้แก่ ชุมพร นครศรีธรรมราช นราธิวาส สุราษฎร์ธานี จันทบุรี ระยอง ตราด และปราจีนบุรี เป็นต้น

ด้วยเหตุผลที่พื้นที่ปลูกมังคุดของประเทศไทย อยู่ในเส้นรุ้งที่แตกต่างกัน จึงมีผลทำให้การออกดอกและติดผลของมังคุดแตกต่างกันไปด้วย เช่น มังคุดทางภาคตะวันออกจะแก่ได้ตั้งแต่เดือนสิงหาคม – ตุลาคม ทำให้ช่วงการจำหน่ายของมังคุดยาวนานไปได้ 6 เดือน ซึ่งจะเป็นผลดีในการผลิตคือ ทำให้ปริมาณการผลิตไม่ล้นตลาด (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มังคุด (Mangosteen) เป็นพืชที่เจริญเติบโตช้า เมื่อปลูกมังคุดจากเมล็ดอาจใช้เวลานาน 6 – 8 ปีจึงจะมีผล แต่ถ้าสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม อาจใช้เวลานาน 15 – 20 ปี มังคุดเป็นไม้ยืนต้น เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่อาจมีความสูงประมาณ 10 – 15 เมตร ลำต้นตรง เปลือกสีน้ำตาลถึงดำ กิ่งอ่อนเป็นสี่เหลี่ยม มีน้ำยางสีเหลือง กิ่งใหญ่ แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มกลมสวยงามประกอบด้วย

ใบ

ใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ด้านล่างสีอ่อนออกเหลือง ไม่ผลัดใบ เนื้อใบหนาทึบ ออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน รูปไข่หรือรีแกมขอบขนาน โคนใบสอบ ปลายใบแหลมขอบใบเรียบ มีขนาดใหญ่กว้าง 6 – 11 เซนติเมตร ยาว 15 – 25 เซนติเมตร เส้นใบจำนวนมากเรียงถี่ๆ ปลายเส้นใบเชื่อมติดกัน ขอบใบทั้งสองยกขึ้น แผ่นใบจะโค้งลงเล็กน้อยเป็นจำนวนมากทำให้ทรงพุ่มแน่น ลักษณะค่อนข้างกลม ภายในทรงพุ่มจะมีกิ่งแขนงแตกออกจากลำต้นที่เป็นแกนกลางเป็นรัศมีโดยรอบลำต้น (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

ดอก

ดอกของมังคุดจะเกิดเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกคู่ตรงบริเวณปลายกิ่งที่มีอายุมากกว่า 2 ปี ขนาดของดอกจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 – 6 เซนติเมตร (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530) ดอกมีเพศเดียวใน 1 ดอก (Unisexual) อย่างไรก็ตาม จากการสำรวจมังคุดในประเทศมาเลเซีย เกาะชวา อินเดีย และเปอร์โตริโก พบเฉพาะต้นที่ผลิตดอกตัวเมียและส่วนของตัวผู้ในดอกนั้นเป็นหมัน (fertile staminode) ประกอบอยู่ในดอกหนึ่งๆ ในแต่ละดอกมีกลีบเลี้ยง 4 กลีบ กลีบดอก 4 กลีบ มีสีเหลืองขอบแดงและร่วงเร็ว รังไข่มี 4 – 8 ห้อง ยอดของเกสรตัวเมีย (stigma) เป็นแฉกมีจำนวนแฉกเท่ากับจำนวนห้องของรังไข่ และแฉกนี้จะติดที่ส่วนล่างของผลจนแก่ เช่นเดียวกับกลีบเลี้ยงซึ่งอยู่อีกซีกหนึ่งตรงก้านของผล เนื่องจากยังไม่เคยพบส่วนของเกสรตัวผู้ในมังคุด ดังนั้นผลที่เกิดขึ้นจึงเป็นผลปลอม (parthenocarpic) คือ ไม่ได้เกิดจากการผสมเกสรแต่อย่างใด ฉะนั้นมังคุดจึงน่าจะเป็นผลไม้ชนิดเดียวที่ไม่มีการกลายพันธุ์ (นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536)

ผล

ลักษณะของผลมังคุดมีรูปร่างค่อนข้างกลมแบนเล็กน้อย ขนาดของผลมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 – 7 เซนติเมตร ผิวเปลือกเรียบ เมื่ออ่อนเป็นสีเขียวพอเริ่มแก่จะมีลายเส้นสีแดงๆ ปรากฏชัดเจนขึ้น ที่ชาวบ้านเรียกกันว่า “สายเลือด” จากนั้นเมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพูหรือออกสีม่วง และเป็นสีม่วงเมื่อแก่จัดเต็มที่ น้ำหนักต่อผลเฉลี่ยประมาณ 80 – 150 กรัม

เปลือกของผลหนาและแข็ง มีความหนาประมาณ 0.6 เซนติเมตร เนื้อของเปลือกละเอียด แน่น และมีสีม่วง (วารสารเคหการเกษตร, 2531) บริเวณภายใต้ของผิวผลจะมีต่อมของน้ำยางอยู่มาก ด้านบนของผลจะประกอบด้วย ขั้วผลขนาดใหญ่และแข็งแรง เชื่อมติดกันอยู่กับกลีบเลี้ยง 4 กลีบ กลีบคู่หนึ่งจะเล็กและอีกคู่หนึ่งจะใหญ่กว่า วางอยู่บนผล ส่วนด้านล่างของผลจะมีลักษณะเป็นแฉกๆของยอดเกสรตัวเมียติดอยู่ จำนวน 4 – 8 แฉก จะเป็นตัวบ่งบอกถึงจำนวนกลีบภายในแต่ละผล

ภายในผลมังคุดจะมีเนื้อที่มีลักษณะนิ่มสีขาว แบ่งเป็นกลีบๆ อัดกันแน่นห่อหุ้มเมล็ดอยู่ แบ่งออกเป็น 4 – 8 พู และพูที่มีเมล็ดจะมีขนาดใหญ่กว่าพูอื่นๆ ปริมาณของเนื้อนี้จะมีอยู่น้อยมาก พบว่าในมังคุด 1 กิโลกรัม จะมีเนื้อเพียง 300 – 400 กรัมเท่านั้น (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

เมล็ด

เมล็ดมีสีน้ำตาล หุ้มด้วยเนื้อสีขาว เส้นสีชมพู ติดกันเป็นพูๆ เนื้อละเอียดติดเมล็ด รสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ในผลมังคุดจะมีเมล็ดที่ใหญ่ที่สุดเพียง 1 เมล็ด และมีเมล็ดที่มีขนาดรองลงมาอีก 1 หรือ 2 เมล็ด ที่เหลือเป็นเมล็ดลีบ แต่ละเมล็ดมีความยาวเฉลี่ย

ประมาณ 2 เซนติเมตร น้ำหนักต่อเมล็ดประมาณ 0.5 – 1.5 กรัม เมล็ดมังคุดจะเกิดมาจากเนื้อเยื่อของไข่อ่อน (ovule) บริเวณฐาน (nucellus) หรือบริเวณปีกของไข่อ่อน (integuments) ไม่ได้เกิดจากการผสมกับเกสรตัวผู้และเกิดการปฏิสนธิขึ้นแบบเมล็ดพืชทั่วไป ฉะนั้นในแง่กรรมพันธุ์จึงควรเหมือนกับพันธุ์แม่ทุกประการ โดยมังคุดมีจำนวนโครโมโซม 2n = 96 ในขณะที่พืชในสกุล Garcinia อื่น มีจำนวนโครโมโซม 2n = 48 (นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536)

2.1.3 พันธุ์มังคุด

มังคุดที่มีปลูกกันอยู่ในปัจจุบันนั้นมีอยู่เพียงพันธุ์เดียวคือพันธุ์พื้นเมือง เมล็ดภายในผลเกิดขึ้นโดยไม่มีการผสมจากเกสรตัวผู้ จึงไม่มีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นจากการเพาะเมล็ด ในขณะที่ไม้ผลอื่นๆ ถ้ามีการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด จะมีการแปรปรวนทางสายพันธุ์สูงมาก ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า มังคุดเป็นไม้ผลชนิดเดียว ซึ่งมีอยู่พันธุ์เดียวและไม่มีการกลายพันธุ์ จึงยังคงสภาพพันธุ์เดิมเอาไว้ได้มาจนถึงปัจจุบัน (วารสารเคหการเกษตร, 2531)

จากการที่ได้มีผู้ศึกษาและให้ความสังเกตอย่างใกล้ชิด พบว่าพันธุ์มังคุดยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 พวก คือ มังคุดเมืองนนท์ และมังคุดปักษ์ใต้ ซึ่งมังคุดทั้งสองนี้จะมีลักษณะที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดหลายลักษณะคือ

มังคุดเมืองนนท์

ลักษณะโดยทั่วไปของใบค่อนข้างเรียว ผลมีขนาดเล็กกว่า ส่วนของขั้วผลจะเล็กและยาว เปลือกผลค่อนข้างบาง สีของกลีบที่ปลายขั้วผลมีสีแดง ผลเมื่อสุกจะมีสีม่วงดำให้คุณภาพของเนื้อดี

มังคุดปักษ์ใต้

ลักษณะของใบจะอ้วนและป้อม ผลมีขนาดใหญ่กว่ามังคุดเมืองนนท์ ให้น้ำหนักผลดี ขั้วผลสั้น เปลือกผลหนา กลีบที่ปลายขั้วผลมีสีเขียวเข้ม ผลเมื่อสุกจะมีสีแดงอมชมพู ผลจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงได้ช้ากว่ามังคุดเมืองนนท์

อย่างไรก็ตามความแตกต่างของมังคุดทั้งสองชนิดนี้ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วนั้นเกิดมาจากหลายสาเหตุ โดยเฉพาะทางด้านสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น ลักษณะดิน ความสมบูรณ์ของดิน ปริมาณของน้ำ อุณหภูมิ ความชื้น เป็นตัวชักนำที่อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นได้ในมังคุดที่ปลูกในแหล่งปลูกที่แตกต่างกัน (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

2.1.4 การเปลี่ยนสีของผลมังคุด

ผลมังคุดเมื่อเข้าระยะผลแก่จะมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านการเจริญเติบโตและสีผิวของผลอยู่ตลอดเวลาจนกระทั่งถึงระยะผลสุก การเปลี่ยนแปลงของผลมังคุดในระยะ

ดังกล่าวสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ระยะ โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงทางด้านสีผิวของผลได้ดังนี้ (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

ระดับสีที่ 0

ลักษณะผลมีสีขาวอมเหลืองสม่ำเสมอ หรือมีสีขาวอมเหลืองแต้มด้วยสีเขียวอ่อน หรือจุดสีเทา มียางสีเหลืองภายในเปลือกในระดับรุนแรงมาก เนื้อและเปลือกไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ผลมังคุดที่เก็บเกี่ยวในระยะนี้ ถึงแม้ว่าจะเปลี่ยนสีไปเป็นระดับสีที่ 6 ก็ตาม แต่ผลที่ได้จะมีรสชาติไม่ดี

ระดับสีที่ 1

ผลมีสีเหลืองอ่อนอมเขียว มีจุดสีชมพูกระจัดกระจายอยู่ในบางส่วนของผิวผล ยางภายในเปลือกยังคงมีอยู่ในระดับรุนแรง เนื้อและเปลือกยังไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ผลที่เก็บเกี่ยวในระยะนี้ ถึงแม้จะเปลี่ยนสีไปเป็นระดับที่ 6 แต่ผลที่ได้จะมีรสชาติไม่ดีเช่นกัน

ระดับสีที่ 2

ผลมีสีเหลืองอ่อนชมพู มีประสีชมพูกระจัดกระจายไปทั่วทั้งผล ยางภายในเปลือกยังมีอยู่ในระดับปานกลาง การแยกตัวระหว่างเนื้อและเปลือกทำได้ยากถึงปานกลาง เป็นระยะอ่อนที่สุดสำหรับการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ได้ผลที่มีคุณภาพ

ระดับสีที่ 3

ผลมีสีชมพูสม่ำเสมอ ประสีชมพูเริ่มขยายเข้ามารวมกันไม่แบ่งแยกกันอย่างชัดเจนเหมือนในระดับสีที่ 2 ยางภายในเปลือกยังคงมีอยู่น้อยถึงน้อยมาก การแยกตัวระหว่างเนื้อและเปลือกปานกลาง เป็นระยะที่เหมาะสำหรับเก็บเกี่ยวผลเพื่อส่งออกต่างประเทศ

ระดับสีที่ 4

ผลมีสีแดงหรือน้ำตาลอมแดง บางครั้งมีแต้มสีม่วง ยางภายในเปลือกมีน้อยมากจนถึงไม่มีเลย การแยกตัวระหว่างเนื้อและเปลือกดีมาก เป็นระยะที่เกือบจะรับประทานได้

ระดับสีที่ 5

ผลมีสีม่วงแดงภายในเปลือกไม่มียางเหลืออยู่ เนื้อและเปลือกสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย เป็นระยะที่รับประทานได้

ระดับสีที่ 6

ผลมีสีม่วงหรือม่วงเข้มจนถึงดำ ซึ่งบางครั้งพบว่ามีสีม่วงปนอยู่เล็กน้อย ภายในเปลือกไม่มียางเหลืออยู่ เนื้อและเปลือกสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย เป็นระยะที่เหมาะแก่การรับประทาน

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1.5 คุณค่าทางอาหาร

สำหรับคุณค่าทางอาหารของเนื้อมังคุดใน 100 กรัม ที่กินได้ (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530) เป็นดังนี้

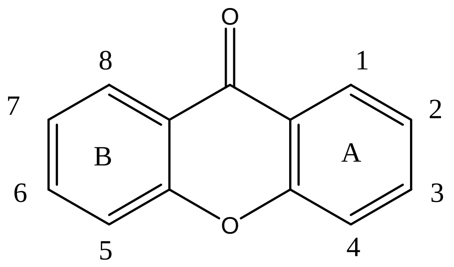
พลังงาน	57	กิโลแคลอรี่
ไขมัน	0.3	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	14.7	กรัม
โปรตีน	0.5	กรัม
แคลเซียม	10	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	10	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.5	มิลลิกรัม
วิตามิน บี 1	0.03	มิลลิกรัม
วิตามิน บี 2	0.02	มิลลิกรัม
ไนอาซีน	0.6	มิลลิกรัม
วิตามิน ซี	4	มิลลิกรัม

มังคุดเป็นผลไม้ยอดนิยมที่สุดชนิดหนึ่งของคนไทย เป็นผลไม้ที่เริ่มส่งออกในปริมาณมากขึ้น และกระทรวงเกษตรกำหนดให้เป็นพืชเศรษฐกิจ แหล่งผลิตที่สำคัญ เช่น จันทบุรี ชุมพร ผลผลิตรวมทั้งประเทศ ประมาณปีละ 160,000 - 190,000 ตัน ปริมาณและมูลค่าการส่งออกปี 2542 ผลสด 5,000 ตัน แช่แข็ง 281 ตัน รวม 5,281 ตัน คิดเป็นมูลค่า 130.72 ล้านบาท (วันทนา บัวทรัพย์, 2541)

2.2 xanthones

xanthones เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างเป็น C_6-C_1-C_6 แสดงดังรูปที่ 2.2 พบได้ในพืชตระกูล Guttiferae และ Gentianaceae มีรายงานวิจัยหลายฉบับพบว่าเปลือกผลมังคุด มี xanthones หลายชนิด (Peres, Nagem และ Oliveira, 2000)

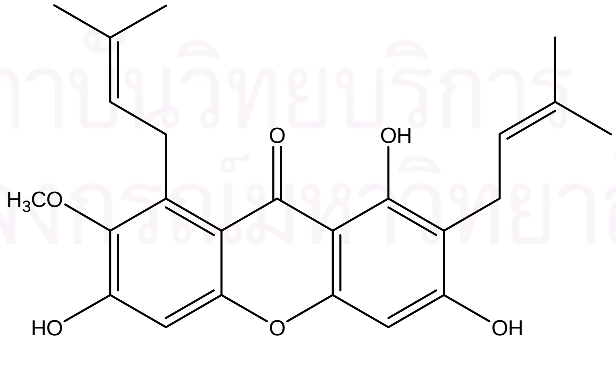
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.2 xanthone structure
ที่มา: Peres และคณะ (2000)

มังคุดส่วนมากปลูกในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สาร secondary metabolites ส่วนใหญ่คือ xanthones ซึ่งพบว่ามี α-mangostin, β-mangostin และ γ-mangostin เป็นองค์ประกอบหลัก และยังมี mangostenol, mangostenone A, mangostenone B, trapezifolixanthone, tovophyllin B, garcinone B, mangostinone และ mangostanol ซึ่งเป็นสารพวก flavonoid ปัจจุบันพบว่ายางสีเหลืองของเปลือกผลมังคุดที่สกัดด้วยmethanolประกอบด้วย α-mangostin แสดงดังรูปที่ 2.3 และ γ-mangostin (Chairungsrilerd และคณะ, 1996)

Mangostin หรือ 1, 3, 6-trihydroxy-7-methoxy-2, 8-di-(3-methyl-2-butenyl)-xanthone เป็นสารสีเหลืองสว่าง ทึบแสง ผลึกรูปเข็ม จุดหลอมเหลว 182 – 183 องศาเซลเซียส ได้จากส่วนต่างๆ ของต้นมังคุด ถูกแยกครั้งแรกโดย Schmid ในปี 1855 จากเปลือกผล ต่อมาได้จากเปลือกไม้และยางไม้แห้ง เป็นแหล่งที่มีมากที่สุด ได้ mangostin ปริมาณ 30-50% (Yates และ Stout, 1958)



รูปที่ 2.3 α-mangostin
ที่มา: Sen และคณะ (1980)

งานวิจัยที่ศึกษาการสกัดสาร xanthones มีดังนี้คือ

Sen และคณะ (1980) ศึกษา xanthones จากเปลือกของผลมังคุด โดยสกัดเปลือกของผลมังคุดโดยการบดแห้งด้วย benzene สารสกัด benzene ที่ได้แยกต่อด้วย column chromatography พบสาร xanthones ชนิดใหม่ คือ 5, 9-dihydroxy-8-methoxy-2, 2-dimethyl-7-(3-methylbut-2enyl)-2H, 6H-pyrano [3, 2-*b*] xanthen-6-one และสาร xanthones 5 ชนิด คือ mangostin, β-mangostin, nor-mangostin, gartanin และ 8-desoxygartanin

Sen และคณะ (1981) นำเปลือกของผลมังคุด 2 กิโลกรัม มาทำแห้ง บด และสกัดด้วย benzene เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำสารสกัดมาทำให้เข้มข้น และทำ TLC พบว่ามีสารสีเหลืองเป็นจำนวนมากอยู่ 2-3 จุด นำสารสกัดหยาบที่ได้มาผ่าน Silica gel column chromatography พบสารใหม่สองชนิดคือ 1,3,5- และ 1,3,7-trioxygenated xanthones ซึ่งเป็นไปได้ว่าเป็น biogenetic precursors ตัวตั้งต้นของ 1,3,6,7- และ 1,3,5-tetraoxygenated xanthones

Sen และคณะ (1982) พบ tetraoxygenated xanthones ชนิดใหม่ 3 ชนิด ในมังคุด คือgarcinones A, B และ C ที่ได้จากการนำเปลือกผลมังคุดมาสกัดด้วย benzene คลอโรฟอร์ม และ ethanol บริสุทธิ์ตามลำดับ แยกสารสกัดที่ละลายในชั้นคลอโรฟอร์มด้วยเทคนิค chromatography จะได้ α-mangostin, γ-mangostin, garcinone A, garcinone B, garcinone C และ minor xanthone อื่นๆ

Mahabusarakam และคณะ (1987) สกัดเปลือกมังคุดด้วย benzene แล้วสกัดต่อด้วย quick column chromatography ได้ผลในการแยกเป็นอนุพันธุ์ของ xanthone 8 ชนิด โดย xanthone 4 ชนิด ถูกแยกออกมาก่อน ได้แก่ mangostin, gartanin, γ-mangostin และ β-mangostin อีก 4 ชนิดเป็นสารจากธรรมชาติชนิดใหม่ คือ 1-isomangostin, 3-isomangostin, 3-isomangostin hydrate และ 1-isomangostin hydrate

Asai และคณะ (1995) พบ xanthones ชนิดใหม่ที่สกัดได้จากเปลือกของผลมังคุด โดยการนำส่วนเปลือกมาทำแห้ง บด และสกัดด้วย n-hexane, benzene, acetone และ 70% methanol ตามลำดับ สารสกัดด้วย benzene เมื่อทำให้เข้มข้นและละลายในmethanolได้เป็นผลึกหยาบซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็น α-mangostin กรองผลึกออกและนำสารที่กรองแล้วผ่าน column chromatography จะได้ xanthones 8 ชนิด คือ mangostinone (2-geranyl- 1,3,5-trihydroxyxanthone) ซึ่งเป็นสารชนิดใหม่เพิ่มเติมจาก xanthones 7 ชนิด ได้แก่ α-, β - และ γ-mangostins, gartanin, garcinone E, 1,5-dihydroxy-2-(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxyxanthone และ 1,7-dihydroxy-2-(3-methylbut-2-enyl)-3-methoxyxanthone

Chairungsrilerd และคณะ (1996) ศึกษาการสกัด mangostanol และ phenyl xanthone จากมังคุด โดยสกัดเปลือกของผลมังคุดสดด้วย methanol ที่อุณหภูมิห้อง 1 สัปดาห์ นำสารสกัดที่ได้ทำให้เข้มข้นภายใต้ความดัน นำส่วนที่มีกากแขวนลอยอยู่ในน้ำมาสกัดด้วย ethyl acetate และ n-butanol นำสารสกัดที่ได้ทำให้เข้มข้นภายใต้ความดันได้เป็นของเหลวข้นแล้วนำมาผ่าน column chromatography พบว่ามี xanthone ชนิดใหม่ คือ mangostanol และ xanthones อีก 7 ชนิด ได้แก่ α-mangostin, γ-mangostin, gartanin, 8-deoxygartnin, 5,9-dihydroxy-2,2-dimethyl-8-methoxy-7-(3-methylbut-2-enyl)-2H,6H-pyrano[3,2-*b*]xanthen-6-one, garcinone E และ 2-(γ,γ-dimethylallyl)-l,7-dihydroxy-3-methoxyxanthone โดยพบว่า mangostanol, α- และ γ-mangostin มีผลยับยั้ง cAMP phosphodiesterase

Peres และคณะ (2000) ศึกษาโครงสร้าง mangostins โดยใช้ NMR พบว่า มีสูตรโครงสร้างดังนี้ α-mangostin [1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2,8-*bis*(3-methyl-but-2-enyl)xanthone], β-mangostin [1,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-2,8-*bis*(3-methyl-but-2-enyl)xanthone] และ γ-mangostin หรือ normangostin [1,3,6,7-tetrahydroxy-2,8-*bis*(3-methyl-but-2-enyl)xanthone]

Huang และคณะ (2001) พบ xanthones 3 ชนิด และ benzophenone ที่สกัดได้จากเปลือกของผลมังคุด โดยทำแห้งเปลือกผลมังคุด สกัดด้วย ethanol ได้ส่วนของ ethanol และน้ำ นำส่วนของ ethanol ไปผ่าน chromatography จากการศึกษาองค์ประกอบของมังคุด สามารถวิเคราะห์พบสารประกอบตัวใหม่ 4 ชนิดโดยมี 3 ชนิดเป็น xanthones ได้แก่ garcimangosone A, garcimangosone B และ garcimangosone C และ benzophenone glucoside คือ garcimangosone D

Harrison (2002) ศึกษา xanthones จากแกนต้นมังคุด โดยทำการสกัดแกนจากต้นมังคุดโดยนำแกนมาทำแห้ง บด สกัดด้วย hexane ร้อน ทำให้สารละลายเข้มข้นได้เป็นสารสกัดหยาบ นำไปผ่าน column chromatography แล้วนำสารสกัด hexane ที่ได้ มาวิเคราะห์แยกด้วยเทคนิคทาง NMR ได้ xanthones ชนิดใหม่ 12 ชนิด โดยพบว่า xanthones ตัวใหม่ที่แยกได้ 12 ตัว ส่วนมากเป็นผลมาจากการดัดแปลงส่วน side-chain ของ mangostins

Suksamrarn และคณะ (2002) ศึกษา xanthones จากเปลือกของผลมังคุดที่อยู่ในระยะเปลือก สีเขียวทำการสกัดและวิเคราะห์ โดยบดเปลือกมังคุดสด สกัดด้วย methanol สารสกัดที่ได้นำไปทำให้เข้มข้นในภาวะสุญญากาศจะได้ของแข็งสีเหลือง เมื่อนำไปผ่าน column chromatography พบ xanthones ชนิดใหม่ 3 ชนิด คือ mangostenol, mangostenone A และ mangostenone B นอกจากนั้นยังมี trapezifolixanthone, tovophyllin B, α-mangostin, β-

mangostin, garcinone B, mangostinone, mangostanol และ flavonoid epicatechin โครงสร้างของ xanthones ตัวใหม่นี้อธิบายโดยข้อมูลทาง spectroscopy

2.3 ออกซิเดชัน

2.3.1 กลไกการเกิดออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน

กลไกการเกิดออกซิเดชันของไขมันและน้ำมันมีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์อาหารที่มีน้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบมากเพราะการเกิดออกซิเดชันแบบ autooxidation จะทำให้เกิดสารประกอบโมเลกุลเล็กลงที่สามารถระเหยได้ เช่น พวกอัลดีไฮด์และคีโตนขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่นและรสผิดปกติไป (ศิวาพร ศิวเวช, 2535) ปฏิกิริยาการเกิด autooxidation แบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นคือ

ขั้นที่ 1 initiation เป็นขั้นที่มีอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น

$$RH \longrightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$$

โดย RH เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีโครงสร้าง –C=C- / -C=C-CH_2-C=C- ในโมเลกุล โดยมีสิ่งกระตุ้นคือ แสง โดยเฉพาะแสง UV (มีพลังงานมากกว่า visible light) Metal ion Fe^{+3}, Fe^{+2} และ Active O_2 species (singlet $^1O_2$)

ขั้นที่ 2 propagation เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิด peroxy radical และperoxy radical ที่เกิดขึ้นนี้ จะทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิด hydroperoxide และอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระก็จะทำปฏิกิริยาต่อกับออกซิเจนเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นที่ 3 termination เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระรวมตัวกันในแบบต่างๆ ซึ่งการรวมตัวกันนี้ทำให้ปฏิกิริยาหยุดลงได้

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR + O_2$$

$$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow ROOR$$

ROOH ไม่เสถียรเกิดการแตกตัวได้ by product

$$ROOH \longrightarrow RO^{\bullet} + OH^{\bullet}$$

ปฏิกิริยาที่กล่าวมานี้จะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้คือ ชนิดกรดไขมัน แสง อุณหภูมิ ออกซิเจน โลหะ เอนไซม์ เป็นปัจจัยที่เร่งการเกิดปฏิกิริยา autooxidation (Fennema, 1996)

2.3.2 กลไกในการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชัน (AH_2) ลงไปในอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย สารต้านออกซิเดชันจะไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ เช่น $ROO^{\bullet}$ และตัวมันเองเป็นอนุมูลอิสระแทน ($AH^{\bullet}$) ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่สามารถเข้าสู่ปฏิกิริยาแบบลูกโซ่หยุดชะงักไปด้วยดังสมการ เช่น

$$ROO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\bullet}$$ หรือ

$$RO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow ROH + AH^{\bullet}$$ หรือ

$$RO^{\bullet} + AH_2 \longrightarrow RH + AH^{\bullet}$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชัน ($AH^{\bullet}$) ที่เติมลงไปจะเหลืออนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชัน ($A^{\bullet}$) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าอนุมูลอิสระพวกกรดไขมันมากและเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่คงตัวดังสมการ

$$A^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow A_2$$ หรือ

$$ROO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROOA$$

จากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นตามที่กล่าวข้างต้นจึงทำให้สารต้านออกซิเดชันสามารถช่วยกันปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในน้ำมันหรือไขมันหรืออาหารที่มีน้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบได้ (Fennema, 1996)

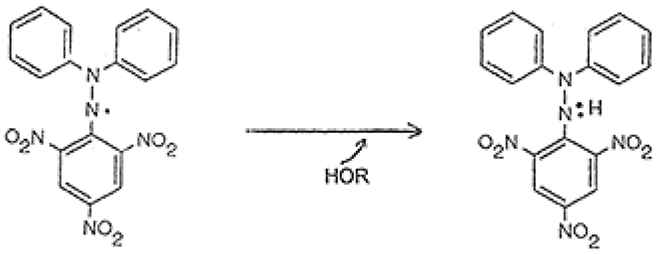
เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHA BHT มีความเป็นพิษ และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง (Velioglu และคณะ, 1998) ดังนั้นงานวิจัยในปัจจุบันจึงศึกษาสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเพิ่มขึ้น เพื่อใช้ทดแทนสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติมีความปลอดภัยมากกว่าและไม่มีการกำหนดปริมาณในการใช้ เช่น สารฟีนอลิก สาร xanthones สาร α-mangostin ที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน

2.3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดย $DPPH^{\bullet}$ method

เนื่องจาก $DPPH^{\bullet}$ method เป็นวิธีที่สามารถทำได้สะดวก รวดเร็ว และสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ครั้งละหลายตัวอย่างรวมทั้งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบคุณภาพวิเคราะห์ (TLC screening for radical scavengers) เพื่อทดสอบว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และแบบวิธีปริมาณวิเคราะห์ (UV-Visible Spectrophotometry) เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง ($DPPH^{\bullet}$) ได้ 50% (IC_{50}) และคำนวณกำลังในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (Anti-radical power, ARP) สารที่นำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระคือ 2, 2-diphenyl-1-picryl hydrazyl radical ($DPPH^{\bullet}$)

$DPPH^{\bullet}$ เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ใช้ในการศึกษาค่ากำลังการทำลายอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยสารต้านออกซิเดชันจะให้โปรตอนกับ $DPPH^{\bullet}$ (รูปที่ 2.4) ทำให้เปลี่ยนจากสีม่วงเข้มเป็นสีเหลือง ค่าการดูดกลืนแสงลดลง (เกิดการฟอกจางสี) เมื่อวัดด้วยเครื่องspectrophotometer ได้ค่ายับยั้งการทำลายอนุมูลอิสระ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



DPPH$^{\bullet}$ DPPH: H

(Deep violet color, λ_{max} 517 nm) (Yellow)

รูปที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงสีของ DPPH$^{\bullet}$

ที่มา: จุไรรัตน์ รัตนพันธ์ (2547)

จากสูตรโครงสร้างของ DPPH$^{\bullet}$ จะพบว่าอิเล็กตรอนสามารถเปลี่ยนตำแหน่งได้ทั้งโมเลกุลทำให้เสถียรที่ภาวะปกติและเป็นสีม่วง แต่เมื่อได้รับ hydrogen radical (H$^{\bullet}$) จะเปลี่ยนเป็น DPPH: H ซึ่งเป็นสารสีเหลือง (พิชยา ประเสริฐแสง, 2545)

2.3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการวิเคราะห์หา Peroxide Value

Peroxide Value เป็นการวิเคราะห์ปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน เปอร์ออกไซด์จะเกิดขึ้นในไขมันหรือน้ำมันอย่างช้าๆ ขณะที่ไขมันหรือน้ำมันถูกเก็บไว้ให้สัมผัสกับอากาศ โดยจะเกิดการหืนชนิด oxidative rancidity ที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ดังนั้นไขมันหรือน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลมากหรือมีค่าไอโอดีนสูง จะเกิด oxidative rancidity ได้ง่าย

Peroxide Value หมายถึง จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตเข้มข้นเป็นโมลาร์ (นอร์มัล) ที่ใช้ในการไตเตรตไขมันหรือน้ำมัน หมายถึง จำนวนมิลลิสมมูลย์ของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อไขมันหรือน้ำมัน 1 กิโลกรัม

การวิเคราะห์หา Peroxide Value ใช้วิธีของ Low และ Ng (1987) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของสารละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ ในสารละลายของกรดกับ bound oxygen ที่เกิดจากเปอร์ออกไซด์ได้เป็นไอโอดีน ซึ่งจะหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นได้โดยนำไปไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2533)

ตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาการต้านออกซิเดชัน จาก xanthone เช่น

Merza และคณะ (2004) ศึกษา prenylated xanthones และ tocotrienols ใน *Garcinia virgata* โดยนำส่วนเปลือกของต้นมาทำแห้งและบดให้เป็นผง สกัดใน Soxhlet apparatus ด้วย cyclohexane, CH_2Cl_2 และ ethyl acetate เมื่อสารสกัดที่ได้นำมาระเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้เป็นสารสกัดหยาบ วิเคราะห์สารสกัดที่ได้ผ่าน column chromatography พบ xanthones คือ virgataxanthone A และ B พร้อมกับ formylated tocotrienols 2 ชนิดคือ δ-tocotrienol, griffipavixanthone และ 2,6-dihydroxy-4-methoxybenzophenone เมื่อนำสารสกัดหยาบและสารสกัดที่ทำการแยกด้วย column chromatography แล้วมาหาฤทธิ์การต้านอออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH$^{\bullet}$ (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) พบว่าสารสกัดหยาบมีค่าฤทธิ์การต้านออกซิเดชันดีเท่ากับสารสกัดที่ทำการแยกแล้ว

Hay และคณะ (2004) ศึกษาการต้านออกซิเดชันของ xanthones จาก *Garcinia vieillardii* โดย นำส่วนลำต้นของ *Garcinia vieillardii* มาสกัดด้วย cyclohexane, CH_2Cl_2 และ ethyl acetate สารสกัดที่ได้นำมาระเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้เป็นสารสกัดหยาบ วิเคราะห์สารสกัดที่ได้ผ่านcolumn chromatography พบ xanthones ใหม่ 2 ชนิด คือ 6-*O*-methyl-2-deprenylrheediaxanthone B และ vieillardixanthone และสารประกอบที่เคยมีรายงานแล้ว 4 ชนิด เมื่อทดสอบสมบัติในการต้านออกซิเดชันของ xanthones ด้วยวิธี DPPH$^{\bullet}$ พบว่าสารที่สกัดด้วย CH_2Cl_2 มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ isocudraniaxanthone A และสารประกอบของ vieillardixanthone มีค่าการต้านออกซิเดชันดีมากและมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับ BHA ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับโครงสร้างของสารที่ทำการทดลอง โดยค่า free-radical-scavenging activity จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีหมู่ไฮดรอกซิล หรือมี catechol moieties ในโมเลกุล

Loon และคณะ (2006) วิเคราะห์ค่ากำลังในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH$^{\bullet}$ และ peroxide value โดยให้ความร้อนน้ำมันถั่วเหลืองที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 21, 45, 93, 141 และ 189 ชั่วโมง พบว่าการลดลงของค่ากำลังในการต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ peroxide value อย่างมีนัยสำคัญ

จากงานวิจัยข้างต้นพบว่าได้มีการสกัด xanthones ด้วยวิธีการต่างๆ และพบว่า xanthones นั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากรรมวิธีสกัดสารจากเปลือกมังคุด การแยกและทำให้บริสุทธิ์ของสาร α-mangostins และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสาร α-mangostins

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยแบ่งออกเป็น 5 ส่วน ได้แก่

3.1.1 ศึกษาวิธีการสกัดเปลือกมังคุดที่เหมาะสมด้วยตัวทำละลาย ethanol

ศึกษาวิธีการสกัดเปลือกมังคุดที่เหมาะสมด้วยตัวทำละลาย ethanol 95% เปรียบเทียบการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) กับวิธี maceration เพื่อพิจารณาเลือกวิธีที่ให้ % yield มากที่สุด ใช้เวลาน้อย และต้นทุนต่ำ

3.1.2 ศึกษาการแยกองค์ประกอบสำคัญจากสารสกัด ethanol

งานวิจัยในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำสารสกัด ethanol เข้มข้นจากวิธีที่ให้ % yield มากที่สุดจาก ข้อ 3.1.1 ทำการสกัดอีกครั้งด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และน้ำ เพื่อแยกส่วนที่ละลายได้ในน้ำออก เก็บส่วนที่ละลายได้ใน ethyl acetate มาทำให้เข้มข้น แยกองค์ประกอบสำคัญด้วย Silica gel column chromatography โดยดัดแปลงระบบตัวทำละลายที่ใช้จากงานวิจัยของ Chairungsrilerd และคณะ (1996) ระบบตัวทำละลายที่เลือกใช้มี 4 ระบบ คือ ระบบตัวทำละลาย hexane ระบบตัวทำละลายผสม hexane กับ ethyl acetate ระบบตัวทำละลาย ethyl acetate และระบบตัวทำละลายผสม ethyl acetate กับ methanol ตามลำดับ นำ fraction ต่างๆที่ได้ ตรวจสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และนำมาตกผลึกแยกส่วนด้วยสารละลาย ethyl acetate และ hexane

3.1.3 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารประกอบ (C)

งานวิจัยในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของสารประกอบ (C) ที่ตกผลึกได้จากข้อ 3.1.2. ด้วยสมบัติทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ วิเคราะห์สูตรโครงสร้างด้วยเทคนิคทาง Spectroscopy ได้แก่ FT-IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ค่าสี และจุดหลอมเหลวของสารประกอบ (C)

3.1.4 ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method

งานวิจัยในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method แบบคุณภาพวิเคราะห์ (TLC screening for radical scavengers) เพื่อทดสอบว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และแบบวิธีปริมาณวิเคราะห์ (UV-Visible Spectrophotometry) เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง (DPPH$^{\bullet}$) ได้ 50% (IC_{50}) และคำนวณกำลังในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสาร α-mangostin (Anti-radical power, ARP) ที่ได้จากข้อ 3.1.3 เปรียบเทียบกับ BHA ซึ่งเป็น Commercial antioxidant

3.1.5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมันที่เติมสาร α- mangostin และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

งานวิจัยในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมัน เปรียบเทียบกับน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm และน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

3.2 วัตถุดิบ

3.2.1 ตัวอย่าง

ตัวอย่างมังคุดที่ใช้ในการศึกษาในส่วนนี้ เป็นตัวอย่างมังคุดที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี ประเทศไทย เก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงกลางเดือนเมษายน พ.ศ. 2548

3.3 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 ศึกษาวิธีการสกัดเปลือกมังคุดที่เหมาะสมด้วยตัวทำละลาย ethanol

ก. การเตรียมเปลือกมังคุด

การเตรียมเปลือกมังคุด โดยนำมังคุด แยกเฉพาะส่วนเปลือกมาตากแห้งในที่ร่ม 2 อาทิตย์ ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ย 31.6 องศาเซลเซียส และมีค่าความชื้นสัมพัทธ์ 72.33 % บดจนมีขนาดผ่านรูตะแกรง 0.5 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนัก 1 กิโลกรัม

1. วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995)

2. วิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter (L a b) ด้วยเครื่อง Chroma Meter (Model CR-300 Series, Minolta, Japan)

ทำการสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลาย ethanol 2 วิธี มีรายละเอียดดังนี้

ข. การสกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol

การสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลาย ethanol ดัดแปลงจากวิธีของ รัตนา อินทรานุปกรณ์ (1996) โดยการใช้ ethanol เป็นตัวทำละลายเนื่องจากเป็นสารละลายที่ทำละลายได้ดี สามารถรับประทานได้ มีความเป็นพิษต่ำ และจุดเดือดไม่สูง แบ่งเป็น 2 วิธีคือ

(1) **การสกัดด้วยวิธี** maceration

เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากเปลือกมังคุดโดยไม่ใช้ความร้อน ทำการสกัดเปลือกมังคุดบดแห้งโดยชั่งน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง 1 กิโลกรัม ใส่ถุงผ้ากรองในภาชนะที่มีฝาปิดสนิท แล้วเติมตัวทำละลาย ethanol สกัดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของเปลือกมังคุดอ่อนนุ่มและ ethanol สามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในเปลือกมังคุดออกมาได้ โดยทำการสกัดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส) ในระหว่างที่หมักอยู่นั้นเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดจึงแยกกากออกจากสารสกัด ethanol นำสารสกัด ethanol ที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง ระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 -50 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัด ethanol เข้มข้น (A0) (รูปที่ 3.1)

การทำสารสกัดให้เข้มข้น(Concentration) ในขั้นตอนการเก็บสารสกัด (Crude) ซึ่งสารสกัดอย่างหยาบที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator ซึ่งจัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดเป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊ม (vacuum pump) การกลั่นวิธีนี้จะทำให้ตัวทำละลายเป็นไอก่อนถึงจุดเดือด ช่วยป้องกันการสลายตัวของสารที่จะสกัดได้

เปลือกมังคุดบดแห้ง 1 กิโลกรัม

↓

ใส่ถุงผ้ากรอง

↓

การสกัดด้วยวิธี maceration	วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง
↓	↓
ใส่ในโหลแก้วที่มีฝาปิดสนิท	ใส่ใน Soxhlet extractor
↓	↓
เติมตัวทำละลาย ethanol	เติมตัวทำละลาย ethanol
↓	↓
สกัดที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 25-30°C, 1 สัปดาห์	สกัดที่อุณหภูมิประมาณ 40-50°C, 1 สัปดาห์
↓	↓
คนเป็นครั้งคราว	
↓	↓
กรองแยกกากออก	กรองแยกกากออก
↓	↓
Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 -50°C	Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 -50°C
↓	↓
สารสกัด ethanol เข้มข้น (A0)	สารสกัด ethanol เข้มข้น (A1)

รูปที่ 3.1 สรุปขั้นตอนการสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลาย ethanol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(2) การสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง

การสกัดแบบต่อเนื่องเป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากเปลือกมังคุดโดยใช้ความร้อนเข้าช่วย ทำการสกัดเปลือกมังคุดบดแห้งโดยชั่งน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง 1 กิโลกรัม ใส่ถุงผ้ากรองแล้วบรรจุใน Soxhlet extractor ซึ่งเป็นระบบปิด แล้วเติมตัวทำละลาย ethanol ปล่อยให้ตัวทำละลาย ethanol ไหลผ่านเปลือกมังคุดบดแห้งอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบออกมา โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตัวทำละลาย ethanol ในภาชนะเมื่อได้รับความร้อนจาก heating mantle หรือหม้ออังไอน้ำ จะระเหยกลายเป็นไอลอยเข้าสู่ส่วนควบแน่น (Condenser) แล้วกลั่นตัวกลายเป็นหยดของเหลวตกกลับลง

มาผ่านผ้ากรองที่ใส่เปลือกมังคุดไว้ ethanol จะไหลผ่านเปลือกมังคุดซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อยๆ จนกระทั่งองค์ประกอบที่สามารถละลายได้ใน ethanol ถูกสกัดออกมาอยู่ในรูปสารละลาย เมื่อสารสกัด ใน extracting chamber สูงถึงระดับจะเกิดกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงไปในภาชนะใส่ตัวทำละลายอีกครั้ง แล้วเกิดการสกัดเช่นเดิมอย่างต่อเนื่องวนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ คือสารละลายใน Siphon มีสีเหมือนตัวทำละลายเริ่มต้น (ไม่มีสารที่สามารถละลายได้ถูกสกัดออกมาแล้ว) เมื่อครบกำหนดจึงกรองแยกกากออกจากตัวทำละลาย ethanol นำสารสกัด ethanol ที่ได้กรองผ่านกระดาษกรอง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporation ที่อุณหภูมิ 40 -50 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) (รูปที่ 3.1)

เมื่อได้สารสกัด ethanol เข้มข้นจากทั้ง 2 วิธีคือวิธี maceration และวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง ชั่งน้ำหนักสารสกัด ethanol เข้มข้น คำนวณค่า % yield จากสมการ

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัด ethanol เข้มข้น}}{\text{น้ำหนักของเปลือกมังคุดบดแห้ง}} \times 100$$

เปรียบเทียบค่า %yield ที่ได้แล้วเลือกวิธีการสกัดเปลือกมังคุดที่ให้ค่า %yield มากที่สุด แล้วจึงนำไปทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดต่อไป

วิเคราะห์ค่าสีของสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) ที่นำไปสกัดต่อในระบบ Hunter (L a b) ด้วยเครื่อง Chroma Meter (Model CR-300 Series, Minolta, Japan)

3.3.2 ศึกษาการแยกองค์ประกอบสำคัญจากสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1)

ก. การสกัดสารสกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และน้ำ

นำสารสกัด ethanol เข้มข้นที่ได้จากการสกัดแบบต่อเนื่อง (A1) จากข้อ 3.1.1 มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ สารละลาย ethyl acetate และน้ำ โดยเติมน้ำในสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) 400 ml เติมสารละลาย ethyl acetate 200 ml ใส่ในกรวยแยก แล้วแยกเก็บสารสกัดที่ละลายได้ใน ethyl acetate สกัดซ้ำด้วยสารละลาย ethyl acetate ครั้งละ 200 ml จนสกัดสารที่ละลายได้ใน ethyl acetate ได้หมด รวมสารสกัด ethyl acetate ที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) (รูปที่ 3.2) นำสารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) ที่ได้ไปทำการแยกสารต่อโดยใช้ silica gel column chromatography ต่อไป

สารสกัด ethanol เข้มข้น (A1)

↓

เติมน้ำ 400 ml

↓

เติมสารละลาย ethyl acetate 200 ml

↓

ใส่ใน Separatory funnel

↓ → สารสกัดน้ำ

สารสกัด ethyl acetate

↓

สกัดซ้ำด้วยสารละลาย ethyl acetate

↓

รวมสารสกัด ethyl acetate

↓

Rotary evaporation

↓

สารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2)

รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการสกัดเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. การแยกสารด้วย Silica gel column chromatography **และการตรวจสอบสารด้วย** TLC

การแยกสารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) จากข้อ 3.3.2.ก. ด้วย Silica gel column chromatography โดยดัดแปลงระบบตัวทำละลายที่ใช้จากงานวิจัยของ Chairungsrilerd และคณะ (2547) เป็นการแยกโดยอาศัยสมบัติในการดูดซับบนเฟสคงที่ (Absorption) ใช้ column แก้วขนาดเหมาะสมกับปริมาณสารที่จะแยก

ขั้นตอนการแยกสารด้วย Silica gel column chromatography มีรายละเอียดดังนี้ (รูปที่ 3.3)

(1) เตรียมสารสกัดโดยนำสารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) คลุกผสมกับ Silica gel ชนิด 60G Merck No. 7734 ปริมาณเล็กน้อย

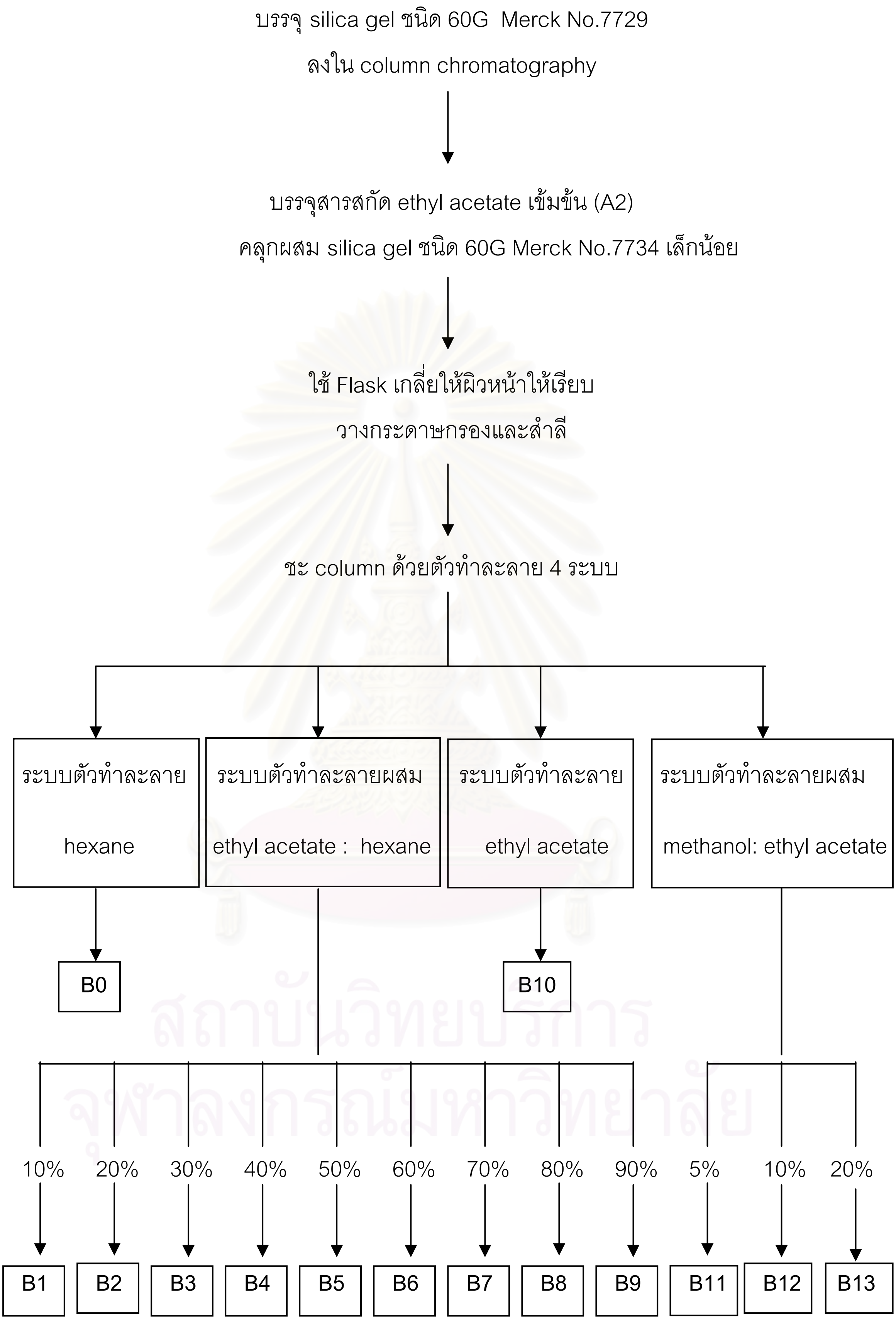
(2) บรรจุ silica gel ชนิด 60G Merck No.7729 ลงใน Quick column chromatography โดยค่อยๆบรรจุ silica gel ลง column ทีละชั้น ใช้ flask เกลี่ยผิวหน้าให้เรียบ และเปิดปั๊มเพื่อให้ silica gel แพคตัวกันแน่นจนได้ปริมาณที่ต้องการ (อัตราส่วนของตัวดูดซับ silica gel ต่อสารสกัดที่ต้องการแยกประมาณ 10 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก) แล้วค่อยๆ บรรจุสารสกัดที่เตรียมไว้ลงไป ใช้ flask เกลี่ยให้ผิวหน้าเรียบ วางกระดาษกรองและสำลีเพื่อไม่ให้ตัวทำละลายแห้งไปจากผิวหน้าของ silica gel

(3) ชะ column เพื่อแยกตัวถูกละลายโดยใช้ตัวทำละลาย 4 ระบบ เก็บสารละลายแต่ละส่วนที่ถูกชะออกมาตามลำดับ คือ

- ระบบตัวทำละลาย hexane 2000 ml
- ระบบตัวทำละลายผสม ethyl acetate: hexane = 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% ส่วนละ 2000 ml
- ระบบตัวทำละลาย ethyl acetate 2000 ml
- ระบบตัวทำละลายผสมmethanol: ethyl acetate = 5%, 10%, 20% ส่วนละ 2000 ml

(4) นำสารละลายแต่ละส่วน (fraction) ไปทำให้เข้มข้นได้สาร 14 ส่วน (B0-B13) (รูปที่ 3.3)ไปชั่งน้ำหนัก และตรวจสอบด้วย Thin Layer Chromatography (TLC)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.3 สรุปขั้นตอนการแยกสารด้วย Silica gel column chromatography

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. การตรวจสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

นำสารละลายเข้มข้น 14 fractions (B0-B13) ที่ได้จากข้อ 3.3.2.ข มาตรวจสอบด้วย Thin Layer Chromatography (TLC) โดยใช้ TLC (Merck Kieselgel 60 PF_{254})

การเตรียมภาชนะสำหรับ Develop ใช้ขวดแก้วทรงกระบอกที่สะอาดและมีฝาปิด ใส่กระดาษกรองลงไปให้แนบติดกับผิวด้านในภาชนะเทตัวทำละลายลงไปให้สูงจากก้นภาชนะประมาณ 1 เซนติเมตร ทำการทดลองโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ระบบ ระบบแรก คือ ระบบตัวทำละลายผสม 60% ethyl acetate: hexane และระบบที่ 2 ตัวทำละลาย ethyl acetate ปิดฝาภาชนะเพื่อให้อิ่มด้วยไอของตัวทำละลาย

การจุดสารโดยใช้ capillary tube จุ่มลงไปในสารละลายที่ต้องการทดสอบ แต้มสารนั้นลงบนแผ่น TLC ขนาด 4 x 5 เซนติเมตร ที่เส้นเริ่มต้น แล้วทำการ Develop โดยนำแผ่น TLC ที่แต้มสารเรียบร้อยแล้วจุ่มลงในภาชนะที่อิ่มตัวด้วยตัวทำละลายที่เตรียมไว้ ให้จุดของสารอยู่เหนือตัวทำละลายเล็กน้อย ปิดฝาภาชนะแล้วให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปบนแผ่น TLC จนถึง solvent front นำแผ่น TLC ออกจากภาชนะ ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแผ่น TLC แห้ง วิเคราะห์แผ่น TLC ภายใต้แสง UV บันทึกจุดสารที่ได้ วิเคราะห์จำนวนสารในแต่ละ fraction

ง. การแยกสารด้วยการตกผลึกแยกส่วน และการตรวจสอบผลึกด้วย TLC

สาร fraction B3 ที่ผ่านการแยกสารด้วย Silica gel column chromatography เมื่อถูกทำให้เข้มข้นแล้วพบว่ามีลักษณะเป็นของแข็ง เมื่อทดสอบด้วย TLC พบว่ามีสาร 2 ชนิด จึงนำมาแยกสารด้วยเทคนิคการตกผลึก ซึ่งเป็นการใช้ตัวทำละลายที่ละลายของแข็งที่ต้องการตกผลึกได้ไม่ดี (ตัวทำละลาย ข) ไปดึงส่วนหนึ่งของตัวทำละลายที่ละลายของแข็งได้ดี (ตัวทำละลาย ก) ให้มาล้อมรอบโมเลกุลของตัวมันเอง จึงทำให้เหลือตัวทำละลาย ก ไปละลายของแข็งน้อยลง ของแข็งจึงตกผลึกออกมา ทำการทดลองโดยละลายผลึกด้วยสารละลาย ethyl acetate ร้อนในปริมาณที่น้อยที่สุดแล้วเติม hexane ร้อนจนสารเริ่มตกผลึก ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ตกผลึกสมบูรณ์ กรองแยกผลึกออกด้วยกระดาษกรอง ชะผลึกด้วย hexane และใช้ปั๊มเพื่อดูดสารละลายให้แห้ง เก็บผลึกที่ได้ทดสอบด้วย TLC พบว่ามีสารประกอบ (C) 1 ชนิด นำผลึกที่ได้ชั่งน้ำหนักเก็บใส่ขวดแก้วในที่มืดและเย็น

3.3.3 การวิเคราะห์สมบัติสารสกัดทางเคมีและทางกายภาพของสารประกอบ (C)

วิเคราะห์สมบัติของสารประกอบ (C) ที่ได้จากข้อ 3.3.2.ง ด้วยสมบัติทางเคมีและกายภาพ ดังนี้

1. วิเคราะห์สูตรโครงสร้างทาง Spectroscopy IR spectra ด้วยเครื่อง Fourier Transform-Infrared spectra (Nicolet model, Impact 410 FT-IR spectrophotometer, USA)

2. วิเคราะห์สูตรโครงสร้างทาง Spectroscopy ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spctra (ใน DMSO-d_6) ด้วยเครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Bruker, Varian model, Mercury+400, Switzerland)

3. วิเคราะห์จุดหลอมเหลว ด้วยเครื่อง Fisher-John melting point apparatus (Model 9100, Electrothermal, England)

4. วิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter (L a b) ด้วยเครื่อง Chroma Meter (Model CR-300 Series, Minolta, Japan)

สูตรโครงสร้างที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิคทาง Spectroscopy ได้แก่ IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR เทียบค่า spectra ที่วิเคราะห์ได้กับงานวิจัยของ Gunasekera และ Sultanbawa (1971) และงานวิจัยของ Sen และคณะ (1982)

3.3.4 ศึกษาการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย $DPPH^{\bullet}$ method

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย $DPPH^{\bullet}$ method ตามวิธีของ พิชยา ประเสริฐแสง (2545)

ก. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพแบบ TLC screening for radical scavengers

(1) เตรียมสารละลาย $DPPH^{\bullet}$ ที่ความเข้มข้น 11.8 มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตร ใน methanol

(2) เตรียมสาร α-mangostin (จากข้อ 3.3.3), BHA ความเข้มข้น 1 ppm และเตรียมสารสกัด ethanolเข้มข้น (A1) (รูปที่ 3.1) ความเข้มข้น 10 ppm ใน Methanol

(3) จุดสารที่ต้องการทดสอบลงบนแผ่น TLC แล้ว develop ด้วยระบบตัวทำละลาย Methanol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(4) นำแผ่น TLC ที่ได้มาสเปรย์ด้วยสารละลาย DPPH$^{\bullet}$ สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของ DPPH$^{\bullet}$ ถ้ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจะฟอกสีน้ำเงินของ DPPH$^{\bullet}$ เป็นสีเหลือง

ข. การวิเคราะห์เชิงปริมาณแบบ UV-Visible Spectrophotometry

(1) เตรียมสารละลาย DPPH$^{\bullet}$ ที่ความเข้มข้น 11.8 มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตร ใน methanol

(2) เตรียมสาร α-mangostin (จากข้อ 3.3.2.ง.) และ BHA ให้มีความเข้มข้น 1.00, 0.05, 0.25, 0.125 และ 0.0625 มิลลิโมลาร์ ใน methanol

(3) เติมสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นในหลอดทดลอง หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด

(4) เติมสารละลาย DPPH$^{\bullet}$ 1.0 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด เขย่า และเก็บไว้ที่มืด

(5) เมื่อครบ 30 นาที ปิเปตสารแต่ละหลอด 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในช่องของ Micro plate แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance, A_{517}) ด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer (Model sunrise, Tecan, Australia) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์การต้านออกซิเดชันได้จาก

สมการที่ 1

$$\% \text{ radical scavenging} = (1- (As / Ac)) \times 100 \qquad (1)$$

เมื่อ As = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample

Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของ control

(6) สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดกับ % radical scavenging เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง (DPPH$^{\bullet}$) ได้ 50% (IC_{50}) โดยค่า IC_{50} ของ α-mangostin สามารถคำนวณได้จากเส้นแนวโน้มตามสมการที่ (2) คือ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$$y = 18.795Ln(x) + 104.64 \qquad (2)$$

เมื่อแทนค่า y = 50, $50 = 18.795Ln(x) + 104.64$

ดังนั้นค่า $IC_{50} = x = 0.0358$ mM / ml

และคำนวณกำลังในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัด (anti-radical power, ARP) ได้จากสมการที่ (3)

$$ARP = 1/ IC_{50} \qquad (3)$$

3.3.5 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมันที่เติมสาร α- mangostin และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมัน เปรียบเทียบกับน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm และน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยดัดแปลงจากวิธีของ Loon และคณะ (2006)

ออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ตัวแปรในการทดลองคือ

1. ระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 120 ชั่วโมง

2. ตัวอย่างน้ำมันที่ใช้ในการศึกษา 3 ชนิด ได้แก่

2.1 ตัวอย่างน้ำมันควบคุม (Soy bean oil)

2.2 ตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α - mangostin 200 ppm

2.3 ตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm

ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างทุกค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test โดยนำตัวอย่างน้ำมันควบคุม ตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α- mangostin 200 ppm (ข้อ 3.3.3) และตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm มาเติมในหลอดทดลอง 10 กรัม ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำร้อน (water bath)

เป็นเวลา 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 120 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ค่า Peroxide Value ตามวิธีของ Low และ Ng (1987)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1. ผลการศึกษาวิธีการสกัดเปลือกมังคุดที่เหมาะสมด้วยตัวทำละลาย ethanol

4.1.1 การเตรียมเปลือกมังคุด

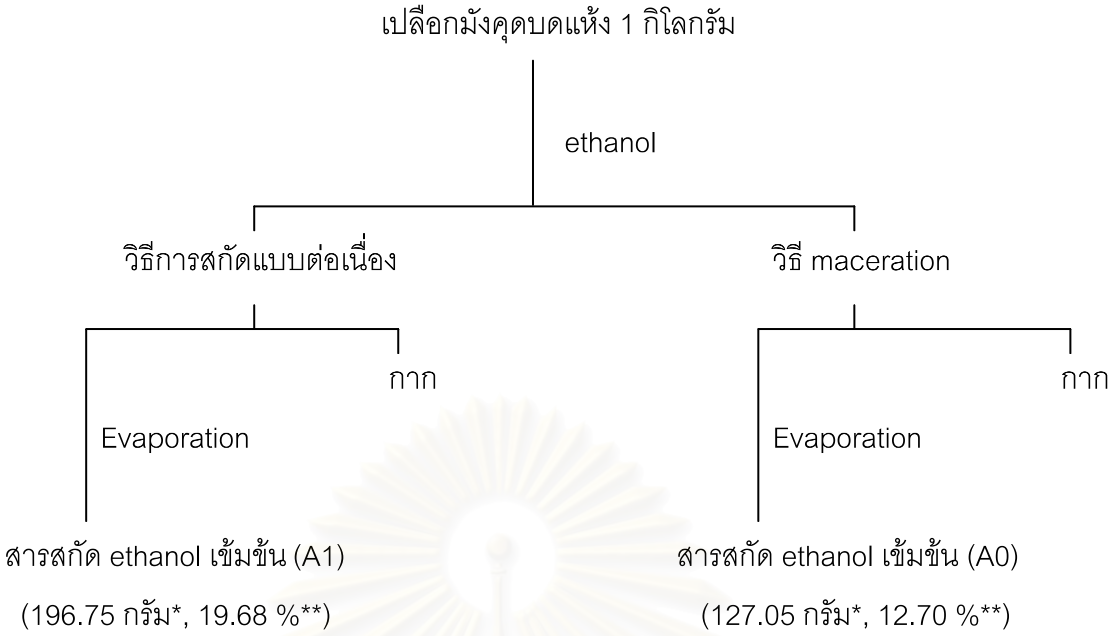
ตัวอย่างมังคุดที่ใช้ในการศึกษาในส่วนนี้ เป็นตัวอย่างมังคุด ที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี ประเทศไทย เก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงกลางเดือนเมษายน พ.ศ. 2548

เมื่อนำเปลือกมังคุดบดแห้งมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น พบว่ามีค่าความชื้นร้อยละ 10.54 ของน้ำหนักตัวอย่าง ซึ่งถือว่ามีปริมาณความชื้นสูงกว่าร้อยละ 5 ทำให้เปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบสำคัญที่มีอยู่ลดลงเมื่อเทียบกับน้ำหนักของเปลือกมังคุดทั้งหมด (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

เมื่อวิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter (L a b) เป็นการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างเปลือกมังคุดบดแห้งที่ใช้ในการสกัด โดยค่า L ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความสว่าง (lightness) ของผลิตภัณฑ์ โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0 -100 เมื่อค่า L มีค่าเท่ากับ 0 แสดงถึงความสว่างน้อยที่สุดจนกระทั่งความสว่างมากที่สุด มีค่า L เท่ากับ 100 ค่า a ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงสีของผลิตภัณฑ์ในช่วงสีแดงถึงสีเขียว เมื่อค่า a เป็นบวกแสดงค่าของสีแดง และค่า a เป็นลบ แสดงค่าของสีเขียว ค่า b ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงสีของผลิตภัณฑ์ในช่วงสีเหลืองถึงสีน้ำเงิน เมื่อค่า b เป็นบวกแสดงค่าของสีเหลือง และค่า b เป็นลบ แสดงค่าของสีน้ำเงิน พบว่าเปลือกมังคุดบดแห้งสีน้ำตาลแดงมีค่า L, a, b เท่ากับ 42.8, 7.63, 12.46 ตามลำดับโดยค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ตัวอย่างเปลือกมังคุดบดแห้งที่ใช้ในการสกัด 3 ครั้ง จำนวน 3 ซ้ำ

4.1.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol

ผลการสกัดเปลือกมังคุดบดแห้งด้วยตัวทำละลาย ethanol 95 % แสดงในรูปที่ 4.1 น้ำหนักของสารสกัดและ % yield (น้ำหนักของสารสกัดต่อน้ำหนักของเปลือกมังคุดบดแห้ง) โดยค่าเฉลี่ยจากการสกัดเปลือกมังคุดบดแห้ง 3 ซ้ำ จากผลการทดลองพบว่าการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง ได้สารสกัดปริมาณ 196.75 กรัม ให้ % yield เท่ากับ 19.68 % ซึ่งมากกว่าวิธีการสกัดแบบ maceration ที่ได้สารสกัดปริมาณ 127.05 กรัม ให้ % yield เท่ากับ 12.70 %



รูปที่ 4.1 การสกัดเปลือกมังคุดบดแห้งด้วยตัวทำละลาย ethanol

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของสารสกัด ethanol เข้มข้นจากการสกัด 3 ซ้ำ

** % yield ของสารสกัด ethanol เข้มข้น คำนวนจากน้ำหนักต่อน้ำหนักของเปลือกมังคุดบดแห้ง

เนื่องจากการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง เป็นวิธีการสกัดโดยใช้ความร้อนเข้าช่วย จึงทำให้เนื้อเยื่อของเปลือกมังคุดอ่อนนุ่มเร็ว ทำให้ละลายสารในเปลือกมังคุดออกมาได้ง่าย และมีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลาย ethanol โดยการปล่อยให้ตัวทำละลาย ไหลผ่านเปลือกมังคุดอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายเอาสารออกมา เกิดการสกัดอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ ส่วนวิธี maceration เป็นวิธีที่ไม่ได้ใช้ความร้อนในการสกัดจึงต้องใช้เวลาในการทำให้เนื้อเยื่อของเปลือกมังคุดอ่อนนุ่ม และทำละลายสารในเปลือกมังคุดออกมาได้ และการสกัดด้วยวิธี maceration มักจะไม่ค่อยสมบูรณ์เพราะไม่ค่อยมีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลาย เมื่อสารในเปลือกมังคุดละลายออกมาจนถึงระดับหนึ่งจะเกิดความสมดุลขององค์ประกอบภายในและตัวทำละลายที่ใช้ ทำให้อัตราเร็วของการสกัดลดลง ต้องมีการคนให้มีการเคลื่อนที่ของสารละลายเพื่อเพิ่มอัตราการสกัด จึงไม่เหมาะที่จะใช้สกัดในกรณีที่ต้องการสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธี maceration นั้นต้องใช้ปริมาณของตัวทำละลายมากกว่าเนื่องจากเมื่ออัตราการสกัดลดลงต้องมีการเปลี่ยนตัวทำละลายใหม่เพื่อให้สามารถสกัดสารออกมาได้อีก แม้จะสามารถนำตัวทำละลายที่ได้จากการทำให้เข้มข้นระเหยตัวทำละลายออก แล้วนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่คุณภาพของตัวทำละลายจะลดลงเนื่องจากมีปริมาณน้ำในตัวทำละลายเพิ่มขึ้น อาจทำให้ปริมาณสารที่ละลาย

ได้ในน้ำเพิ่มขึ้นทำให้สารสกัดที่ได้มีคุณภาพลดลงและการสกัดครั้งที่ 2 เพื่อแยกส่วนที่ละลายได้ในน้ำออกทำได้ยากขึ้น ส่วนวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยกว่าเนื่องจากไม่ต้องเปลี่ยนตัวทำละลายใหม่ เนื่องจากการใช้ความร้อนจะทำให้ไอของสารละลายทำการสกัดสารอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกับการใช้ตัวทำละลายใหม่อยู่แล้ว (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

ดังนั้นการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องเป็นวิธีการสกัดสารจากเปลือกมังคุดที่เหมาะสมเนื่องจากให้ %yield ที่สูงกว่าการสกัดด้วยวิธี maceration จากผลที่ได้ จึงทำการทดลองต่อโดยนำสารสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดต่อไป

เมื่อวิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter (L a b) ซึ่งเป็นการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) พบว่าสารสกัด ethanol เข้มข้นมีค่า L, a, b เท่ากับ 4.67, 2.45, -0.079 ตามลำดับโดยค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ ตัวอย่างเปลือกมังคุดบดแห้งที่ใช้ในการสกัด 3 ครั้ง จำนวน 3 ซ้ำ

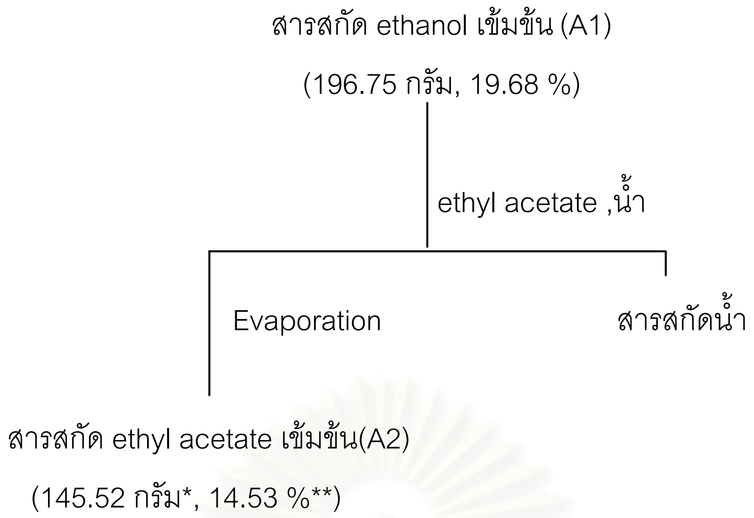
4.2 ผลการแยกองค์ประกอบสำคัญจากสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1)

4.2.1 การสกัดสารสกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และน้ำ

ผลการสกัดสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และน้ำ แสดงในรูปที่ 4.2 น้ำหนักของสารสกัด และ % yield (น้ำหนักต่อน้ำหนักของเปลือกมังคุดบดแห้ง) จากผลการทดลองพบว่าได้สารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) 145.52 กรัม ให้ % yield เท่ากับ 14.53 %

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดลอง คือ ถ้าตัวทำละลาย ethanol ในการสกัดครั้งแรกหรือวัตถุดิบมีปริมาณน้ำมาก สารสกัด ethanol ที่ได้จะมีส่วนที่ละลายได้ในน้ำมาก ทำให้ % yield ที่ได้จากการทดลองนี้ต่ำ (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

นำสารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) ไปทำการแยกโดยใช้ Silica gel column chromatography



รูปที่ 4.2 การสกัดสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate และน้ำ

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของสารสกัด ethanol เข้มข้นจากการสกัด 3 ซ้ำ

** % yield ของสารสกัด ethanol เข้มข้น คำนวณจากน้ำหนักต่อน้ำหนักของเปลือกมังคุดบดแห้ง (1 กิโลกรัม)

4.2.2 **การแยกสารด้วย** Silica gel column chromatography **และการตรวจสอบสารด้วย** TLC

ผลการแยกสารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) ด้วย Silica gel column chromatography แสดงดังตารางที่ 4.1 จากการทดลองพบว่าสารทั้งหมด 14 fractions (B0-B13) เมื่อนำมาทำให้เข้มข้นขึ้น มีลักษณะทางกายภาพ คือส่วนที่ B0 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดใส ส่วนที่ B1 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองใส ส่วนที่ B2 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม ส่วนที่ B3 มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลแดง และส่วนที่ B4 - B13 ลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม นำสารที่ได้ไปตรวจสอบองค์ประกอบด้วย TLC

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

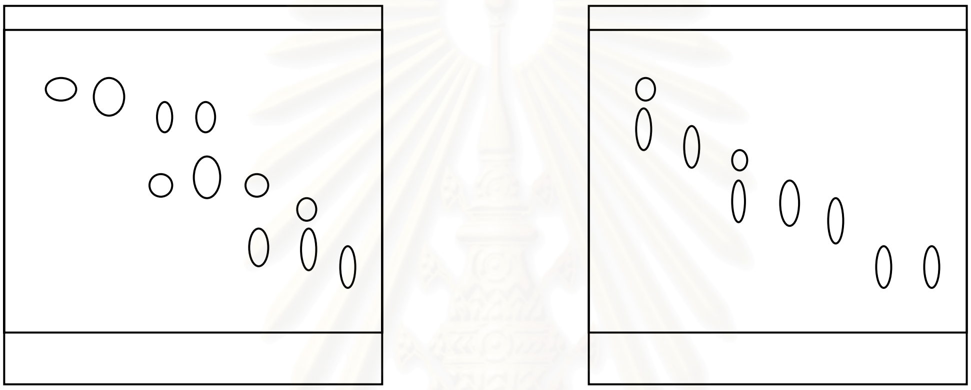
ตารางที่ 4.1 การแยกสารสกัด ethyl acetate เข้มข้น (A2) ด้วย silica gel column chromatography

ส่วนที่	ระบบตัวทำละลาย	ลักษณะทางกายภาพ	น้ำหนัก (กรัม)
B0	hexane	ของเหลวหนืดใส	0.49
B1	10% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีเหลืองใส	0.79
B2	20% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	17.25
B3	30% ethyl acetate : hexane	ของแข็งสีน้ำตาลแดง	40.19
B4	40% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	19.16
B5	50% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	8.10
B6	60% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	4.50
B7	70% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	1.00
B8	80% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	1.82
B9	90% ethyl acetate : hexane	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	1.25
B10	ethyl acetate	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	1.49
B11	5% Methanol: ethyl acetate	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	1.28
B12	10% Methanol: ethyl acetate	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	3.44
B13	20% Methanol: ethyl acetate	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเข้ม	2.93

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค. การตรวจสอบด้วยวิธี Thin layer Chromatography (TLC)

ผลการตรวจสอบองค์ประกอบของสาร Fraction ที่ B0 - B13 ด้วย TLC แสดงในรูปที่ 4.3 จากการทดลองพบว่าสารส่วนที่ B3 (ระบบตัวทำละลาย 30% ethyl acetate ใน hexane) ที่มีลักษณะตกผลึกเป็นของแข็ง เมื่อตรวจสอบด้วย TLC พบว่ามีสาร 2 ชนิด จึงนำไปแยกสารด้วยการตกผลึก



B0 B1 B2 B3 B4 B5 B6 B7 B8 B9 B10 B11 B12 B13

(a) (b)

รูปที่ 4.3 การตรวจสอบองค์ประกอบของสารส่วนที่ B0-B13 ด้วย TLC

หมายเหตุ (a) คือ ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ 60% ethyl acetate: hexane

(b) คือ ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ ethyl acetate

ง. การแยกสารด้วยการตกผลึกแยกส่วน และการตรวจสอบด้วย TLC

ผลการแยกสารด้วยการตกผลึกแสดงดังตารางที่ 4.2 จากการทดลองพบว่าผลึกสีหลืองที่ได้หนัก 22.81 กรัม คิดเป็น % yield เท่ากับ 2.28 % มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลือง เมื่อตรวจสอบด้วย TLC พบว่ามีสาร 1 ชนิด นำผลึกที่ได้ชั่งน้ำหนักเก็บใส่ขวดแก้วในที่มืดและเย็น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 การแยกสารด้วยการตกผลึกแยกส่วน

สาร	น้ำหนัก(กรัม)*	% yield**	ลักษณะทางกายภาพ
สารประกอบ (C)	22.81	2.28 %	ผลึกละเอียดสีเหลือง

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของสารประกอบ (C) จากการสกัด 3 ซ้ำ

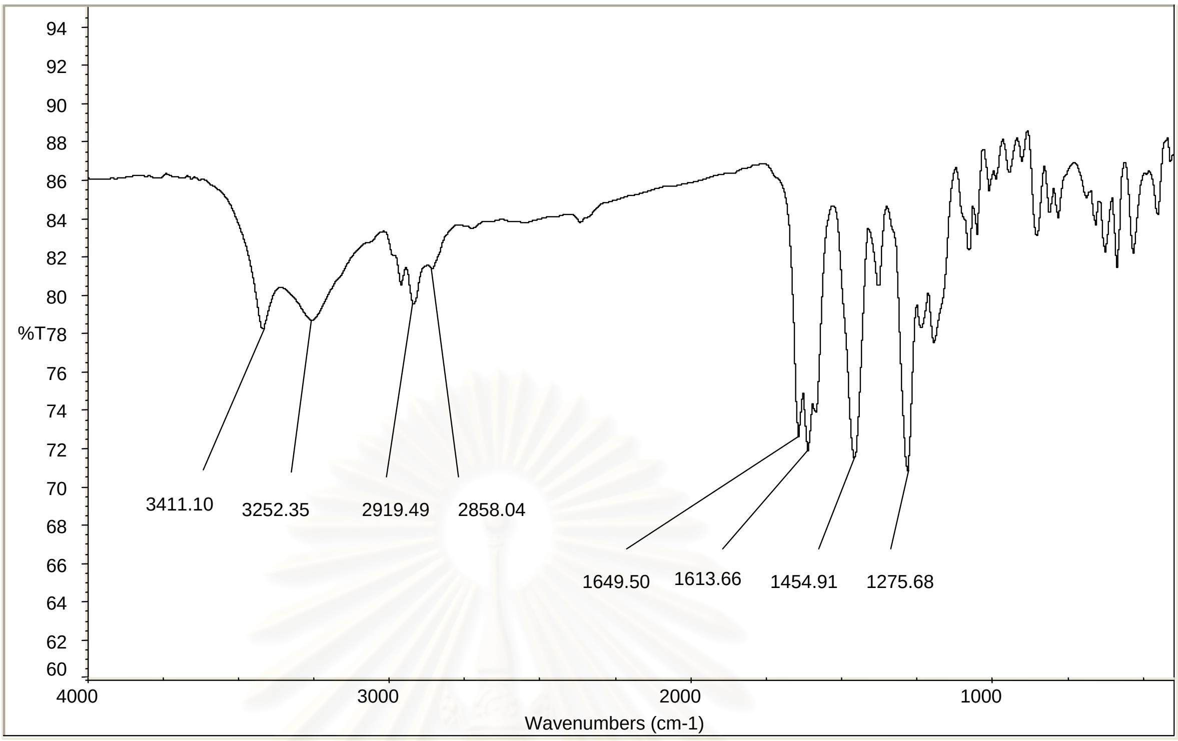
** % yield ของสารประกอบ (C) คำนวณจากน้ำหนักสารประกอบ (C) ต่อน้ำหนักของเปลือกมังคุดบดแห้ง (100 กรัม)

4.3 การวิเคราะห์สมบัติสารสกัดทางเคมีและทางกายภาพของสารประกอบ (C)

ผลการวิเคราะห์สมบัติของสารประกอบ (C) ที่ได้จากข้อ 3.1.2.ค ด้วยสมบัติทางเคมีและกายภาพ ดังนี้

(1). การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างด้วยเทคนิคทาง spectroscopy พบว่าค่า IR spectrum ของสารประกอบ (C) แสดงในรูปที่ 4.4 แถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญของสารประกอบ (C) ได้แก่ O-H stretching vibration ของ hydroxyl group ที่ความถี่ 3411 และ 3252 cm^{-1}, C-H stretching vibration ของ CH_3, CH_2 และ aromatic group ที่ความถี่ 2919 และ 2858 cm^{-1}, C=C stretching vibration ของ aromatic group ที่ความถี่ 1650 และ 1614 cm^{-1}, C-H stretching vibration ของ CH_2 group ที่ความถี่ 1455 และ C-O stretching vibration ของ C-OCH_3 group ที่ความถี่ 1276 cm^{-1} (ตารางที่ 4.3)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.4 ค่า IR spectrum ของสารประกอบ (C)

ตารางที่ 4.3 **ค่า** IR absorption band assignments ของสารประกอบ (C)

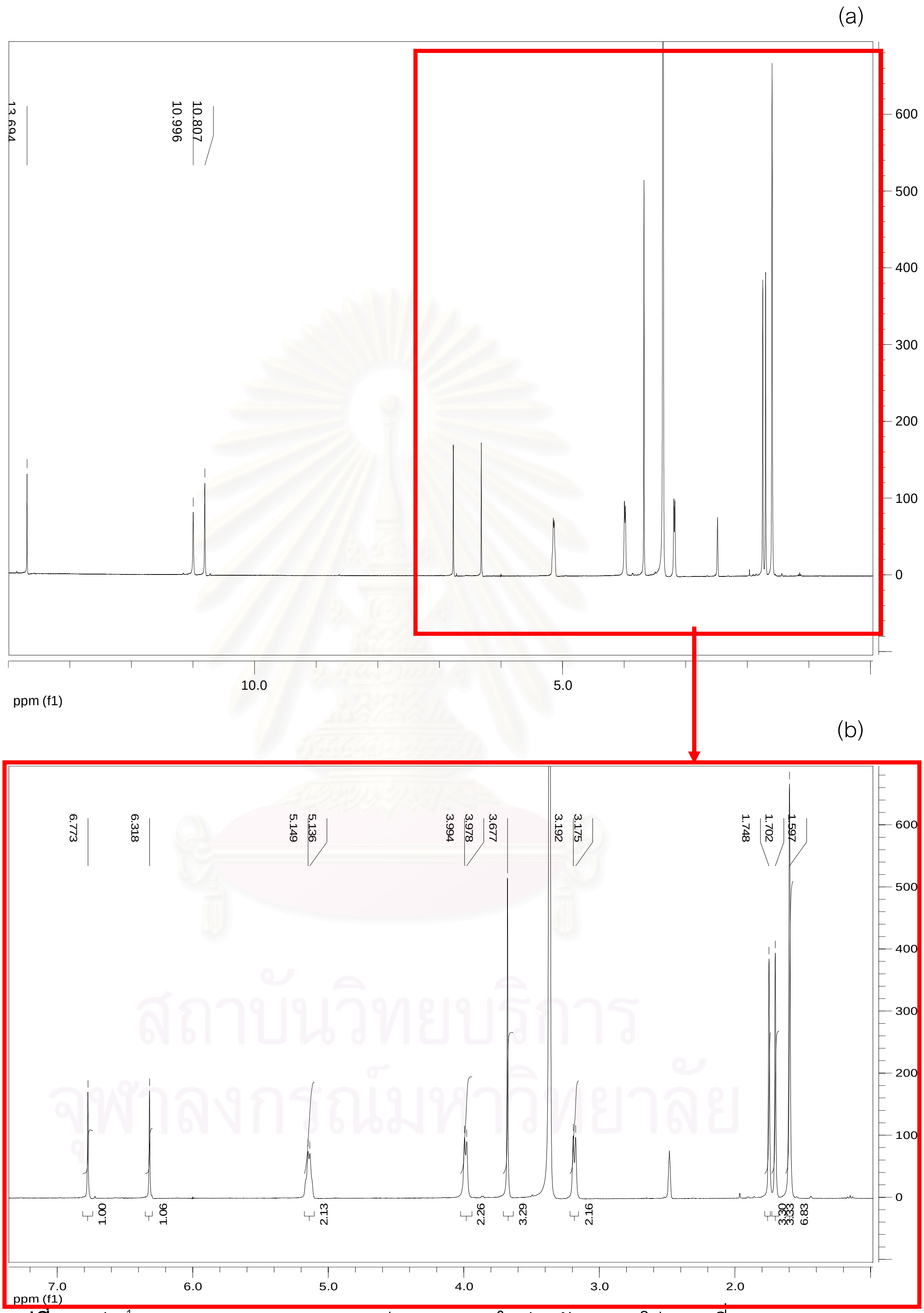
Wavenumber cm^{-1}	Tentative assignments
3411, 3252	O-H stretching vibration of hydroxyl group
2919, 2858	C-H stretching vibration of CH_3 group
1650, 1614	C=C stretching vibration of aromatic group
1455	C-H stretching vibration of CH_2 group
1276	C-O stretching vibration of C-O group

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(2). ผลการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทาง Spectroscopy ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spectrum พบว่าค่า ^{1}H-NMR spectrum ของสารประกอบ (C) ที่ละลายใน DMSO-d_6 วัดที่ 400 MHz แสดงในรูปที่ 4.5 (a) โดยปรากฏสัญญาณโปรตอนของหมู่ OH ที่ δ(ppm) = 10.81, 11.00 และ 13.69 และในรูปที่ 4.5 (b) สัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_3 12 สัญญาณที่ δ(ppm) = 1.6 (6H), 1.7 (3H) และ 1.75 (3H) สัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_2 ที่ δ(ppm) = 3.18, 3.19, 3.98 และ 3.99 สัญญาณโปรตอนของหมู่ CH ที่ δ(ppm) = 5.14, 5.15, 6.32 และ 6.77 พบว่าสอดคล้องกับค่า ^{1}H-NMR ของ α-mangostin ในงานวิจัยของ Gunasekera และ Sultanbawa (1971)

ค่า ^{13}C-NMR spectrum ของสารประกอบ (C) ที่ละลายใน DMSO-d_6 วัดที่ 100 MHz ที่แสดงในรูปที่ 4.6 ผลการเปรียบเทียบค่า ^{13}C-NMR spectrum ของสารประกอบ (C) ที่ได้กับค่า ^{13}C-NMR spectrum ของสาร α-mangostin งานวิจัยของ Sen และคณะ (1982) พบว่าค่า ^{13}C-NMR spectrum ของสารประกอบ (C) มีค่าเท่ากับค่า ^{13}C-NMR spectrum ของสาร α-mangostin แสดงในตารางที่ 4.4

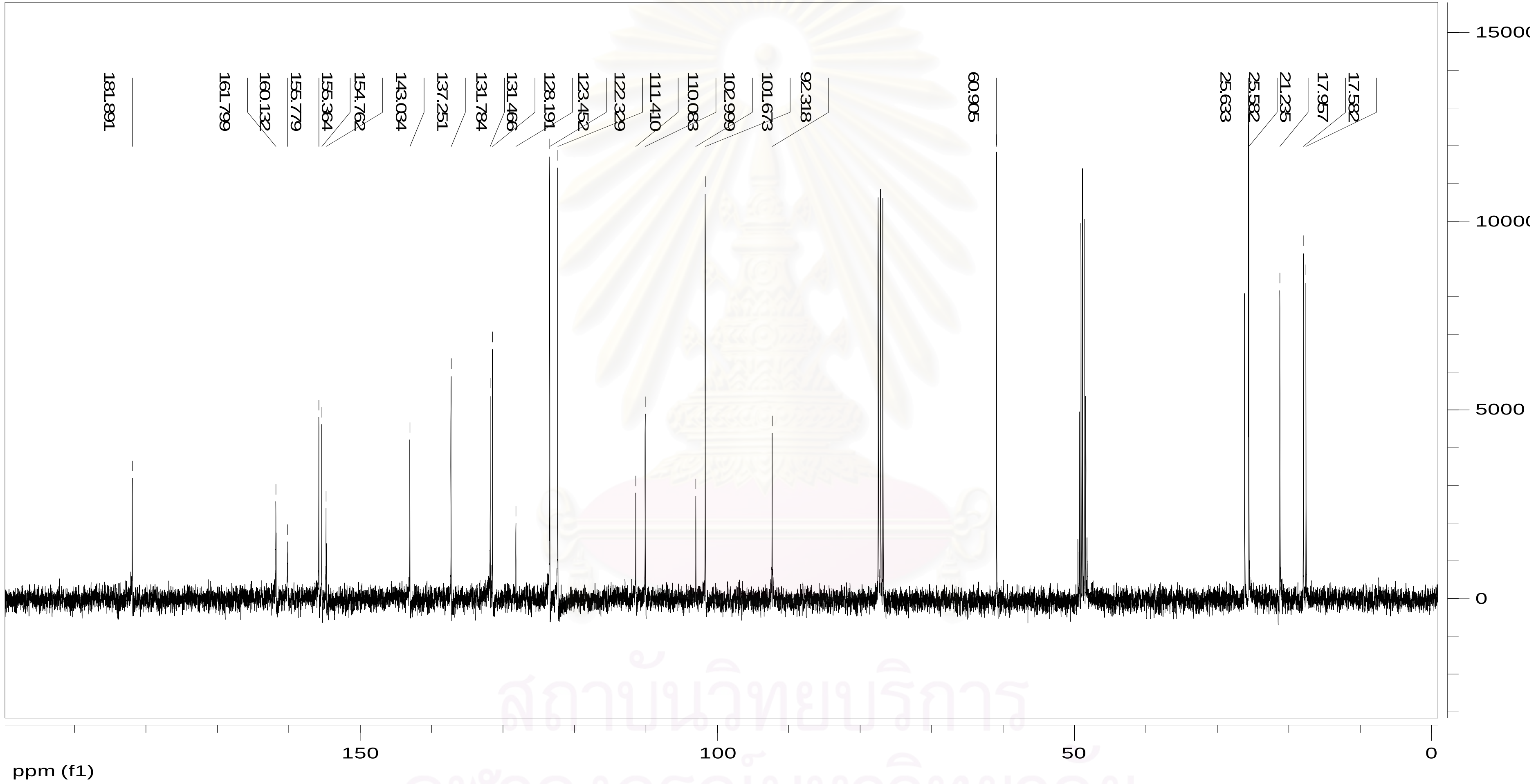
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.5 ค่า ^{1}H-NMR spectrum ของสารประกอบ (C) ในช่วงสัญญาณโปรตอนที่

(a) δ = 0 - 14 ppm และ (b) δ = 0 -7.4 ppm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.6 ค่า ^{13}C-NMR spectrum ของสารประกอบ (C)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบค่า ^{13}C-NMR spectrum ระหว่างสารประกอบ (C) และสาร α-mangostin

^{13}C-NMR spectrum	**สารประกอบ** (C) (ppm)	α-mangostin (ppm)[(1)]
1	160.1	159.9
2	110.1	109.7
3	161.8	162.3
4	92.3	92.3
4a	154.8	154.2
5	101.7	101.8
6	155.8	156.9
7	143.0	143.4
8	137.3	136.4
8a	111.4	110.1
9	181.9	181.3
9a	103.0	101.9
10a	155.4	154.6
11	21.2	21
12	122.3	122.7
13	131.5	130.3
14	25.6	25.6
15	17.6	17.7
16	26.2	25.8
17	123.5	123.8
18	131.8	130.3
19	25.6	25.6
20	18.0	18.1
7-OMe	60.9	60.2

[(1)] Sen และคณะ (1982)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

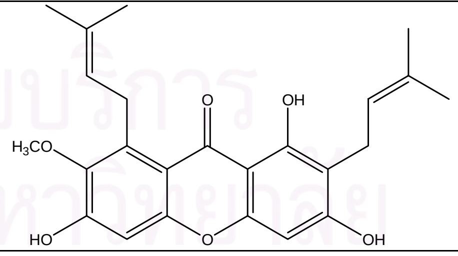
จากการทดลองพบว่าเมื่อเทียบค่า spectrum ที่วิเคราะห์ได้กับงานวิจัยของ Gunasekera และ Sultanbawa (1971) และงานวิจัยของ Sen และคณะ (1982) พบว่าสารประกอบ (C) ที่ได้ คือ α-mangostin หรือ 1, 3, 6-trihydroxy-7-methoxy-2, 8-*bis* (3-methyl-but-2-enyl)xanthone

(3). วิเคราะห์จุดหลอมเหลวของสาร α-mangostin ที่ได้ ด้วยเครื่อง Fisher - John melting point apparatus พบว่ามีค่าจุดหลอมเหลว เท่ากับ 181.9 – 182.9 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับค่าที่ได้ใน O'Neil และคณะ (2001)

(4). วิเคราะห์ค่าสีในระบบ Hunter (L a b) ของสาร α-mangostin ที่ได้จากเปลือกมังคุดบดแห้งพบว่ามีค่า L, a, b เท่ากับ 79.65, -5.34, 50.82 ตามลำดับโดยค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ ตัวอย่างของสาร α-mangostin ที่ได้จากการสกัด 3 ครั้ง จำนวน 3 ซ้ำ

สรุปสมบัติทางกายภาพและทางเคมีสาร α-mangostin แสดงในตารางที่ 4.5 สูตรโครงสร้าง C_{24} H_{26} O_6 มวลโมเลกุล 410.46 มีสมบัติไม่ละลายน้ำ ละลายใน alcohol, Ether, Acetone, Chloroform, ethyl acetate นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method

ตารางที่ 4.5 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของสาร α-mangostin

ชื่อ	α-mangostin
ชื่อวิทยาศาสตร์	1, 3, 6-Trihydroxy-7-methoxy-2, 8-*bis* (3-methyl-but-2-enyl)xanthone
สูตรโครงสร้าง	C_{24} H_{26} O_6
โครงสร้าง	
มวลโมเลกุล	410.46
สมบัติการละลาย	ไม่ละลายน้ำ ละลายใน alcohol, Ether, Acetone, Chloroform, ethyl acetate
ลักษณะทางกายภาพ	ผลึกละเอียดสีเหลือง
จุดหลอมเหลว	181.6 – 182.6 °C

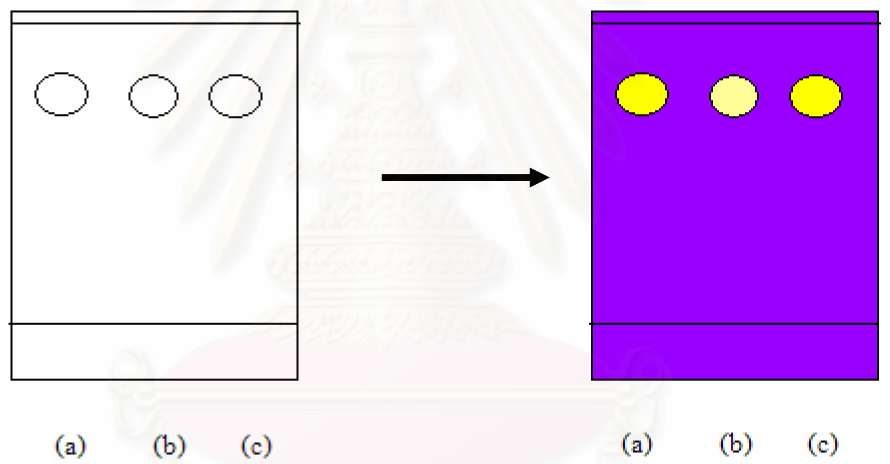
ที่มา: O'Neil และคณะ (2001)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method

ก. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพแบบ TLC screening for radical scavengers

ผลการทดสอบแบบ TLC screening for radical scavengers แสดงในรูปที่ 4.7 จากการทดลองพบว่าสารสกัด ethanol เข้มข้น (A1) (รูปที่ 4.1) และสาร α-mangostin ให้ผลบวก คือสามารถฟอกจางสีของ DPPH$^{\bullet}$ radical ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสาร α-mangostin ดีกว่าสาร BHA เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันสามารถฟอกจางสีของ DPPH$^{\bullet}$ radical ได้ดีกว่า จึงนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method แบบ UV-Visible Spectrophotometry ซึ่งเป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณต่อไป



ก่อนการทดสอบ **หลังการทดสอบด้วย** DPPH$^{\bullet}$

รูปที่ 4.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแบบ TLC screening for radical scavengers

หมายเหตุ (a) คือ สาร BHA

(b) คือ สาร α-mangostin

(c) คือ สารสกัด ethanol เข้มข้น (A1)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. การวิเคราะห์เชิงปริมาณแบบ UV-Visible Spectrophotometry

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยใช้เทคนิค UV-Visible Spectrophotometry แสดงในตารางที่ 4.6 จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 1 mM α-mangostin มีค่า % radical scavenging เป็น 93.0397 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า BHA ที่มีค่าเป็น 94.7724 แต่ที่ความเข้มข้น 0.5000, 0.2500, 0.1250, 0.0625 mM α-mangostin มีค่า % radical scavenging เป็น 93.7445, 92.9516, 76.9457, 46.7548 ซึ่งมีค่าสูงกว่า BHA ที่มีค่าเป็น 93.4508, 92.8928, 70.8958, 40.9105 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแบบ UV-Visible Spectrophotometry

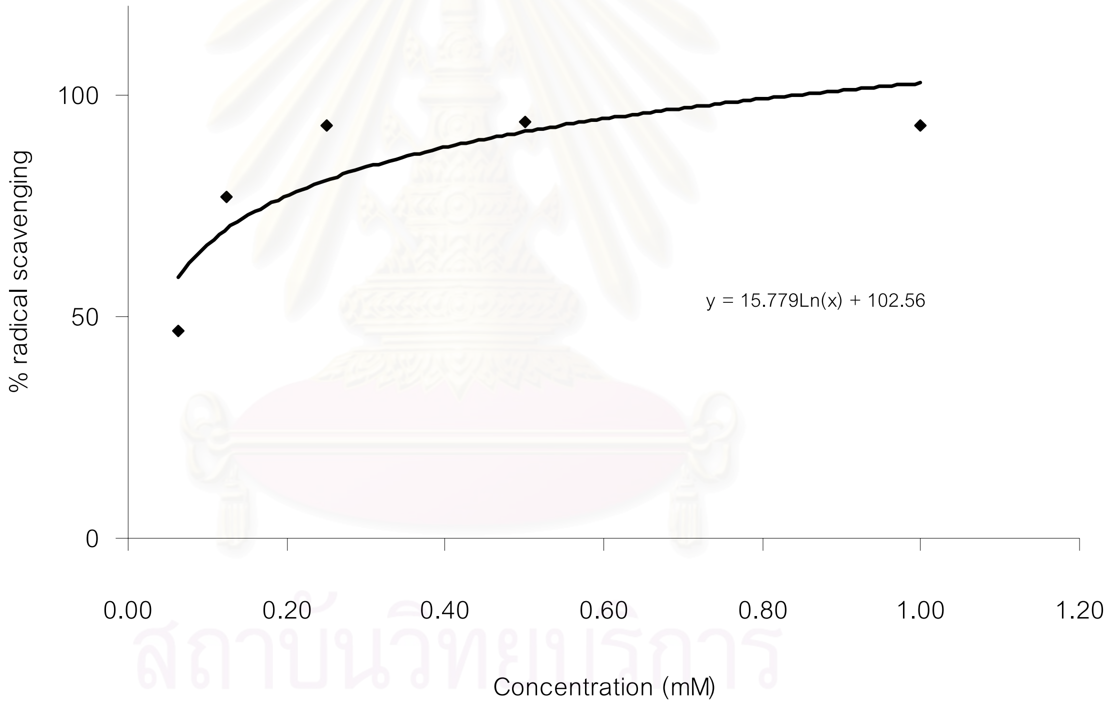
ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (mM)	ค่าการดูดกลืนแสง	%radical scavenging*
BHA	1.0000	0.0593	94.7724
	0.5000	0.0743	93.4508
	0.2500	0.0807	92.8928
	0.1250	0.3303	70.8958
	0.0625	0.6707	40.9105
α-mangostin	1.0000	0.0790	93.0397
	0.5000	0.0710	93.7445
	0.2500	0.0800	92.9516
	0.1250	0.2617	76.9457
	0.0625	0.6043	46.7548

หมายเหตุ * % radical scavenging = (1- (As / Ac)) x100

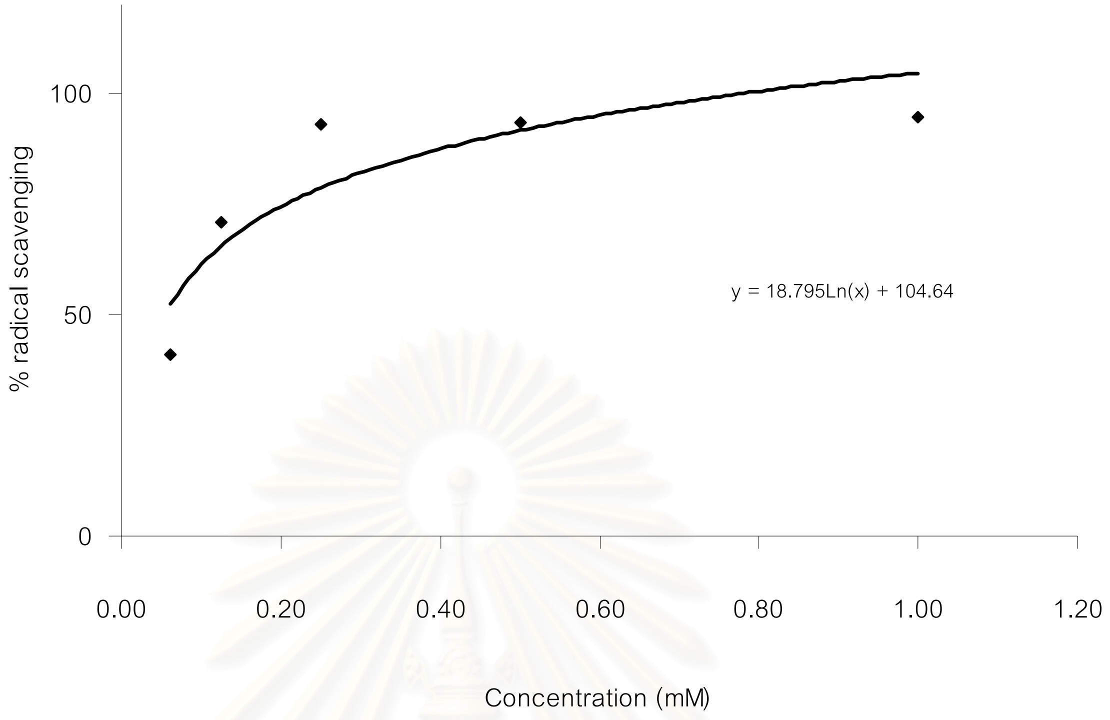
จากผลการทดลองที่ได้พบว่าที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.5000 mM สาร α-mangostin มีค่า % radical scavenging สูงกว่าสาร BHA อาจเนื่องจากโครงสร้างของสาร α-mangostin มีหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล 3 หมู่ มากกว่าสาร BHA ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิล ในโมเลกุล 1 หมู่ ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hay และคณะ (2004) ที่ศึกษาการต้านออกซิเดชันของ xanthones จาก *Garcinia vieillardii* โดยเมื่อทดสอบสมบัติในการต้าน

ออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method พบว่าค่า free-radical-scavenging activity จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีหมู่ไฮดรอกซิล เพิ่มขึ้นในโมเลกุล

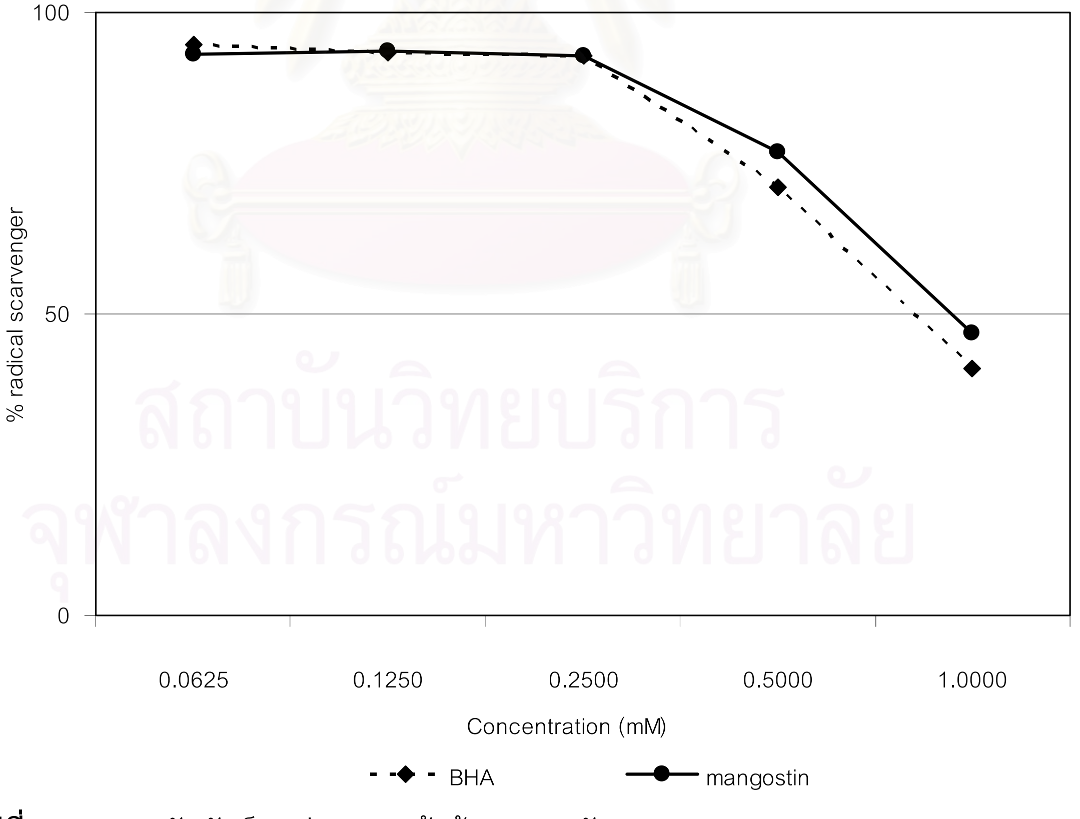
กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร α-mangostin กับ % radical scavenging ของสาร α-mangostin แสดงดังรูปที่ 4.8 และกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร BHA กับ % radical scavenging ของสาร BHA แสดงดังรูปที่ 4.9 เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้ง (DPPH$^{\bullet}$) ได้ 50% (IC_{50}) และกำลังในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัด (ARP) นำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับ % radical scavenging ของสาร α-mangostin เปรียบเทียบกับสาร BHA เนื่องจาก ใช้ความเข้มข้นของสารต่ำกว่าในการยับยั้ง (DPPH$^{\bullet}$) ได้ 50% แสดงดังรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร α-mangostin กับ % radical scavenging



รูปที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสาร BHA กับ % radical scavenging



รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับ % radical scavenging ของ

สาร α-mangostin เปรียบเทียบกับสาร BHA

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค่า IC_{50} และค่า ARP ของสาร α-mangostin และสาร BHA แสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าค่า IC_{50} และค่า ARP ของสาร α-mangostin มีค่าเท่ากับ 0.0358 mM และ 27.9330 ส่วน BHA มีค่าเท่ากับ 0.0546 mM และ 18.3150 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า α-mangostin มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีกว่า BHA ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Jung และคณะ (2006) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ xanthones ในเปลือกของผลมังคุด ด้วย Peroxynitrite Scavenging Activity พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ 8-hydroxycudraxanthone G, gatanin, α-mangostin, γ-mangostin และ smeathxanthone A มีค่าสูง

ตารางที่ 4.7 คำนวณค่า IC_{50} และค่า ARP ของสาร α-mangostin และสาร BHA

สาร	α-mangostin	BHA
ค่า IC_{50} (mM)*	0.0358	0.0546
ค่า ARP**	27.9330	18.3150

หมายเหตุ * IC_{50}ของ α-mangostin สามารถคำนวณได้จากสมการเส้นแนวโน้ม คือ

$$y = 18.795\text{Ln}(x) + 104.64$$

แทนค่า y = 50, ดังนั้น $x = IC_{50} = 0.0358$ mM

** $ARP = 1/ IC_{50}$

4.5 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ผลการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมัน เปรียบเทียบกับน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm และน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์ค่า Peroxide Value ที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 และ 120 ชั่วโมง (รูปที่ 4.11) พบว่าตัวอย่างน้ำมันแต่ละชนิด มีค่า Peroxide Value เพิ่มขึ้นตามช่วงเวลาที่ได้รับความร้อน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Loon และคณะ (2006) และเมื่อตัวอย่างน้ำมันได้รับความร้อนที่เวลา 36 - 84 ชั่วโมง ค่า Peroxide Value ของน้ำมันทั้ง 3 ตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่ตัวอย่างน้ำมันควบคุมมีค่า Peroxide Value สูงที่สุด รองลงมาคือ ตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm และตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm ตามลำดับ

น้ำมันควบคุมมีค่า Peroxide Value สูงสุดเมื่อได้รับความร้อน 72 ชั่วโมง ในขณะที่น้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm และตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm มีค่า

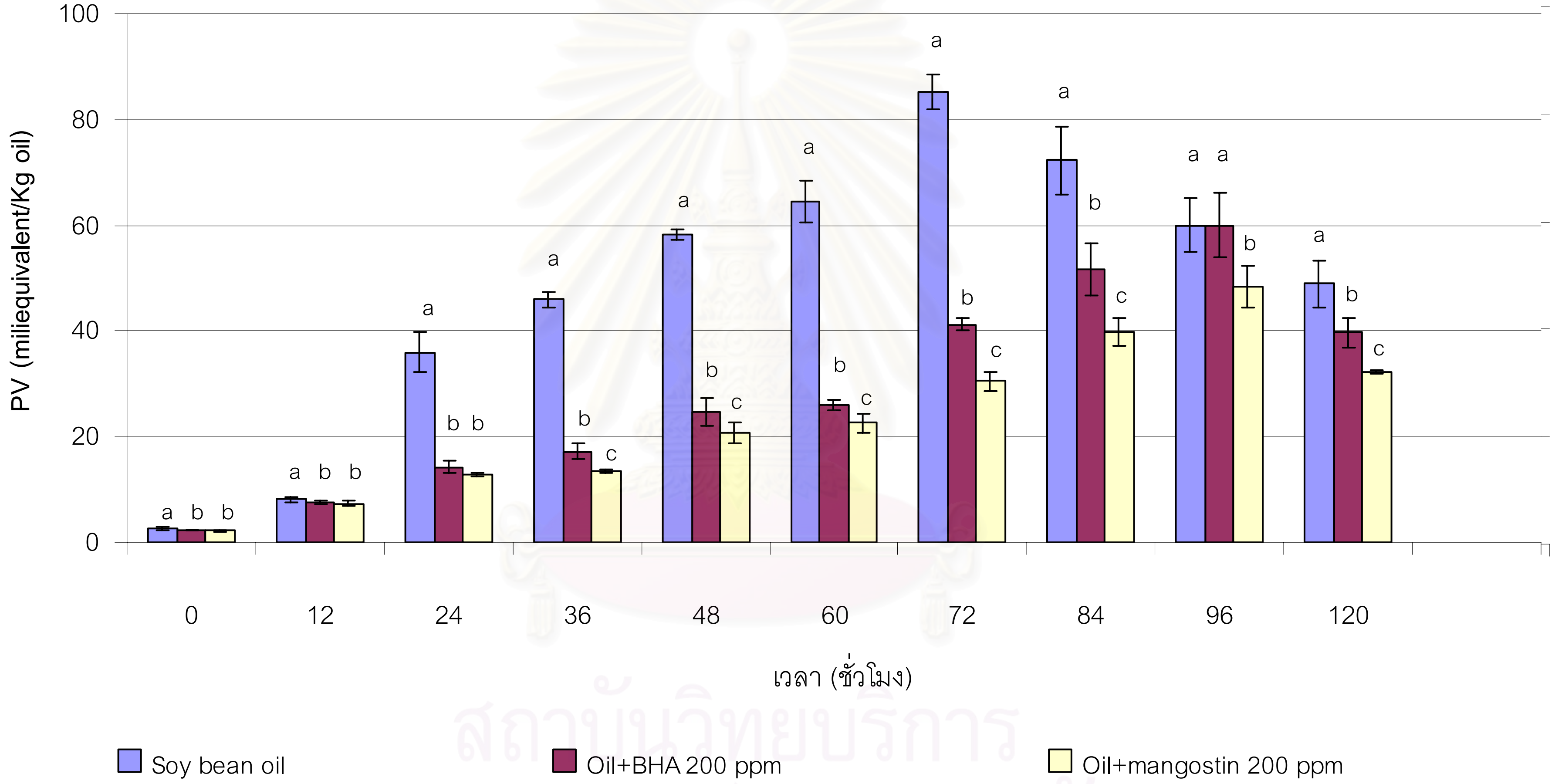
Peroxide Value สูงที่สุดที่เวลา 96 ชั่วโมง และเมื่อน้ำมันยังได้รับความร้อนเพิ่มขึ้นอีกค่า Peroxide Value ของน้ำมันทั้ง 3 ตัวอย่าง จะมีค่า Peroxide Value ลดลง

การที่ค่า Peroxide Value ของน้ำมันเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความร้อน เป็นผลเนื่องมาจากค่า Peroxide Value เป็นค่าที่วัด hydroperoxide (ROOH) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา autooxidation ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอิสระหรือที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อน้ำมันสัมผัสกับแสง ความร้อนและออกซิเจน ซึ่งถือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาส่งผลให้ความเข้มข้นของสารประกอบ hydroperoxide มีค่าสูงขึ้น (Fennema, 1996) เมื่อเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ค่า Peroxide Value จะมากขึ้นโดยเฉพาะในตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin จะมีค่า Peroxide Value สูงสุดช้ากว่าตัวอย่างน้ำมันควบคุมแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin สามารถชะลอปฏิกิริยา autooxidation ได้นานกว่าตัวอย่างน้ำมันควบคุม จึงยืดอายุการเก็บน้ำมันได้นานกว่า

เมื่อน้ำมันมีค่า Peroxide Value สูงสุดที่เวลาได้รับความร้อนหนึ่งและมีค่าลดลงเมื่อมีการให้ความร้อนต่อไปเป็นผลจากช่วงแรก hydroperoxide ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา autooxidation จะถูกสร้างขึ้น แต่ hydroperoxide ที่ได้ไม่เสถียร จึงเกิดการสลายตัวไปพร้อมกัน เป็นสารประกอบอื่นๆ เช่น อัลดีไฮด์ และ คีโตน เป็นต้น เมื่อการสร้างเกิดขึ้นมากกว่าการสลายตัวทำให้มีค่า Peroxide Value สูงขึ้น และเมื่อเวลาผ่านไปการสลายตัวเกิดขึ้นมากกว่าการสร้าง hydroperoxide ค่า Peroxide Value ที่ได้จะมีค่าลดลง

ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า α-mangostin มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีกว่า BHA และสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method ในข้อ 4.4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.11 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า Peroxide Value ในน้ำมันที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

หมายเหตุ กราฟแท่งที่มีอักษร a, b และ c กำกับต่างกันมีค่าต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาวิธีการสกัดเปลือกมังคุดที่เหมาะสมด้วยตัวทำละลาย ethanol พบว่าวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง ให้ %yield เท่ากับ 19.68% (น้ำหนักสารสกัด ethanol เข้มข้นต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง) ซึ่งมีค่ามากกว่าวิธี maceration ที่ให้ %yield เท่ากับ 12.70% (น้ำหนักสารสกัด ethanol เข้มข้นต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง) เมื่อนำสารสกัด ethanol ที่ได้จากการสกัดแบบต่อเนื่องมาทำให้เข้มข้นและแยกสารสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ สารละลาย ethyl acetate และน้ำ สารสกัดที่ละลายใน ethyl acetate มาทำให้เข้มข้นได้ %yield เท่ากับ 14.53 % (น้ำหนักสารสกัด ethyl acetate เข้มข้นต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง)

ผลการแยกโดยใช้เทคนิค column chromatography ที่ชะด้วย hexane, ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane กับ ethyl acetate, ethyl acetate และตัวทำละลายผสมระหว่าง ethyl acetate กับ methanol และตรวจสอบด้วย TLC จะได้สารทั้งหมด 14 fraction คือ B0-B13 นำ fraction B3 มาทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึก นำสารบริสุทธิ์ที่ได้วิเคราะห์สูตรโครงสร้างด้วยเทคนิค Spectroscopy พบว่า สารบริสุทธิ์ที่ได้นั้นคือ สาร α-mangostin โดยมี %yield ของสาร α-mangostin เท่ากับ 2.28 % (น้ำหนักสาร α-mangostin ต่อน้ำหนักเปลือกมังคุดบดแห้ง)

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสาร α-mangostin เปรียบเทียบกับ BHA โดยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picryl hydrazyl radical (DPPH$^{\bullet}$) การวิเคราะห์เชิงคุณภาพแบบ TLC screening for radical scavengers พบว่าสารสกัด ethanol จากเปลือกมังคุดและสาร α-mangostin มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน การวิเคราะห์เชิงปริมาณแบบ UV-Visible Spectrophotometry พบว่าค่า IC_{50} และค่า ARP ของสาร α-mangostin มีค่าเท่ากับ 0.0358 และ 27.9330 ส่วน BHA มีค่าเท่ากับ 0.0546 และ 18.3150 ตามลำดับ ดังนั้นสาร α-mangostin มีค่า IC_{50} น้อยกว่า BHA และมีค่า ARP มากกว่า BHA แสดงให้เห็นว่า α-mangostin ใช้ปริมาณสารน้อยกว่า BHA และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่า BHA

ผลการติดตามค่า Peroxide Value ในน้ำมัน เปรียบเทียบกับน้ำมันถั่วเหลืองในสภาวะเร่งที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm และน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่างน้ำมันแต่ละชนิด มีค่า Peroxide Value เพิ่มขึ้นตามช่วงเวลา (0-120 ชั่วโมง) ที่ได้รับความร้อน เมื่อตัวอย่างน้ำมันทั้ง 3 ชนิดได้รับความร้อนที่เวลา 36 - 84 ชั่วโมงพบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยที่

ตัวอย่างน้ำมันควบคุมมีค่า Peroxide Value มากกว่าตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร BHA 200 ppm และตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm ตามลำดับ

น้ำมันควบคุมหรือน้ำมันถั่วเหลืองมีค่า Peroxide Value สูงที่สุดที่ เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส น้ำมันถั่วเหลืองที่เติมสาร BHA 200 ppm และตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin 200 ppm มีค่า Peroxide Value สูงที่สุดที่ เวลา 96 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างน้ำมันที่เติมสาร α-mangostin สามารถชะลอปฏิกิริยา autooxidation ได้นานกว่าตัวอย่างน้ำมันควบคุม จึงยืดอายุการเก็บน้ำมันถั่วเหลืองได้นานกว่า

งานวิจัยนี้ได้พิสูจน์ให้เห็นว่า α-mangostin มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีกว่า BHA และสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วย DPPH$^{\bullet}$ method

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะ

วิธีการสกัดขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ในการสกัด ถ้าต้องการสารสกัดหยาบ (Crude extraction) การสกัดด้วยวิธี maceration จะใช้พลังงานน้อยกว่า และสามารถใช้เปลือกมังคุดในการสกัดต่อครั้งมาก ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดมากขึ้น ซึ่งอาจมีการใช้เครื่องบีบอัดช่วยบีบเอาสารสกัดออกมาให้ได้มากที่สุด ป้องกันการอุ้มตัวทำละลายของเปลือกมังคุด แต่ถ้าต้องการสารสกัดให้ได้ปริมาณมากที่สุด สกัดได้อย่างสมบูรณ์ และใช้เวลาน้อย เพื่อที่จะนำสารสกัดที่ได้ไปแยกได้สารบริสุทธิ์ ควรใช้วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง

การใช้ในอาหาร ปัจจุบันนี้ ได้มีการให้ความสำคัญกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด เนื่องจากมีการค้นพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารที่มีฤทธิ์ทางยาอยู่หลายชนิด เช่น มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบททีเรีย ฤทธิ์แก้อักเสบ ฤทธิ์แก้ท้องร่วง และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จึงมีงานวิจัยค้นคว้าเพื่อที่จะนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดเป็นอาหาร เครื่องดื่ม หรือเติมในอาหาร เช่น น้ำเปลือกมังคุดผสมน้ำผลไม้ หรือการเติมสารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันพืชดังงานวิจัยนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กลุ่มเกษตรสัญจร. 2530. มังคุด. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์สหมิตรออฟเซต.

จุไรรัตน์ รัตนพันธ์. 2547. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากลำต้นชะลูด *Alyxia reinwardtii*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นพรัตน์ บำรุงรักษ์. 2536. พืชหลักปักษ์ใต้. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ปิรามิด.

พิชยา ประเสริฐแสง. 2545. องค์ประกอบทางเคมีของผลพิลังกา *Ardisia colorata* Roxb. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มหาวิทยาลัยมหิดล. คณะเภสัชศาสตร์. 2547. ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ [online]. Available form: http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/slide/garcinia.html [2004, December 1]

รัตนา อินทรานุปกรณ์ 2547. การตรวจสอบและการแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2533. หลักการวิเคราะห์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วันดี กฤษณพันธ์. 2541. สมุนไพรน่ารู้. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วันทนา บัวทรัพย์. 2541. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกปี 2542. กรุงเทพมหานคร: กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตร.

วารสารเคหการเกษตร. 2531. ไม้ผลเศรษฐกิจของไทย. กรุงเทพมหานคร: เจริญรัฐการพิมพ์.

ศิวาพร ศิวเวช. 2535. วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 21-26, 125-127.

ภาษาอังกฤษ

AOAC. 1995. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists 16th ed. Washington D. C.:The Association.

Asai, F., Tosa, H., Tanaka, T., and Iinuma, M. 1995. A Xanthone from Pericarps of *Garcinia mangostana*. Phytochemistry. 39: 943-944.

Chairungsrilerd, N., Kazuya, T., Yasushi, O., Shigeo, N., and Tomihisa, O. 1996. Mangostanol, a Prenyl Xanthone from *Garcinia mangostana*. Phytochemistry. 43: 1099-1102.

Fennema, O.R. 1996. Food Chemistry. 3th ed. New york : Marcel Dekker. 1069 p.

Gunasekera, S. P. and Sultanbawa, M. U. S. 1973. Mangostin from the Barks of *Hydnocarpus species*. Phytochemistry. 12: 232-233.

Harrison, N. L. 2002. Xanthones from the Heartwood of *Garcinia mangostana*. Phytochemistry. 60: 541–548.

Hay, A., Aumond, M., Mallet, S., Dumontet, V., Litaudon, M., Rondeau, D., and Richomme, P.2004. Antioxidant Xanthones from *Garcinia vieillardii*. Journal of Natural Products. 67: 707-709.

Huang, Y., Chen, C., Chen, Y., Huang, R., and Shieh, B. 2001. Three Xanthones and a Benzophenone from *Garcinia mangostana*. Journal of Natural Products. 64:

Jung, H., Su, B., Keller, W., J., Hehta, R., G., and Kinghorn, D. 2006. Antioxidant Xanthones from the Pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). Journal of Agriculture and Food Chemistry. 54: 2077-2082.

Loon, W. A., Linssen, J. P., Legger, A., and Voragan, A. G. 2006. Anti-radical Power Gives Insight into Early Lipid Oxidation Events During Frying. Journal of the Science of Food and Agriculture. 86: 1446-1451.

Low, T. K., and Ng, C. S. 1987. Determination of peroxide value. In H.Hasegawa(ed.), Laboratory Manual on Analytical Method and Procedures for Fish and Fish Product. Marine Fisherirs Research Department, Southeast Asia Fisheries Development Center, Singapore.

Mahabusarakam, W., Wiriyachitra, P., and Taylor, W. 1987. Chemical Constituents of *Garcinia mangostana*. Journal of Natural Products. 50(3): 474-478..

Merza, J., Aumond, M., Rondeau, D., Dumontet, V., Ray, A., Seraphin, D., and Richomme, P. 2004. Prenylated Xanthones and Tocotrienols from *Garcinia virgata*. Phytochemistry. 65: 2915–2920.

O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E., and Obenchain, J. R. 2001. The Merck Index. 13th ed. Thirteenth, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co.

Peres, V., Nagem, T. J., and Oliveira, F. F. 2000. Review: Tetraoxygenated Naturally Occurring Xanthones. Phytochemistry. 55: 683-710.

Primchanien, M., Nuttavut, K., Sineenart, K., Omboon, L., Narongchai, P., and Neelobol, N. 2004. Antiproliferation, Antioxidation and Induction of Apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 Human Breast Cancer Cell Line. Ethnopharmacology. 90: 161–166.

Sen, A. K., Sarkar, K. K., Mazumder, P. C., Banerji, N., Uusvuori, R., and Hase, T. A. 1980. A Xanthone from *Garcinia mangostana*. Phytochemistry. 19: 2223-2225.

Sen, A. K., Sarkar, K. K., Mazumder, P. C., and Banerji, N. 1981. Minor Xanthones from *Garcinia mangostana.* Phytochemistry. 20: 183-185.

Sen, A. K., Sarkar, K. K., Mazumder, P. C., Banerji, N., Uusvuori, R., and Hase, T. A. 1982. The Structures of Garcinones A, B and C: Three New Xanthones from *Garcinia mangostana*. Phytochemistry. 21(7): 1747-1750.

Suksamrarn, S., Suwannapoch, N., Ratananukul, P. I., Aroonlerk, N., and Suksamrarn, A. 2002. Xanthones from the Green Fruit Hulls of *Garcinia mangostana*. Journal of Natural Products. 65: 761-763.

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B. D. 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 46: 4113-4117

Yates, P., and Stout, G. H. 1958. The Structure of Mangostin. Contribution from the Department of Chemistry Harvard University.903-906.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.

วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น modell 600, Germany)
2. ถ้วยอะลูมิเนียม
3. desiccator

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว

2. นำตัวอย่างไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ โดยเปิดฝาถ้วยอะลูมิเนียมไว้

3. นำถ้วยอะลูมิเนียมออกจากตู้อบ ปิดฝาถ้วยและทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator จากนั้นชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์

อุปกรณ์

1. เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator)

สารเคมี

1. สารละลายคลอโรฟอร์ม-กรดอะซิติก อัตราส่วน 2 : 3 โดยปริมาตร
2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI , AR grade) 100 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มและทำให้เย็นแล้ว ปริมาตร 70 มิลลิลิตร เก็บสารละลายในขวดสีชา ให้เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน
3. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$, AR grade) ความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล เตรียมโดยละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 25 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร นำไปต้มให้เดือดอ่อนๆ เป็นเวลา 5 นาที ยกลงเทใส่ขวดสีชาขณะร้อน เก็บสารละลายนี้ในที่มืดและเย็น เมื่อนำมาใช้ให้เจือจางสารละลายด้วยน้ำกลั่นต้มใหม่จำนวน 10 เท่า
4. น้ำแป้ง ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 เตรียมโดยชั่ง soluble starch 1.5 กรัม เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 วินาที ยกลงทิ้งให้เย็น
5. โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$, AR grade) อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
6. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl , AR grade) ความเข้มข้น 1 นอร์มัล เตรียมโดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นมา 8.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
7. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI , AR grade)

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (A.O.A.C., 1995)

1. ชั่งโพแทสเซียมไดโครเมต (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในขวดชมพู่ที่มีจุกปิด
2. เติมน้ำที่ปราศจากคลอรีน 80 มิลลิลิตร ที่มีโพแทสเซียมไอโอไดด์อยู่ 2 กรัม
3. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 นอร์มัล 20 มิลลิลิตร พร้อมกับแกว่งขวด แล้วปิดจุก เก็บในที่มืดทันทีเป็นเวลา 10 นาที
4. ไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต เมื่อสารละลายในขวดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน ให้เติมน้ำแป้งแล้วไตเตรตต่อไป จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี

5. คำนวณหาความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตได้ตามสูตร

ความเข้มข้น (นอร์มัล) = น้ำหนักโพแทสเซียมไดโครเมต (กรัม) x 1000 / ปริมาตรโซเดียมไธโอซัลเฟต (มิลลิลิตร) x 49.032

วิธีการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Low และ Ng, 1987)

1. เติมสารละลายคลอโรฟอร์ม-กรดอะซิติก ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่มีไขมัน แล้วแกว่งขวดเพื่อละลายไขมัน
2. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว จำนวน 1 มิลลิลิตร ปิดปากขวดทันที นำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที
3. เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แล้วเขย่า
4. ไตเตรตไอโอดีนที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน จึงเติมน้ำแป้งจำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตต่อไปจนกระทั่งสารละลายไม่มีสี
5. ทำ blank ตามวิธีข้างต้นแต่ไม่มีตัวอย่างไขมัน
6. คำนวณหาค่าเปอร์ออกไซด์ตามสูตรต่อไปนี้

ค่าเปอร์ออกไซด์ (Milliequivalent/kg) = $\frac{(A - B) \times C \times 1000}{W}$

เมื่อ A คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับ blank (มิลลิลิตร)

C คือ ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (นอร์มัล)

W คือ น้ำหนักไขมันตัวอย่าง (กรัม)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวศนิดา คูนพานิช เกิดวันที่ 20 มีนาคม 2524 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ ภาควิชาโภชนาการ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2545 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2546

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย