องค์ประกอบทางเคมีจากยางผลมังคุด

Chemical composition of secreted resin of mangosteen fruit

โดย

นาย ธนดล แก้วอยู่

นาย ทินกร พันเดช

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

เรื่อง องค์ประกอบทางเคมีจากยางผลมังคุด

โดย นายธนดล แก้วอยู่

นายทินกร พันเดช

ได้รับการอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา เลิศปรัชญา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มล. ศิริพัสตร์ ไชยันต์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดย หัวหน้าภาควิชาเคมี

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมีจากยางผลมังคุด

ชื่อนิสิตในโครงการ 1. นายธนดล แก้วอยู่ เลขประจำตัว 533308323

2. นายทินกร พันเดช เลขประจำตัว 533308323

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

การเกิดเนื้อแก้วซึ่งเกิดจากการหลั่งของยางผลมังคุดภายในผลและน้ำยางที่ผิวของผลมังคุดซึ่งเกิดจากการหลั่งของยางมังคุดภายนอกผลมังคุด เป็นปัญหาใหญ่ของเกษตรกรผู้ปลูกมังคุด โดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากยางของผลมังคุด พบว่าตัวทำละลายในการสกัดที่ดีที่สุดคือ เมทานอล จากนั้นเมื่อแยกสารที่สกัดได้ ด้วยเทคนิค คอลัมน์โครมาโท-กราฟีได้ fraction ผสมทั้งหมด 10 fractions โดย fraction ที่มีปริมาณมากที่สุดคือ fraction ที่ 4 ถูกทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นโดยใช้ อัตราส่วนระหว่าง เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท ในการตกผลึกได้สาร 3 fractions คือ fraction ที่ 4-1, 4-2, และ 4-3 โดยการเปรียบเทียบด้วยการวิเคราะห์ด้วย ^{1}H-NMR จากข้อมูลในงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่า สารใน fraction 4-1 คือ α-mangostin นอกจากนั้น ทำการแยก fraction ที่ 6 ซึ่งเป็น fraction ผสม ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้ 6 fractions คือ 6-1, 6-2, 6-3, 6-4, 6-5, และ 6-6. โดยฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งทดสอบด้วย DPPH และเทียบกับสาร Trolox พบว่า fraction ที่ 4-2, 4-2, 4-3 และ fraction ที่ 6-3 และยางจากผลมังคุด มีค่า TEAC คือ 0.052, 0.146, 0.054, 2.189 และ 0.431 ไมโครโมล / กรัม

คำสำคัญ : สารต้านอนุมูลอิสระ , ยางผลมังคุด

Title **Chemical composition of secreted resin of mangosteen fruit**

Study names 1. Mister Thanadon Kaewyoo ID 5333083223

2. Mister Thinnakorn Pandej ID 5333080323

Advisor Assoc. Prof. Dr. Surachai Pornpakakul

Department of Chemistry , Faculty of Science , Chulalongkorn University , Academic year 2556

Abstract

Translucent disorder and yellow secreted resin cover on fruits of mangosteen , caused by yellow secretion inside and outside of the fruit respectively , are the most important of mangosteen seller. This research had studied the chemical composition and antioxidant activity of the secreted resin of magosteen fruit. It was found that methanol is the most effective solvent for extraction. The extract was subjected to column chromatography to give 10 combined fractions. The major fractions was further purified by crystallization from hexane - Ethyl acetate to give three fractions , 4-1, 4-2 and 4-3. By ^{1}H-NMR analysis and comparison with data in literature the fraction 4-1 was identified as α-mangostin. Additionally the combined fraction 6 was further isolated by column chromatography to give six combined fractions 6-1, 6-2, 6-3, 6-4 , 6-5 and 6-6 . Antioxidant activity was also evaluated using DPPH radical scavenging assay and Trolox was used as positive control. The fraction 4-1, 4-2, 4-3 and 6-3 and the secreted resin exhibited antioxidant activity with Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) values of 0.052, 0.146, 0.054, 2.189 and 0.431 μmol/g , respectively

Keywords : Antioxidant , Garciana mangostana , secreted resin of mangosteen fruit

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้ความรู้ อธิบาย หลักการและ ทฤษฎีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย และคอยดูแลตลอดระยะเวลาที่ทำงานวิจัย ทำงานงานวิจัยเสร็จสำเร็จได้ตามเวลาที่ตั้งไว้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มล. ศิริพัสตร์ ไชยันต์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา เลิศปรัชญา อาจารย์กรรมการสอบที่ให้คำแนะนำต่างๆ รวมถึงให้ความรู้ในการนำเสนองานวิจัยให้ออกมาได้ดีด้วย

ขอขอบคุณพี่นิสิต ปริญญาโทและปริญญาเอกในหน่วย RCBC ที่ให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการทำงานวิจับ

โครงการวิจัยนี้ที่ได้รับเงินสนับสนุนจากโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2556 ไว้ ณ โอกาสนี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
สารบัญแผนภาพ	ฌ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 แนวเหตุผลกับสมมติฐานและมูลเหตุจูงใจ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ข้อมูลของมังคุดและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้อมูลต้นมังคุด	3
2.1.1 ต้นมังคุด	3
2.1.2 สรรพคุณของมังคุด	4
2.2 ข้อมูลเกี่ยวกับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ	7
2.3 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	17
3.1.1 อุปกรณ์	17
3.1.2 สารเคมี	17
3.2 วิธีการสกัดยางจากเปลือกมังคุด	18
3.3 วิธีการแยกสารสกัดยางจากผลมังคุดด้วยเทคนิค Column chromatography	19
3.3.1 สารเคมีที่ใช้	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.2 การแยกสาร	19
3.4 เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบสาร	20
3.5 การวิเคราะห์ปริมาณการต้านสารอนุมูล อิสระด้วยวิธี DPPH	21
3.5.1 เตรียมสารละลายตัวอย่าง	21
3.5.2 เตรียมสารละลายโทรลอกซ์	21
3.5.3 เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.0076 % (W/V)	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	23
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	38
เอกสารอ้างอิง	40
ภาคผนวก	42
ประวัติผู้เขียน	49

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	แสดงโครงสร้างของสารประกอบ Xanthone ทั้ง 14 ชนิด	12
2-2	แสดงโครงสร้างสารประกอบ Xanthone ทั้ง 6 ชนิด	15
4-1	แสดงร้อยละของน้ำหนักที่สกัดด้วยตัวทำละลาย	24
4-2	แสดงน้ำหนักทั้ง10 fraction หลังการแยกด้วยคอลัมน์	27
4-3	แสดงร้อยละของผลได้ของทั้ง10 fraction	29
4-4	แสดงการเปรียบเทียบสารระหว่าง α-mangostin กับ fraction ที่ 4-1st	30
4-5	แสดงการเปรียบเทียบค่าเคมิคอลชิฟท์ระหว่าง γ-mangostin , Gartanin , Gartanone E , β-mangostin กับ fraction ที่ 6-3rd	35
4-6	แสดงค่าIC_{50} ของสาร หลังการทดสอบด้วย DPPH	36
4-7	แสดงค่า TEAC	37

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 1-1 มังคุดที่มีลักษณะเป็นเนื้อแก้ว 1
รูปที่ 1-2 เปลือกมังคุดที่เสียหายจากการหลังยาง 1
รูปที่ 2-1 ต้นมังคุด 4
รูปที่ 2-2 ผลมังคุด 4
รูปที่ 2-3 โครงสร้างของ Xanthone 11
รูปที่ 3-1 ยางมังคุดที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลาย 18
รูปที่ 4-1 TLC ที่ใช้ 100% ไดคลอโรมีเธนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ 25
รูปที่ 4-2 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของยางมังคุดที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเธน อะซิโตน และเมทานอล 25
รูปที่ 4-3 TLC ที่ใช้ 20% เอธิลอะซิเตทในเฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ 26
รูปที่ 4-4 (A)TLC ที่ใช้ 30% ไดคลอโรมีเธนในเฮกเซนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ 27
รูปที่ 4-4 (B)TLC ที่ใช้ 5% เมทานอลในไดคลอโรมีเธนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ 27
รูปที่ 4-5 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของ สารทั้งหมด 10 fraction ที่ผ่านการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี 28
รูปที่ 4-8 แสดง การ อินทิเกรตของ พีค Hydroxyเพื่อหาปริมาณ α-mangostin 31
รูปที่ 4-9 สารสีส้มและสีเหลืองที่ได้จากตกผลึก fraction ที่ 4 32
รูปที่ 4-10 TLC ที่ใช้ 40% เอธิลอะซิเตทในเฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ 32
รูปที่ 4-11 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของ fraction ที่ 6.2, 6.3, 6.5, 6.9 และ 6 33
รูปที่ 4-12 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของ fractionที่ 6 และ fractionที่ 6.3 34
รูปที่ 4-13 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของ fractionที่ 4 และ fractionที่ 6.3 34
รูปที่ 4-14 คือ microtiter plate ในการทดสอบค่า DPPH radical scavenging assay 37

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่ **หน้า**

4.1 แสดงการทำงานโดยสังเขป 23

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical
IC_{50}	Half Maximal Inhibitory Concentration
TEAC	Trolox Equivalent Activity Capacity
TLC	Thin Layer Chromatography
NMR	Nuclear Magnetic Resonance

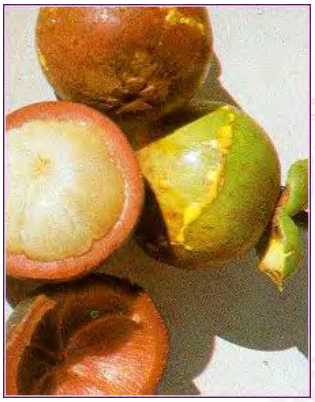
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 แนวเหตุผลกับสมมติฐานและมูลเหตุจูงใจ

มังคุดที่ขายในท้องตลาดเป็นมังคุดที่ได้รับการคัดสรรค์อย่างดีแล้วว่ามีคุณภาพแต่ มีมังคุดอีกจำนวนมากที่ถูกคัดออกไปอย่างน่าเสียดาย อันเนื่องมาจากเสียหายไม่สามารถนำมาบริโภคได้ ความเสียหายที่เกิดขึ้นดังกล่าวเกิดจากสารประกอบบางชนิดซึ่งมีลักษณะเป็นยาง เมื่อผลมังคุดถูกบีบจะส่งผลให้ผลมังคุดหลั่งยางนี้ออกมา สันนิษฐานว่ายางที่ออกมาจะช่วยซ่อมแซมส่วนที่เสียหายของผลมังคุด แต่ในทางกลับกัน ยางผลมังคุดหากเหลือเข้าสู่ภายในผลมังคุดทำให้มังคุดเกิดอาการบางอย่างที่เรียกว่า ”เนื้อแก้ว” ซึ่งเป็นอาการที่ทำให้เนื้อมังคุดมีลักษณะแข็งและไม่สามารถนำมาขายได้ และหากหลั่งยางสู่ภายนอกผลก็จะทำให้ผิวผลมังคุดไม่สวยงามและจัดเป็นผลมังคุดคุณภาพต่ำดูรูปที่ 1-1 และ 1-2 ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาองค์ประกอบของยางมังคุด ซึ่งหากทราบองค์ประกอบของยางเปลือกมังคุดก็อาจจะหาสาเหตุหรือช่วยยับยั้งการหลั่งน้ำยางดังกล่าว หรือสามารถนำยางไปใช้ประโยชน์



รูปที่ 1-1 มังคุดที่มีลักษณะเป็นเนื้อแก้ว

รูปที่ 1-2 เปลือกมังคุดที่เสียหายจากการหลั่งยาง

ที่มาของภาพ : http://www.agriqua.doae.go.th/plantclinic/Clinic/plant/mango_stream/kaew.html (รูปที่ 1-1)

: http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=107 (รูปที่ 1-2)

มังคุดขึ้นชื่อในเรื่องการบำรุงสุขภาพตั้งแต่สมัยโบราณเชื่อกันว่ามังคุดเป็นยารักษาโรคได้หลายอย่าง ถือว่าเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งเลยก็ว่าได้ แต่ผลมังคุดมีข้อเสียอย่างหนึ่งที่ไม่สามารถนำมาบำรุงสุขภาพได้เต็มที่นั่นคือ การที่มังคุดมีรสหวานซึ่งจะเป็นผลเสียต่อร่างกายกับผู้ที่มีโรคประจำตัวคือโรคเบาหวาน การรับประทานของหวานเป็นประจำจะส่งผลเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานด้วย ดังนั้นผลมังคุดจึงไม่เหมาะกับการนำมาบำรุงสุขภาพเป็นประจำ ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาวิจัยใช้ส่วนต่างๆของมังคุดเพื่อไปค้นหาสารสำคัญแต่ในงานวิจัยนี้จะใช้ยางที่ได้จากผลมังคุดมาทำการวิจัย

นอกจากผลทางด้านบำรุงร่างกายแล้ว มังคุดยังประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ สารเหล่านี้ร่างกายสามารถสร้างเองได้ แต่ในปัจจุบันอนุมูลอิสระมีมากมายบ้างก็อยู่ในอากาศบ้างก็อยู่ในอาหารที่เรารับประทาน เมื่อสภาพแวดล้อมของมนุษย์เปลี่ยนไปอย่างรวดเร็วร่างกายก็ไม่อาจวิวัฒนาการได้ทันจึงทำให้ไม่สามารถทนต่ออนุมูลอิสระเหล่านั้นได้อาจเป็นเพราะอนุมูลอิสระเหล่านั้นมากเกินไป จึงทำให้อนุมูลอิสระเหล่านั้นเข้าโจมตีเซลล์ของร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง หรือการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์

1.2 วัตถุประสงค์

1. ทำศึกษาองค์ประกอบของในยางในเปลือกมังคุด
2. ศึกษาความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระจากสารประกอบที่สกัดได้จากยางมังคุด

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้จะศึกษาวิธีการสกัดสารออกจากยางจากผลมังคุดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต อะซิโตน และเมทานอล จากนั้นทำการแยกสารสกัดด้วยการใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี ซึ่งจะใช้ตัวทำละลายเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่คือ เอทิลอะซิเตต ไดคลอโรมีเธน และเมทานอล จากนั้นจะวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี และศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH Scavenging assay

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีแยกองค์ประกอบยางเปลือกผลมังคุด
2. ทราบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของยางจากเปลือกผลมังคุดและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

บทที่ 2

ข้อมูลของมังคุดและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลต้นมังคุด

2.1.1 ต้นมังคุด

มังคุด (mangosteen) มีชื่อวิยาศาสตร์คือ *Garcinia mangostana* Linn. และมีชื่อวงศ์คือ Guttiferae เป็นไม้ผลยืนต้นขนาดใหญ่ ชอบอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์สูงประมาณ 75-85% ดินควรมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ประมาณ 5.5-6.5 และที่สำคัญควรเลือกพื้นที่ปลูกที่มีน้ำเพียงพอตลอดช่วงฤดูแล้ง มังคุดจะให้ผลผลิตประมาณปีที่ 7 หลังปลูก แต่ผลผลิตต่อต้นในระยะแรกจะต่ำ ช่วงที่ให้ผลผลิตดีประมาณ 13 ปีขึ้นไป โดยเฉลี่ย 60 กิโลกรัม/ต้น (น้ำหนักผลเฉลี่ย 80 กรัม/ผล) มังคุดเป็นไม้ผลที่มีระบบรากหาอาหารค่อนข้างลึก ประมาณ 90-120 เซนติเมตร จากผิวดิน ดังนั้นจึงต้องการสภาพแล้งก่อนออกดอกค่อนข้างนาน โดยต้นมังคุดที่สมบูรณ์ใบยอดมีอายุระหว่าง 9-12 สัปดาห์เมื่อผ่านช่วงแล้งติดต่อกัน 21-30 วัน และมีการกระตุ้นน้ำถูกวิธีมังคุดจะออกดอก ช่วงพัฒนาการของดอก (ผลิตาดอก – ดอกบาน) ประมาณ 30 วันช่วงพัฒนาของผล (ดอกบาน – เก็บเกี่ยว) ประมาณ 11-12 สัปดาห์ ระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมคือ เริ่มมีสายเลือดได้ 1 ถึง 2 วัน ผลมังคุดที่มีสีม่วงแดงเก็บรักษาที่อุณหภูมิ10-13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% เก็บรักษาได้นานประมาณ 2-4 สัปดาห์ ฤดูกาลผลผลิตของภาคตะวันออกอยู่ในช่วงเดือน พฤษภาคม ถึง มิถุนายน ภาคใต้อยู่ในช่วงเดือน กรกฎาคม ถึง กันยายน

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ต้นมังคุดและผลมังคุด

รูปที่ 2-1 ต้นมังคุด

รูปที่ 2-2 ผลมังคุด

ที่มาของภาพ : http://science.sut.ac.th/gradbio/stupresent/2551/1_2551/gr_1/page2.html (รูปที่ 2-1)

http://www.naturerich.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=539642833&Ntype=9 (รูปที่ 2-2)

2.1.2 สรรพคุณของมังคุด

ในปี ค.ศ. 2008 วารสารทางวิชาการ *Food and Chemical Toxicology* ได้ทำการตีพิมพ์บทความทางวิชาการเกี่ยวกับสรรพคุณของมังคุดเรื่อง Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). (Pedraza-Chaverri และคณะ, 2008) ซึ่งในบทความทางวิชาการฉบับนี้ได้ทำการรวบรวมงานวิจัยต่างๆ เกี่ยวกับต้นมังคุดซึ่งจะยกตัวอย่างเช่น

ในปี ค.ศ. 1994 Yoshikawa และคณะ ได้ทำการสกัดสารออกจากเปลือกมังคุดโดยใช้วิธี Methanol Extraction และทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่ม Xanthone สองชนิดคือ γ-mangostin และ α-mangostin โดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging assay

ในปี ค.ศ. 2006 Weecharangsang และคณะ ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการต้านเซลล์ประสาทโดยสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยใช้วิธี Solvent Extraction และทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging assay โดยสารที่สกัดโดยใช้ตัวทำ

ละลายที่ต่างกันคือ น้ำ50% เอทานอล95% เอทิลอะซิเตท พบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำ50% เอทานอล95% มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิระที่สูง โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการต้านเซลล์มะเร็งของ น้ำ50% เอทานอล95% คือที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในปี ค.ศ. 2007 งานวิจัยเรื่อง Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by *Propionibacterium acnes*. (Chomnawang และคณะ, 2007) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียโดยใช้พืชสมุนไพรไทย 19 ชนิดในประเทศไทยโดยแบคทีเรียที่เขาศึกษาคือ *Staphylococcus epidermidis* และ *Propionibacterium acnes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดสิวมีพืชเพียง 13 ชนิด จาก 19 ชนิด ที่สามารถต้านแบคทีเรียได้โดยสารสกัดจากพืชมังคุดเป็นพืชที่ต้านแบคทีเรียได้มากที่สุด ซึ่งมีค่า MIC 0.039 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในปี ค.ศ. 2008 จากงานวิจัยของโรงพยาบาลคำม่วง จังหวัดกาฬสินธุ์ (ดุษฎี, 2008) ทำการวิจัยเรื่องประสิทธิผลของการล้างแผลผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นแผลเรื้อรังด้วยน้ำต้มสารสกัดสมุนไพรจากเปลือกมังคุดจากงานวิจัยได้สุ่มตัวอย่างผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นแผลเรื้อรัง 10 คน ซึ่งมีอายุระหว่าง 70-79 ปี จำนวน 4 คนและช่วงอายุ 50-59 ปี จำนวน3 คน ที่เหลืออายุต่ำกว่า 50 ปี จากการทำการรักษาพบว่าเมื่อทำการล้างแผลด้วยน้ำสกัดจะทำให้แผลมีแนวโน้มไปในทางที่ดีทุกคน

นอกจากนี้ยังมีบทความที่เกี่ยวกับมังคุดในหนังสือ “สมุนไพรน่ารู้” (สมุนไพรน่ารู้, 1998) เขียนเกี่ยวกับมังคุดไว้ โดยผู้เขียนคือนายวันดี กฤษณพันธ์ได้เขียนให้มุมมองเกี่ยวกับมังคุดของคนไทยและสรรพคุณของมังคุดไว้ดังนี้

ผลไม้ที่ได้รับการยกย่องให้เป็น "ราชินีของผลไม้" ก็คือ "มังคุด" ด้วยลักษณะ ภายนอกของผลที่มี กลีบเลี้ยงติด อยู่ที่หัวขั้วของผลคล้าย มงกุฎของพระราชินี ส่วนเนื้อใน ก็มีสีขาวสะอาดมีรสชาติที่แสน หวานอร่อยอย่างยากที่จะหาผลไม้อื่นมาเทียบได้เช่นเดียวกัน คนไทยเราจึงโชคดีเป็นอย่างยิ่งที่เมื่อย่างเข้าฤดูฝนก็จะมีทั้งราชาและราชินีของผลไม้ออกมา ให้ได้รับประทานกันอย่างเต็มอิ่ม แถมยังมีราคาถูกอย่างไม่น่าเชื่อจนเป็นที่อิจฉาของชาวต่างประเทศในหลายประเทศถึงขนาดที่พวกเขายอมลงทุนขึ้นเครื่องบินมากินทุเรียนและมังคุดในเมืองไทย กันปีละครั้งกันเลยทีเดียว เพราะมีไม่กี่ประเทศในโลกที่ปลูกทุเรียนและมังคุดได้ และทุเรียนและ มังคุดของไทยก็จัดว่าอร่อยที่สุด มังคุดเป็นไม้ผลเมืองร้อน แต่ชอบฝนชุ่มฉ่ำ จึงปลูกมากทางภาคใต้ของประเทศไทยเป็นไม้ ยืนต้นตั้งตรงสูง 10 - 12 เมตร ทุกส่วนจะมียางสีเหลืองมีใบเดี่ยวรูปไข่ เนื้อใบหนาค่อนข้างเหนียว คล้ายหนังสีเขียวเข้มเป็นมัน ออกดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกคู่ที่ซอกใบใกล้ ปลายกิ่งกลีบเลี้ยงสี เขียวอมเหลือง กลีบดอกสีแดงฉ่ำน้ำ เนื้อในของผลมังคุดสีขาวห่อหุ้ม ด้วยเปลือกหนาสีม่วงอมแดง หรือม่วงอมน้ำตาลอันมีกระจุกของกลีบเลี้ยงของดอกติดอยู่ ที่ขั้วของผลอันเป็นเอกลักษณ์ของมังคุด

มังคุดเป็นผลไม้ยอดนิยมที่สุดชนิดหนึ่งของคนไทย จะมีออกมาให้เราบริโภคเพียงปีละครั้ง คือ ช่วงย่างเข้าฤดูฝนด้วยเอกลักษณ์ของผลกลมขนาดไม่ใหญ่ไปกว่ากำมือมีกลีบเลี้ยงของดอกสี เขียวเป็นกระจุกด้านบน และกลีบดอกสีแดงแข็งเหลือติดอยู่ด้านล่างของผล สีของเปลือกสีม่วงอม แดงหรือม่วงอมน้ำตาลอันเป็นเอกลักษณ์อีกอย่างหนึ่งหากเสื้อผ้าหรือสิ่งของมีสีม่วงแดงหรือน้ำตาลก็จะเรียกว่าสีเปลือกมังคุดเมื่อปอกเปลือกของผลมังคุดออกสองซีก และพบเมล็ด 6 - 8 เมล็ด

หากเป็นคนสังเกตสักหน่อยก็จะพบว่า จำนวนของเนื้อสีขาวภายในผลมังคุดนี้จะมีจำนวนเท่ากับกลีบ ดอกสีแดงที่เหลือติดอยู่ด้านล่างภายนอกของผล การบริโภคมังคุด ทำให้เราได้กากใยจากเนื้อของมังคุดที่ช่วยในการขับถ่าย และยังได้สาร อาหาร วิตามินและเกลือแร่อื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และเหล็ก ประโยชน์ของมังคุดมิได้ มีอยู่แค่เนื้อในของมังคุดที่เราใช้เป็นอาหารเท่านั้น เปลือกของ มังคุดกับมีประโยชน์มากมายที่สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคอย่างได้ผล

คนไทยรู้จักการใช้ประโยชน์จากเปลือกมังคุดมาเป็นยารักษาโรคมานานแล้ว เพราะคนไทยสมัยโบราณค้นพบว่าเปลือกมังคุดรสฝาดสมาน จึงนำเปลือกมังคุดมาใช้เป็นยาแก้ท้อง เสียแก้ท้อง ร่วง เรื้อรัง ถ่ายเป็นมูกเลือด โดยการใช้เปลือกสดหรือเปลือกแห้งฝนกับน้ำรับประทาน หรือจะใช้เปลือกแห้งต้มกับน้ำรับประทานก็ได้ผลเช่นเดียวกัน

มังคุดยังมีสรรพคุณในการสมานแผล ช่วยให้แผลหายเร็ว เช่นใช้รักษาบาดแผลผุพอง แผลเน่าเปื่อย แผลเป็นหนอง โดยการใช้เปลือกมังคุดฝนกับน้ำปูนใส ทาบริเวณแผล น้ำต้มเปลือก มังคุดแห้งต้มน้ำล้างแผลใช้แทนการด้วยน้ำยาล้างแผลหรือด่างทับทิมได้ด้วย สรรพคุณที่โดดเด่นอีกอย่างหนึ่งของเปลือกมังคุดที่มีการใช้กันมาตั้งแต่อดีต ก็คือการใช้ เปลือกมังคุดรักษาโรคผิวหนัง เช่น กลากเกลื้อน บรรเทาอาการผดผื่นทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ได้เป็นอย่างดี โดยใช้เปลือกมังคุดแห้งต้มน้ำอาบ หรือใช้น้ำต้มเปลือกมังคุดทาบริเวณที่มีอาการ สรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนังของเปลือกมังคุดนี้ได้รับการพิสูจน์และยืนยันจากการวิจัย ทางวิทยาศาสตร์ที่ค้นพบว่า รสฝาดในเปลือกมังคุดนี้มีสารแทนนิน (Tannin) และสารแซนโทน (Xanthone) ที่มีชื่อเรียกเฉพาะชื่อเดียวกับมังคุดว่า สารแมงโกสติน (mangostin) สารแทนนินมีฤทธิ์ สมานแผลช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น สาร mangostin มีฤทธิ์ช่วยลดอาการอักเสบ และต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง สารแซนโทนในเปลือกมังคุดยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังและกลากได้

2.2 ข้อมูลเกี่ยวกับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals)คืออะไร

จากวารสาร *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* บทความทางวิชาการเรื่อง อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (บุหรัน, 2013) ได้ให้ความหมายของอนุมูลอิสระ (free radicals) ไว้ว่า เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่ง มีชีวิต และในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระ และว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา ดังสมการ 1 และ 2

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot} \qquad \text{(สมการ 1)}$$

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot} \qquad \text{(สมการ 2)}$$

อนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ oxygen radical, อนุพันธ์ของ oxygen radical (เช่น superoxide radical และ hydroxyl radical), hydrogen peroxide, transition metals (โลหะทรานซิชัน), carbonate radical ($CO_3^{\cdot}$), nitrate radical ($NO_3^{\cdot}$), methyl radical ($CH_3^{\cdot}$), superoxide radical ($O_2^{\cdot}$), peroxyl radical ($ROO^{\cdot}$), reactive oxygen species (ROS) เป็นต้น นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด (lipid), โปรตีน (protein), เอนไซม์ (enzyme), ดีเอ็นเอ (DNA), อาร์เอ็นเอ (RNA), คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate), เซลล์เมมเบรน (cell membrane), คอลลาเจน (collagen), ไมโตคอนเดรีย (mitocondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) คืออะไร

สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygenquenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metalchelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์(synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์(enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระเป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระดังสมการ 3 และ 4

$$R^{\cdot} + AH \longrightarrow RH + A^{\cdot} \qquad \text{(สมการ 3)}$$

$$RO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROH + A^{\cdot} \qquad \text{(สมการ 4)}$$

โดย $R^{\cdot}$ และ $RO^{\cdot}$ คือ อนุมูลอิสระ และ AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระแหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ propylgallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylated hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไปสารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามิน และสารอื่น ๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น vitamin C (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาซึม) vitamin E (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน) และ glutathione (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาซึมและเมมเบรน) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ได้แก่ glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจน และน้ำ ส่วนเอนไซม์ superoxid dismutase (SOD) สามารถเปลี่ยน $O_2^{\cdot}$ เป็น H_2O_2 สารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ carotenoids และ ubiquinones เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์

ในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระโดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไปจำพวกวิตามิน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งสารดังกล่าวได้จากพืชผักและผลไม้ ตัวอย่างอาหารที่มีเบต้าแคโรทีนสูง ได้แก่ ผักใบเขียว เช่น ตำลึง และผักบุ้ง อาหารที่มีสีเหลือง เช่น แครอท มะละกอสุก มะม่วงสุกมะเขือเทศ ฟักทอง อาหารที่มีวิตามินซี (vitamin C หรือ ascorbic acid) สูง ได้แก่ พืช ผักสีเขียว และผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ตำลึง ผักบุ้ง พริกหยวก ฝรั่งมะขามป้อม ส้ม มะนาว สับปะรด (วิตามินซีจากพืชผักดังกล่าวมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่แรงมากและละลายน้ำได้ดี) วิตามินอี (vitamin E หรือ tocopherol) ละลายได้ดีในน้ำมัน โดยวิตามินอีมีในน้ำมันจากเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ เช่น รำละเอียดในพวกธัญพืชที่ไม่ขัดขาว ข้าวโพด ข้าวกล้อง ถั่วแดง ถั่วเหลือง ผักกาดหอม เมล็ดทานตะวัน งา น้ำมันรำ

สารต้านอนุมูลอิสระกับโรคและภาวะต่าง ๆ

จาก *วารสารคลินิกอาหารและโภชนาการ* เรื่อง บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ ของ ดร. นพ. ประสงค์ เทียนบุญ (ประสงค์, 2009) ได้ให้ข้อมูลที่น่าสนใจเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระและโรคที่สามารถป้องกันได้โดยใช้สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกล่าวไว้ดังนี้ อนุมูลอิสระเป็น สารที่ประกอบด้วยอิเล็กตรอนเดียว 1 ตัวหรือมากกว่า ซึ่งถูกสร้างขึ้นจาก ขบวนการ metabolism ของเซลล์ ถ้าขบวนการนี้ไม่ถูก ยับยั้งโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) อนุมูลอิสระจะทำลายเซลล์และทำให้การทำงานของ เอนไซม์ที่สำคัญเปลี่ยนแปลงไป และเมื่อปล่อยทิ้งไว้ จะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์มากขึ้น การได้รับ สารต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์ทำให้เกิดขบวนการ oxidation ในร่างกาย เช่น ควันบุหรี่และหมอกควันจากสิ่งแวดล้อมรอบตัวก็สามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้ ซึ่งอาจไปทำลายไซโตปลาสซึม และอวัยวะเล็กๆในเซลล์ และอาจขัดขวางการซึมผ่านของสารอาหารต่างๆเข้าสู่เซลล์ทำให้เซลล์ตายได้

การที่มีการทำลายส่วนประกอบต่างๆของเซลล์นั้น ปกติแล้วจะถูกซ่อมแซมโดยร่างกายอย่างมีประสิทธิภาพ แต่ในบางโอกาส ซึ่งมักจะมีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่ร่างกายไม่สามารถซ่อมแซมได้ จึงทำให้เซลล์ถูกทำลายอย่างถาวร ก่อให้เกิดเกิดความแก่ชราและเกิดเป็นโรคเรื้อรังต่างๆขึ้น เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โรคมะเร็ง โรคต้อกระจก และข้ออักเสบจากโรครูมาตอยด์เป็นต้น ในกรณีเช่นนี้ร่างกายควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปเพื่อช่วยเหลือสารอาหารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่ควรรับประทาน คือ วิตามินอี วิตามินซีและเบต้าคาโรทีน เป็นต้น เนื่องจากวิตามินอีเป็นตัวสำคัญในการระงับการเกิดอนุมูลอิสระ วิตามินซีจะเป็นตัวระงับการเกิดอนุมูลอิสระ superoxide ส่วนเบต้าคาโรทีนจะช่วยระงับการเกิดอนุมูลอิสระในภาวะที่มีอ๊อกซิเจนต่ำดังนั้นการมีวิตามินทั้ง 3 ตัวอยู่ด้วยกันจึงช่วยกันทำงานซึ่งพบว่าสามารถ ช่วยป้องกันโรคและภาวะต่างๆ ดังนี้

1.1. โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน

เนื่องจากโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันเกิดขึ้น จากขบวนการเปอร์อกซิเดชันของไขมันโดยมีการสร้าง โฟมเซลล์ขึ้นที่ชั้นในของหลอดเลือดแดง ทำให้ชั้นใน ของหลอดเลือดแดงหนาตัวขึ้นเรื่อยๆ ในที่สุดเกิดเป็น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน สารอาหารต้านอนุมูลอิสระ (วิตามินอี วิตามินซี เบต้าคาโรทีน) สามารถชะลอการ เกิดขบวนการเหล่านี้ได้ โดยพบว่าวิตามินอีจะช่วยลด การเกาะตัวของไขมันกับผนังชั้นในของหลอดเลือด เมื่อคนมีอายุมากขึ้นระดับวิตามินอีในเกล็ดเลือดจะ ต่ำลง ทำให้มีการเกาะตัวของเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจมีผลทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันและยัง พบว่าวิตามินซีจะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของเอชดีแอล คอเลสเตอรอล (HDLC - high density lipoprotein cholesterol) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่ดี นอกจากนั้น จากงานวิจัยบางแห่งพบว่าเบต้าคาโรทีนสามารถช่วยลดอุบัติการณ์ของการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายได้

1.2. โรคมะเร็ง

อนุมูลอิสระเป็นตัวการสำคัญในการทำให้เกิดมะเร็งและทำให้เซลล์มะเร็งเจริญเติบโตมากขึ้น โดยทำให้เกิดการแตกของโครโมโซมและทำลายดีเอนเอ นอกจากนั้นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังจากอนุมูลอิสระจะสามารถทำให้เกิดมะเร็งตามมาได้ สารต้านอนุมูลอิสระหลายตัวพบว่ามีคุณสมบัติเป็นตัวต่อต้านการเกิดมะเร็ง เนื่องจากสารเหล่านี้ช่วยป้องกันดีเอนเอไม่ให้ถูกทำลายและยังทำให้ภูมิต้านทานดีขึ้นอีกด้วย วิตามินอีและวิตามินซี สามารถยับยั้งการเกิดการ ผ่าเหล่า (mutation) ของเซลล์และสามารถยับยั้งการ สร้างสารไนโตรซามีนที่เกิดจากอาหาร ควันบุหรี่ ไน เตรทและไนไตรท์ ส่วนเบต้าคาโรทีนสามารถป้องกัน การเกิดมะเร็งอันเนื่องมาจากแสงยูวี (ultraviolet light)

1.3. โรคต้อกระจก

มีรายงานพบว่าในผู้ที่เป็นโรคต้อกระจกมี ระดับของวิตามินซี วิตามินอีและคาร์โรทีนอยด์ในเลือดต่ำกว่าผู้ที่ไม่เป็นโรคต้อกระจกและยังพบว่า เลนส์มีระดับของวิตามินซีและกลูต้าไทโอน (glutathione) ต่ำดังนั้นวิตามินซีและวิตามินอีจะช่วยป้องกัน หรือยืดระยะเวลาของการเกิดโรคนี้

1.4. ภูมิต้านทานโรคติดเชื้อ

จากงานวิจัยพบว่าเบต้าคาโรทีนและวิตามินอี สามารถทำให้ภูมิต้านทานโรคดีขึ้น เนื่องจากเบต้า- คาโรทีนจะทำให้จำนวนของ T4 lymphocyte เพิ่มขึ้น และพบว่าในผู้สูงอายุที่มีระดับของพลาสม่าวิตามิน อีสูงจะมีโอกาสเกิดโรคติดเชื้อต่ำกว่าคนที่มีระดับ วิตามินอีต่ำ เป็นต้น

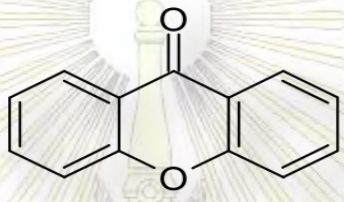
1.5. ความแก่ชรา

ได้มีผู้ตั้งทฤษฎีเกี่ยวกับอนุมูลอิสระกับความ แก่ชราว่า การเสื่อมสลายของเซลล์ที่เกิดในภาวะความแก่ชรานั้นเกิดจากการกระทำของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาโบลิซึม โดยพบว่า

เซลล์ มีการตายไปมากกว่าการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มปริมาณ ใน ปัจจุบันเริ่มมีความเชื่อว่าสารอาหารบางชนิดสามารถ ช่วยชลอความแก่ได้เช่น วิตามินอี วิตามินซี เบต้า-คาโรทีน กรดยูริค โซเดียมอ๊อกไซด์ดิสมิวเทสและ เซเลเนียม เป็นต้น ซึ่งยังไม่มีใครทราบชัดเจนยังคง ต้องค้นคว้าวิจัยต่อไปอีกมาก

2.3 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษางานวิจัยที่เคยศึกษาในเปลือกผลมังคุดพบว่าสารประกอบหลักที่พบในเปลือกมังคุดเป็นสารประกอบประเภท Xanthone ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 2-3

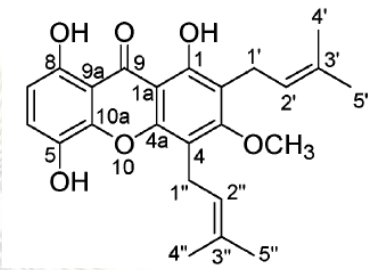
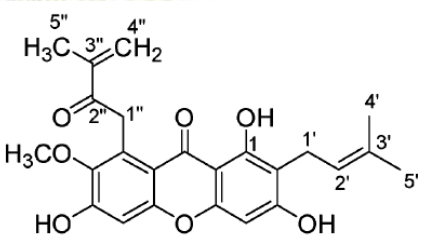
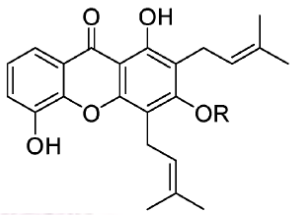
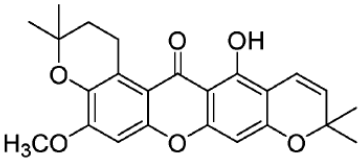


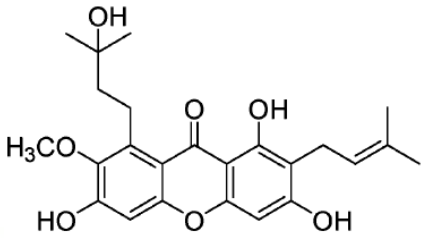
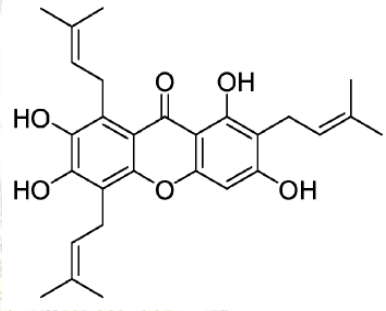
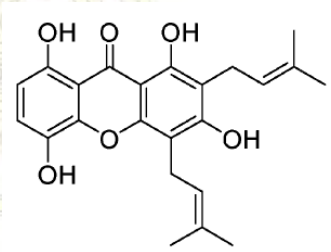
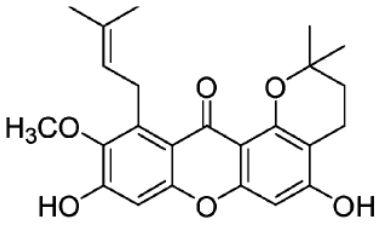
รูปที่ 2-3 โครงสร้างของ Xanthone

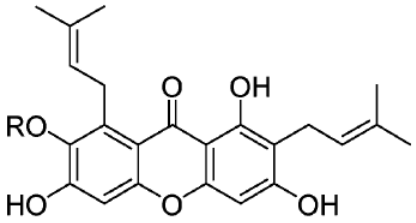
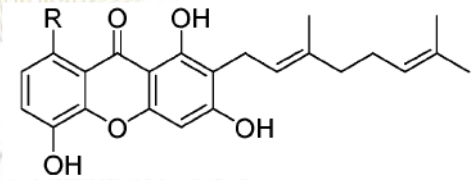
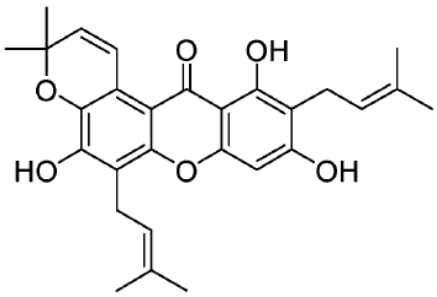
ในปี ค.ศ. 2006 จากวรสารทางวิชาการ *Phytochemistry* เรื่อง Antioxidant Xanthones from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). (Jung H.A. และคณะ, 2006) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่ม Xanthone ซึ่งสกัดได้จากเปลือกของผลมังคุด โดยงานวิจัยนี้สามารถแยกสารที่เป็นองค์ประกอบของเปลือกผลมังคุด ในกลุ่ม Xanthone (มีสูตรโมเลกุล $C_{13}H_8O_2$) ได้ทั้งหมด 14 สาร ดังที่แสดงในตารางที่ 2-1

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2-1แสดงโครงสร้างของสารประกอบ Xanthone ทั้ง 14 ชนิด

ชื่อสาร	สูตรโครงสร้าง
8-hydroxycudraxanthone G	
1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2-(3-methylbut-2-enyl)-8-(2-oxo-3-methylbut-3-enyl)-xanthone	
R = CH_3 cudraxanthone G R = H 8-deoxygartanin	
Garcimangosone B	

garcinone D	
garcinone E	
gartanin	
1-isomangostin	

R = CH_3 α-mangostin R = H γ-mangostin	
R = H mangostinone R = OH smeathxanthone A	
tovophyllin A	

และรายงานค่าปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ Peroxynitrite Scavenging โดย smeathxanthone และ 8-hydroxycudraxanthone มีค่า IC_{50} น้อยสุด ซึ่งแสดงถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่มากที่สุด

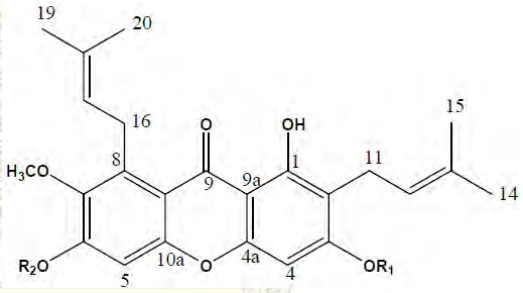
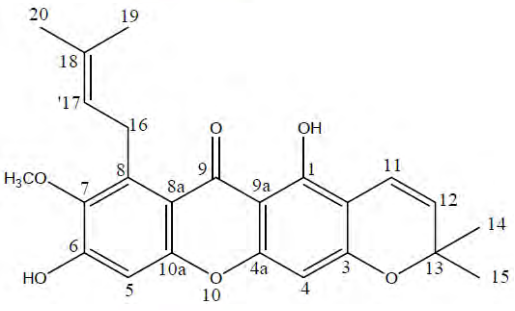
ในปี ค.ศ.2010 งานวิจัยเรื่อง Free radical scavenging and anti-acne activities of mangosteen fruit rind extracts prepared by different extraction methods (วีระยุทธ และคณะ, 2010) ได้ศึกษาการแยกสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยอาศัยการสากัดสารด้วยวิธีที่แตกต่างกันออกไป โดยใช้ 5 วิธีคือ 1. Maceration 2. Percolation 3. Extraction with magnetic stirrer 4. Ultrasonic extraction 5. Soxhlet extraction ส่วนในการทดสอบ DPPH Radical scavenging ผู้ทดลองใช้ DPPH ความเข้มข้น 152 ไมโครโมลาร์ ในการทำการทดลองซึ่งมีสูตรในการคิด %Inhibition คือ

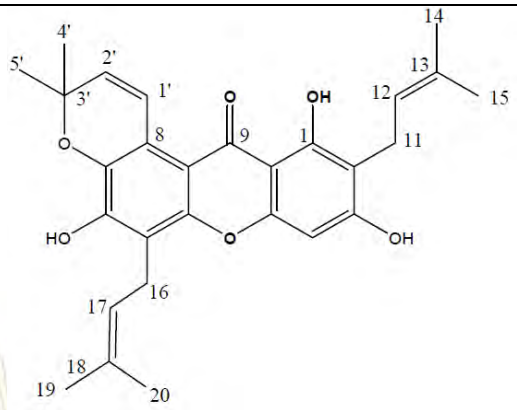
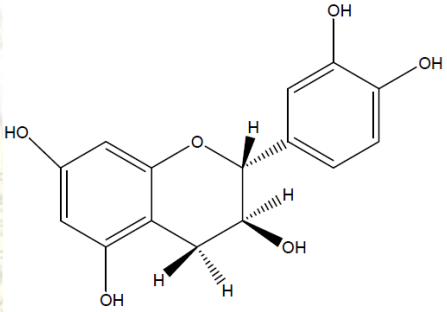
%Inhibition = [$Absorbance_{blank}$ – $Absorbance_{sample}$/ $Absorbance_{blank}$] x 100

จากการทดลองพบว่าวิธีการสกัด Soxhlet extraction ด้วย Ethanol 95% ให้ผลได้มากที่สุดคือ 31.52% ได้สารประเภท mangostin เฉลี่ยทุกการสกัดได้ 11.47 %(w/w) และ การหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดจาก Extraction with magnetic stirrer มีค่า IC_{50} มากที่สุดคือ 19.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในปี ค.ศ. 2013 งานวิจัยเรื่อง Phytochemical, antimicrobial and antiprotozoal evaluation of *Garcinia Mangostana* pericarp and α-Mangostin, its Major Xanthone derivative (Al-Massarani S.M. และคณะ, 2013) ทำการศึกษาสารสกัดจากเปลือกมังคุด จากการศึกษาพบสารประกอบ 6 ชนิด ซึ่งมี α-mangostin เป็นสารประกอบหลัก มีโครงสร้างดังที่แสดงในตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 แสดงโครงสร้างสารประกอบ Xanthone ทั้ง 6 ชนิด

ชื่อสาร	สูตรโครงสร้าง
$R_1 = R_2 = H$ α-mangostin $R_1 = CH_3$, $R_2 = H$ β-mangostin $R_1 = R_2 = CH_3$ 1-hydroxy-3,6,7-trimethoxy-2,8-bis (3-methylbut-2-enyl) xanthone	
9-hydroxycalabaxanthone	

tovophyllin A	
Catechin	

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

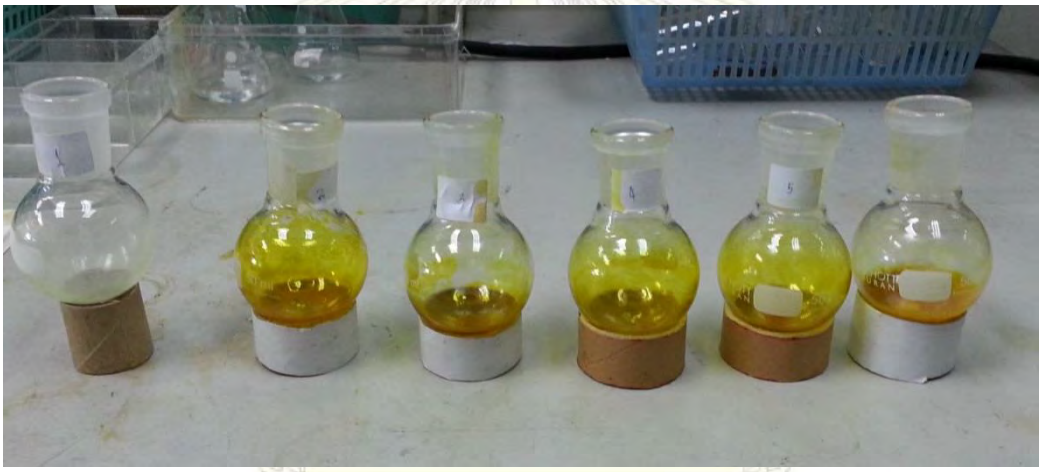
1. ขวดปรับปริมาตรขนาด 10 และ 25 มิลลิลิตร
2. ไมโครปิเปตขนาด 10-100 และ 100-1000 ไมโครลิตร
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
4. เอพเพนดอร์ฟขนาด 1 มิลลิลิตร
5. ถาดไมโครไทเทอร์ 96 หลุม
6. เครื่อง microplate reader
7. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
8. หลอดหยด
9. เครื่อง NMR (Varian 400MHz)
10. Pre-coated TLC aluminum sheet of silica gel 60 GF_{254}, Merck

3.1.2 สารเคมี

1. Hexane
2. Dichloromethane
3. Chloroform
4. Ethyl acetate
5. Acetone
6. Methanol
7. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) บริษัท calbiochem
8. DPPH Radical
9. Absolute methanol
10. Silica gel 60 F254

3.2 วิธีการสกัดยางจากเปลือกมังคุด

ชั่งน้ำหนักยางจากเปลือกมังคุด 0.2 กรัม โดยชั่งในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำยางจากผลมังคุดที่ชั่งได้ละลายด้วยตัวทำละลาย 6ชนิดคือ Hexane, Dichloromethane, Chloroform, Ethyl acetate, Acetone และMethanol ตัวทำละลายละ 10 มิลลิลิตร ขั้นต่อมานำยางผลมังคุดผสมตัวทำละลายแล้วไปทำการสั่นด้วยอัลตร้าโซนิคเป็นเวลาประมาณ 10 นาที จากนั้นนำไปทำการกรองดูดสุญญากาศ เมื่อกรองเสร็จแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (Rotary evaporation) ซึ่งแสดงดังภาพที่ 3-1 นำสารสกัดจากตัวทำละลายต่างๆ ไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาร้อยละของผลได้



รูปที่ 3-1 ยางมังคุดที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลาย

3.3 วิธีการแยกสารสกัดยางจากผลมังคุดด้วยเทคนิค Column chromatography

3.3.1 สารเคมีที่ใช้

1. ใช้ตัวทำละลายกลั่นอย่างละประมาณ 1 ลิตร ดังนี้
   I. Hexane
   II. Ethyl acetate
   III. Methanol
2. ผงซิลิกาเจล 1 กรัม เพื่อบรรจุสารใส่คอลัมน์ และอีกประมาณ 50 กรัมเพื่อบรรจุใส่คอลัมน์

3.3.2 การแยกสาร

ละลายสาร 0.4 กรัมด้วย CH_2Cl_2 ในขวดก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร จนละลายหมด
ใส่ซิลิกาเจลที่เตรียมไว้ 1 กรัม ลงไปจากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายจนแห้งด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน เพื่อให้สารสกัดเคลือบบนซิลิกาเจล
เตรียมสารแขวนตะกอนซิลิกาเจลประมาณ 50 กรัมในตัวทำละลายเฮกเซนกลั่น จากนั้นจึงนำไปบรรจุลงคอลัมน์จนสูงประมาณ 25 เซนติเมตร
นำซิลิกาเจลที่เคลือบด้วยสารสกัดยางผลมังคุดแล้วข้างต้นบรรจุลงคอลัมน์โดยให้ระดับเฮกเซนในคอลัมน์สูงกว่าผิวซิลิกาเจลไม่เกิน 1 เซนติเมตร
เริ่มใส่ตัวทำละลายจากขั้วต่ำไปขั้วสูง ซึ่งเริ่มจาก เฮกเซน, เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท, เอธิลอะซิเตท, เอธิลอะซิเตท : เมธานอล, เมธานอล โดยเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้นเรื่อยๆ ให้เหมาะสม เก็บสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรต่อ 1 ส่วน
นำสารตัวอย่างที่เก็บได้มาทำ TLC เพื่อทำการรวมแต่ละส่วนที่เป็นสารชนิดเดียวกัน
เมื่อรวมแต่ละส่วนได้แล้วนำมาทำ TLC อีกรอบเพื่อให้เห็นความแตกต่างของแต่ละส่วนจากนั้นนำไปวิเคราะห์ ^{1}H-NMR เพื่อดูความแตกต่างอีกรอบหนึ่ง

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบสาร

เทคนิค TLC

1. เตรียม ceric ammonium molybdate solution เพื่อใช้ในการ Dipping
   I. เตรียมน้ำ DI 100 มิลลิลิตร
   II. เติมกรดซัลฟิวริค (conc. H_2SO_4)เข้มข้น 10 มิลลิลิตร
   III. เติม $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ 10 กรัม ละลายให้หมด
   IV. เติม $Ce(SO_4)_2.4H2O$ 0.4 กรัม
   V. เติมน้ำ DI ให้ปริมาตรรวมเป็น 200 มิลลิลิตร
2. การเตรียมแผ่น TLC
   I. ใช้บีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร บรรจุตัวทำละลายที่อัตราส่วนที่ต้องการทำการวิเคราะห์
   II. ละลายสารสกัดที่ต้องการทำการวิเคราะห์ด้วยตัวทำละลายที่ละลายได้ดี
   III. เตรียมแผน TLC โดยตัดขนาดแผ่น TLC ให้ได้ขนาดที่ต้องการแล้วทำเครื่องหมายบริเวณที่สารเริ่มต้น และบริเวณที่สารสิ้นสุดให้ห่างกันประมาณ 3.50 เซนติเมตร
   IV. ใช้หลอดแคบปิลลารี่ดูดสารที่ละลายในข้อ (II.) แล้วจุดลงบนแผ่น TLC ในข้อ (III.)
   V. นำแผ่น TLC ที่ทำการจุดสารแล้วไปวางบนบีกเกอร์ในข้อ (I.) รอจนตัวทำละลายขึ้นจนจุดสูงสุด
   VI. นำแผ่น TLC ที่ได้ไปทำการส่องด้วย UV ซึ่งมี 2 ความยาวคลื่นคือ 254 และ365 นาโนเมตร
   VII. นำ TLC ที่จากข้อ (VI.) ไปทำการจุ่ม(Dipping) สารละลาย Ceric ammonium molybdate
   VIII. นำ TLC ที่จุ่มสารละลาย Ceric ammonium molybdate ไปอังให้ความร้อนบน Hotplate เพื่อให้สีที่แสดงบนแผ่น TLC ชัดเจน

เทคนิค ^{1}H-NMR

1. ชั่งสารที่แห้งประมาณ 1 มิลลิกรัม ละลายในขวดแก้วขนาดเล็ก ละลายสารด้วยตัวทำละลายที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ NMR จนสารละลายหมด (ในการทดลองนี้ใช้ Chloroform-D)
2. ดูดสารละลายในข้อ (1.) ลงไปในหลอด NMR
3. นำไปวิเคราะห์ ^{1}H-NMR Spectrum

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณการต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity

3.5.1 เตรียมสารละลายตัวอย่าง

1. ชั่งสารตัวอย่าง 10 มิลลิกรัม ในขวดปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใช้เอธานอลปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรที่ชั่งสารไว้ 10.00 มิลลิลิตร จะได้สารความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรหรือ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. เจือจางสารละลายในเอพเพนดอร์ฟ โดยคำนวณปริมาตรรวมให้ได้ 1 มิลลิลิตร หรือ 1000 ไมโครลิตร

   <u>ตัวอย่าง</u> การเตรียมสารที่ต้องการวัดค่าปริมาณการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

   I. จะต้องใช้ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร ปิเปตสารในข้อ (1.) 100 ไมโครลิตร
   II. เจือจางด้วยเอธานอล 400 ไมโครลิตร
   III. อีก 500 ไมโครลิตรที่เหลือจะปิเปต DPPH ที่จะเตรียมในข้อต่อไป

   จะได้ปริมาตร 1000 ไมโครลิตรตามต้องการ

   <u>หมายเหตุ</u> หากต้องการทดสอบสารที่ความเข้มข้นเกิน 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะชั่งสารตามต้องการและปรับปริมาตรให้เป็น 1000 ไมโครลิตรแทน ตัวอย่างเช่น ต้องการทดสอบสารที่ความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จะต้องชั่งสาร 0.8 มิลลิกรัมในเอพเพนดอร์ฟ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 500 ไมโครลิตร ที่เหลืออีก 500 ไมโครลิตรจะปิเปตสารละลาย DPPH ที่เตรียมในข้อต่อไป ซึ่งจะได้ปริมาตรรวม 1000 ไมโครลิตรตามต้องการ

3.5.2 เตรียมสารละลายโทรลอกซ์ (อนุพันธ์ของวิตามินอี) เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับสารสกัดจากยางผลมังคุด เตรียมโทรลอกซ์ 1000 ไมโครโมลต่อลิตร

ชั่งโทรลอกซ์ 6.3 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 100 มิลลิลิตร

ปิเปตโทรลอกซ์จากข้อ (1.) 20, 40, 60 และ 80 ลงในเอพเพนดอร์ฟขนาด 1 มิลลิลิตร 4 อัน ปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 480, 460, 440 และ 420 ไมโครลิตร

อีก 500 ไมโครลิตรที่เหลือจะปิเปต DPPH ที่จะเตรียมในข้อต่อไป

จะได้ปริมาตร 1000 ไมโครลิตรตามต้องการ

3.5.3 เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.0076 % (W/V)

1. ชั่งสาร DPPH 1.9 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตร 25 มิลลิลตร
2. ปิเปตสารละลาย DPPH 500 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปตขนาด 100-1000 ไมโครลิตร ลงในเอพเพนดอร์ฟที่เตรียมสารตัวอย่างไว้ในข้อ (3.5.1.2) และ ข้อ (3.5.2.4)

จากนั้นปิดเอพเพนดอร์ฟและเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ปิเปตสารที่ต้องการทดสอบ 200 ไมโครลิตร ใส่ไมโครไทเตอร์เพลท ตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณค่า %Inhibition โดยใช้สูตร

$$\%\text{Inhibition} = \frac{A_{Blank} - A_{Sample}}{A_{Blank}} \times 100$$

กำหนดให้ A_{Blank} เป็นค่า absorbance ของ blank

A_{Sample} เป็นค่า absorbance ของ sample

โดยการคำนวณค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

$$TEAC = \frac{IC_{50}\ sample\ \mu g/mL}{IC_{50}\ trolox\ \mu g/mL} \times \frac{1\ mol}{MW.Trolox\ g.} \times 10^3 m$$

= TEAC (mmol/g)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้จะแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วนหลักๆคือ

1. การสกัดยางจากผลมังคุดด้วยตัวทำละลายต่างๆ
2. การแยกสารที่สกัดได้และการวิเคราะห์โครงสร้าง
3. ทำการทดสอบปริมาณการต้ารสารอนุมูลอิสระสารที่แยกได้ด้วยเทคนิค DPPH

ซึ่งอาจเขียนเป็นแผนผังการทำงานโดยสังเขปได้ดังแผนภาพที่ 4-1

แผนภาพที่ 4-1 แสดงการทำงานโดยสังเขป

หมายเหตุ fractions อื่น ๆ ที่ไม่ได้กล่าวถึงจะนำมาวิเคราะห์ TLC และ อาจจะวิเคราะห์ ^{1}H-NMR ด้วย

อธิบายผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลองได้ดังนี้

1. การสกัดยางจากผลมังคุดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ในขั้นตอนการสกัดยางจากเปลือกมังคุดจะใช้ตัวทำละลาย 6 ตัวคือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซิเตท อะซิโตน และ เมธานอล ซึ่งมียางผลมังคุดอยู่ประมาณ 4 กรัม ในแต่ละตัวทำละลายจะใช้ยางผลมังคุด 0.2 กรัม เนื่องจากเป็นสารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดีจึงใช้ตัวทำละลาย 10 มิลลิลิตร ในการละลายยางผลมังคุด จากนั้นนำไปทำการสั่นอัลตราโซนิคเป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำให้ยางที่เกาะตัวกันเป็นก้อนเล็กๆแตกตัว อีกทั้งการสั่นด้วยอัลตราโซนิคทำให้เกิดอุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 40 – 50 องศาเซลเซส ยิ่งทำให้สารละลายในตัวทำละลายได้ง่ายขึ้นจากการทดลองได้ร้อยละของสารที่สกัดได้ตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 แสดงร้อยละของน้ำหนักที่สกัดด้วยตัวทำละลาย

Polarity Index (P′)	ตัวทำละลาย	ร้อยละน้ำหนักสารที่ได้
0.1	เฮกเซน	1.536
3.1	ไดคลอโรมีเธน	76.31
4.1	คลอโรฟอร์ม	82.93
4.4	เอธิลอะซิเตท	69.04
5.1	อะซิโตน	59.39
5.1	เมธานอล	84.34

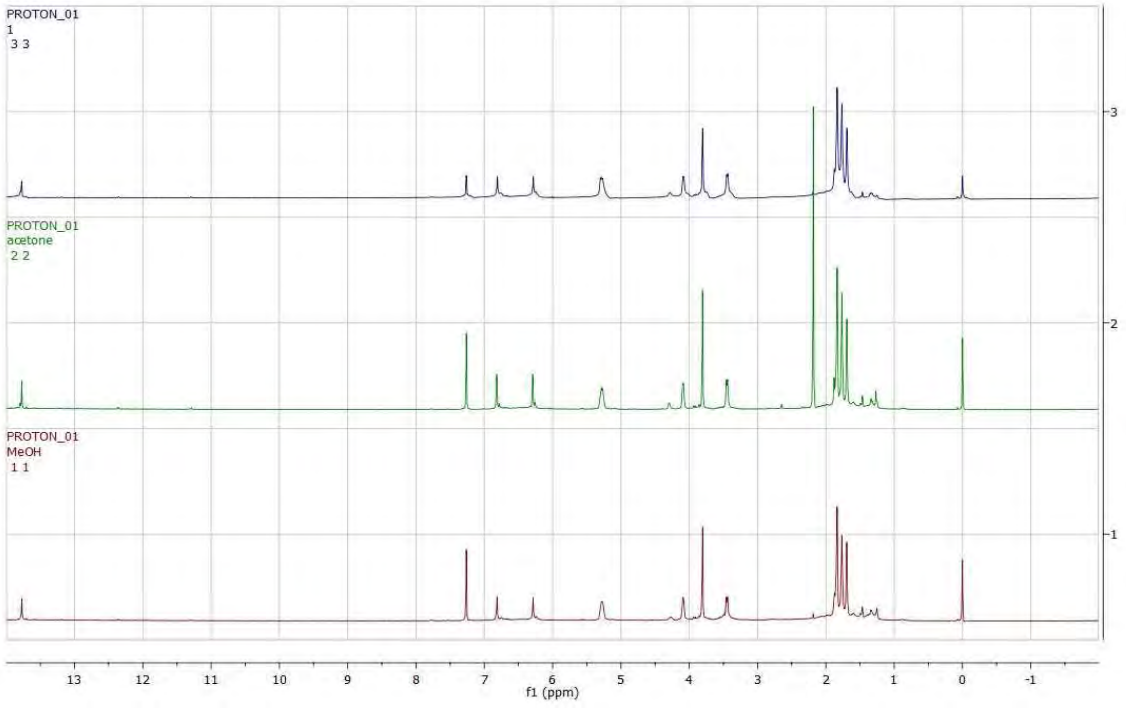
จากตารางจะเห็นว่ายางจากผลมังคุดละลายได้ไม่ดีในตัวทำละลายเฮกเซน ส่วนการละลายในตัวทำละลายเมธานอลยางผลมังคุดละลายได้ดี แต่เมื่อพิจารณาความเป็นขั้วพบว่าเอธิลอะซิเตทซึ่งมีความเป็นขั้วรองลงมาจากเมธานอลค่าการละลายต่ำกว่าตัวทำละลายอื่นๆ อาจจะมีปัจจัยอื่นที่ทำให้การละลายมีค่าไม่เรียงไปตามความเป็นขั้วของตัวทำละลาย

จากนั้นนำสารที่สกัดได้ 5 ตัว (ยกเว้นเฮกเซนเนื่องจากได้สารน้อยมาก) ไปทำ TLC และทำเทคนิค ceric ammonium molybdate Dipping ได้ดังภาพที่ 4-1

รูปที่ 4-1 TLC ที่ใช้ 100% ไดคลอโรมีเธนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

จาก TLC พบว่าสารที่ละลายในตัวทำละลายทั้ง 5 ตัวมีลักษณะที่เหมือนกันต่างกันตรงที่ความกว้างและความเข้มของจุด เนื่องจากการจุดสารตอนเริ่มต้นอาจกว้างไม่เท่ากันอีกทั้งการเตรียมสารเพื่อทำ TLC มีความเข้มข้นไม่เท่ากันจึงส่งผลให้ความเข้มของสีใน TLC มีความเข้มที่ต่างกันออกไป แต่สีและลักษณะก็ยังคงเหมือนกันแสดงให้เห็นว่าสารละลายที่ได้เป็นสารชนิดเดียวกันนั่นเอง

เมื่อเห็นว่าสารที่ได้จากการสกัดเป็นชนิดเดียวกันจึงสุ่มนำสารที่สกัดจากตัวทำละลายจำนวน 3 ตัวคือไดคลอโรมีเธน(บน) และ อะซิโตน(กลาง) และเมทานอล (ล่าง) ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ได้ผลดังภาพที่ 4-2



รูปที่ 4-2 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของยางมังคุดที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเธน อะซิโตน และเมทานอล

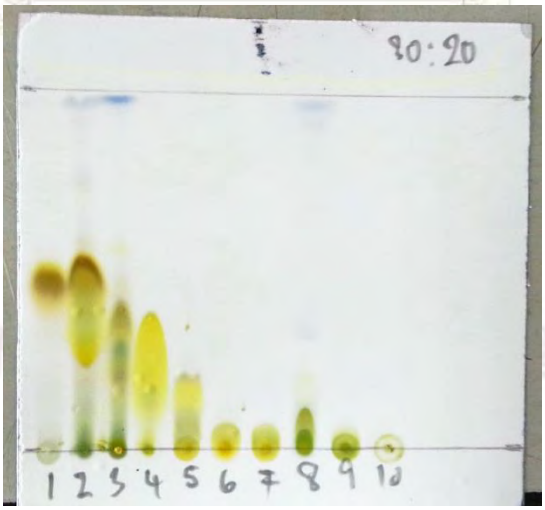
จากภาพจะเห็นว่าตัวทำละลายทั้งสามขึ้นค่าเคมิคอลชิฟที่เหมือนกัน ดังนั้นจากเหตุผลทั้งสองคือ ผลจากการวิเคราะห์ TLC และ การวิเคราะห์ ^{1}H-NMR จึงสรุปว่าสารที่สกัดจากตัวทำละลายต่างๆ นั้นเป็นสารกัดที่มีสารชนิดเดียวกัน

2. การแยกสารที่สกัดได้และการวิเคราะห์โครงสร้าง

ในการแยกสารสกัดยางผลมังคุดจะใช้เทคนิคการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟีซึ่งใช้สารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ตัวคือ ไดคลอโรมีเธน เอธิลอะซิเตท และ อะซิโตน ซึ่งได้น้ำหนักสารรวม 0.4052 กรัม ซึ่งรายละเอียดจะเป็นดังนี้

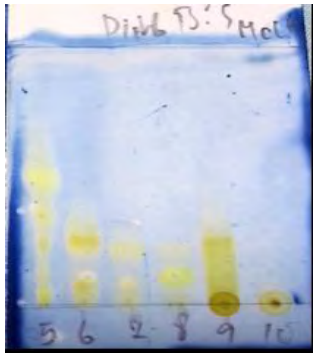
ขนาดคอลัมน์ที่ใช้	250	มิลลิลตร
เส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์	2.5	เซนติเมตร
ใช้สารสกัดในการแยก	0.4052	กรัม
ระดับซิลิก้าเจลที่บรรจุสูง	25	เซนติเมตร

โดยใช้ตัวทำละลายดังนี้ เฮกเซน, เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท, เอธิลอะซิเตท, เอธิลอะซิเตท : เมธานอล, เมธานอล เปลี่ยนอัตราส่วนไปตามลำดับขั้วจากตัวทำละลายที่มีขั้วมากไปตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย ส่วนในการเก็บสารจะเก็บในหลอดทดลอง ซึ่งเก็บเป็นส่วน (fraction) ส่วนละ 10 มิลลิลิตร โดยประมาณ fraction ทั้งหมดที่เก็บได้คือ 230 fractions จากนั้นก็นำทั้งหมดไปรวบด้วยการวิเคราะห์ TLC ซึ่งรวบได้เป็น 10 fractions ดังภาพที่ 4-3 ซึ่งใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท อัตราส่วน 80 : 20 และภาพที่ 4-4 ซึ่งใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น ไดคลอโรมีเธน: เมธานอล 95 : 5



รูปที่ 4-3 TLC ที่ใช้ 20% เอธิลอะซิเตทในเฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

A



B

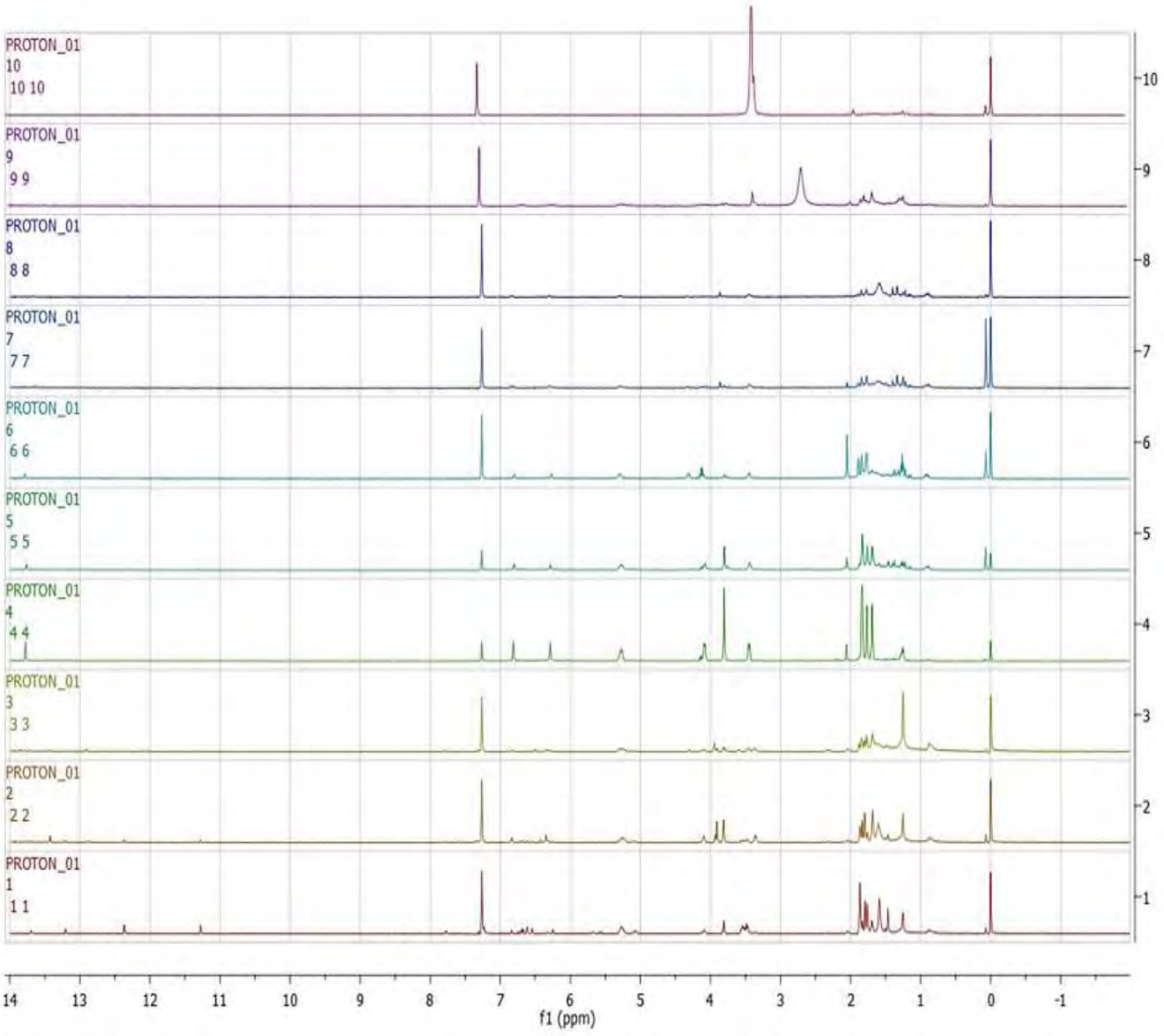
รูปที่ 4-4 (A) TLC ที่ใช้ 30% ไดคลอโรมีเธนในเฮกเซนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่
(B) TLC ที่ใช้ 5% เมทานอลในไดคลอโรมีเธนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

TLC แผ่นซ้ายจะเป็น เฮกเซน : ไดคลอโรมีเธน อัตราส่วน 70 : 30 ส่วนแผ่นขวาจะเป็น ไดคลอโรมีเธน : เมธานอล อัตราส่วน 95 : 5 จาก TLC จะเห็นว่าสารแต่ละ fraction ที่แยกออกมาขึ้น TLC ที่ต่างกันในบาง fraction อาจจะมีสารที่ปนกันอยู่ โดยน้ำหนักที่ได้ในแต่ละ fraction จะเป็นดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 แสดงน้ำหนักทั้ง 10 fractions ของสารที่ผ่านการสกัดแล้วถูกแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้วัฏภาคนิ่งเป็นซิลิกาเจล และวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นอัตรส่วนระหว่าง เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท : เมทานอล

Fraction	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)
1	7.6
2	14..0
3	10.2
4	166.0
5	19.1
6	42.0
7	17.4
8	2.3
9	44.3
10	14.0

จากตารางที่ 4-2จะเห็นว่า fraction ที่ 4 มีปริมาณมากที่สุด และ ^{1}H-NMR ในรูปที่ 4-5 ซึ่งบ่งชี้ว่า fraction ที่ 4 ประกอบไปด้วยสารหลักเพียง1 สารดังนั้นองค์ประกอบหลักที่มีอยู่ในยางมังคุดใน fractionนี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบหลักที่มีอยู่ในยางผลมังคุดอยู่ใน fraction นี้



รูปที่ 4-5 ^{1}H-NMR ของทั้ง 10 fractions ที่ผ่านการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้วัฏภาคนิ่งเป็นซิลิกาเจล และวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นอัตรส่วนระหว่าง เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท : เมทานอล

จากข้อมูล ^{1}H-NMR ข้อมูลที่น่าสนใจจะอยู่ที่ fraction ที่ 4 ถึง 6 ซึ่งจากงานวิจัยของ Shaza M. Al-Massarani ในปี 2013 เรื่อง Phytochemical, Antimicrobial and Antiprotozoal Evaluation of *Garcinia Mangostana* Pericarp and α-Mangostin, Its Major Xanthone Derivative ทำให้ทราบว่าสารประกอบหลักที่น่าสนใจในยางผลมังคุดคือ สารประกอบประเภท α-mangostin ซึ่งจากตารางที่ 4-3 น้ำหนักของสารใน fraction ที่ 4 มีปริมาณมากที่สุด และมีค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ที่มากที่สุด

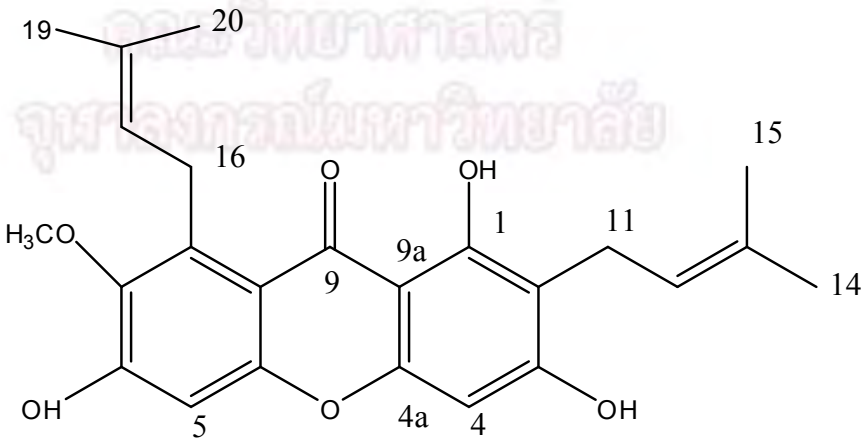
ตารางที่ 4-3 แสดงร้อยละของผลได้ของทั้ง10 fraction ที่ผ่านการสกัดแล้วถูกแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้วัฏภาคนิ่งเป็นซิลิกาเจล และวัฏภาคเคลื่อนที่เป็นอัตรส่วนระหว่าง เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท : เมทานอล

fraction	น้ำหนัก (มก)	เปอร์เซ็นต์ผลได้
1	7.6	1.87
2	14.0	3.45
3	10.2	2.51
4	166.0	40.96
5	19.1	4.71
6	42.0	10.36
7	17.4	4.29
8	2.3	0.56
9	44.3	10.93
10	14.0	3.45

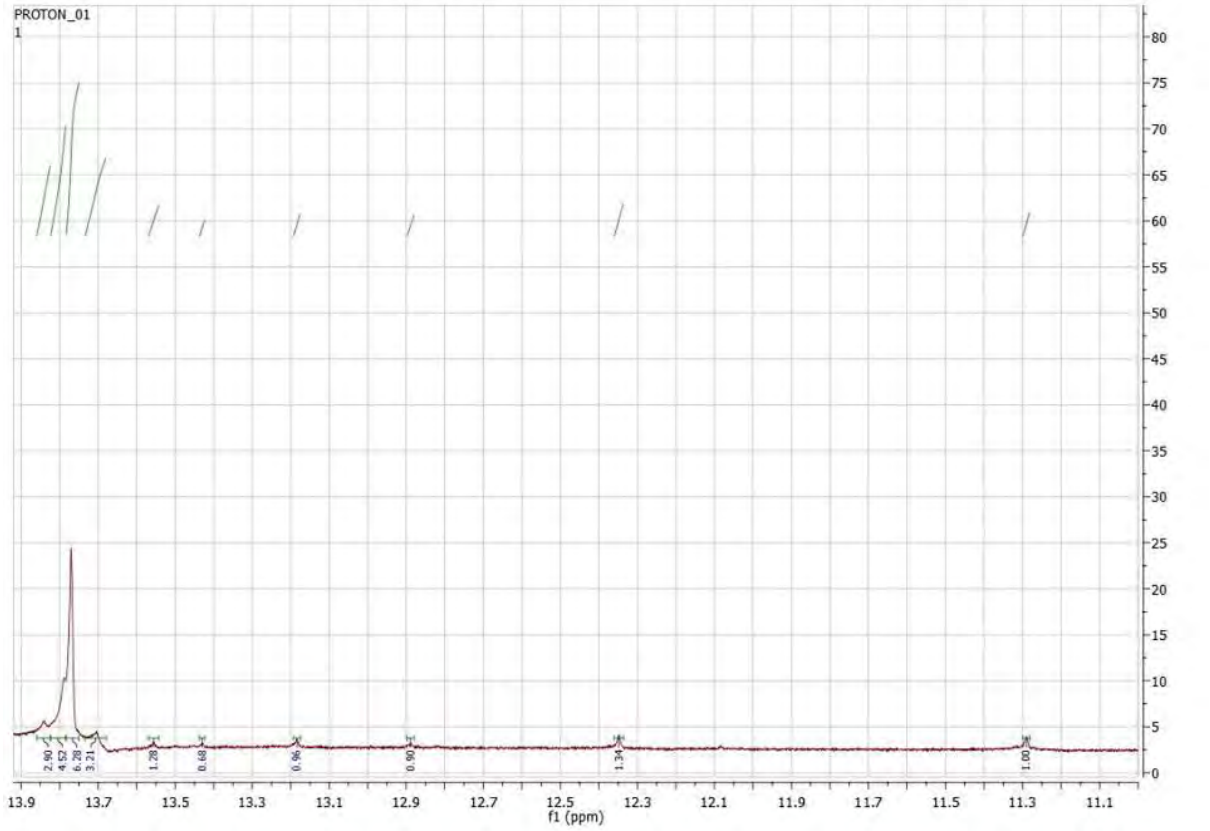
แต่อย่างไรก็ดีสารที่ได้มานั้นก็ยังไม่บริสุทธิ์มากนักเนื่องจาก มีสารหลายชนิดอาจจะปนกันอยู่ใน fraction ที่ 4 เมื่อดูจากข้อมูล ^{1}H-NMR ของสารใน fraction ที่ 4 จะมีค่าเคมิคอลชิฟท์ที่ชัดเจนดังนี้ 13.78, 6.81, 6.29, 4.09, 4.08, 3.80, 3.46 และ 3.44 เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลอ้างอิงจะพบว่าพีค Hydroxy ของ α-mangostin คือ 13.72, พีคเคมิคอลชิฟท์ที่ 6.81 และ 6.29 สามารถยืนยันได้ว่าเป็น α-mangostin (ถ้าเป็น β-mangostin จะขึ้นพีค Hydroxy ที่ 13.42) ดังตารางที่ 4-4

ตารางที่ 4-4แสดงการเปรียบเทียบสารระหว่าง α-mangostin กับ fraction ที่ 4-1st

Position	α-mangostin	4-1st fraction
1	13.72, s	13.79
5	6.80, s	6.84
4	6.28, s	6.30
12	5.17, t	5.27
17	5.17, t	5.27
16	4.04, d	4.09
7-OMe	3.71, s	3.81
11	3.35, d	3.45
14	1.77, s	1.85
19	1.71, s	1.83
20	1.73, s	1.78
15	1.63, s	1.69



เมื่อทราบสารประกอบหลักว่าเป็น α-mangostin แล้ว จากนั้นจึงพิจารณา ^{1}H-NMR ก่อนทำการแยกด้วยคอลัมน์ โดยทำการ Integration พีคที่เป็นพีค Hydroxy ซึ่งจะขึ้นบริเวณค่าเคมิคอลชิฟที่ 10 ขึ้นไป เพื่อหาปริมาณ α-mangostin อย่างคร่าวๆ ซึ่งจะได้การคำนวณดังรูปที่ 4-8



รูปที่ 4-8 แสดง การ อินทิเกรตของ Hydroxyเพื่อหาปริมาณ α-mangostin

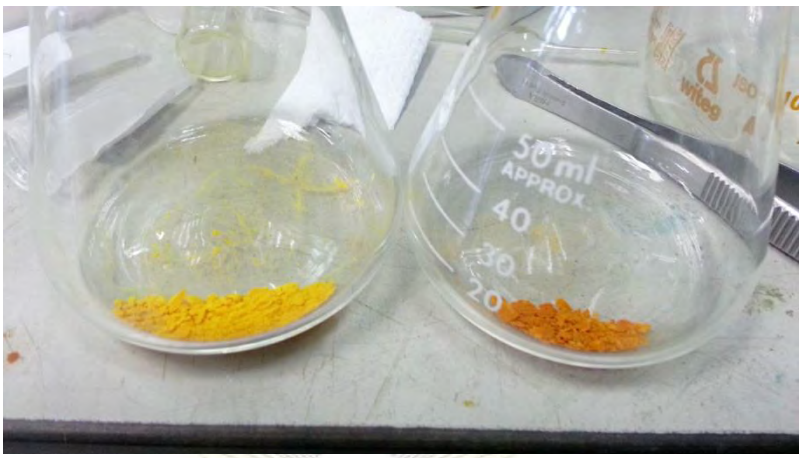
จากการ Integration จะคำนวณโดยใช้อัตราส่วนคือ

% α-mangostin =(ผลอินทิเกรตของα-mangostin Hydroxy/ผลอินทิเกรตของของ Hydroxy) X 100

ทำการแทนค่าจะได้ 1.04/(1.04+0.42+0.37+0.18+0.13+0.27+0.07+0.19+0.24)X100

ดังนั้นจะได้ % α-mangostin Hydroxy คือ 35.73% จากผลการคำนวณจะตีความได้ว่ามี % ที่ได้เป็นอัตราส่วน α-mangostin ในสารก่อนทำการแยกคอลัมน์

จากนั้นทำการตกผลึก fraction ที่ 4 โดยใช้ตัวทำละลายผสมคือ เอธิลอะซิเตท(ตัวทำละลายที่ดี) และเฮกเซน(ตัวทำละลายที่ไม่ดี) พบว่าได้สารออกมา 2 ตัวคือ สารที่มีสีส้มและสารที่มีสีเหลือง มีลักษณะเป็นผงดังรูปละเอียดดังภาพที่ 4-9



รูปที่ 4-9 สารสีส้มและสีเหลืองที่ได้จากตกผลึก fraction ที่ 4

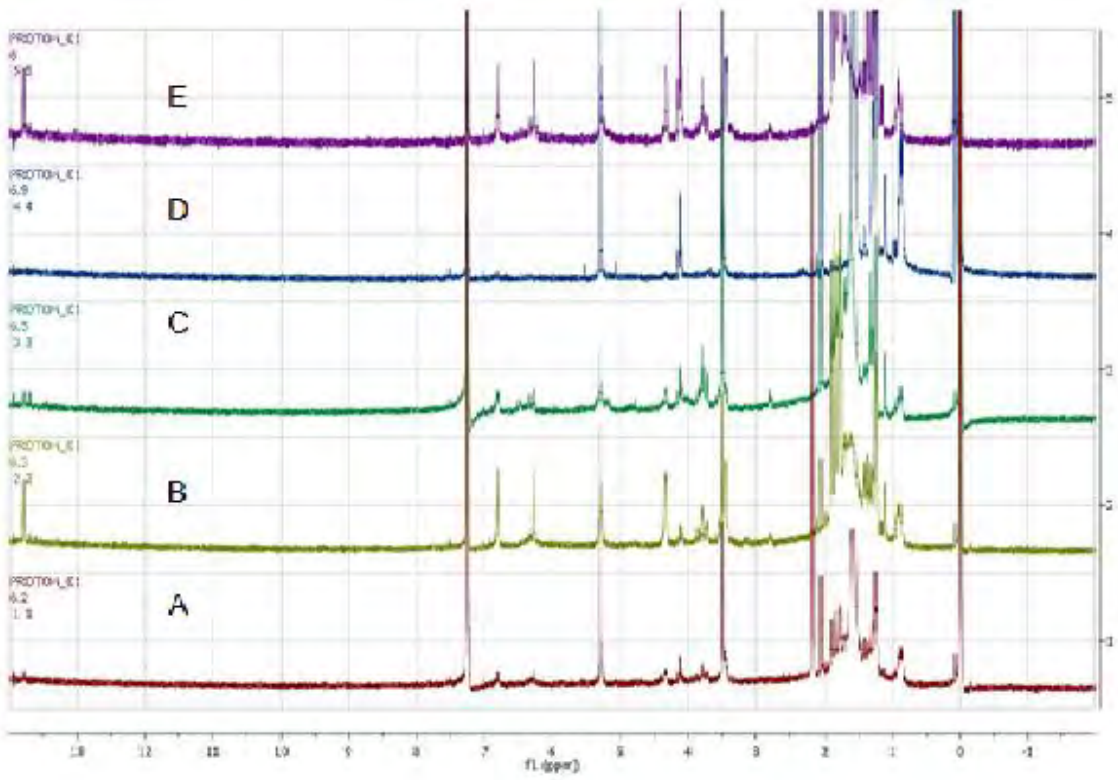
จากนั้นพิจารณา ^{1}H-NMR ใน fraction ที่ 6 ในภาพที่ 4-6 จะพบพีคที่ไม่เหมือน fraction ที่ 4 และ 5 อยู่ 1 พีคคือที่ค่าเคมิคอลชิฟท์ที่ 4.32 จึงได้ทำการแยกซ้ำด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟีอีกครั้งหนึ่ง รายละเอียดดังนี้

ใช้สารสกัดในการแยก	0.0420	กรัม
ระดับซิลิก้าเจลที่บรรจุสูง	25	เซนติเมตร

โดยใช้ตัวทำละลายดังนี้ เฮกเซน, เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท, เอธิลอะซิเตท, เอธิลอะซิเตท : เมธานอล, เมธานอล เปลี่ยนอัตราส่วนไปตามลำดับขั้วจากตัวทำละลายที่มีขั้วมากไปตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย ส่วนในการเก็บสารจะเก็บในหลอดทดลอง ซึ่งเก็บเป็นส่วน (fraction) ส่วนละ 2 มิลลิลตร ซึ่งเก็บ fractions ได้ทั้งหมด 180 fractions จากนั้นวบ fractions แล้วทำ TLC รวบได้ 9 fraction ผล TLC เป็นดังภาพที่ 4-10

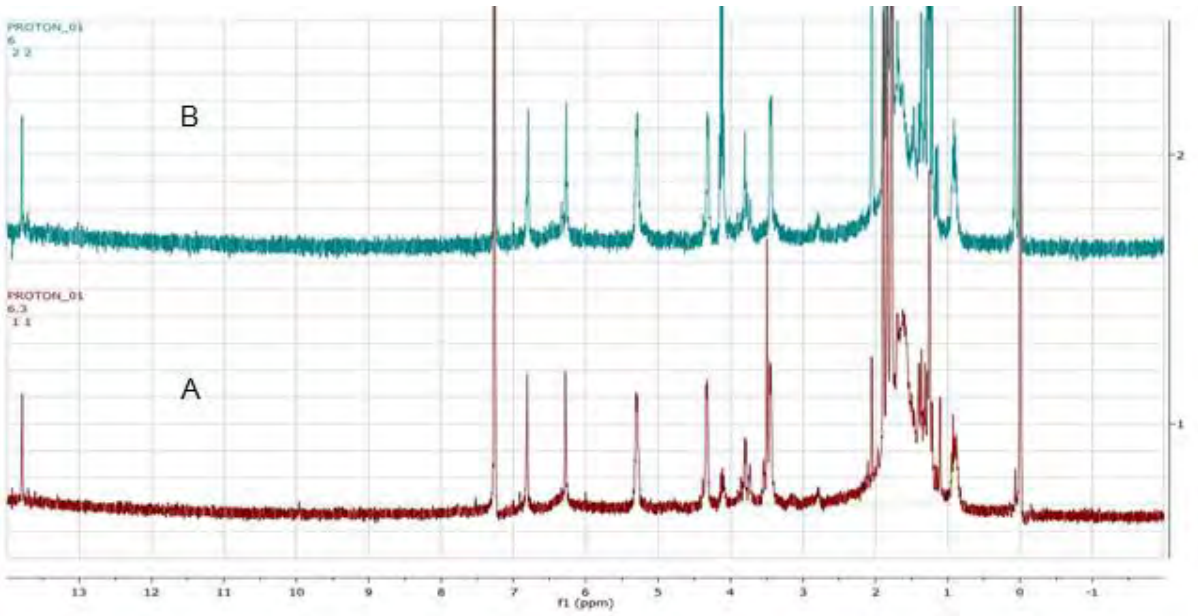
รูปที่ 4-10 TLC ที่ใช้ 40% เอธิลอะซิเตทในเฮกเซน เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

จากการวิเคราะห์ TLC โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น เฮกเซน : เอธิลอะซิเตท อัตราส่วน 60 : 40 พบว่าสารที่น่าสนใจจะอยู่ใน fraction ที่ 2, 3, 5 และ 9 ดังนั้นจึงนำ fractions ทั้ง 4 ไปทำการวิเคราะห์ ^{1}H-NMR ได้ผลภาพที่ 4-11 ซึ่งแสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของ fraction ที่ 6.2 (A), 6.3(B), 6.5(C), 6.9(D) และ 6(E)



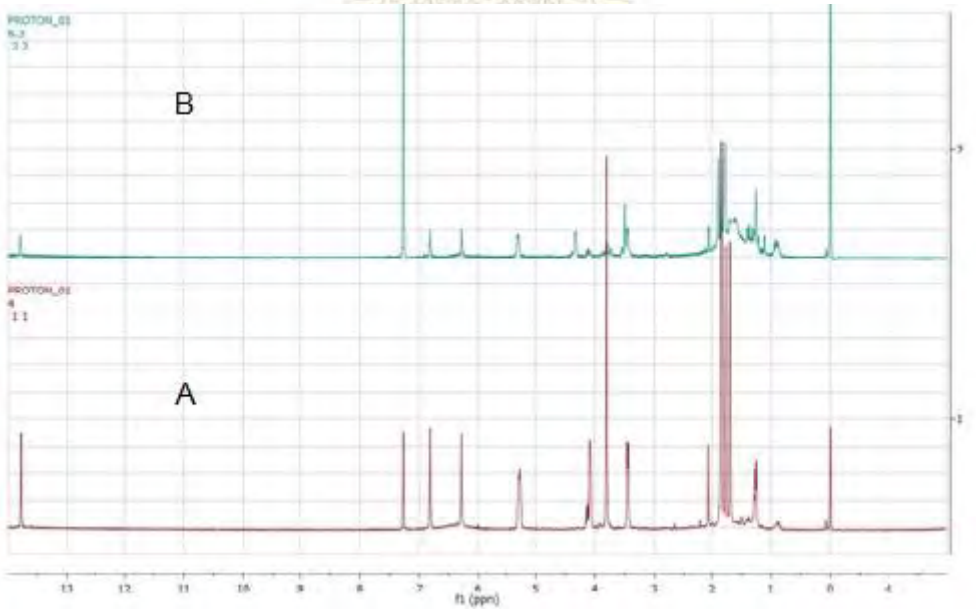
รูปที่ 4-11 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของ fraction ที่ 6.2 (A), 6.3(B), 6.5(C), 6.9(D) และ 6(E)

จากข้อมูล ^{1}H-NMR พบว่าสารประเภท Xanthone (สังเกตได้จากค่าเคมิคอลชิฟท์ที่ 13.78, 6.81, 6.29) จะอยู่ที่ fraction ที่ 6.3 ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบระหว่าง fraction ที่ 6 และ 6.3 ตามภาพที่ 4-12แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของ fraction ที่ 6(B) และ 6.3(A)



รูปที่ 4-12 ^{1}H-NMR สเปกตรัมของ fractionที่ 6(B) และ 6.3(A)

จากข้อมูล ^{1}H-NMR จะพบว่าพีคค่าเคมิคอลชิฟที่ 4.13 ของ fraction ที่ 6.3 มีค่าลดลง แสดงให้เห็นว่าจากการแยกซ้ำทำให้สารมีความบริสุทธิ์มากขึ้น จากนั้นลองเปรียบเทียบสาร α-mangostin ใน fraction ที่ 4(A) และสารใน fraction ที่ 6.3(B) จะได้ดังภาพที่ 4-13



รูปที่ 4-13^{1}H-NMR สเปกตรัมของ fractionที่ 4(A) และ fractionที่ 6.3(B)

จากภาพที่ 4-13 และจากตารางที่ 4-5 จะเห็นได้ว่าค่าเคมิคอลชิฟท์ไม่ตรงกันซึ่ง fraction ที่ 6.3 จะต้องทำการวิเคราะห์ต่อไป แต่ด้วยเวลาและปริมาณสารที่จำกัดจึงไม่สามารถทำให้สารบริสุทธิ์ขึ้นหรือนำไปวิเคราะห์ต่อไปได้ แต่อาจจะเป็นแนวทางในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของยางผลมังคุดต่อไป

ตารางที่ 4-5 แสดงการเปรียบเทียบค่าเคมิคอลชิฟท์ระหว่าง γ-mangostin ,Gartanin ,Gartanone E , β-mangostin กับ fraction ที่ 6-3rd

γ-mangostin	Gartanin	Gartanone E	β-mangostin	6-3rd
13.85	12.15	13.84	13.42	13.79
10.55	11.16	-	-	-
8.85	9.56	-	-	-
-	7.21	-	-	-
6.73	6.57	-	6.74	6.81
6.31	-	6.33	6.24	6.28
5.19	5.2	5.29	5.18	5.3
5.17	5.13	-	5.17	5.3
4.03	-	4.29	4.09	4.32
-	-	3.6	3.80	-
3.21	3.53	3.45	3.37	3.46
1.77	3.31	1.88-1.77	1.75	1.89
1.73	1.81		1.72	1.84
1.62	1.63		1.62	1.78
			1.61	1.77

3. ทำการทดสอบปริมาณการต้านสารอนุมูลอิสระสารที่แยกได้ด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging activity

ในการทดสอบฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระจะเปรียบเทียบระหว่างสาร 6 ตัวคือ

1. สารสีเหลืองที่ได้จากการตกผลึก fraction ที่ 4 (กำหนดให้เป็น 4.1)
2. สารผสมระหว่างสารสีเหลืองและสารสีส้มที่ได้จากการตกผลึก fraction ที่ 4 (กำหนดให้เป็น 4.2)
3. สารสีส้มที่ได้จากการตกผลึก fraction ที่ 4 (กำหนดให้เป็น 4.3)

4. สารที่ได้จากการแยกซ้ำใน fraction ที่ 6 คือ fraction ที่ 6.3 (กำหนดให้เป็น 6.3)

5. ยางผลมังคุดที่ยังไม่ทำการสกัด (กำหนดให้เป็น Secreted)

6. อนุพันธ์ของวิตามิน E หรือ Trolox

จากการทำการทดสอบ DPPH radical scavenging activity (วิธีการทดสอบอยู่ในบทที่ 3) ได้ค่า IC_{50} ของสารทั้ง 5 ตัวดังตารางที่ 4-6

ตารางที่ 4-6 แสดงค่าIC_{50} ของสาร หลังการทดสอบด้วย DPPH

สารที่ทำการทดสอบ	ค่า IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
4.1	534.10
4.2	188.87
4.3	513.97
6.3	12.61
Secreted	64.09
Trolox	27.61

ส่วนสารที่เป็นตัวเปรียบเทียบคือ อนุพันธ์ของวิตามิน E มีค่า IC_{50} คือ 27.61 ไมโครโมลต่อลิตร จากข้อมูลข้างต้นจะสามารถคำนวณค่า TEAC หรือ Trolox equivalent antioxidant capacity ได้ค่าดังตารางที่ 4-7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4-7แสดงค่า TEAC

สารที่ทำการทดสอบ	ค่า IC_{50} (μg/mL)	TEAC (mmol/g.)
4.1	534.10	308.8
4.2	188.87	109.2
4.3	513.97	297.2
6.3	12.61	7.3
Secreted	64.09	37.1

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระพบว่าสาร mangostin ใน fraction ที่ 6.3 ให้ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือยางผลมังคุดที่ยังไม่ทำการสกัด ส่วนสาร mangostin ใน fraction ที่ 4 จะมีค่าที่ใกล้เคียงกัน คือ 534.10 และ 513.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ 4.1 และ 4.3 แต่เมื่อสารผสมกันกลับพบว่ามีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระน้อยลงหรือมีฤทธิ์ดีขึ้น กล่าวคือยิ่งใช้สารในการทำให้ DPPH เหลือ 50 % น้อยเท่าไรยิ่งมีฤทธิ์ดีขึ้น ส่วนยางผลมังคุดที่ยังไม่ทำการสกัดพบว่ามีฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระดีกว่าสารใน fraction ที่ 4 แต่น้อยกว่า fraction ที่ 6.3 อาจเป็นผลมาจากมีสารอื่นเจือปนอยู่ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไม่ดีเท่าสาร mangostin ใน fraction ที่ 6.3

รูปที่ 4-14 คือ microtiter plate ในการทดสอบค่า DPPH radical scavenging assay

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยองค์ประกอบทางเคมีจากยางผลมังคุดจะแบ่งการวิจัยออกเป็น 3 ส่วนหลักๆ คือ ขั้นตอนแรกจะนำยางผลมังคุดไปทำการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซิเตท อะซิโตน และ เมธานอล จากนั้น จะนำสารสกัดที่ได้ไปทำการแยกคอลัมน์โครมาโตกราฟีเพื่อหาโครงสร้างองค์ประกอบของยางผลมังคุด ซึ่งจุดประสงค์หลักคือการหาว่าสารใดมีองค์ประกอบในยางผลมังคุดมากที่สุด ต่อมาก็คือขั้นตอนสุดท้ายคือ การนำองค์ประกอบที่ได้ไปทดสอบปริมาณการต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

1. การสกัดยางจากผลมังคุดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

จากการทดลองการสกัดยางผลมังคุดด้วยตัวทำละลายต่างๆ 6 ตัว คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซิเตท อะซิโตน และ เมธานอล จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าตัวทำละลายที่สกัดยางมังคุดได้น้อยที่สุดคือตัวทำละลายเฮกเซน และตัวทำละลายที่สกัดยางผลมังคุดได้มากที่สุดคือตัวทำละลายเมธานอล

2. การแยกสารที่สกัดได้และการวิเคราะห์โครงสร้าง

จากการแยกสารในระดับโครงสร้างจะใช้เทคนิคการแยกคอลัมน์โครมาโตกราฟี ซึ่งจากการแยกพบว่าสารประกอบส่วนใหญ่ที่พบในยางจากยางผลมังคุดเป็นสาร α-mangostin ซึ่งทราบได้จากการวเคราะห์ ^{1}H-NMR แล้วนำไปเปรียบเทียบกับค่าที่รายงานในเอกสารอ้างอิง ซึ่งจากการทำ Integration พีค ^{1}H-NMR คิดเป็นสัดส่วนคือ 35.73% เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดสารจากเปลือกมังคุดพบว่าได้สาร α-mangostin ในปริมาณที่มากกว่า

3. ทำการทดสอบปริมาณการต้ารสารอนุมูลอิสระสารที่แยกได้ด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging activity

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะทดสอบสาร 5 ตัวคือ **1).** สารสีเหลืองที่ได้จากการตกผลึก fraction ที่ 4 **2).** สารผสมระหว่างสารสีเหลืองและสารสีส้มที่ได้จากการตกผลึก fraction ที่ 4 **3).** สารสีส้มที่ได้จากการตกผลึก fraction ที่ 4 **4).** สารที่ได้จากการแยกซ้ำใน fraction ที่ 6 คือ fraction ที่ 6.3 **5).** ยางผลมังคุดที่ยังไม่ทำการสกัด โดยจะเทียบกับสาร trolox ในหน่วย mmol TE/g sample จาก

ผลการทดลองพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร α-mangostin ที่ยังไม่บริสุทธิ์มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไม่ดีเท่าสารใน fraction ย่อย 6.3 ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดในการทดสอบ

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

Pedraza-Chaverri, J.; Cárdenas-Rodríguez, N.; Orozco-Ibarra, M.; Pérez-Rojas J.M. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*. **2008**, *46*, 3227 3239.

Yoshikawa, M.; Harada, E.; Miki, A.; Tsukamoto, K.; Si Qian, L.; Yamahara, J.; Murakami, N. Antioxidant constituents from the fruit hulls of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) originating in Vietnam. *Yakugaku Zasshi*. **1994**, *114*, 129-133.

Weecharangsan, W.; Opanasopit, P.; Sukma, M.; Ngawhirunpat, T.; Sotanaphun, U.; Siripong, P. Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). *Med. Princ. Pract.* **2006**,*15*, 281–287.

Chomnawang, M.T.; Surassmo, S.; Nukoolkarn, V.S.; Gritsanapan, W. Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by *Propionibacterium acnes*. *Fitoterapia*, **2007**, *78*, 401–408.

โรงพยาบาลคำม่วง จังหวัดกาฬสินธุ์, ประสิทธิผลของการล้างแผลผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นแผลเรื้อรังด้วยน้ำต้มสารสกัดสมุนไพรจากเปลือกมังคุด. http://kalasin.moph.go.th/kmh/KMH_DATA/web_new/vijai/docu/ppmk.pdf. (accessed Feb 20, 2014)

วันดี กฤษณพันธ์. 1998. สมุนไพรน่ารู้. 3rd ed. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. “อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ”. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 21(3), สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม วิทยาลัยพลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา, **2013**, 275-286

ประสงค์ เทียนบุญ. “บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ”. คลินิกอาหารและโภชนาการ ปีที่ 4(2), หน่วยโภชนศาสตร์และศูนย์วิจัยโภชนาการ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, **2009**, 69-76

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

Pothitirat, W.; Chomnawang, M.T.; Supabphol,, R.; Gritsanapan,W. Free radical scavenging and anti-acne activities of mangosteen fruit rind extracts prepared by different extraction methods. *Pharmaceutical Biology*. **2010**, *48*, 182–186.

Al-Massarani, S.M.; El Gamal, A.A.; Al-Musayeib, N.M.; Mothana R.A.; Basudan, O.A.; Al-Rehaily J.A.; Farag, A.; Assaf, M.H.; El Tahir K.H.; Maes, L. Phytochemical Antimicrobial and Antiprotozoal Evaluation of *Garcinia Mangostana* pericarp and α-Mangostin its Major Xanthone derivative. Molecules, **2013**, *18*, 10599-10608

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

1. การสกัดยางจากผลมังคุดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ตัวทำละลายที่ใช้	น้ำหนักยางผลมังคุด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	สารสกัดที่ได้ (%)
เฮกเซน	0.1952	0.0030	1.536
ไดคลอโรมีเธน	0.1984	0.1514	76.31
คลอโรฟอร์ม	0.1992	0.1652	82.93
เอธิลอะซิเตท	0.1932	0.1334	69.04
อะซิโตน	0.2027	0.1204	56.39
เมธานอล	0.2094	0.1766	84.34

ตารางที่ 1 ข้อมูลการสกัดสารจากยางผลมังคุดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

การคำนวณ แสดงการคำนวณสารสกัดที่ได้ (%) ของการสกัดสารด้วยตัวทำละลายเมธานอล

$$\text{สารสกัดที่ได้} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดยางจากผลมังคุด}}{\text{น้ำหนักยางผลมังคุด}} \times 100$$

$$= \frac{0.1766\ g.}{0.2094\ g.} \times 100$$

$$= 84.34\ \%$$

ส่วนการคำนวณสารสกัดจากทำละลายชนิดอื่นจะใช้การคำนวณแบบเดียวกัน

2. ทำการทดสอบปริมาณการต้านสารอนุมูลอิสระสารที่แยกได้ด้วยเทคนิค DPPH radical scavenging activity

ข้อมูลค่า absorbance ของสารละลายตัวอย่าง

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างที่ 4.1

ความเข้มข้น (μg/mL)	Absorbance ชุดที่ 1	Absorbance ชุดที่ 2	Absorbance ชุดที่ 3	Absorbance เฉลี่ย
100	0.715	0.646	0.709	0.690
250	0.619	0.626	0.645	0.630
500	0.536	0.524	0.583	0.548
800	0.466	0.469	0.486	0.474

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างที่ 4.2

ความเข้มข้น (μg/mL)	Absorbance ชุดที่ 1	Absorbance ชุดที่ 2	Absorbance ชุดที่ 3	Absorbance เฉลี่ย
100	0.662	0.604	0.627	0.615
250	0.493	0.508	0.523	0.501
500	0.389	0.335	0.430	0.367
800	0.247	0.252	0.309	0.250

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างที่ 4.3

ความเข้มข้น (μg/mL)	Absorbance ชุดที่ 1	Absorbance ชุดที่ 2	Absorbance ชุดที่ 3	Absorbance เฉลี่ย
100	0.813	0.860	0.876	0.850
250	0.697	0.680	0.715	0.697
500	0.525	0.577	0.622	0.544
800	0.335	0.368	0.409	0.371

ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างที่ 6.3

ความเข้มข้น (μg/mL)	Absorbance ชุดที่ 1	Absorbance ชุดที่ 2	Absorbance ชุดที่ 3	Absorbance เฉลี่ย
5	0.784	0.790	0.794	0.789
10	0.485	0.499	0.526	0.503
30	0.160	0.188	0.251	0.200
60	0.172	0.160	0.191	0.174

ตารางที่ 2.5 ยางผลมังคุดที่ยังไม่ทำการสกัด

ความเข้มข้น (μg/mL)	Absorbance ชุดที่ 1	Absorbance ชุดที่ 2	Absorbance ชุดที่ 3	Absorbance เฉลี่ย
60	0.553	0.566	0.627	0.582
120	0.484	0.441	0.422	0.449
360	0.261	0.249	0.235	0.257

ตารางที่ 2.6 วิตามินอี (Trolox)

ความเข้มข้น (μmol/L)	Absorbance ชุดที่ 1	Absorbance ชุดที่ 2	Absorbance ชุดที่ 3	Absorbance เฉลี่ย
20	0.649	0.679	0.652	0.666
40	0.389	0.328	0.319	0.345
60	0.203	0.204	0.204	0.204

Absorbance ของ blank เท่ากับ 1.096

การคำนวณ

จากสูตร % inhibition = $(A_{blank}-A_{sample})/A_{blank}$ x 100

กำหนดให้ A_{blank} เป็นค่า absorbance ของสาร DPPH ที่ไม่มีสารตัวอย่าง

A_{sample} เป็นค่า absorbance ของสาร DPPH ที่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง

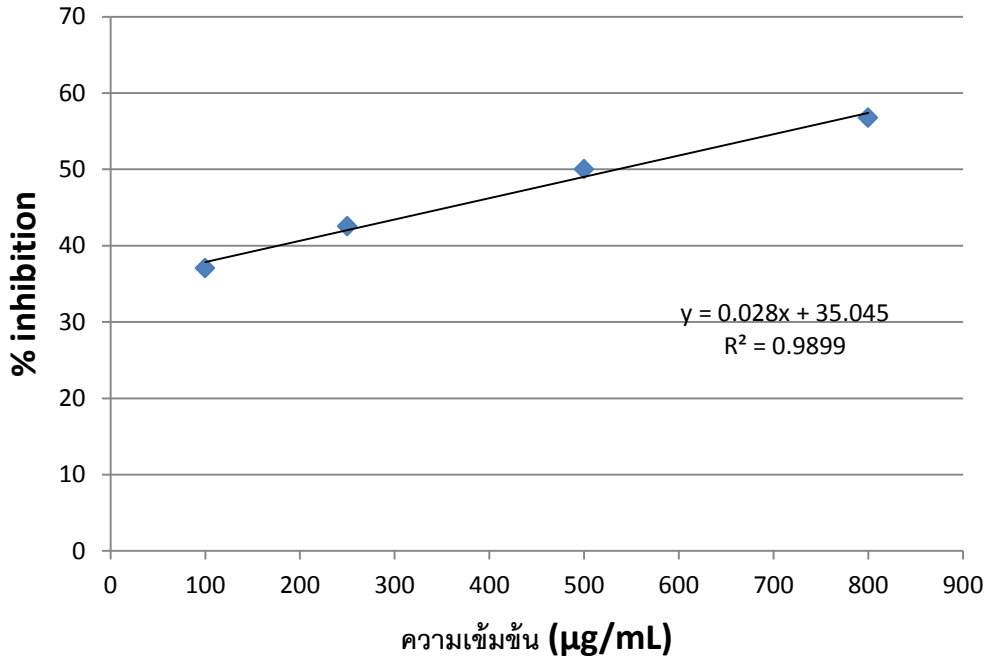
ตัวอย่างการคำนวณค่า % inhibition ของสารตัวอย่าง 4.1 ที่ความเข้มข้น 100 μg/mL

แทนค่า $\frac{1.096-0.690}{1.096} \times 100$ = 37.04 %

ที่ความเข้มข้นและตารางอื่น ๆ จะใช้วิธคำนวณแบบเดียวกัน

ตัวอย่างการคำนวณค่า IC_{50} ของตัวอย่างที่ 4.1

นำข้อมูลจากตารางที่ 2.1 มาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้น (μg/mL) และค่า %inhibition



หาค่า % inhibition ที่ยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง (% inhibition = 50 %)

จากสมการ $y = 0.028x + 35.045$

แทนค่า $50 = 0.028x + 35.045$

ดังนั้นจะได้ $X = 534.1$ μg/mL

สรุปได้ว่า สารตัวอย่าง 4.1 มี ค่า IC_{50} เท่ากับ 534.1 μg/mL ซึ่งสารตัวอย่างชนิดอื่นจะใช้การคำนวณในแบบเดียวกัน

คำนวณ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

จากการคำนวณจะได้ค่า IC_{50} ของ trolox คือ 27.607 μmol/L และ IC_{50} ของตัวอย่างที่ 4.1 คือ 534.10 μg/mL

เปลี่ยน IC_{50} ของ trolox ให้เป็นหน่วย μg/mL ดังนี้

$$\frac{27.607\ \mu mol}{1\ L} \times \frac{1\ L}{1000\ mL} \times \frac{250.29\ g.}{1 mol} = 6.910\ \mu g/mL$$

จากนั้นจะมาคำนวณค่า Trolox equivalent activity capacity (TEAC) โดยใช้สูตร

$$TEAC = \frac{IC_{50}\ sample\ \mu g/mL}{IC_{50}\ trolox\ \mu g/mL} \times \frac{1\ mol}{MW.Trolox\ g.}$$

$$= \frac{534.10\ \mu g/mL}{6.910\ \mu g/mL} \times \frac{1\ mol}{250.29\ g.}$$

= 0.3088 mol/g. หรือ 308.8 mmol/g.

ค่า TEAC ของตัวอย่างอื่นจะใช้การคำนวนในแบบเดียวกัน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวิติผู้วิจัย

นายธนดล แก้วอยู่ เกิดวันที่ 16 กันยายน พ.ศ. 2534 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนขอนแก่นวิทยายน จังหวัดขอนแก่น เมื่อปีการศึกษา 2552 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2553 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้คือ บ้านเลขที่ 329/194 ม. 7 ต. แดงใหญ่ อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000 เบอร์โทรศัพท์ 087-2165367 อีเมลล์ thestampedez@gmail.com

นายทินกร พันเดช เกิดวันที่ 7 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2534 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดสกลนคร เมื่อปีการศึกษา 2552 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2553 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้คือ บ้านเลขที่ 113 ม.3 ต. ศรีสุทโธ อ.บ้านดุง จ.อุดรธานี 41190 เบอร์โทรศัพท์ 091-7659362 อีเมลล์ sunautorun@gmail.com

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย