บทที่ 5
การวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสาร อัลลิอิน ที่มีอยู่ในพันธุ์ต่างๆของกระเทียมที่มีปลูกในประเทศไทยและในผลิตภัณฑ์ที่เป็นอาหารเสริมสุขภาพ (Health Food) ที่มีขายในประเทศไทย ด้วยวิธีทาง ทีแอลซี-เดนซิโตเมตรี นั้น จะประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่คือ ขั้นตอนแรกเป็น การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตรกราฟีฉาบบาง ซึ่งจำเป็นต้องหาระบบตัวทำละลาย (solvent system) ที่เหมาะสมในการแยกสาร อัลลิอิน ออกจากสารอื่นๆ ในระยะห่างที่เหมาะสม ที่จะดำเนินการในขั้นที่ 2 ต่อไป คือการหาปริมาณ อัลลิอิน โดยอาศัยหลักการการดูดกลืน แสงของสาร แล้วอ่านค่าออกมาเป็นพื้นที่ใต้พีค (Peak area) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า TLC-Densitometer

ในการศึกษาครั้งนี้ ระบบตัวทำละลายที่สามารถแยก สารอัลลิอิน ออกจากสารอื่นๆ ในระยะห่างที่เหมาะสมคือ ระบบตัวทำละลายที่ประกอบด้วย นอร์แมล-บิวทาทอล กรดแอซีติกล้วน อะซิโตน และ น้ำ ในอัตราส่วน 35:7:35:23 ซึ่งจะให้ค่า Rf value ของสาร อัลลิอิน = 0.6 (Rf value= 0.6) โดยตำแหน่งของสาร อัลลิอิน จะปรากฏบนแผ่นโครมาโทกราฟีฉาบบาง จะสามารถทำการตรวจสอบได้โดยใช้สารละลายนินไฮดรินในเมธานอล ได้อนุพันธ์ของสารอัลลิอิน ที่มีสีเหลือง-น้ำตาลปรากฏขึ้น เมื่อนำไปอบที่ 100°ซ นาน 5 นาที โดยที่สีของสารอนุพันธ์ที่ เกิดขึ้นนี้มีความคงตัวที่ไม่ค่อยดีนัก คือ เมื่อทิ้งไว้เป็นเวลานาน สีจะค่อยๆจางลง (ภายในเวลา 2-3 ชั่วโมง) ดังนั้นในการวิเคราะห์หาปริมาณสารอัลลิอิน โดยใช้เทคนิคทางทีแอลซี-เดนซิโตเมตรี จึงต้องทำต่อเนื่องกันไปอย่างรวดเร็ว เพื่อมิให้ผลการทดลองผิดพลาดคือ วิเคราะห์หาปริมาณในตัวอย่างได้น้อยกว่าความเป็นจริง

นอกจากนั้น การวิเคราะห์หาปริมาณ อัลลิอิน โดยใช้เทคนิคนี้ ยังมีข้อจำกัด หรือมีข้อเสียคือมีความสามารถในการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลลิอิน ที่มีอยู่ในปริมาณน้อยๆในตัวอย่างไม่ได้ (คือน้อยกว่า 0.6%) อันเกิดเนื่องจาก สีที่เกิดขึ้นของอนุพันธ์มีขีดจำกัด กล่าวคือ การมีปริมาณสาร อัลลิอิน ที่น้อยเกินไป การเกิดสีของอนุพันธ์ก็จะไม่สามารถสังเกตุเห็นได้ แต่ในทางกลับกัน การมี

ปริมาณของสาร อัลลิอิน ที่พอที่จะสังเกตุเห็นผลได้ ปริมาณสารนินไฮดรินที่มากเกินพอ ก็จะไม่มีผลทำให้สีที่เกิดขึ้นของสารอนุพันธ์ เพิ่มมากขึ้นแต่อย่างใด นั่นคือ การวิเคราะห์หาปริมาณ สารอัลลิอิน โดยเทคนิคนี้จะมีความไวต่ำกว่าการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคทาง เอชพีแอลซี (ดูผลดังตารางที่ 18) จะเห็นว่าในผลิตภัณฑ์สามชนิดที่ตรวจไม่พบสาร อัลลิอิน เมื่อใช้เทคนิคทาง ทีแอลซี-เดนซิโตเมตรี แต่เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค เอชพีแอลซี จะพบว่ามีสาร อัลลิอิน อยู่ในผลิตภัณฑ์ทั้งสาม แต่เป็นปริมาณที่น้อยมาก เมื่อเทียบกับปริมาณ อัลลิอิน ที่พบในผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น

เมื่อพิจารณาถึง ความแม่นยำของเทคนิคนี้ ได้ทำการเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค เอชพีแอลซี พบว่าจะให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (The coefficient of variation, %CV) เฉลี่ยเท่ากับ 0.9682 ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า เทคนิค ทีแอลซี-เดนซิโตเมตรี ในการวิเคราะห์เป็นวิธีที่เชื่อถือได้ วิธีหนึ่ง

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบปริมาณอัลลิอินที่ได้จากวิธี ทีแอลซี-เดนซิโตมีทรี และวิธีไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราในผลิตภัณฑ์กระเทียมที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ

ตัวอย่างที่	ปริมาณอัลลิอิน(%โดยน้ำหนัก)		เอนไซม์อัลลิอินเนส
	TLC	HPLC	
1	1.75 ± 0.01	1.85 ± 0.03	+
2	1.30 ± 0.01	1.32 ± 0.12	-
3	ไม่พบ	0.57 ± 0.04	-
4	1.18 ± 0.13	1.25 ± 0.011	+
5	1.85 ± 0.062	2.01 ± 0.055	+
6	2.05 ± 0.128	2.34 ± 0.047	+
7	2.15 ± 0.078	2.24 ± 0.077	-
8	ไม่พบ	0.477 ± 0.009	-
9	1.87 ± 0.071	2.12 ± 0.078	-
10	ไม่พบ	0.23 ± 0.012	-
11	1.37 ± 0.076	1.45 ± 0.127	-

+ ตรวจพบเอนไซม์อัลลิอินเนส

- ตรวจไม่พบเอนไซม์อัลลิอินเนส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์หาปริมาณ อัลลิอิน โดยเทคนิค ทีแอลซี-เดนซิโตเมตรี มีความไวต่ำกว่าเทคนิค เอชพีแอลซี เนื่องจากวิธีการที่ใช้ในการตรวจสอบ (Detection) ที่แตกต่างกัน เนื่องจากในการวิเคราะห์หาปริมาณ อัลลิอิน จำเป็นต้องเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารอนุพันธ์ที่สามารถทำการตรวจวัดได้ โดยเทคนิคทีแอลซี-เดนซิโตเมตรี จะทำการเปลี่ยนรูป อัลลิอิน ไปเป็นสารประกอบที่มีสี โดยการเกิดปฏิกริยากับสารนินไฮดริน ดังนั้นในการตรวจสอบสารนี้จึงใช้ UV-visible detector เป็นเครื่องตรวจสอบ แต่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเอชพีแอลซี จะทำการเปลี่ยนรูป อัลลิอิน ไปเป็นสารอนุพันธ์ที่อยู่ในรูป N-substituted isoindole derivative กับสาร O-Phthaldialdehyde reagent (OPA) โดยสารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้น จะมีคุณสมบัติในการเรืองแสง ดังนั้นในการตรวจสอบจึงใช้ Fluoriometric detector เป็นเครื่องตรวจสอบ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่า Fluoriometric detector จะมีความไวสูงกว่า UV-visible detector ถึง 1000 เท่า จึงอาจเป็นเหตุให้เทคนิคทาง TLC-densitometer มีความไวในการวิเคราะห์ต่ำกว่าเทคนิคทาง เอชพีแอลซี ในการศึกษาครั้งนี้

จากผลการทดลองในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอิน ในตัวอย่างกระเทียมพันธุ์ต่างๆที่มีการปลูกในประเทศไทยจากแหล่งต่างๆเมื่อเปรียบเทียบจากแหล่งของแปลงทดลองปลูกจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งอายุการเก็บเกี่ยวโดยเฉลี่ยของกระเทียมจะประมาณ 100 วัน โดยทำการเพาะปลูกและทำการเก็บเกี่ยวในระยะเวลาใกล้เคียงกัน พบว่า กระเทียมพันธุ์จีน 2 และพันธุ์ไต้หวัน จะให้ปริมาณอัลลิอิน มากกว่าร้อยละ 2 โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนพันธุ์อื่นๆก็จะให้ปริมาณ อัลลิอิน อยู่ในช่วงร้อยละ 1.56-1.94 โดยน้ำหนักแห้ง และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณอัลลิอิน ที่มีในกระเทียมพันธุ์ศรีสะเกษจากแปลงทดลองปลูกจังหวัดเชียงใหม่ แปลงทดลองปลูกจังหวัดศรีสะเกษ และจากตลาดในจังหวัดศรีสะเกษ พบว่าปริมาณอัลลิอิน ที่ทำการวิเคราะห์ได้ จากแปลงทดลองปลูกจังหวัดเชียงใหม่และศรีสะเกษจะได้ค่าใกล้เคียงกันคือ 1.56 และ 1.59 ตามลำดับ สำหรับกระเทียมพันธุ์ศรีสะเกษที่นำมาจากตลาดในจังหวัดศรีสะเกษจะมีปริมาณต่ำกว่าจากแหล่งอื่นๆคือร้อยละ 1.07 โดยน้ำหนักแห้ง อาจเป็นผลเนื่องมาจากการเพาะปลูกที่แตกต่างกัน หรืออาจมีการควบคุมดูแลระหว่างการเพาะปลูกไม่ดีเท่าการเพาะปลูกจากแปลงทดลอง ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงสรุปได้ว่าการเพาะปลูกจะมีผลต่อปริมาณอัลลิอินในหัวกระเทียม

จากผลการทดลองในการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินในตัวอย่างกระเทียมที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพจำนวน 11 ชื่อการค้าซึ่งมีทั้งที่ทำการผลิตในประเทศไทยและจากต่างประเทศ จากการวิเคราะห์หาปริมาณอัลลิอินโดยใช้เทคนิคทาง ทีแอลซี-เดนซิโตเมตรี จะพบว่ามีสารอัลลิอินใน 8 ผลิตภัณฑ์ ในปริมาณตั้งแต่ 1.30-2.15 ร้อยละโดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นปริมาณที่เทียบเท่ากับที่พบในหัว

กระเทียม และจาก 8 ชื่อการค้าที่พบสารอัลลิอิน เมื่อนำมาทำการตรวจหาถึงการมีอยู่ของเอนไซม์อัลลิอินเนส พบว่าจะมี 4 ตัวอย่างที่สามารถตรวจพบเอนไซม์อัลลิอินเนส คือในตัวอย่างที่ 1 4 5 และ 6 (ตารางที่ 18) เหตุผลที่ทำให้ผลิตภัณฑ์กระเทียมแต่ละชื่อการค้ามีองค์ประกอบที่แตกต่างกันไป จะมีสาเหตุมาจากกระบวนการผลิตที่แตกต่างกันไป โดยผลิตภัณฑ์ที่ตรวจพบทั้งสารอัลลิอินและเอนไซม์อัลลิอินเนสจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าสูงกว่าผลิตภัณฑ์อื่นๆ เนื่องจากผู้บริโภคที่รับประทานผลิตภัณฑ์กระเทียมเป็นอาหารเสริมสุขภาพก็เพื่อต้องการฤทธิ์ในการลดปริมาณโคเลส-เตอรอลในเส้นเลือด หรือฤทธิ์ลดความดันโลหิต ซึ่งสารที่ก่อให้เกิดฤทธิ์ดังกล่าวคือ อัลลิซิน แต่สารอัลลิซินที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นสารที่มีความไม่คงตัว สามารถพร้อมที่จะสลายตัวให้สารอื่นๆต่อไป ดังนั้นในผลิตภัณฑ์ที่ตรวจไม่พบสารอัลลิอิน ก็อาจตรวจพบสารอัลลิซินได้ แต่เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เหล่านี้ไว้นานๆปริมาณ อัลลิซิน ก็จะลดลงไปด้วย สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ตรวจพบ อัลลิอิน แต่ไม่พบเอนไซม์อัลลิอินเนส เมื่อรับประทานเข้าไปในร่างกายแล้ว ก็จะไม่สามารถเปลี่ยนเป็นสารออกฤทธิ์ได้ และสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ตรวจพบทั้ง อัลลิอิน และ เอนไซม์อัลลิอินเนสเมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกายแล้ว สารอัลลิอิน ก็จะถูกเปลี่ยนเป็นอัลลิซินซึ่งสารออกฤทธิ์ โดยเอนไซม์นี้ ดังนั้นร่ายกายจึงสามารถดูดซึมสาร อัลลิซิน ได้อย่างเต็มที่และเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้นานๆโดยถูกวิธี คือ เก็บในที่ที่ไม่ชื้น ก็จะไม่มีการสลายตัวของ อัลลิอิน เพราะสาร อัลลิอิน เป็นสารที่มีความคงตัวสูง และจะไม่เกิดปฏิกริยากับเอนไซม์ อัลลิอินเนสเมื่อเก็บไว้ในสภาวะที่เหมาะสม

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้คาดว่าจะมีประโยชน์ในแง่ของการคัดเลือกพันธุ์กระเทียมที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการทำผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ และยังเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์กระเทียม เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากการบริโภคผลิตภัณฑ์มากที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย