

การศึกษากระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกและการแยกสาร  
บริสุทธิ์บางส่วนโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบเพิ่มความดัน

STUDY ON ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION PROCESS FOR MANGOSTEEN PERICARP  
CRUDE EXTRACT AND PARTIAL PURIFICATION BY PRESSURIZED COLUMN  
CHROMATOGRAPHY



ปริญญาานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

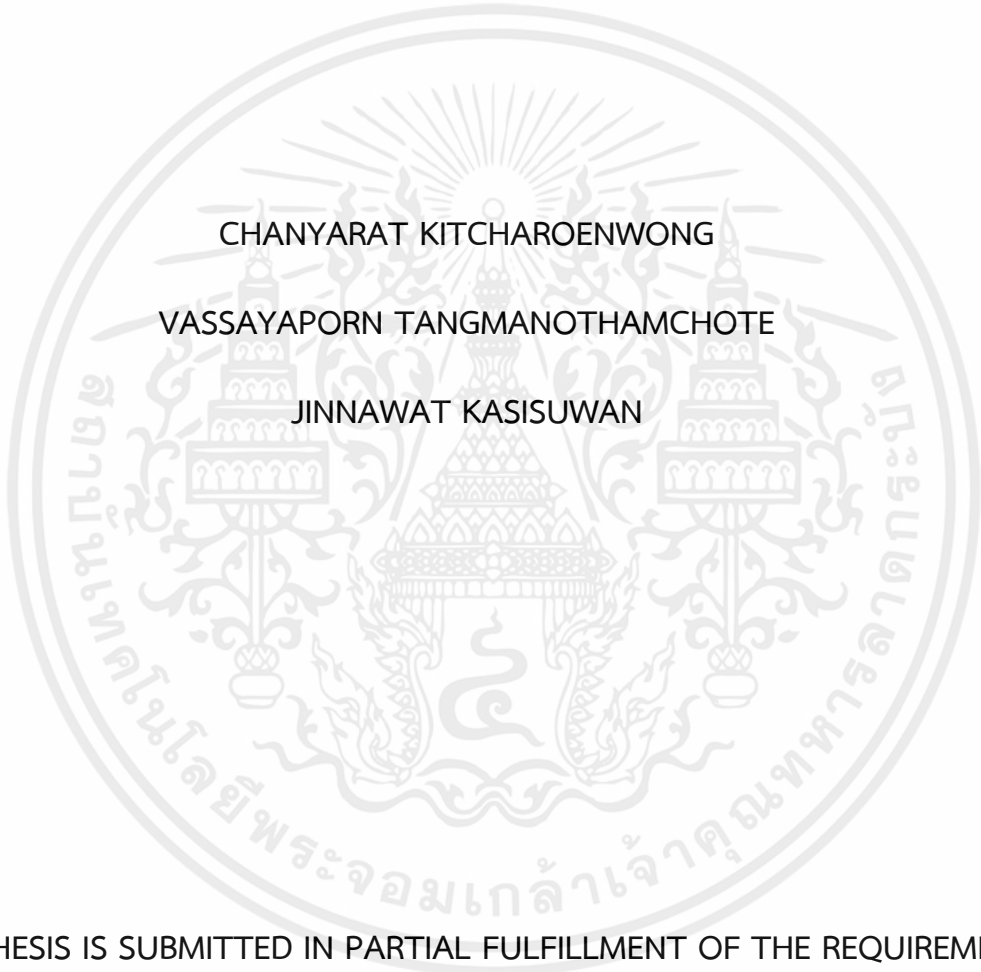
คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY ON ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION PROCESS FOR MANGOSTEEN  
PERICARP CRUDE EXTRACT AND PARTIAL PURIFICATION BY PRESSURIZED  
COLUMN CHROMATOGRAPHY



CHANYARAT KITCHAROENWONG  
VASSAYAPORN TANGMANOTHAMCHOTE  
JINNAWAT KASISUWAN

THIS THESIS IS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS  
FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF ENGINEERING IN FOOD ENGINEERING

SCHOOL OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์ปีการศึกษา 2565

ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง


เรื่อง การศึกษากระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกและการแยกสารบริสุทธิ์  
บางส่วนโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบเพิ่มความดัน

Study on Ultrasonic-Assisted Extraction Process for Mangosteen Pericarp Crude Extract  
and Partial Purification by Pressurized Column Chromatography

ผู้จัดทำ

1. ชัยญูรัตน์ กิจเจริญวงศ์
2. วัศยาภรณ์ ตั้งมโนธรรมโชติ
3. จินณวัตร กสิสุวรรณ

  
..... หัวหน้าภาค  
(ผศ.ดร.เจษฎา ชัยโถม)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผศ.ดร.เอกสิทธิ์ ศรีธรรม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการ	การศึกษากระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกและการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบเพิ่มความดัน
จัดทำโดย	นางสาวชญญารัตน์ กิจเจริญวงศ์ นางสาวศยาภรณ์ ตั้งมโนธรรมโชติ นายจินฉัตร กสิสุวรรณ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เอกสิทธิ์ ศรีธรรม
ปริญญาานิพนธ์	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมอาหาร
ปีการศึกษา	2565

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อช่วยในการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด และศึกษาการใช้ความดันเข้าช่วยในแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อช่วยในการสกัดสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถสกัดสารสกัดที่ระดับ  $0.23 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}/\text{min}$  ตลอดช่วงระยะเวลาการสกัด 1 hr และได้สารสกัดหยาบสูงสุดประมาณ  $2.50 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$  การสกัดแบบไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกให้อัตราการสกัดใกล้เคียงกันคือประมาณ  $0.24 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}/\text{min}$  แต่หลังจากประมาณ 45 min ไปแล้วปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากกระบวนการไม่ได้เพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงสุดประมาณ  $2.00 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$  การใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อช่วยสกัดไม่มีผลต่อค่า Brix และ pH ของสารสกัดหยาบ แต่ส่งผลให้ค่า  $\Delta E$  และปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในสารสกัดหยาบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การใช้ความดันแตกต่างช่วยแยกสารแอลฟาแมงโกสตินจากสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดไม่มีผลต่อค่าความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสติน แต่การใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 1 bar มีค่า yield ของกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกระบวนการที่ไม่ใช้ความดันและใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 0.5 bar

**Project title** Study on ultrasonic-assisted extraction process for mangosteen pericarp crude extract and partial purification by pressure column chromatography

**By** Ms. Chanyarat Kitcharoenwong

Ms. Vassayaporn Tangmanothamchote

Mr. Jinnawat Kasisuwan

**Advisor** Asst. Prof. Dr. Eakasit Sritham

**Academic year** 2022

### Abstract

This study was aimed at investigating the effects of sonication technique to assist the extraction process of crude extract from mangosteen pericarp powder and the effects of pressurization on partial separation of alpha-mangostin from the crude extract. It was found that sonication allowed the extraction to continually proceed at a rate of  $0.23 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}/\text{min}$  though out the extraction time of this experiment (1 hr) and provided the maximum yield of  $2.50 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$ . Conventional extraction without sonication exhibit similar extraction rate of about  $0.24 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}/\text{min}$ . However, after approximately 45 min of extraction, the amount of crude extract remained nearly unchanged with the maximum about of approximately  $2.00 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$ . Though sonication did not show any significant effect on the values of brix and pH of the crude extract, it caused the values of  $\Delta E$  and yield of alpha-mangostin in the crude extract increase significantly. The application of pressure to assist a partial separation process using a column chromatography technique did not show any influence on the purity of the obtaining alpha-mangostin. However, applying a pressure different at a level of 1 bar caused the yield of the separation process to reduce significantly as compared to that of the conventional process and the process with 0.5 bar of pressure difference.

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฉบับนี้สำเร็จล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาและความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร. เอกสิทธิ์ ศรีธรรม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ที่คอยสนับสนุนและกรุณาให้คำแนะนำตลอดจนปรับปรุงแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจและความทุ่มเทของอาจารย์ และขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. เข็ดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือและแนะนำในส่วนของการศึกษาและวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสตินตลอดจนให้คำแนะนำการใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี การเตรียมสารเคมีและการใช้เครื่องมือ-อุปกรณ์ ทำให้การทำโครงการวิจัย สำเร็จลงด้วยดี

ขอขอบคุณ นางสาวอลิษา สุนทรวัฒน์ อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้คำแนะนำและอนุญาตให้ใช้เครื่องมือ-อุปกรณ์ ในการทำโครงการวิจัย ช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในเรื่องต่าง ๆ ด้วยความเข้าใจและใส่ใจเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ บริษัท โนวา ออร์แกนิก จำกัด (มหาชน) ที่ให้ใช้สถานที่ในการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด ทำให้โครงการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดี

ขอขอบคุณ คณะอาจารย์และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิศวกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ

ผู้วิจัยหวังว่าปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้จะมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในอนาคตและขอภัยไว้มา ณ ที่นี้สำหรับข้อบกพร่องที่เกิดขึ้น หากมีคำแนะนำใด ๆ ที่ช่วยปรับปรุงและพัฒนาปริญญาานิพนธ์นี้ ผู้วิจัยยินดีรับฟังและนำไปปรับปรุงพัฒนาปริญญาานิพนธ์นี้ต่อไป

ชญญารัตน์ กิจเจริญวงศ์

วัศยาภรณ์ ตั้งมโนธรรมโชติ

จิณณวัตร กสิสุวรรณ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	II
กิตติกรรมประกาศ .....	III
สารบัญ .....	IV
สารบัญตาราง .....	VII
สารบัญรูป .....	IX
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ .....	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา .....	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ .....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	4
2.1 มังคุด .....	4
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของมังคุด .....	4
2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของมังคุด .....	5
2.1.3 สารสำคัญในมังคุด .....	7
2.1.4 ประโยชน์ของสารสำคัญในมังคุด .....	8
2.2 การสกัดสาร .....	9
2.3 การทำให้สารบริสุทธิ์บางส่วน .....	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

2.3.1	หลักการโครมาโทกราฟี.....	10
2.3.2	เฟสคงที่ (Stationary phase).....	11
2.3.3	เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase).....	12
2.3.4	ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสาร.....	13
2.4	การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสติน.....	15
2.4.1	Thin Layer Chromatography (TLC).....	15
2.4.2	High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	16
2.5	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
บทที่ 3	ระเบียบวิธีวิจัย.....	22
3.1	วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง.....	22
3.1.1	วัตถุดิบและสารเคมี.....	22
3.1.2	อุปกรณ์.....	22
3.2	วิธีการทดลอง.....	23
3.2.1	การสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด.....	23
3.2.2	การแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....	25
3.3	การวิเคราะห์สมบัติของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด.....	27
3.3.1	การวิเคราะห์ค่าสี.....	27
3.3.2	การวิเคราะห์ค่า Brix.....	27
3.3.3	การวิเคราะห์ค่า pH.....	27
3.3.4	การวิเคราะห์ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน.....	27

## สารบัญ (ต่อ)

3.4 การวิเคราะห์สมบัติของสารที่ได้จากกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน.....	29
3.4.1 การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสตินเบื้องต้น.....	29
3.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสติน.....	29
3.5 แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	30
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	31
4.1 ผลการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด.....	31
4.1.1 สมรรถนะของกระบวนการสกัด.....	31
4.1.2 สมบัติของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากการทดลองสกัด.....	33
4.2 ผลการแยกสารแอลฟาแมงโกสตินด้วยกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน.....	35
4.2.1 การคัดแยกตัวอย่างเบื้องต้นด้วยเทคนิค Thin layer chromatography.....	35
4.2.2 อิทธิพลของการใช้ความดันต่อการแยกสารแอลฟาแมงโกสติน ด้วยกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน.....	36
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	38
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	38
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	39
บรรณานุกรม.....	40
ภาคผนวก.....	43
ภาคผนวก ก วิธีการทดลอง.....	44
ภาคผนวก ข ผลการทดลอง.....	51
ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณค่าทางด้านโภชนาการของธัญอาหารในผลมังคุด .....	6
2.2 ตัวทำละลายที่ใช้ในโครมาโทกราฟี เรียงลำดับตามความเป็นขี้ว .....	13
4.1 สมบัติบางประการของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดและปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน (yield) จาก กระบวนการสกัดที่ต่างกัน .....	34
4.2 ผลของการใช้แรงดันต่อความบริสุทธิ์และปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน .....	37
ข.1 ผลการทดลองการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดแบบไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก.....	51
ข.2 ผลการทดลองการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิก .....	51
ข.3 ผลการทดลองการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบไม่ใช้ความดัน.....	51
ข.4 ผลการทดลองการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบใช้ความดันที่ 0.5 bar .....	52
ข.5 ผลการทดลองการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบใช้ความดันที่ 1 bar.....	52
ข.6 พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสตินที่ความเข้มข้น 100 µg/ml.....	52
ค.1 ผลการวิเคราะห์ Paired samples T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาการสกัดสารสกัด หยาบเปลือกมังคุด .....	53
ค.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาปริมาณสารแอลฟาแมง โกสตินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี .....	54
ค.3 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (วิธี Turkey's Honestly Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี .....	54

### สารบัญตาราง (ต่อ)

- ค.4 วิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสตินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....55
- ค.5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (วิธี Turkey's Honestly Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสตินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....56



## สารบัญญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ผลมั่งคุดและส่วนประกอบของผล .....	5
2.2 โครงสร้างทางโมเลกุลของสารแมงโกสติน .....	7
2.3 เฟสคงที่ (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (moving phase) ในคอลัมน์โครมาโทกราฟี.....	11
2.4 ค่า $R_f$ ใน Thin Layer Chromatography (TLC).....	15
2.5 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC .....	17
2.6 กราฟ HPLC.....	19
3.1 กระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยวิธีการเปิดและไม่เปิดคลื่นอัลตราโซนิก .....	24
3.2 แผนภาพกระบวนการสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด.....	24
3.3 นำสารตัวอย่างสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดโหลดซ้ำ ๆ ลงบนคอลัมน์.....	26
3.4 ลักษณะตัวอย่างที่เก็บใส่หลอดทดลอง จำนวน 45 หลอด (fractions).....	26
3.5 ตัวอย่างพื้นที่ได้กราฟในโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสตินจากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)).....	28
4.1 กราฟแสดงสมรรถนะของกระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด .....	32
4.2 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์สารที่ได้จากกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC).....	35
ก.1 การเตรียมผงเปลือกมังคุด.....	44
ก.2 กระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยวิธีการเปิดและไม่เปิดคลื่นอัลตราโซนิก .....	44
ก.3 การเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 min ระยะเวลา 1 hr ที่หม้อสกัด.....	45
ก.4 การเตรียมเฟสคงที่ Diaion HP-20 ลงในคอลัมน์.....	45

## สารบัญรูป (ต่อ)

ก.5 การทดลองแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี .....	46
ก.6 ลักษณะตัวอย่างที่เก็บใส่หลอดทดลอง จำนวน 45 หลอด (fractions) .....	46
ก.7 การวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่องวัดสีมาตรฐาน Spectrophotometer .....	47
ก.8 การวิเคราะห์ค่า Brix ด้วยเครื่อง Refractometer .....	47
ก.9 การวิเคราะห์ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter .....	48
ก.10 การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสตินด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) .....	48
ก.11 การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสตินเบื้องต้นด้วยแผ่น Thin layer chromatography (TLC) .....	49
ก.12 การวิเคราะห์ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ purity (%) ของสารแอลฟาแมงโกสตินจากช่วงของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์เบื้องต้นจาก TLC ด้วยเครื่อง HPLC .....	49
ก.13 ตัวอย่างพื้นที่ได้กราฟในโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน จากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)) .....	50

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นผลไม้เขตร้อนที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งมีคุณค่าสูงในด้านคุณสมบัติทางยามานานหลายศตวรรษ โดยทั่วไปในมังคุด 1 ผล ประกอบด้วยส่วนเปลือกกร้อยละ 83 เนื้อร้อยละ 15 และเมล็ดร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ดังนั้นผลพลอยได้และเศษเหลือทิ้งส่วนใหญ่คือ เปลือกมังคุด การสร้างมูลค่าเพิ่มจากเปลือกมังคุดจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ เปลือกมังคุดเป็นแหล่งที่มาของสารสกัดธรรมชาติที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และแหล่งสารฟีนอลิกสำคัญที่พบในมังคุด ได้แก่ แชนโทน แทนนิน และโปรแอนโทไซยานิน ซึ่งสารแชนโทนพบมากในเปลือกมังคุด เมล็ด และเนื้อมังคุด ตามลำดับ (อภิญา, 2558) แอลฟาแมงโกสตินเป็นสารแชนโทนที่มีปริมาณสูงที่สุดในเปลือกมังคุดฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อแบคทีเรีย และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น นอกจากนี้มีการศึกษาและวิจัยที่เกี่ยวกับแอลฟาแมงโกสตินในการรักษาหลายโรค เช่น โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดสมอง โรคกระเพาะ และโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง มีคุณประโยชน์อย่างมากในด้านเวชกรรม อุตสาหกรรม เครื่องสำอาง โภชนาการ สมุนไพร และนำเปลือกมังคุดไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ อีกมากมาย เช่น แชมพู โลชั่น ครีม เจลล้างหน้า ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ซึ่งอาจช่วยเสริมสร้างความเป็นไปได้ในการรักษาและป้องกันโรค และเพิ่มความสมบูรณ์ของสารอาหารที่มนุษย์ต้องการดูแลสุขภาพ (Pedraza et al., 2008)

การสกัดสารสกัดจากพืช เป็นกระบวนการที่สำคัญในการสร้างสารสกัดที่มีคุณภาพสูงสำหรับการใช้ในอุตสาหกรรมเช่น เครื่องสำอาง ยา อาหารเสริม และอื่น ๆ อย่างไรก็ตามกระบวนการสกัดสารสกัดจากพืชโดยวิธีการแบบดั้งเดิมอาจใช้เวลานานและไม่สามารถสกัดสารสกัดได้อย่างสมบูรณ์ การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการช่วยสกัดหรือวิธี Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) เป็นเทคนิคการสกัดสารที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้ในการสกัดสารจากพืชหรือสารเคมีอื่น ๆ โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อสร้างการสั่นสะเทือนภายในตัวอย่าง ซึ่งจะช่วยให้ประสิทธิภาพการสกัดสารและลดเวลาในการสกัดมากขึ้น โดยที่ไม่ต้องใช้สารเคมีเพิ่มเติมในการสกัด และมีความสำคัญอย่างมากในการสกัดสารจากพืชหรือสารเคมีที่มีความยากต่อการสกัด เช่น สารสกัดจากเมล็ดพืช หรือสารสกัดจากพืชที่มีความหนาแน่นสูง เนื่องจากอาจไม่สามารถดึงสารจากตัวอย่างได้ทั้งหมด ดังนั้นการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการช่วยสกัด อาจเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและทันสมัยมาก

ขึ้น ทำให้สารสกัดที่ได้มีคุณภาพสูงขึ้น ช่วยลดเวลาในการสกัดและเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเชิงเคมี (de Oliveira et al., 2018)

โครมาโทกราฟีเป็นหนึ่งในเทคนิคการแยกที่สำคัญที่นิยมในอุตสาหกรรมยาและเคมี โดยอาศัยคุณสมบัติในการละลาย ขนาด ประจุ และความเป็นขั้วของโมเลกุลสารในองค์ประกอบสองส่วน นั่นคือ ส่วนคงที่ (stationary phase) และส่วนเคลื่อนที่ (moving phase) ในการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์เป็นวิธีที่ใช้ในอุตสาหกรรมเพื่อจุดประสงค์ในแยกสารให้บริสุทธิ์ เพราะมีข้อดีหลายประการ เช่น ราคาไม่แพง การบรรจุอย่างง่าย และการใช้งานที่ง่าย แต่ก็มีข้อจำกัด คือใช้เวลานานและไม่ละเอียดเท่าที่ควร ซึ่งโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์นี้เองถูกแยกออกเป็นสองประเภท ขึ้นอยู่กับว่าตัวทำละลายไหลลงคอลัมน์อย่างไร หากตัวทำละลายไหลลงมาตามคอลัมน์โดยแรงโน้มถ่วง เรียกว่า โครมาโทกราฟีคอลัมน์แรงโน้มถ่วง หากตัวทำละลายถูกกดลงในคอลัมน์โดยแรงดันอากาศที่เป็นบวกจะเรียกว่า แพลชโครมาโทกราฟี (Roge, 2011) ดังนั้น แพลชโครมาโทกราฟีนี้เองจึงสามารถเข้ามาจัดการข้อจำกัดของโครมาโทกราฟีคอลัมน์แรงโน้มถ่วงได้ โดยทำให้อัตราการชะตัวทำละลายเพิ่มขึ้นและลดเวลาการทำงานลงอย่างมากโดยใช้แรงดันบวก (Sravani, 2018)

คณะผู้จัดทำจึงได้ทำการศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อช่วยในการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด และศึกษาการประยุกต์ใช้ความดันแตกต่างเพื่อช่วยในการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีแพลชโครมาโทกราฟีสำหรับการแยกสารแอลฟาแมงโกสทินจากสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาอิทธิพลของการใช้คลื่นอัลตราโซนิก ต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของการใช้ความดันเพื่อช่วยในการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนจากสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

## 1.3 ขอบเขตการศึกษา

1.3.1 ใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 20 kHz เพื่อช่วยในกระบวนการการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

1.3.2 ทำการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีการคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ Diaion HP-20 เป็นตัวดูดซับ

1.3.3 ความดันแตกต่างที่ใช้ในการช่วยแยกสารมี 2 ระดับได้แก่ 0.5 และ 1 bar

#### 1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากกระบวนการสกัด และได้สารบริสุทธิ์บางส่วนจากกระบวนการคอลัมน์โครมาโทกราฟี

1.4.2 ทราบอิทธิพลของการใช้คลื่นอัลตราโซนิคต่อการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

1.4.3 ทราบอิทธิพลของการใช้ความดันต่อการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

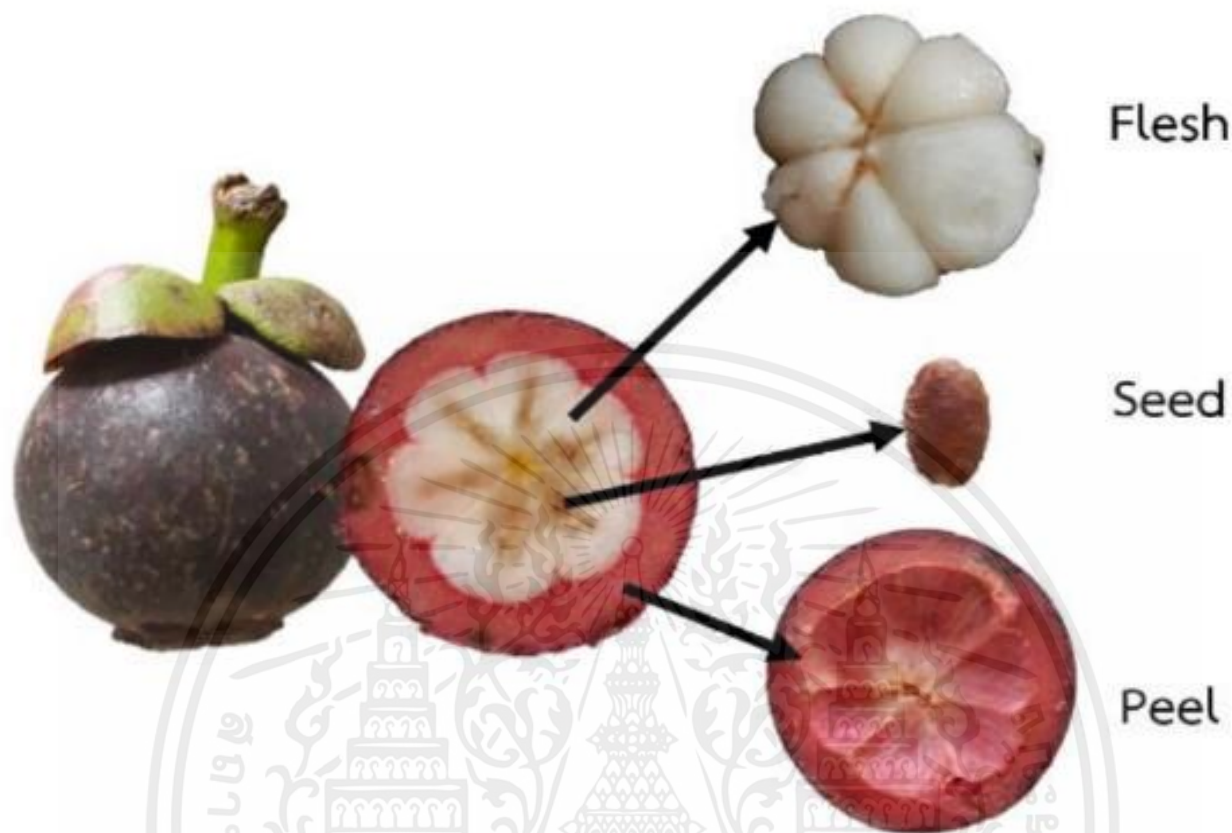
#### 2.1 มังคุด

มังคุด (Mangosteen) หรือชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Mangosteen Garcinia mangostana* Linn. เป็นพืชในวงศ์ Guttiferae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบมากในประเทศอินเดีย พม่า มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และในบรรดาผลไม้ทั้งหมดมังคุด ได้รับการยกย่องให้เป็น "ราชินีแห่งผลไม้" (Queen of fruits) ด้วยลักษณะเฉพาะของผลมังคุดที่มีกลีบเลี้ยงอยู่ที่ขั้วของผล คล้ายมงกุฎของราชินี เนื้อด้านในมีสีขาวนวล รสชาติหวานอมเปรี้ยวกลมกล่อมและเป็นผลไม้เขตร้อนที่รสชาติดีที่สุดในมังคุดนั้นถูกใช้เป็นยาสมุนไพรมาเป็นเวลาพันปี โดยบริเวณเปลือกของผลมังคุด ใบ และเปลือกไม้ ถูกใช้ในการรักษาโรคหวัด โรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ ท้องร่วง โรคบิด อากาโรคันและโรคอื่น ๆ อีกมากมาย

##### 2.1.1 ลักษณะทั่วไปของมังคุด

มังคุดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงใหญ่ ลำต้นตรง เปลือกมีสีน้ำตาลถึงดำ ใบใหญ่หนาและแข็งผลกลมแบนเล็กน้อยมีขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 4-7 cm ก้านผลสั้น มีกลีบรองดอกซึ่งกลายเป็น จุกผลติดอยู่ที่ขั้ว ผลสุกมีสีม่วงอมน้ำตาล เปลือกหนา (ธัญญา, 2544)

โดยทั่วไปในมังคุด 1 ผล ประกอบด้วยส่วนเปลือก 83% เนื้อ 15% และเมล็ด 2% โดยน้ำหนัก บริเวณเปลือกมังคุดมีสารกลุ่มแอนโทไซยานินส์ (anthocyanins) ซึ่งเป็นสารสีแดง มีปริมาณ 30-32% และแทนนิน (tannins) 7-14% เปลือกมังคุดประกอบด้วยสารสำคัญคือกลุ่มสารแซนโทน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (วิไลศรี และคณะ, 2556)



รูปที่ 2.1 ผลมังคุดและส่วนประกอบของผล  
ที่มา : นรินทร์ และคณะ (2563)

### 2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของมังคุด

เนื้อมังคุดมีคุณค่าทางอาหารสูงโดยเฉพาะโพแทสเซียม โปรตีน วิตามินซี ฟอสฟอรัส แคลเซียมและแมกนีเซียม จากการตรวจวิเคราะห์พบว่าในน้ำมังคุด 100 ml ซึ่งประกอบด้วยโพแทสเซียมปริมาณสูงถึง 87.14 mg แคลเซียม 34.53 mg และแมกนีเซียม 111.22 mg นอกจากนี้ในเนื้อมังคุดยังประกอบด้วยคุณค่าด้านโภชนาการของธาตุอาหารมากมาย

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางด้านโภชนาการของธาตุอาหารในผลมังคุด

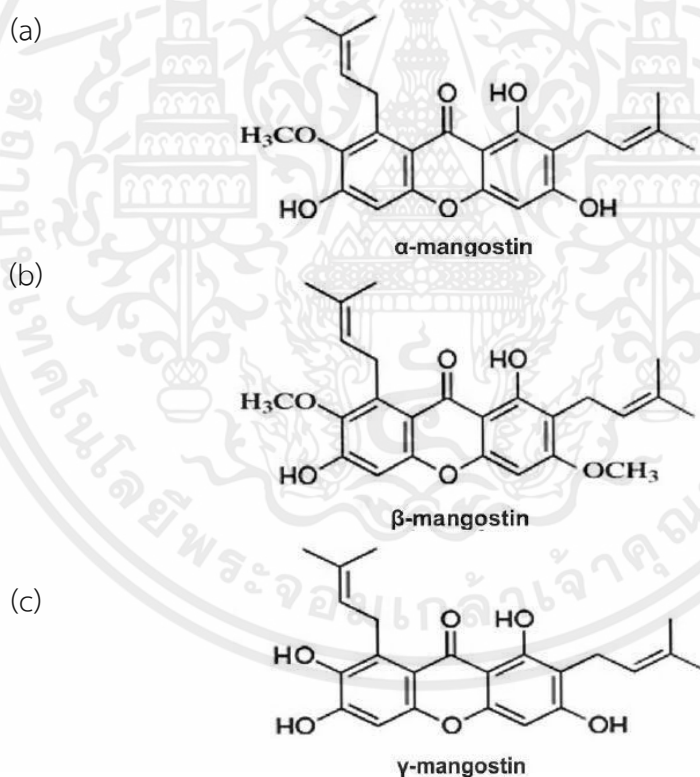
ธาตุอาหาร	ส่วนประกอบของธาตุอาหารต่อ 100 g
พลังงาน	34 Kcal
ความชื้น	87.60%
โปรตีน	0.6 g
ไขมัน	1 g
คาร์โบไฮเดรต	5.6 g
เส้นใย	5.1 g
เถ้าถ่าน	0.1 g
แคลเซียม	7 mg
แมกนีเซียม	13 mg
ฟอสฟอรัส	13 mg
เหล็ก	1 mg
โซเดียม	7 mg
โพแทสเซียม	45 mg
วิตามินบี 1	0.03 mg
วิตามินบี 2	0.03 mg
ไนอะซิน	0.3 mg
วิตามินซี (แอสคอร์บิกเอซิด)	4.2 mg

ที่มา : วราภรณ์ (2554)

### 2.1.3 สารสำคัญในมังคุด

สารแซนโทน (xanthone) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีคุณค่ามากกว่าวิตามินหลายเท่า พบมากในส่วนเนื้อเปลือกด้านในซึ่งมีถึง 75% และในเปลือกมังคุดมีสารสีเหลืองที่ละลายในน้ำและแอลกอฮอล์ได้ดี สารแซนโทนส่วนใหญ่ในเปลือกมังคุดเป็นสารจำพวกแมงโกสติน (mangostin) (วิไลศรี และคณะ, 2556) ซึ่งมีความสมบัติทางชีววิทยาและเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ด้านมะเร็ง ด้านแบคทีเรีย ด้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น จึงเป็นที่นิยมในการสกัดและแยกสารแอลฟาแมงโกสตินออกมาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์

แมงโกสติน (Mangostin) เป็นสารสีเหลืองสว่าง จุดหลอมเหลวประมาณ 182 -183°C สามารถแยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของต้นมังคุด ซึ่งเปลือกมังคุดประกอบด้วยสารอนุพันธ์หลายชนิดที่สำคัญคือ alpha-mangostin, beta-mangostin และ gamma-mangostin ซึ่งสาร alpha-mangostin เป็นตัวที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด



รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางโมเลกุลของสารแมงโกสติน

(a) แอลฟาแมงโกสติน (b) เบตาแมงโกสติน (c) แกมมาแมงโกสติน

ที่มา : <https://www.researchgate.net>

แอลฟาแมงโกสติน (alpha-mangostin) เป็นสารกลุ่มแซนโทนประเภท "tetra-oxygenated diprenylatedxanthane" มีสูตรโครงสร้าง (1,3,6-Trihydroxy-7-methoxy-2,8-bis(3-methylbut-2-enyl) xanthone (ณัฐนิชา, 2564) มีคุณสมบัติออกฤทธิ์ได้กว้างขวาง เช่น ต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ต้านการอักเสบ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร และฤทธิ์อื่น ๆ นอกจากนี้ยังเป็นพิษต่อตับน้อยกว่า ยา paracetamol ที่ใช้กันอยู่ทั่วไป ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาให้เป็นยาปฏิชีวนะและยาต้านการอักเสบในมนุษย์ได้ในอนาคต (ธัญญา, 2544)

#### 2.1.4 ประโยชน์ของสารสำคัญในมังคุด

สารสำคัญในมังคุดมีสรรพคุณที่หลากหลายและมีประโยชน์ในการรักษาและป้องกันโรคต่าง ๆ อาทิ เช่น โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง โรคไขข้ออักเสบ โรคอัลไซเมอร์ โรคหัวใจ และโรคร้ายอื่น ๆ โดยสารสกัดจากมังคุดสามารถช่วยบำรุงผิวพรรณ ลดอาการอักเสบ ลดความดันโลหิตและระดับโคเลสเตอรอล โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดได้มีการพิสูจน์แล้วว่า ช่วยขยายหลอดเลือด และป้องกันการสะสมของตะกอนไขมัน ทำให้ลดระดับโคเลสเตอรอล และป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและฟัคนาความสมดุลภายในกระเพาะอาหาร และยังช่วยให้ทางเดินปัสสาวะมีสถานะที่ดีขึ้น สารแซนโทนได้รับการพิสูจน์แล้วว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียธรรมชาติ ตลอดจนสารตกค้างที่เกิดจากการรับประทานยาปฏิชีวนะออกจากร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยต่อต้านและป้องกันโรคมะเร็ง จากผลการวิจัยได้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากมังคุดจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในเม็ดเลือด มะเร็งเต้านม มะเร็งในตับ มะเร็งในกระเพาะอาหาร ตลอดจนมะเร็งในปอดได้ ช่วยต่อต้านและป้องกันการติดเชื้อรา แบคทีเรียบางชนิด และเชื้อไวรัส โดยใช้สารสกัดจากมังคุด ดังนั้นมังคุดจึงได้ชื่อว่าเป็น “ราชินีแห่งการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์” และช่วยป้องกันโรคนิวโมโตอีกด้วย (วราภรณ์, 2554)

ปัจจุบันมีการวิจัยและพัฒนาสกัดสารจากมังคุด มีคุณสมบัติอย่างมากมายในด้านเวชกรรมนำไปใช้ต้านแบคทีเรียและรา นำไปเป็นส่วนประกอบอาหารที่ให้ประโยชน์อย่างมากทั้งในด้านโภชนาการและสมุนไพรสร้างภูมิคุ้มกันต้านโรคร้ายแรงต่าง ๆ มากยิ่งขึ้น โดยสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่นเซลล์มะเร็งเต้านม มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส (NIV-1 protease) ที่จำเป็นต่อวัฏจักรชีวิตของ HIV ใช้เป็นยาแก้อักเสบ ยาแก้ภูมิแพ้ยารักษาโรคผิวหนัง เป็นต้น นำไปผสมรวมกับสารโพลีเอสเตอร์ที่ใช้สำหรับอุตสาหกรรมพลาสติก นอกจากนี้ยังมีการนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ในด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด ได้แก่ สบู่ ครีมหูหรือโลชั่นบำรุงผิว สบู่ แชมพู เจลล้างหน้า ครีมนกันแดด ครีบบำรุงรากผม เจลแต้มสิว เจลล้างมือ เป็นต้น

## 2.2 การสกัดสาร

การสกัดด้วยเสียงคลื่นแบบอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted extraction หรือ UAE) เป็นเทคนิคที่ใช้เสียงคลื่นความถี่สูงและสารละลายในการสกัด คลื่นเสียงที่ใช้ใน UAE เป็นคลื่นกลของคลื่นความถี่ที่สูงกว่าช่วงความถี่ที่สามารถได้ยินได้ของมนุษย์ (20 Hz ถึง 20 kHz) กลไกหลักที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแยกสารโดยใช้เสียง ultrasonic (UAE) คือการกายภาพแรงบิดโดยเสียง (acoustic cavitation) ซึ่งจะทำให้ฟองซิมลดลงและเสียง ultrasonic สามารถกระตุ้นหรือสร้างเหตุการณ์แบบต่าง ๆ ได้ เช่น การแตกเป็นชิ้นย่อย (fragmentation) การกัดกร่อนที่เฉพาะทาง (localized erosion) ความดันภายในช่องว่าง (pore formation) แรงเฉือน (shear force) การดูดซิมเพิ่มขึ้น (increased absorption) และดัชนีการบวม (swelling index) (Kumar et al., 2021) ซึ่งกลไกในการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก มีดังนี้

1) การแตกหักของผนังเซลล์ เมื่อใช้คลื่นอัลตราโซนิก จะเกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า cavitation หรือการกัดกร่อนของผนังเซลล์โดย jet stream เมื่อฟองอากาศแตกตัว

2) การกัดเซาะสารภายในเซลล์พืช เมื่อผนังเซลล์ของพืชแตกออกจะทำให้เกิดการกัดเซาะภายในเซลล์พืชนั้นคลื่นอัลตราโซนิกทำให้เกิดความเสียหายบริเวณตำแหน่งของเนื้อเยื่อพืช เรียกว่า "การกัดเซาะ" (erosion) การกัดเซาะนี้อาจเป็นผลมาจากการเกิดการระเบิดของฟองอากาศใต้ผิวเนื้อเยื่อพืช ส่วนที่ถูกกัดเซาะจะช่วยให้สารละลายเข้าไปทำปฏิกิริยากับตัวของพืชได้ดีขึ้น ซึ่งทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดเอาสารออกมาได้มากขึ้น

3) การเกิดกระบวนการแพร่ผ่านของของเหลวในเซลล์พืชเพื่อจะเอาสารออกมา

นอกจากกลไกหลัก ๆ เหล่านี้แล้วยังมีกลไกอื่น ๆ ของการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเกิดขึ้นได้อีกเมื่อใช้ในแต่ละผลิตภัณฑ์ เช่น sonoporation คือการช่วยทำให้การแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้นด้วยคลื่นอัลตราโซนิก การเกิดแรงเฉือน (Shear force) จากผลของ cavitation ของฟองก๊าซโดยจะนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการทำให้เกิดอิมัลชัน ประโยชน์ของคลื่นอัลตราโซนิกที่เหนือกว่ากระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมที่เห็นได้ชัดคือ การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารสำคัญที่สกัดได้ ซึ่งพบในรายงานทางวิชาการจำนวนมากเช่น ในการสกัด chlorogenic acid จากใบอาติโชค (Artichoke) ที่อุณหภูมิห้องด้วย 80% เมทานอล เป็นเวลา 15 min จะเพิ่มปริมาณสารได้มากกว่าเดิมถึง 50% เมื่อมีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกแทนการสกัดด้วยวิธีแช่อยู่ (Maceration) ที่อุณหภูมิห้อง และได้ทดลองสกัดสาร capsaicinoids จากพริกโดยใช้ ultrasonic bath ที่ 35kHz 95%เอทานอลที่อุณหภูมิ 45 ° C พบว่าสามารถสกัดสาร capsaicinoids ได้ปริมาณมากกว่า 85% จากวัตถุดิบตั้งต้นเนื่องจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อนกว่าการสกัดโดยวิธี

ทั่วไป (Conventional method) ดังนั้นจึงควรมีการควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อการสกัด ซึ่งส่งผลต่อปริมาณสารสกัดที่ได้และการขยายขนาดการผลิต โดยปัจจัยเหล่านี้ ได้แก่

1) Amplitude หรือ ความเข้มของคลื่นเสียง หรือ กำลังของคลื่นเสียงขนาดที่สูงทำให้หัวโพรบสั่นกร่อนทำให้เกิดการกวนของระบบ ลดการเกิด cavitation นอกจากนี้การใช้ความเข้มของคลื่นเสียงสูงอาจทำให้สารที่ต้องการสลายตัวได้

2) ความถี่ จำกัดการเกิด cavitation โดยปกตินิยมใช้ใน ช่วง 20-40 kHz

3) อุณหภูมิ อุณหภูมิที่สูงช่วยให้เกิดการชะระหว่างตัวทำละลายและสาร

4) เวลา เวลาที่นานขึ้นช่วยทำให้ได้ผลผลิตมากขึ้น

5) ตัวทำละลาย ตัวทำละลายบางชนิดอาจระเหยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและใช้เวลานาน ความดันไอและแรงตึงผิวมีส่วนทำให้เกิด cavitation

6) วัสดุขุด ขนาดวัสดุขุด อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับวัสดุขุด (บุญเกิด, 2561)

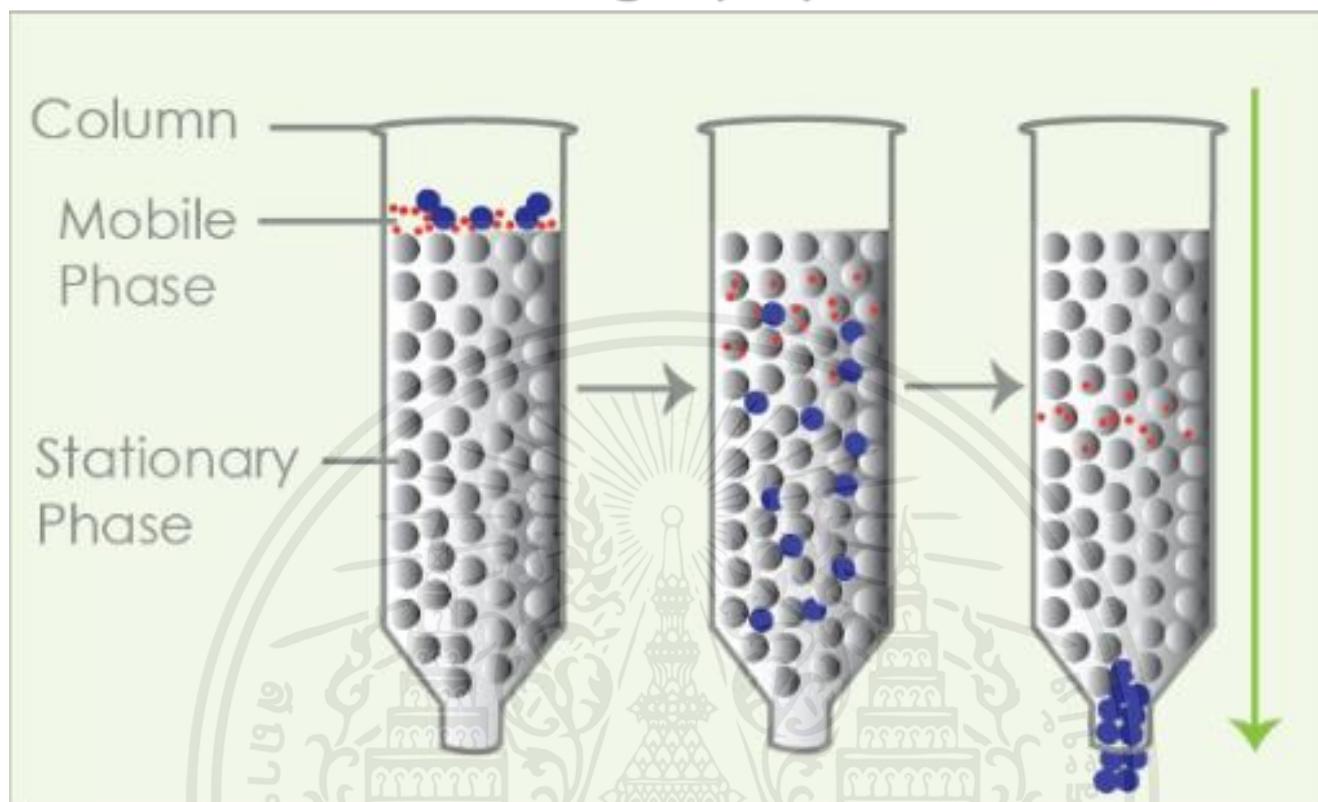
## 2.3 การทำให้สารบริสุทธิ์บางส่วน

โครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบต่างชนิดกัน ออกจากกันโดยอาศัยคุณสมบัติในการละลาย ประจุและความแตกต่างในการกระจายตัวของโมเลกุลสารประกอบในส่วนคงที่ (stationary phase) และส่วนเคลื่อนที่ (moving phase)

### 2.3.1 หลักการโครมาโทกราฟี

ส่วนคงที่ (stationary phase) ในคอลัมน์โครมาโทกราฟีจะถูกบรรจุบนตัวค้ำในคอลัมน์ ส่วนภาคเคลื่อนที่ (moving phase) หรือตัวทำละลายจะเติมลงในคอลัมน์เพื่อชะแยกสารตัวอย่างลงมาเป็นชั้นตามลำดับตามความเป็นขั้วของสารตัวอย่าง โดยโมเลกุลสารตัวอย่างที่ต้องการแยกจะผ่านส่วนคงที่ด้วยการชะพาลงมาของโมเลกุลสารส่วนเคลื่อนที่

# Column Chromatography



รูปที่ 2.3 เฟสคงที่ (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (moving phase) ในคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ที่มา : <https://goldbio.com>

## 2.3.2 เฟสคงที่ (Stationary phase)

เฟสคงที่ (Stationary phase) เป็นส่วนที่อยู่นิ่ง ไม่เคลื่อนไหวในกระบวนการแยกสารโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมีหน้าที่ในการแยกสารตามคุณสมบัติทางเคมี ซึ่งสารต่าง ๆ จะมีการจับตัวกับเฟสคงที่และเคลื่อนที่ผ่านไปบนพื้นผิวของเฟสคงที่ ซึ่งจะทำให้เกิดการแยกสารขึ้นได้

Diaion HP-20 เป็นเฟสคงที่ประเภทหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยมิลักษณะเป็นเรซินโพลีเมอร์ที่มีรูพรุนสูงซึ่งประกอบด้วยโคพอลิเมอร์โพลีสไตรีน-ไดไวนิลเบนซีน โดยเฟสคงที่นี้มีความไม่ชอบน้ำ ซึ่งสามารถใช้ในการแยกสารประกอบได้หลากหลาย รวมถึงผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ยา และสารมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งข้อดีของการใช้ Diaion HP-20 เป็นเฟสคงที่คือความสามารถในการดูดซับสูงซึ่งช่วยให้สามารถแยกส่วนผสมที่ซับซ้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และสารเคมีต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ๆ ซึ่งสามารถควบคุมได้โดยการปรับสถานะของตัวทำละลายที่ใช้ในระหว่างการแยก นอกจากนี้ Diaion HP-20 เป็นเรซินที่มีคุณสมบัติคงที่และความเสถียรสูงซึ่งสามารถใช้งานได้ในช่วง pH และอุณหภูมิที่หลากหลาย นอกจากนี้ เฟสคงที่นี้ยังมีความทนทานและเป็นเฟสเคลื่อนที่อเนกประสงค์ ซึ่งช่วยให้สามารถแยกสารประกอบได้อย่างมีประสิทธิภาพในกรณีที่ต้องการความสามารถในการดูดซับสูง

Diaion HP-20 มักใช้ในการทำให้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติบริสุทธิ์ เช่น ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และเทอร์ปีน นอกจากนี้ยังใช้ในการแยกสารประกอบอินทรีย์ประเภทต่าง ๆ รวมทั้งฟีนอล กรดไขมัน และสเตียรอยด์ นอกจากนี้ ยังใช้ในการกำจัดสารมลพิษอินทรีย์จากตัวอย่างสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำและดิน โดยรวมถือเป็นเฟสคงที่ที่ได้รับความนิยมในการใช้งานในการแยกสารอย่างกว้างขวางในหลาย ๆ งานวิจัยและอุตสาหกรรมที่ต้องการความสามารถในการดูดซับสูงและความทนทานต่อเงื่อนไขการทำงานต่าง ๆ ที่ต้องใช้ในกระบวนการแยกสาร

### 2.3.3 เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase)

เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) คือตัวทำละลายในการชะสารที่ต้องการแยกที่เกาะติดอยู่กับคอลัมน์ บางครั้งก็ใช้ตัวทำละลายเดี่ยวหรือตัวทำละลายผสมเพื่อให้ผลการแยกดีขึ้น อย่างไรก็ตามขั้นตอนแรกเริ่มของการชะ (Elution) จะต้องใช้ตัวทำละลายนอน-โพลาร์ชะเอาสารนอน-โพลาร์ออกมาก่อน แล้วค่อย ๆ เพิ่มความเป็นโพลาร์ เพื่อบังคับให้สารโพลาร์ออกจากคอลัมน์ทีหลัง การเลือก Mobile phase ที่เหมาะสมโดยทั่วไปนักเคมีจะอาศัยการทดสอบหาตัวทำละลายที่เหมาะสมจากการทำโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (TLC) ก่อน เพราะทำให้รวดเร็วและใช้สารน้อย (วิลลิสรี และคณะ, 2556)

ตารางที่ 2.2 ตัวทำละลายที่ใช้ในโครมาโทกราฟี เรียงลำดับตามความเป็นขั้ว

Solvent	Polarity
Hexane	0.01
Heptane	0.01
Isooctane	0.01
Toluene	0.22
Dichloromethane	0.32
Ether	0.4
Ethyl acetate	0.43
Acetone	0.5
Acetonitrile	0.51
THF	0.53
Isopropanol	0.6
Ethanol	0.68
Methanol	0.7

ที่มา : Bickler (2018)

### 2.3.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสาร

#### 2.3.4.1 ชนิดของตัวดูดซับและปริมาณที่ใช้

Diaion HP-20 เป็นตัวดูดซับแบบเรซินชนิดไม่มีประจุที่มีรูพรุน (macroporous) และไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ทำให้เป็นตัวดูดซับที่ปลอดภัยสำหรับผู้ใช้งานและสามารถใช้ซ้ำได้หลายครั้ง โดยใช้ประโยชน์จากปฏิกิริยาไฮโดรฟอบิกและความแตกต่างของขนาดโมเลกุลเพื่อดูดซับและแยกออก ซึ่งใช้ในกระบวนการคอลัมน์โครมาโทกราฟีสำหรับการทำความสะอาดบริสุทธิ์ของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ Diaion HP-20 มีความสามารถในการดูดซับสารประกอบอินทรีย์ที่มีฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และสารประกอบฟีนอลได้ดี (Bhattacharyya & Sreedhar, 2002) ซึ่งแอลฟาแมงโกสตินมีสารฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และสารประกอบฟีนอลหลายชนิด ซึ่งรวมถึงแซนโทนด้วย ซึ่งเป็นตัวอย่างของสารประกอบที่สามารถดูดซับได้ดีโดยทั่วไปแล้วใช้ปริมาณ Diaion

HP-20 ระหว่าง 1-5 เท่าของปริมาณของสารต้องการแยก โดยการใช้ Diaion HP-20 ในกระบวนการคอลัมน์โครมาโทกราฟีสามารถทำความบริสุทธิ์ของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นที่ยอมรับในวงการวิจัยและอุตสาหกรรม และยังสามารถใช้ประโยชน์ในการแยกสารประกอบอื่น ๆ ได้อีกด้วย

#### 2.3.4.2 สภาพความเป็นขั้วของตัวทำละลาย

การแยกสารโดยใช้ตัวทำละลายเป็นสิ่งสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพและความถูกต้องของการวิเคราะห์สารตัวอย่าง สภาพความเป็นขั้วของตัวทำละลายจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการแยกสารและเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณาในการเลือกใช้ตัวทำละลาย ในกรณีที่ตัวทำละลายมีสภาพขั้วสูงกว่าหรือใกล้เคียงกับสารที่ต้องการแยก ตัวทำละลายจะสามารถไล่สารตัวอย่างออกจากตำแหน่งที่มันถูกดูดซับอยู่และถูกพาชะพาเคลื่อนที่ลงไปได้โดยสะดวก ส่วนในกรณีที่ตัวทำละลายมีสภาพขั้วต่ำ สารตัวอย่างที่มีสภาพขั้วสูงกว่าตัวทำละลายจะถูกดูดซับไว้แน่นเกินไป ทำให้การเคลื่อนที่ลงของสารตัวอย่างนั้นช้าลง หรือไม่เคลื่อนที่เลย (สุนันทา, 2542) ซึ่งนั่นเป็นไปตามกฎที่เรียกว่า "Like dissolves like" ซึ่งหมายถึง สารที่มีความเป็นขั้ว (polarity) ใกล้เคียงกันจะมีความละลายในกันได้ดีกว่าสารที่มีความเป็นขั้วต่างกันมาก ๆ

ซึ่งในงานวิจัยนี้จะใช้เอทานอลผสมน้ำเป็นตัวทำละลายหลักในการแยกสารแอลฟาแมงโกสทิน เนื่องจากอ้างอิงจาก (Kunnitee et al., 2016) ที่พบว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่แยกสารแอลฟาแมงโกสทินได้ปริมาณมากที่สุด รองลงมาจากเอทิลอะซิเตต

#### 2.3.4.3 อัตราการชะหรืออัตราเร็วของตัวทำละลาย

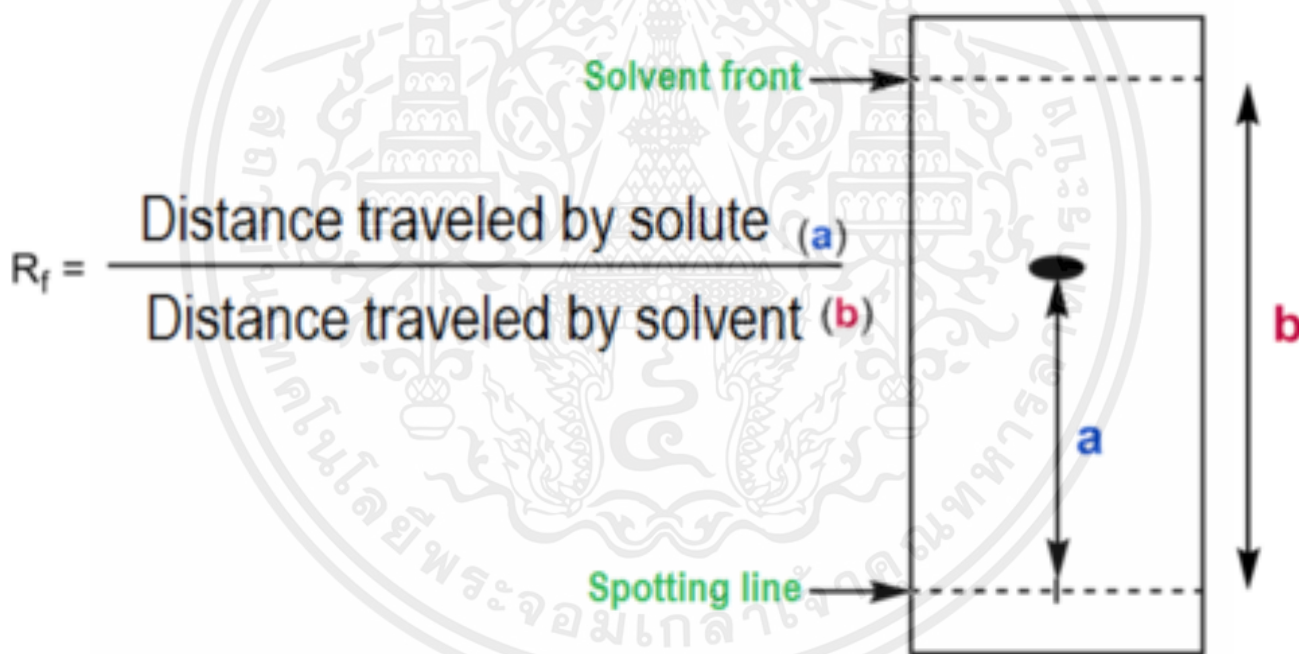
การแยกสารด้วยการใช้ column chromatography นั้นมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการแยก โดยเฉพาะอัตราเร็วของตัวทำละลาย (flow rate) เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดที่มีผลต่อผลลัพธ์ของการแยก หากอัตราเร็วของตัวทำละลายช้าเกินไป สารที่ต้องการแยกอาจจะแพร่กระจาย (diffuse) ซึ่งอัตราการแพร่กระจายอาจจะสูงกว่าอัตราการเคลื่อนที่ของสารออกจากคอลัมน์เป็นผลให้แถบกว้างออกไป การแยกก็จะไม่ได้ผลดี (วีระพันธ์, 2546; สุนันทา, 2542) ซึ่งในการทดลองจะใช้ความสูงของ Diaion HP-20 ซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการแยกของ column โดยมีความสูงประมาณ 7.5 cm และใช้ความดันที่ 0.5 และ 1 bar สามารถช่วยปรับการแยกได้ โดยอัตราการเคลื่อนที่ของสารออกจาก column จะสูงขึ้นเมื่อใช้ความดันที่สูงขึ้น ซึ่งสามารถเพิ่มความเร็วในการแยกได้ อย่างไรก็ตามการใช้ความดันที่สูงเกินไปอาจทำให้สารแยกไม่สมบูรณ์หรือไม่สามารถแยกออกจากกันได้ จึงต้องใช้ความดันที่เหมาะสมกับคอลัมน์ และสารที่ต้องการแยกเพื่อให้การแยกสมบูรณ์และได้ผลลัพธ์ที่แม่นยำที่สุด

## 2.4 การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสทิน

### 2.4.1 Thin Layer Chromatography (TLC)

หลักการพื้นฐานของ TLC เกี่ยวข้องกับการแยกสารประกอบตามความสัมพันธ์ระหว่างเฟสที่อยู่นิ่งและเฟสเคลื่อนที่ ขณะที่สารตัวอย่างเคลื่อนผ่านแผ่น TLC สารตัวอย่างที่มีความสามารถในการจับสูงจะมีความติดต่อกับพื้นผิวมากกว่าสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการจับต่ำ ซึ่งส่งผลให้สารตัวอย่างที่มีความสามารถในการจับสูงจะเคลื่อนที่ได้ช้ากว่าสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการจับต่ำเมื่อผ่านแผ่น TLC

ค่า  $R_f$  (Retention factor) เป็นพารามิเตอร์ที่ใช้ใน Thin Layer Chromatography (TLC) เพื่อประเมินความต้องการของสารตัวอย่างต่อกับแผ่น TLC และช่วยในการพิจารณาความคล้ายคลึงของสารตัวอย่างในกระบวนการแยกตัวอย่าง



รูปที่ 2.4 ค่า  $R_f$  ใน Thin Layer Chromatography (TLC)

ที่มา : <https://study.com>

ในส่วนการวิเคราะห์ผล สารประกอบที่แยกออกจากกันบนแผ่น TLC สามารถวิเคราะห์และตีความตามค่า  $R_f$ , รูปร่างจุด, สีพิเศษ และลักษณะอื่น ๆ การเปรียบเทียบกับมาตรฐานที่ทราบหรือสารประกอบอ้างอิงสามารถใช้เพื่อระบุและหาปริมาณของสารประกอบในตัวอย่างได้ TLC เป็นเทคนิคอเนกประสงค์ที่

สามารถนำไปใช้ได้หลากหลาย เช่น การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ การวิเคราะห์เชิงปริมาณ การทดสอบความบริสุทธิ์ การระบุสารประกอบ และการเฝ้าติดตามปฏิกิริยาเคมี เป็นเครื่องมือที่มีค่าในการวิเคราะห์ทางเคมี และให้ข้อมูลที่มีค่าเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารผสมที่ซับซ้อน (Prabhune et al.,2012)

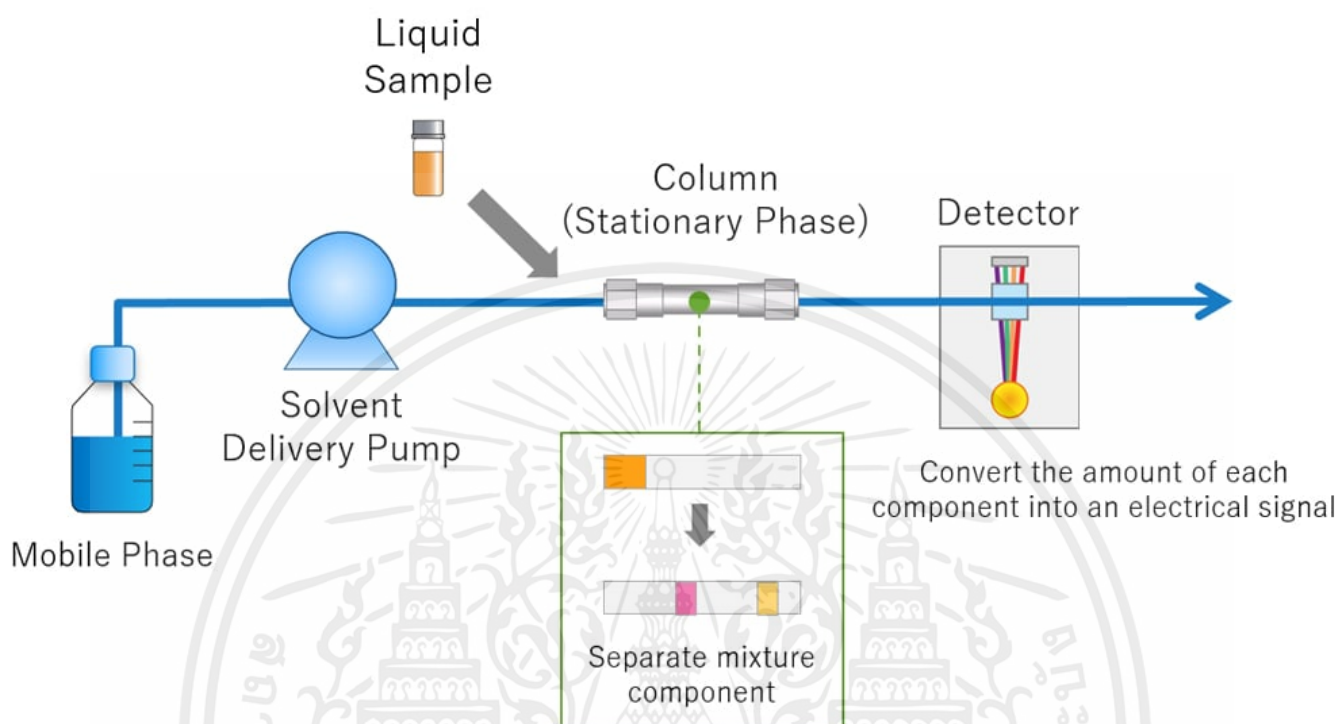
## 2.4.2 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) หรือเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่างด้วยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ กระบวนการแยกสารประกอบจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

### 2.4.2.1 หลักการแยกสาร

ของเหลวความดันสูงจะสร้างแรงพา (impelling force) ดันสารต่าง ๆ ในสารตัวอย่างผ่านไปบนตัวกลางที่ไม่เคลื่อนที่ เคลื่อนที่ได้เล็กน้อย หรือเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ซึ่งเฟสอยู่กับที่จะสร้างแรงหน่วง (retention force) ต่อสารชนิดต่าง ๆ ซึ่งจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่าง ประจุ ความจำเพาะ การดูดซับหรือการละลาย ดังนั้นความแตกต่างกันของแรงหน่วง จึงทำให้โมเลกุลของสารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ออกมาจากคอลัมน์ซึ่งบรรจุเฟสอยู่กับที่ ในเวลาหน่วงที่แตกต่างกัน

### 2.4.2.2 ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC



รูปที่ 2.5 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC

ที่มา : <https://www.shimadzu.com>

1) Mobile phase / Solvent เป็นเฟสเคลื่อนที่ที่มีลักษณะเป็นของเหลว หรือตัวทำละลายที่ใช้ในการชะ ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่เฟสที่อยู่กับที่ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ซึ่งกระบวนการแยกจะเกิดขึ้นภายในคอลัมน์

2) เครื่องสูบ (Pump) ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่เข้าไปในคอลัมน์ด้วยอัตราเร็ว 0.5-10 ml/min และรักษาให้คงที่ในช่วงอัตราเร็วช่วงใดช่วงหนึ่งโดยมีความผิดพลาดไม่เกินร้อยละ 2 ของปริมาตรที่สูบ เครื่องสูบที่นิยมใช้มี 3 ชนิด ดังนี้

2.1) ชนิดไซริงก์ (Syringe type) นิยมใช้กับคอลัมน์ขนาดเล็ก เพราะมีขีดจำกัดในการดูดของเหลวปริมาณมาก ๆ ควบคุมปริมาตรการสูบด้วยการควบคุมการเคลื่อนที่ของลูกสูบในไซริงก์ โดยการหมุนของสกรูก้านลูกสูบซึ่งควบคุมด้วยจำนวนรอบของการหมุนของมอเตอร์

2.2) ชนิดแทนที่ของเหลว (reciprocating piston type) ควบคุมปริมาตรโดยการควบคุมระยะชักของลูกสูบหรือควบคุมความเร็วของมอเตอร์ที่หมุนก้านลูกสูบ ซึ่งทำให้เครื่องสูบชนิดนี้สามารถดูดของเหลวในปริมาณมากได้ โดยการทำงานในระยะชักลูกสูบจะดูดของเหลวจากตัวเก็บสารละลายเข้ามาในกระบอกสูบ และปล่อยสารละลายเข้าไปในคอลัมน์ในระยะอัดของลูกสูบ และทำงานเป็นวงรอบต่อเนื่องกันไป จนกว่าจะปิดเครื่องสูบ

2.3) ชนิดความดันคงที่ (constant pressure pump) ควบคุมการไหลของของเหลวเข้าสู่คอลัมน์โดยการใช้ความดันของแก๊สเฉื่อยที่คงที่ดันให้ของเหลวไหลไปในคอลัมน์อย่างต่อเนื่อง

3) ตัวฉีด (Injector) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาตรการฉีดของสารตัวอย่างที่ไหลเข้าสู่คอลัมน์ ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 0.5-10 ไมโครลิตร สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ดังนี้

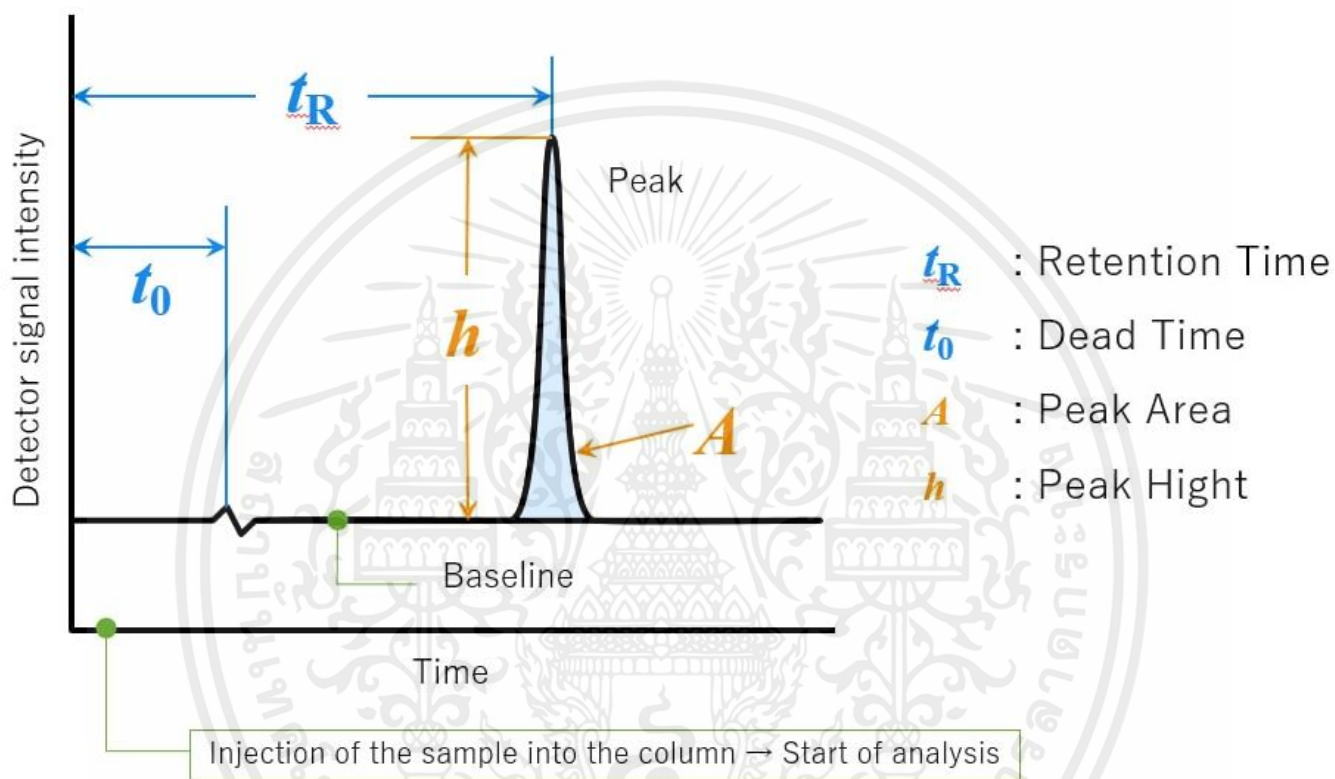
3.1) ชนิดไซริงก์ เป็นชนิดที่ใช้ไซริงก์ขนาดเล็กดูดสารตัวอย่างตามปริมาตรที่ต้องการฉีดผ่านเยื่อกั้น(septum) ซึ่งมักเป็นยางซิลิโคนดันบนคอลัมน์ ตัวฉีดชนิดนี้อาจมีการรั่วบริเวณรูที่ฉีดเพราะคอลัมน์มีความดันสูง

3.2) ชนิดโรตารี (rotary type) เป็นชนิดที่ใช้ลิ้นควบคุมการฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์

4) คอลัมน์ (Column) ภายในบรรจุด้วยเฟสที่อยู่กับที่ มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล ทำให้เกิดกระบวนการแยกองค์ประกอบของสารที่สนใจ โดยกระบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่างเฟสที่เคลื่อนที่กับเฟสที่อยู่กับที่ คอลัมน์อาจทำจากแก้ว พลาสติก หรือเหล็กกล้าไร้สนิม มีความยาวในการใช้งานตั้งแต่ 10-150 ซม. ประสิทธิภาพในการแยกสารขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่ใช้และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ กรณีที่มีความยาวมากเกินไปอาจขาดคอลัมน์เป็นวง พบว่าประสิทธิภาพในการแยกสารลดลง

5) ตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยก วัดปริมาณของสารเพื่อส่งให้เครื่องบันทึกผลการบันทึกค่าและแสดงกราฟของสารชนิดต่าง ๆ ตัวตรวจวัดมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับประเภทของสารที่ต้องตรวจหา ตัวอย่างเช่น ตัวไวแสง(photo detector) ใช้สำหรับการวัดสารที่มีสีหรือมีความขุ่น ตัววัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence detector) ใช้สำหรับวัดปริมาณสารที่สามารถเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ ตัววัดดัชนีหักเห (refractive index detector) ใช้สำหรับวัดสารละลายที่ใสและมีตัวถูกละลายอยู่ ส่วนตัวตรวจหาที่นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบันเป็นการวัดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเล็ต เนื่องจากสารส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยหมู่ซึ่งสามารถกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวได้ดี

6) เครื่องบันทึกผล ใช้สำหรับแสดงตำแหน่งของสารที่ออกมาจากคอลัมน์เพื่อประโยชน์ในการจำแนกชนิดของสารหรือคำนวณหาปริมาณสาร ซึ่งสามารถคำนวณได้จากความสูงของยอดพีค (peak high) หรือพื้นที่ใต้พีค (peak area) และนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารตัวอย่าง (ชูชาติ, 2544; ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 2 เรื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC), ม.ป.ป.)



รูปที่ 2.6 กราฟ HPLC

ที่มา : <https://www.shimadzu.com>

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิไลศรี และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษากระบวนการผลิตแซนโทนผงบรสุทธิ์จากเปลือกมังคุด โดยเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารแอลฟาแมงโกสติน (alpha-mangostin) และแกมมาแมงโกสติน (gamma-mangostin) ซึ่งพบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สกัดสารได้ปริมาณมากที่สุด รองลงมาจากเมทานอล ซึ่งเป็นสารเคมีที่อันตรายกว่าเอทานอล สารสกัดจากเอทานอลจึงเป็นสารสกัดที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตแซนโทนผงบรสุทธิ์ในปริมาณสูงและไม่เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ ซึ่งพบว่า การผลิตแซนโทนผงบรสุทธิ์ด้วยเทคโนโลยี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพสูง และเป็นเทคโนโลยีที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตและสกัดสารจากพืชอื่น ๆ ได้เช่นกัน โดยวัตถุประสงค์ของวิจัยนี้เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแขนงใหม่ที่มีคุณภาพและปลอดภัยสำหรับการใช้งานและการบริโภค โดยลดการใช้สารเคมีที่อันตรายและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในขั้นตอนการสกัดสารจากพืช

Kondeti et al. (2014) ได้ทำการศึกษาการทดลองวัดประสิทธิภาพการแยกสารในคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวดูดซับ 25 g ในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm พบว่า การแยกตัวในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm มีประสิทธิภาพดีกว่าในคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 cm เนื่องจากความละเอียดในการแยกสารจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของคอลัมน์ที่เพิ่มขึ้น และลดลงเมื่อเส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์เพิ่มขึ้น โดยการใช้คอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลางที่เล็กลงจะช่วยลดเวลาในการแยกสารและเพิ่มความละเอียดในการแยกสารได้เช่นกัน

Kunnitee et al. (2016) ได้ทำการศึกษาการสกัดสารแอลฟาแมงโกสทินจากเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายหลายชนิด เช่น เอทานอล อะซีโตน แอลกอฮอล์ เอทิลแลคเตต และเอทิลอะมิต จากผลการทดลองพบว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สกัดสารแอลฟาแมงโกสทินได้ปริมาณมากที่สุด รองลงมาจากเอทิลแลคเตต โดยคำแนะนำควรเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารแอลฟาแมงโกสทินจากเปลือกมังคุดเนื่องจากมีปริมาณสารสกัดสูงที่สุด ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ทางอาหารและเครื่องดื่มได้

Li et al. (2018) การศึกษานี้เปรียบเทียบผลผลิตของผลมังคุดที่ได้จากการสกัดโดยใช้วิธีการอัลตราซาวนด์ร่วมกับวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบเดิม การศึกษานี้ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสำหรับทั้งวิธีการสกัดโดยใช้อัลตราซาวนด์และวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายทั่วไป จากการศึกษาพบว่าการใช้วิธีการสกัดโดยใช้อัลตราซาวนด์ร่วมกับเอทานอลเป็นตัวทำละลายทำให้ได้ผลผลิตของผลมังคุดสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายทั่วไป สภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับวิธีการสกัดด้วยอัลตราซาวนด์คือเวลาในการสกัด 30 min อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของแข็ง 25:1 และกำลังไฟฟ้า 300 W ภายใต้เงื่อนไขเหล่านี้ ผลผลิตของผลมังคุดเท่ากับ  $9.41 \pm 0.22$  mg/g ซึ่งสูงกว่าผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบเดิม ผลการศึกษารูปได้ว่าวิธีการสกัดโดยใช้อัลตราซาวนด์ช่วยเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลมากกว่าในการสกัดผลมังคุดจากเปลือกมังคุดเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบเดิม

Roge et al. (2011) ได้กล่าวถึงวิธีการใช้ความดันอากาศช่วยในการเร่งอัตราเร็วของตัวทำละลายในกระบวนการคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งช่วยให้สามารถลดเวลาในการแยกสารลงได้โดยมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจากการใช้ความดันอากาศ ช่วยเร่งการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายและสารที่ต้องการแยกออกจากกัน ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นกระบวนการที่เรียกว่า flash chromatography หรือโครมาโทกราฟีแบบแฟลช นอกจากนี้ การใช้ความดันอากาศยังช่วยในการล้างสารที่ต้องการแยกออกจากตัวคอลัมน์ได้ดี และลดการติดตามของสารที่ไม่ต้องการผ่านคอลัมน์ด้วย ทำให้การแยกสารและผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพและปริมาณสูงมากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีวิจัย

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

##### 3.1.1 วัสดุติบและสารเคมี

- 1) ผงเปลือกมังคุด
- 2) สารสกัดหยาบเปลือกมังคุด จากบริษัท โนวา ออร์แกนิก จำกัด
- 3) สารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- 4) ไดไอออน HP-20 (Diaion HP-20) (Supelco, Germany)
- 5) เอทานอล (Ethanol absolute  $\geq 99.9\%$  AR grade) (RCI Labscan, Ireland)
- 6) เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol 95%) (Krungthepchemi, Thailand)
- 7) เอทิล อะซิเตท (Ethyl acetate 99.5%) (Qrec, Newzealand)
- 8) เฮกเซน (n-hexane 99%) (RCI Labscan, Ireland)
- 9) เมทานอล (Methanol HPLC grade) (RCI Labscan, Ireland)

##### 3.1.2 อุปกรณ์

- 1) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Shimadzu, ATX224, Japan)
- 2) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Shimadzu, UX3200G, Japan)
- 3) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)) (Shimadzu, 20A, Japan)
- 4) ชุดคอลัมน์โครมาโทกราฟี ขนาด  $2.2 \times 30$  cm
- 5) ไมโครปิเปต (Gilson, France)
- 6) เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex mixer) (DLAB, MX-S, USA)
- 7) พีเอชมิเตอร์ (pH meter) (EZDO, 7200, China)
- 8) เครื่องวัดความเข้มของแสง (Spectrophotometer) (Hunter lab, Colorflex EZ, USA)
- 9) เครื่องวัดความหวาน (Refractometer) (ATAGO, Japan)
- 10) ขวดไวแอล (Vial 2 ml) (Kima)

- 11) ตัวกรองสารละลายเคมีขนาดเล็ก (Nylon membrane) ขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  (CNW, China)
- 12) โครมาโทกราฟีแผ่นบาง TLC Silica gel 60 F254 (Supelco, Germany)
- 13) ตู้ยูวี (UV cabinet with lamp)
- 14) ปีมล (InnTech OIL FREE, INT-30L-W, Thailand)
- 15) วาล์วลดความดัน (Supb, France)
- 16) Ultrasonic cleaner (Derui, Hongkong)
- 17) ปีกเกอร์ ขนาด 50 และ 500 ml
- 18) หลอดทดลอง ขนาด 15 ml
- 19) หลอด centrifuge ขนาด 50 ml
- 20) ที่คนสาร
- 21) ถุงกรองขนาด 30  $\mu\text{m}$
- 22) กระบวยตักแอสตนเลส
- 23) สำลี

### 3.2 วิธีการทดลอง

งานวิจัยนี้จะทำการศึกษาโดยปัจจัยแรกที่ส่งผลต่อปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินคือ ส่วนของการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ใช้และไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่หม้อสกัด และอีกปัจจัยเป็นส่วนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่ไม่ใช้ความดัน และใช้ความดันเข้าช่วย 2 ระดับ ได้แก่ 0.5 และ 1 bar

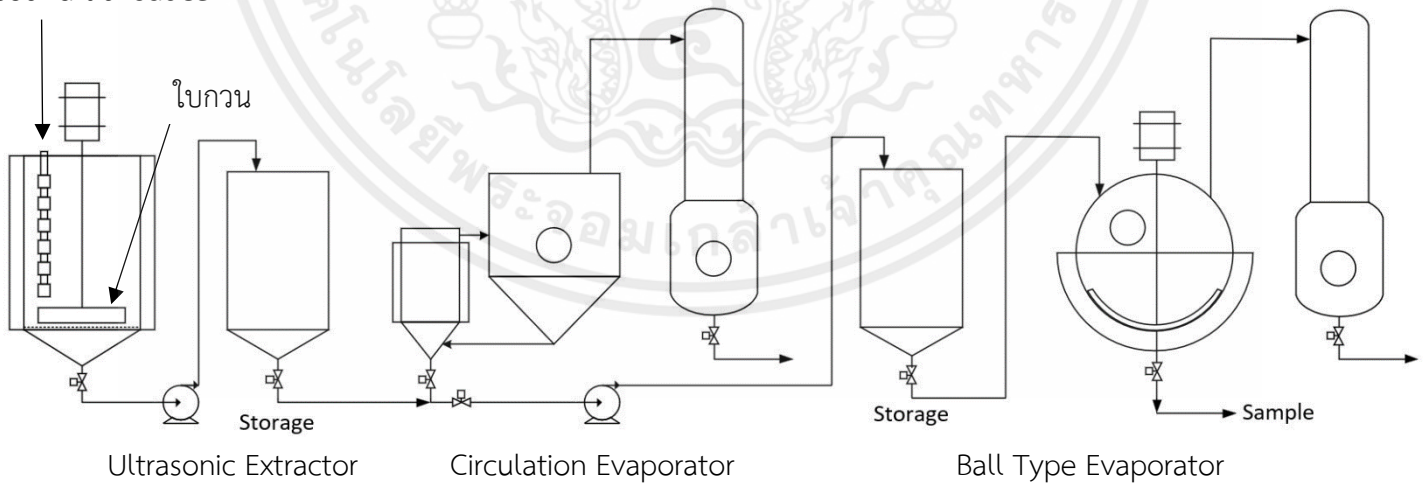
#### 3.2.1 การสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

ทำการทดลองโดยใช้เครื่องบริษัท โนวา ออร์แกนิก จำกัด (มหาชน) เริ่มจากการเปิดคลื่นอัลตราโซนิกและไม่เปิดคลื่นอัลตราโซนิกที่หม้อสกัด(Ultrasonic Extractor) โดยเตรียมผงเปลือกมังคุดลงในถุงกรองขนาด 30  $\mu\text{m}$  ถุงละ 500 g จำนวน 10 ถุง พร้อมใส่เอทานอล 95% 100 L ในหม้อสกัด ระหว่างการแช่ให้ทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 min เป็นระยะเวลา 9 min หลังจากนั้นทำการเปิดใบพัดกวนในเครื่องที่อุณหภูมิ 30° C และทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 min เป็นระยะเวลา 1 hr ต่อมาสารสกัดหยาบจะถูกส่งต่อไปยังเครื่อง Circulation Evaporator ที่ความดัน 0.08 MPa อุณหภูมิ 50° C เป็นเวลา 1 hr และถูกส่งต่อไปยังเครื่อง Ball Type Evaporator ที่ความดัน 0.08 MPa และอุณหภูมิ 50° C เป็นเวลา 1 hr หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด



รูปที่ 3.1 กระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยวิธีการเปิดและไม่เปิดคลื่นอัลตราโซนิก

Ultrasound transducer



รูปที่ 3.2 แผนภาพกระบวนการสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.2 การแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

การเตรียมวัตถุดิบเริ่มจากเตรียมสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดผสมในสารละลายเอทานอลต่อน้ำที่อัตราส่วน 70:30 ที่ความเข้มข้นที่ 1 g/ml จากนั้นกรองให้ได้สารตัวอย่างละ 2 g จากนั้นเตรียมเฟสเคลื่อนที่โดยใช้เอทานอลต่อน้ำที่อัตราส่วน 70:30 ปริมาตร 450 ml และเตรียมเฟสคงที่โดยการซั่งตัวดูดซับ Diaion HP-20 10 g ก่อนนำตัวดูดซับลงในคอลัมน์ให้ใส่สำลีสกลงไปก่อน จากนั้นจึงเริ่มเติมตัวดูดซับทีละน้อย ๆ ลงไปในตัวทำละลายที่อยู่ในบีกเกอร์พร้อมกับคนให้ทั่วจนฟองอากาศหมด เทของผสมตัวทำละลาย-ตัวดูดซับเข้า ๆ ลงคอลัมน์ผ่านกรวยกรองลงสู่ปากคอลัมน์ 2.2 x 30 cm ผ่านกรวยกรองลงสู่ปากคอลัมน์ เมื่อเทของผสมลงในคอลัมน์เคาะข้างคอลัมน์เบา ๆ เพื่อไล่ฟองอากาศ แล้วรอให้คอลัมน์อัดตัวแน่น ต่อมาล้างด้านในของคอลัมน์โดยการบีบตัวทำละลายลงไปที่ขอบด้านใน และระบายตัวทำละลายออกจนกระทั่งระดับตัวทำละลายเท่ากันกับพื้นผิวของเฟสคงที่ (สุนันทา, 2542; Sarah, 2012)

การทดลองแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ดังรูปที่ (3.3) นำสารตัวอย่างสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 1 g/ml จำนวน 2 g โหลดเข้า ๆ ลงบนคอลัมน์ที่ไม่ใช้ความดันช่วย ซึ่งถูกบรรจุด้วยเฟสคงที่ Diaion HP-20 และทำการโหลดเฟสเคลื่อนที่ด้วยไมโครบีเบตทีละ 10 ml ลงคอลัมน์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างใส่หลอดทดลอง (Fraction) หลอดละ 10 ml จำนวน 45 หลอด ดังรูปที่ (3.4) ทำ 3 ซ้ำเพื่อหาค่าเฉลี่ยและบันทึกค่าลงในตาราง ต่อมาทำแบบเดิมโดยเปลี่ยนระดับความดันด้วยการใช้ปั๊มลมที่ติดตั้งวาล์วลดความดันที่ 0.5 และ 1 bar ตามลำดับ



รูปที่ 3.3 การทดลองแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี



รูปที่ 3.4 ลักษณะตัวอย่างที่เก็บใส่หลอดทดลอง จำนวน 45 หลอด (fractions)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 การวิเคราะห์สมบัติของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

#### 3.3.1 การวิเคราะห์ค่าสี

ใช้เครื่องวัดสีมาตรฐาน Spectrophotometer (HunterLab, ColorFlex EZ, USA) นำตัวอย่างใส่ตลับ ใช้ระบบ CIE L\* a\* b\* โดยที่ใช้ Black Glass และ White Tile ปรับค่าสีก่อนการตรวจวัด วิเคราะห์ค่า  $\Delta E$  จากสีของเอทานอล 95% เทียบกับสารตัวอย่างและบันทึกผลการทดลอง

#### 3.3.2 การวิเคราะห์ค่า Brix

เตรียมตัวอย่างที่ต้องการวัดค่า Brix ด้วยเครื่อง Refractometer (ATAGO, Japan) โดยนำตัวอย่างมาหยดลงบนแผ่นกระจกและประกบปิดด้วยเพลทพลาสติก ทำการอ่านค่าที่แสดงสเกลบนเครื่อง และบันทึกผลการทดลอง

#### 3.3.3 การวิเคราะห์ค่า pH

เตรียม pH meter (EZDO, 7200, China) ทำการปรับค่าด้วย pH buffer solution เพื่อให้สอดคล้องกับช่วง pH ที่ต้องการวัด นำตัวอย่างที่ต้องการวัด pH มาใส่ในบีกเกอร์และนำหัววัดจุ่มลงในตัวอย่าง รอให้หัววัด pH meter อ่านค่า และบันทึกผลการทดลอง

#### 3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทิน

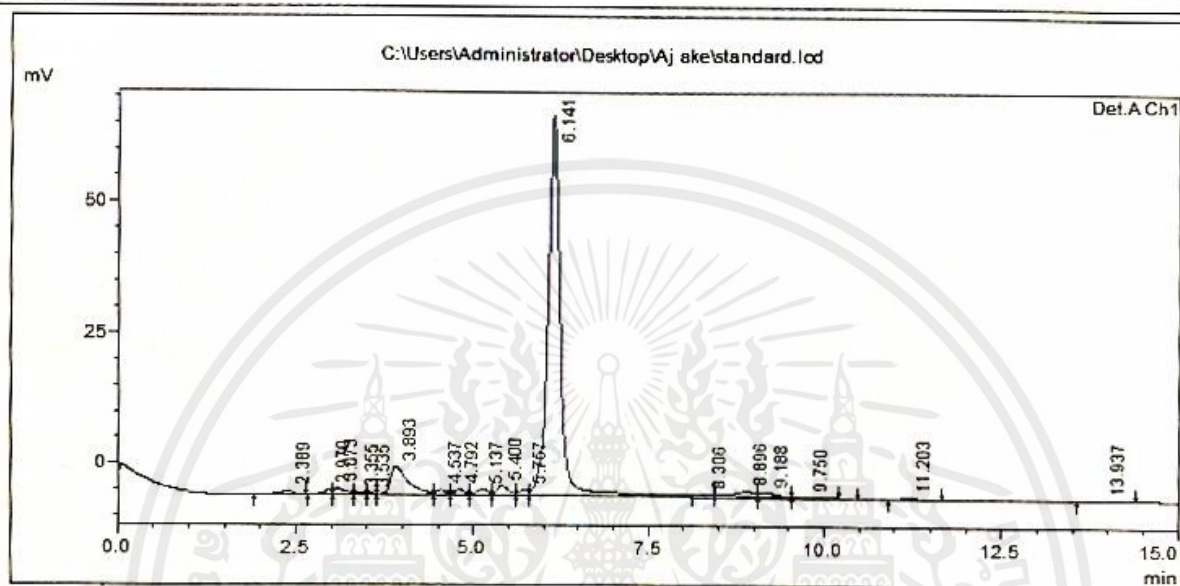
เตรียมตัวอย่างที่เก็บที่หม้อสกัดทุก 3 min เป็นระยะเวลา 1 hr ทั้งสองระดับ และเตรียมสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสทินที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{g/ml}$  ในเอทานอล 99.8% กรองผ่านตัวกรองสารละลายเคมีขนาดเล็ก (Nylon Syringe filter membrane) ขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  ลงในขวดไวแอลสี่ขาขนาด 2 ml

ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินจะถูกโดยวิธีการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Shimadzu, 20A, Japan) ใช้คอลัมน์ C18 Inersil ODS-3 (0.46 x 25 cm) บรรจุเม็ดบีดขนาด 5  $\mu\text{m}$  เฟสเคลื่อนที่เป็นระบบ Isocratic (Methanol 99%) อุณหภูมิของคอลัมน์อยู่ที่ 40 °C) โดยอัตราการไหลของตัวทำละลาย คือ 1.0 mm/min ปริมาตรที่ใช้ฉีดตัวอย่างคือ 1  $\mu\text{l}$  ตรวจวัดด้วย UV-Vis ที่ความยาวคลื่น 244 nm โดยใช้หลักการของ peak area หรือพื้นที่ใต้กราฟมาวิเคราะห์เวลาในการสกัดเพื่อให้ได้แอลฟาแมงโกสทินสูงสุดที่หม้อสกัดและคำนวณหาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทิน ดังสมการที่ (3.1) (ณัฐนิชา, 2564) โดยพื้นที่ใต้กราฟจะนำมาจากค่าในช่อง Area ที่ Ref. time ตรงกับแอลฟาแมงโกสทินในสารมาตรฐาน ดังรูปที่ (3.5)

$$\text{ปริมาณสารสำคัญ (g)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน} \times \text{จำนวนเท่าในการเจือจาง} \times \text{ปริมาตรสารสกัดหยาบที่ได้ (ml)}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐาน}} \quad (3.1)$$

โดยที่ จำนวนเท่าในการเจือจาง = 10 เท่า

### <Chromatogram>



PeakTable					
Detector A Ch1 244nm					
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.389	11370	812	0.929	0.890
2	2.970	9645	1139	0.788	1.303
3	3.073	15495	1326	1.266	1.453
4	3.355	4040	503	0.330	0.551
5	3.535	2184	281	0.178	0.308
6	3.893	98973	5369	8.065	5.885
7	4.537	10492	995	0.857	1.091
8	4.792	11672	1113	0.954	1.220
9	5.137	15961	1312	1.304	1.438
10	5.400	24299	1943	1.985	2.130
11	5.767	13843	1297	1.131	1.422
12	6.141	964569	72798	78.797	79.789
13	8.306	1094	86	0.089	0.094
14	8.896	17499	967	1.429	1.050
15	9.188	12135	769	0.991	0.843
16	9.750	5052	211	0.413	0.232
17	11.203	1998	100	0.163	0.110
18	13.937	3801	166	0.310	0.182
Total		1224121	91238	100.000	100.000

รูปที่ 3.5 ตัวอย่างพื้นที่ใต้กราฟโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน

จากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography (HPLC))

(Shimadzu, 20A, Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 การวิเคราะห์สมบัติของสารที่ได้จากกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน

#### 3.4.1 การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสตินเบื้องต้น

นำตัวอย่างจากการทดลองแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีทั้ง 45 หลอด มาหยดเหนือปลายด้านล่างของแผ่น Thin layer chromatography (TLC) (Supelco, Germany) ขนาด 10 x 10 cm ประมาณ 0.5 cm หลังจากหยดสารและรอให้แห้งแล้ว นำแผ่น TLC ไปวางในแนวตั้งในภาชนะปิดที่มีตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต:เฮกเซนที่อัตราส่วน 1:1 บรรจุสูงประมาณ 0.5 cm โดยก่อนจุ่มแผ่น TLC ต้องทำให้ภาชนะปิดอิมมิดด้วยไอของตัวทำละลายก่อน จากนั้นค่อย ๆ ปล่อยให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ขึ้นไปเรื่อย ๆ จนถึงระดับก่อนปลายด้านบนประมาณ 1 cm รอให้แห้งและวิเคราะห์ผลการแยกภายใต้แสง UV ความยาวคลื่น 254 nm เพื่อคำนวณค่า  $R_f$  ซึ่งค่า  $R_f$  คือ "retention factor" อัตราส่วนระหว่างระยะทางที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่และระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ โดยเทียบกับสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสตินที่ความเข้มข้น 100 µg/ml ดังสมการ (3.2) จากนั้นเลือกหลอดตัวอย่างที่มีความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสตินสูงโดยพิจารณาได้จากแถบของแต่ละหลอด ที่มีระดับความสูงเท่ากับของแถบสารมาตรฐานและมีสารเจือปนต่ำมาเทรวมกันและนำไปวิเคราะห์ต่อด้วยเครื่อง HPLC (Shimadzu, 20A, Japan)

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (cm)}} \quad (3.2)$$

#### 3.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสติน

เตรียมช่วงของสารตัวอย่างจากการวิเคราะห์เบื้องต้นด้วย TLC ที่เทรวมกันในจำนวนที่เท่ากันในแต่ละระดับ และเตรียมสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน ความเข้มข้น 100 µg/ml ในเอทานอล 99.8% กรองผ่านตัวกรองสารละลายเคมีขนาดเล็ก (Nylon Syringe filter membrane) ขนาด 0.45 µm ลงในขวดไวแอลสี่ขาขนาด 2 ml

ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินจะถูกโดยวิธีการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Shimadzu, 20A, Japan) โดยใช้หลักการของ peak area หรือพื้นที่ใต้กราฟมาคำนวณหาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน ดังสมการที่ (3.1) และเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ purity (%) ดังสมการที่ (3.3) (ณัฐนิชา, 2564)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ purity(\%)} = \frac{\% \text{ purity ของสารตัวอย่าง}}{\% \text{ purity ของสารมาตรฐาน}} \times 100 \quad (3.3)$$

### 3.5 แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ดำเนินการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำซ้ำ 3 ครั้ง ในส่วนของการศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดใช้วิธีการเปรียบเทียบแบบจับคู่ หรือ Paired samples T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และในส่วนการศึกษาการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน ใช้วิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Turkey's Honestly Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. (IBM Corp., NY, USA)



## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 ผลการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

##### 4.1.1 สมรรถนะของกระบวนการสกัด

ผลการวิเคราะห์ของปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินต่อเวลาในการสกัดที่หม้อสกัดก่อนเข้าหม้อระเหย จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินที่ผ่านกระบวนการใช้คลื่นอัลตราโซนิก สกัดออกมาตั้ง ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงเท่ากับ  $y = 0.2291x + 0.4316$  เมื่อ  $x$  คือระยะเวลาในการสกัดและ  $y$  คือปริมาณ สารแอลฟาแมงโกสทินที่สกัดออกมาได้ แต่กระบวนการที่ไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก สกัดออกมาตั้งความสัมพันธ์ที่ เป็นเส้นตรงเท่ากับ  $y = 0.236x + 0.6241$  เมื่อ  $x$  คือระยะเวลาในการสกัดและ  $y$  คือปริมาณสารแอลฟาแมง โกสทินที่สกัดออกมาได้ ก่อนที่จะเริ่มคั่งที่เมื่อเข้าสู่ประมาณนาที่ที่ 45 ดังรูปที่ 4.1

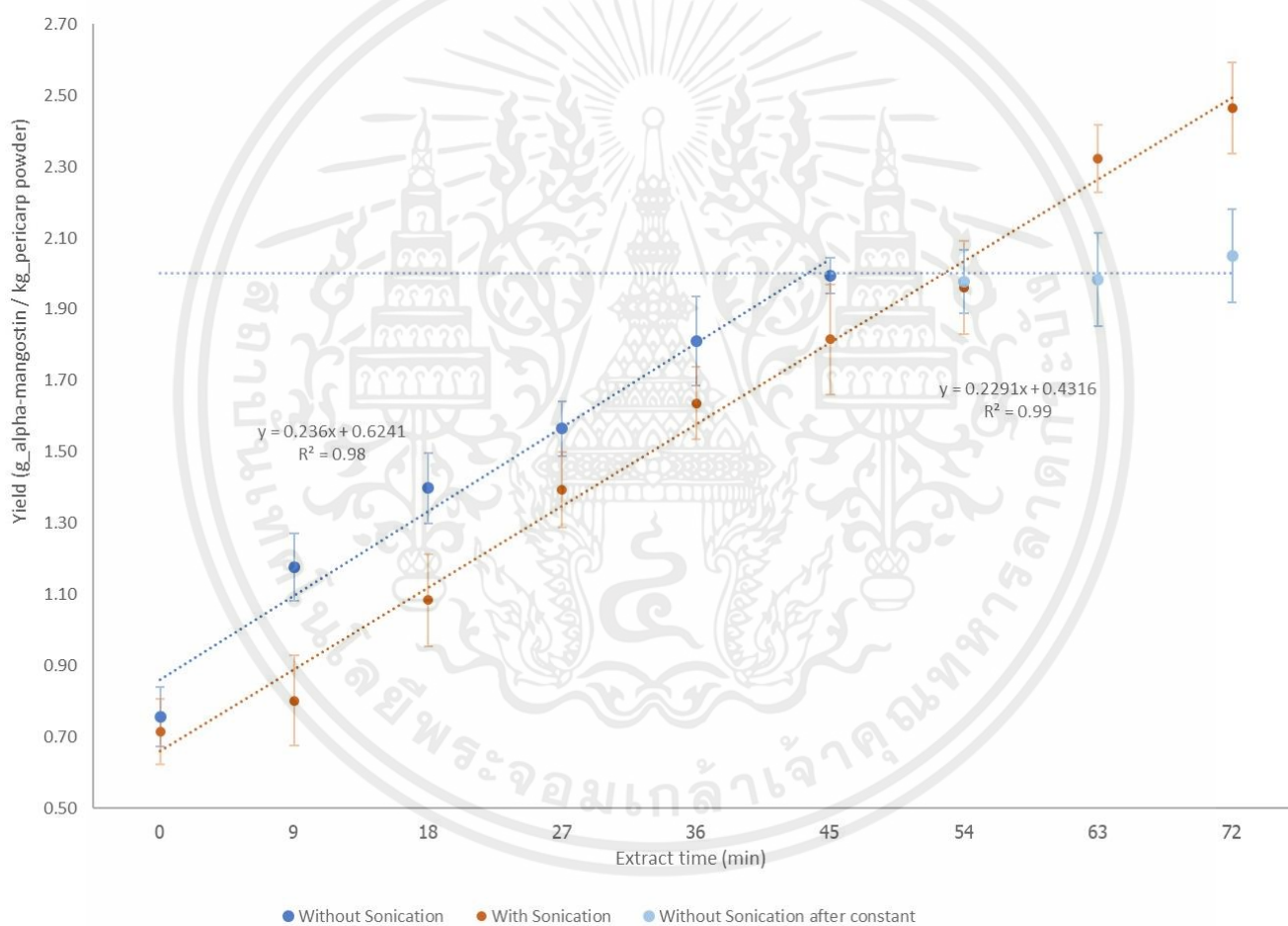
โดยทั่วไปในช่วงนาที่ที่ 0-10 ซึ่งเป็นช่วงของการแช่สาร ปริมาณแอลฟาแมงโกสทินของทั้ง 2 วิธีมี แนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งคู่ซึ่งเกิดจากสารแอลฟาแมงโกสทินที่ค่อย ๆ ถูกละลายออกจากผงเปลือกมังคุดในถุงกรอง จากการที่ตัวทำละลายค่อยๆแทรกตัวไปสัมผัสกับมวลผงเปลือกมังคุดได้ กระบวนการการแช่สารนี้เองช่วยให้ สารละลายเข้าสู่ผงเปลือกมังคุดในถุงกรองได้อย่างทั่วถึงก่อนจะเริ่มสกัดจริง ทำให้สามารถสกัดสารออกมาได้ อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะในด้านการใช้พลังงาน ซึ่งพบว่าในช่วงท้ายของการแช่จะมีปริมาณสารแอลฟา แมงโกสทินละลายออกมาประมาณ  $1.00 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$

ในช่วงเวลาหลังนาที่ที่ 10 เป็นต้นไปจะเริ่มเปิดใบกวน กระบวนการใช้คลื่นอัลตราโซนิกสามารถสกัด สารออกมาได้ในอัตราที่คงที่ได้ตลอดช่วงเวลาสกัด 1 hr โดยให้ปริมาณสารสกัดหยาบสูงสุดประมาณ  $2.50 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$  แต่กระบวนการที่ไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกสามารถสกัดสารสกัดหยาบออกมาได้ ในช่วงไม่เกิน 45 min ของการสกัดเท่านั้น โดยหลังจากนั้นกระบวนการสกัดไม่อาจเพิ่มปริมาณสารเป้าหมาย ที่ต้องการได้อีกต่อไปและให้ปริมาณสารสกัดหยาบสูงสุดประมาณ  $2.00 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$  ซึ่งอาจ เกิดจากการที่สารละลายเอทานอลที่ทำหน้าที่ในการแยกสารสกัดออกจากสารตัวอย่าง แยกสารออกมาได้ เต็มที่แล้วและอาจไม่สามารถเข้าถึงพื้นที่ผิวบางส่วนของผงเปลือกมังคุดได้

จะเห็นได้ว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกนั้นส่งผลในทางบวกต่อการสกัดสารแอลฟาแมงโกสทิน โดย สามารถเอาชนะข้อจำกัดของการสกัดด้วยสารละลายแบบเดิมโดยทำให้สกัดสารได้เพิ่มขึ้นตลอดช่วงเวลาสกัด ในการทดลองนี้ ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่คลื่นอัลตราโซนิกทำให้อนุภาคของสารเกิดการสั่นสะเทือนที่ย่านความถี่

สูงและส่งผลให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอนุภาคเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ด้วยเหตุนี้เองเมื่อผิวสัมผัสมากขึ้นจึงทำให้การสกัดดีขึ้นและสามารถทำการเดินเครื่องสกัดต่อไปได้นานกว่าเดิมเพื่อจุดประสงค์ในการเพิ่มปริมาณสารให้มากขึ้นกว่าเดิม

โดยภาพรวมดังรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า หากใช้เวลาสกัดมากกว่าประมาณ 45 min ควรใช้การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิกเข้าช่วยจึงจะสามารถสกัดสารออกมาได้ต่อไปตามความต้องการ แต่ในขณะเดียวกันหากต้องการสกัดแบบใช้สารละลายแบบธรรมดา การใช้เวลาสกัดมากกว่า 45 min นั้นแทบจะไม่ทำให้ได้สารเป้าหมายออกมาเพิ่ม โดยจะมีค่าสูงสุดที่ประมาณ  $2.00 \text{ g}_{\text{Crude extract}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงสมรรถนะของกระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.2 สมบัติของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดจากการทดลองสกัด

##### 4.1.2.1 ลักษณะสี

ลักษณะสีของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดพิจารณาจากค่า  $\Delta E$  ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความแตกต่างของสีระหว่างเอทานอล 95% และผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเปลือกมังคุด จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่าความแตกต่างของสีสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกมีค่าประมาณ 16.70 ซึ่งน้อยกว่าค่าดังกล่าวของสารสกัดที่ได้จากกระบวนการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่มีค่าประมาณ 19.80

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ค่า  $\Delta E$  ของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการสกัดทั้งสองกระบวนการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen et al. (2019) เนื่องจากการใช้คลื่นอัลตราโซนิกจะช่วยให้การแตกตัวของโมเลกุลสารสกัด ทำให้เซลล์ของสารที่ต้องการถูกแยกออกมาในสารสกัดได้ดีขึ้นส่งผลให้สีออกมามากขึ้น ยิ่งสารสกัดมีความเข้มข้นสูงขึ้น จะทำให้สารสกัดมีสีเข้มมากขึ้น

##### 4.1.2.2 ความเป็นกรด

ค่าความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดพิจารณาจากค่า pH ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความความเป็นกรด-เบส จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรดของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกมีค่าประมาณ 4.57 ซึ่งมากกว่าค่าดังกล่าวของสารสกัดที่ได้จากกระบวนการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่มีค่าประมาณ 4.55

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ค่า pH ของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการสกัดทั้งสองกระบวนการไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ บ่งบอกว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรดของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

##### 4.1.2.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดพิจารณาจากค่า Brix ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความเข้มข้นของของแข็งที่ละลายในสารละลาย จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกมีค่าประมาณ 24.70 ซึ่งน้อยกว่าค่าดังกล่าวของสารสกัดที่ได้จากกระบวนการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่มีค่าประมาณ 26.70

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ค่า Brix ของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการสกัดทั้งสองกระบวนการไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ บ่งบอกว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายอยู่ในสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

#### 4.1.2.4 ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินในสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

ค่าปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดพิจารณาจากค่าปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทิน ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความเข้มข้นของสารแอลฟาแมงโกสทิน จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่าปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกมีค่าประมาณ  $1.00 \text{ g}_{\alpha\text{-mangostin}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$  ซึ่งน้อยกว่าค่าดังกล่าวของสารสกัดที่ได้จากกระบวนการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่มีค่าประมาณ  $1.09 \text{ g}_{\alpha\text{-mangostin}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$  จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ค่าปริมาณของสารแอลฟาแมงโกสทินของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดที่ได้จากกระบวนการสกัดทั้งสองกระบวนการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหมายความว่า จะมีปริมาณสารมากขึ้นเมื่อใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยในการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li et al. (2018) เนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิกทำให้สามารถเพิ่มการสั่นสะเทือนในสารตัวอย่าง และเพิ่มพื้นผิวของโมเลกุลตัวอย่าง ซึ่งทำให้สารสามารถสกัดออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

**ตารางที่ 4.1** สมบัติบางประการของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดและปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทิน (yield) จากกระบวนการสกัดที่ต่างกัน

Extraction process	$\Delta E$	Brix	pH	yield ( $\text{g}_{\alpha\text{-mangostin}}/\text{kg}_{\text{pericarp powder}}$ )
Without Sonication	$16.68 \pm 0.58^a$	$24.67 \pm 0.58$	$4.57 \pm 0.03$	$1.00 \pm 0.02^a$
With Sonication	$19.75 \pm 0.85^b$	$25.67 \pm 0.58$	$4.55 \pm 0.03$	$1.09 \pm 0.04^b$

หมายเหตุ ตัวเลขในตารางคือ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $n=3$ ) และค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ )

## 4.2 ผลการแยกสารแอลฟาแมงโกสตินด้วยกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน

### 4.2.1 การคัดแยกตัวอย่างเบื้องต้นด้วยเทคนิค Thin layer chromatography

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่า เริ่มมีแถบแบนของสารแอลฟาแมงโกสตินในหลอดที่ 2 จนถึงหลอดที่ 45 ซึ่งเป็นหลอดสุดท้ายเมื่อเทียบกับแถบสารมาตรฐาน โดยค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.83 แต่เนื่องจากหลอดที่ 2-19 พบสารเจือปนซึ่งแสดงให้เห็นเป็นแถบแบนของสารอื่น ๆ ดังนั้นผู้ทดลองจึงเลือกหลอดที่ 20-45 มาเทรวมในจำนวนที่เท่ากันเนื่องจากแถบแบนของสารอื่น ๆ น้อยที่สุดซึ่งแสดงถึงความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสตินสูง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทดสอบต่อด้วยเครื่อง HPLC (ณัฐนิชา, 2564)



รูปที่ 4.2 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์สารที่ได้จากกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC)

#### 4.2.2 อิทธิพลของการใช้ความดันต่อการแยกสารแอลฟาแมงโกสทิน ด้วยกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนจากการไม่ใช้ความดันและใช้ความดันแตกต่าง 2 ระดับคือ 0.5 และ 1 bar พบว่าการแยกสาร 10 ml/หลอด ใช้เวลาเฉลี่ย 55.98, 10.37 และ 6.69 sec. ตามลำดับ และจากตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทิน (yield) ที่ได้จากกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนแบบไม่ใช้ความดันและใช้ความดันแตกต่าง 0.5 bar มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.70 และ 7.29 mg<sub>alpha-mangostin/Scruce extract</sub> ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ทั้งสองค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยของปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินที่ได้จากกระบวนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนแบบใช้ความดันแตกต่าง 1 bar ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกระบวนการทั้งสองที่กล่าวมาแล้วเบื้องต้นโดยมีค่าเป็น 5.73 mg<sub>alpha-mangostin/Scruce extract</sub> เนื่องจากเกิดจากการที่เฟสเคลื่อนที่ เคลื่อนที่ลงมาตามคอลัมน์และชะสารตัวอย่างที่ถูกดูดซับไว้ที่เฟสคงที่ด้วยอัตราเร็วที่มากเกินไป ซึ่งโดยหลักการแล้วเฟสเคลื่อนที่จำเป็นต้องการ contact time ที่มากพอเพื่อแยกสารเป้าหมาย โดยการเข้าไปแย่งจับโมเลกุลสารเป้าหมายออกจากตำแหน่งที่ถูกดูดซับไว้ที่เฟสคงที่ แต่ในกรณีนี้การใช้ความดันแตกต่างเข้าช่วยในการแยกสารทำให้ใช้เวลาในการแยกสารลดลง แต่ก็ส่งผลให้ contact time ของเฟสเคลื่อนที่กับสารเป้าหมายน้อยลงตามไปด้วย ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ปริมาณสารเป้าหมายออกมาน้อยลงนั่นเอง

จากผลการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ (purity) ของสารแอลฟาแมงโกสทินจากกระบวนการการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนในตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่า ค่า purity ของสารแอลฟาแมงโกสทินจากกระบวนการแยกที่ไม่ใช้ความดัน กระบวนการที่ใช้ความดันแตกต่าง 0.5 bar และกระบวนการที่ใช้ความดันแตกต่าง 1 bar มีค่าเฉลี่ยเป็น 87.19% 89.46% และ 90.61% ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า ความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสทินที่ได้จากกระบวนการทั้งสามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเมื่อใช้ความดันแตกต่างช่วยแยกสารสามารถทำให้อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายสูงขึ้นจึงช่วยลดเวลาในการแยกสารลงได้ โดยเมื่อใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 0.5 และ 1 bar ช่วยในกระบวนการแยกสาร พบว่าสามารถลดเวลาในการแยกสารลงได้ประมาณ 5 และ 10 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการที่ไม่ใช้ความดันช่วย โดยไม่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามการใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 1 bar ช่วยแยกมีผลให้ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินที่แยกได้ (yield) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกระบวนการที่ไม่ใช้ความดันหรือใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 0.5 bar โดยค่า yield เฉลี่ยลดลงจากประมาณ 9.70 mg<sub>alpha-</sub>

mangostin/gCrude extract เป็น 5.73 mg<sub>alpha-mangostin/gCrude extract</sub> จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้ความดันเพื่อช่วยแยก ควรใช้ในระดั้ไม่เกิน 0.5 bar

**ตารางที่ 4.2** ผลของการใช้แรงดันต่อความบริสุทธิ์และปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน

Process	Yield (mg <sub>alpha-mangostin/gCrude extract</sub> )	Purity (%)
$\Delta P = 0$	$9.70 \pm 0.44^a$	$87.19 \pm 4.18$
$\Delta P = 0.5 \text{ bar}$	$7.29 \pm 1.49^{ab}$	$89.46 \pm 16.31$
$\Delta P = 1 \text{ bar}$	$5.73 \pm 0.71^b$	$90.61 \pm 11.99$

หมายเหตุ ตัวเลขในตารางคือ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) และค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองเปรียบเทียบการสกัด 2 กระบวนการ ได้แก่ การใช้คลื่นอัลตราโซนิกเข้าช่วยและไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกเข้าช่วยในการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด 5000 g ในเอทานอล 95% ปริมาณ 100 L ระยะเวลาการสกัด 1 hr

พบว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อช่วยในการสกัดสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถคงอัตราการสกัดสารที่ระดับประมาณ  $0.23 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{Spericarp powder}}/\text{min}$  ตลอดช่วงระยะเวลาการสกัด 1 hr และได้สารสกัดหยาบสูงสุดประมาณ  $2.50 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{Spericarp powder}}$  ส่วนการสกัดแบบไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกให้อัตราการสกัดใกล้เคียงกันคือประมาณ  $0.24 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{Spericarp powder}}/\text{min}$  แต่หลังจากประมาณ 45 min ไปแล้วปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากกระบวนการไม่ได้เพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงสุดประมาณ  $2.00 \text{ g}_{\text{crude extract}}/\text{kg}_{\text{Spericarp powder}}$  การใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อช่วยสกัดไม่มีผลต่อค่า Brix และ pH ของสารสกัดหยาบ แต่ส่งผลให้ค่า  $\Delta E$  และปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในสารสกัดหยาบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ในส่วนผลการทดลองการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีด้วยตัวดูดซับ Diaion HP-20 โดยการไม่ใช้ความดันและใช้ความดันเข้าช่วยที่ 2 ระดับ พบว่า

การใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 0.5 และ 1 bar ช่วยในกระบวนการแยกสาร พบว่าสามารถลดเวลาในการแยกสารลงได้ประมาณ 5 และ 10 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการที่ไม่ใช้ความดันช่วย โดยไม่มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตามการใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 1 bar มีผลให้ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินที่แยกได้จากสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด (yield) ลดลงเมื่อเทียบกับกระบวนการที่ไม่ใช้ความดันหรือใช้ความดันแตกต่างที่ระดับ 0.5 bar โดยค่า yield เฉลี่ยลดลงจากประมาณ  $9.70 \text{ mg}_{\text{alpha-mangostin}}/\text{g}_{\text{crude extract}}$  เป็น  $5.73 \text{ mg}_{\text{alpha-mangostin}}/\text{g}_{\text{crude extract}}$  ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้ความดันแตกต่างเพื่อช่วยแยกสารแอลฟาแมงโกสตินบางส่วนจากสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีควรใช้ในระดับไม่เกิน 0.5 bar

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) ควรศึกษาด้านเวลาในการแบบเดิมที่ไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิกในหม้อสกัดระหว่างกระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดเพิ่มเติม เพื่อทราบแนวโน้มเวลาสกัดที่นานขึ้นกว่านาที่ที่ 72 เพื่อยืนยันผลการทดลองว่ามีแนวโน้มคงที่จริงหรือไม่
- 2) จากผลการทดลองในหม้อสกัดที่ผ่านมาทำให้ทราบได้ว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกเข้าช่วยสามารถทำให้สกัดสารต่อไปได้นานขึ้นเพื่อให้ได้ปริมาณสารที่ต้องการที่มากขึ้นจากเดิม จึงควรทำการวิจัยต่อเพื่อหาเวลาสูงสุดที่สามารถสกัดสารแอลฟาแมงโกสตินออกมาได้ ที่เวลาสกัดที่นานขึ้น
- 3) ในการศึกษาการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี อาจพิจารณาเลือกใช้ชนิดของสารละลายใหม่โดยการทดลอง เพื่อให้เหมาะสมในการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดโดยที่ตัวดูดซับคือ Diaion HP-20
- 4) สารตัวอย่างที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วน ยังคงต้องการการตรวจวิเคราะห์ด้านความปลอดภัยเพิ่มเติม ก่อนนำไปใช้จริงไม่ว่าเชิงพาณิชย์หรือไม่

## บรรณานุกรม

- ณัฐธิดา ฤทธิญาณ. 2564. “การสกัดสารแอลฟาแมงโกสตินจากเปลือกมังคุดอบแห้งและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.” **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.**
- ธัญญา พรหมศร. 2544. “มังคุดยาสมุนไพรตัวใหม่.” **สุทธิปริทัศน์.** 15(46): 51-59.
- บุญเกิด สุขเมธ. 2561. “การประยุกต์ใช้คลื่นเสียงกับการสกัดพืชสมุนไพร.” **R&D Newsletter.** 25(2): 2-4.
- นรินทร์ เจริญพันธ์, ศักดิ์ชัย เศรษฐ์ธนูวัช และสามารถ สายอุต. 2563. “องค์ประกอบทางเคมีและแนวโน้มการใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้และเศษเหลือทิ้งจากการแปรรูปผลไม้เขตร้อน 4 ชนิด.” **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** 28(1): 113-128.
- วิไลศรี ลิ้มพยอม และคณะ. 2556. “การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแซนโทนผงบริสุทธิ์.” **สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร.**
- วีระพันธ์ ใจแท้. 2546. “การแยกสารสกัดจากใบกระป๋องเจ็ดตัว.” **โครงการวิจัยทางเคมีสถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช.**
- วราภรณ์ สกลไชย. 2554. “มังคุด : ราชีนี...ผิวสีม่วง.” **เกษตรก้าวหน้า.** 24(2): 44-51.
- สุนันทา ภิญาวัฒน์. 2542. “โครมาโตกราฟี.” **ชีวเคมี1 Biochemistry1.** 7: 199-240.
- อภิญา จูทางกูร. 2558. “แซนโทนในมังคุด.” **วารสารอาหาร.** 3: 37-40.
- Ayare, P., Khanvikar, V., & Chalak N. 2014. "Flash Chromatography: area & applications." **PharmaTutor.** 2(5): 89-103.
- Bhattacharyya, S. S., & Sreedhar, B. 2002. “Macroporous resins: A new generation of ion exchangers.” **Journal of Chemical Technology and Biotechnology.** 77(3): 333-347.
- Bickler, B. 2018. “Successful Flash Chromatography A White Paper from Biotage.” **Biotage.**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Chen, H., Chen, Z., Li, J., Chen, L., & Liang, H. 2019. "Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from plant materials: A review." **Ultrasonics Sonochemistry**. 55: 104-113.
- de Oliveira, S. I. C., Teixeira, J., & Barros, L. 2018. "Ultrasound-assisted extraction of natural products." **Ultrasonics Sonochemistry**. 40: 388-399.
- Gutierrez-Orozco, F., & Failla, M. L. 2013. "Biological activities and bioavailability of mangosteen xanthenes: a critical review of the current evidence." **Nutrients**. 5(8): 3163-3183.
- Li, Y., Yang, Q., Li, X., & Huang, Z. 2018. "Extraction of  $\alpha$ -mangostin from mangosteen pericarp using ethanol and ultrasonic-assisted extraction." **Journal of Food Processing and Preservation**. 42(5)
- Kondeti, R.R. 2014. "Advancements in column chromatography." **World Journal of Pharmaceutical Sciences**. 2(10): 1134-1415.
- Kunnitee, B., Aurore, F., Njara, R., Pharkphoom, P., & Farid, Chemat. 2016. "Extraction of  $\alpha$ -mangostin from *Garcinia mangostana* L. using alternative solvents: Computational predictive and experimental studies." **LWT - Food Science and Technology**. 65: 297-303.
- Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J. M. 2008. "Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*)." **Food and Chemical Toxicology**. 46(10): 3227-3239.
- Prabhune, S., Mehta, P., Shah, K., & Vartak, S. 2012. "Thin Layer Chromatography (TLC) - A Comprehensive Review." **Pharmaceutica Analytica Acta**. 3: 1-13.
- Roge, A. B., Firke, S. N., Kawade, R. M., Sarje, S. K., & Vadvalkar, S. M. 2011. "Brief Review on: Flash chromatography." **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. 2(8): 1930-1937.

Sarah, M. 2012. "Tips and Tricks for the Lab: Column Packing." **The Magazine of Chemistry Europe**.

Sravani, A. 2018. "A Review Article on Flash Chromatography." **Asian Journal of Research in Chemistry**. 11(5): 815-818.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## วิธีการทดลอง

## ก.1 ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

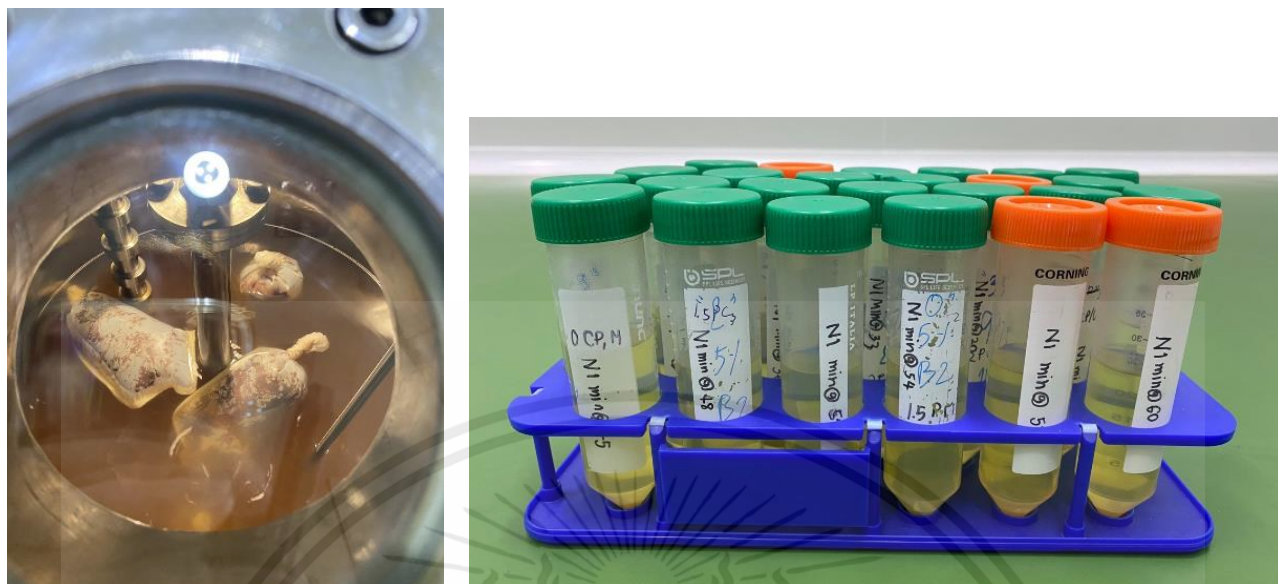


รูปที่ ก.1 การเตรียมผงเปลือกมังคุด



รูปที่ ก.2 กระบวนการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดด้วยวิธีการเปิดและไม่เปิดคลื่นอัลตราโซนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.3 การเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 min เป็นระยะเวลา 1 hr ที่หม้อสกัด

ก.2 ขั้นตอนการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี



รูปที่ ก.4 การเตรียมเฟสคงที่ Diaion HP-20 ลงในคอลัมน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



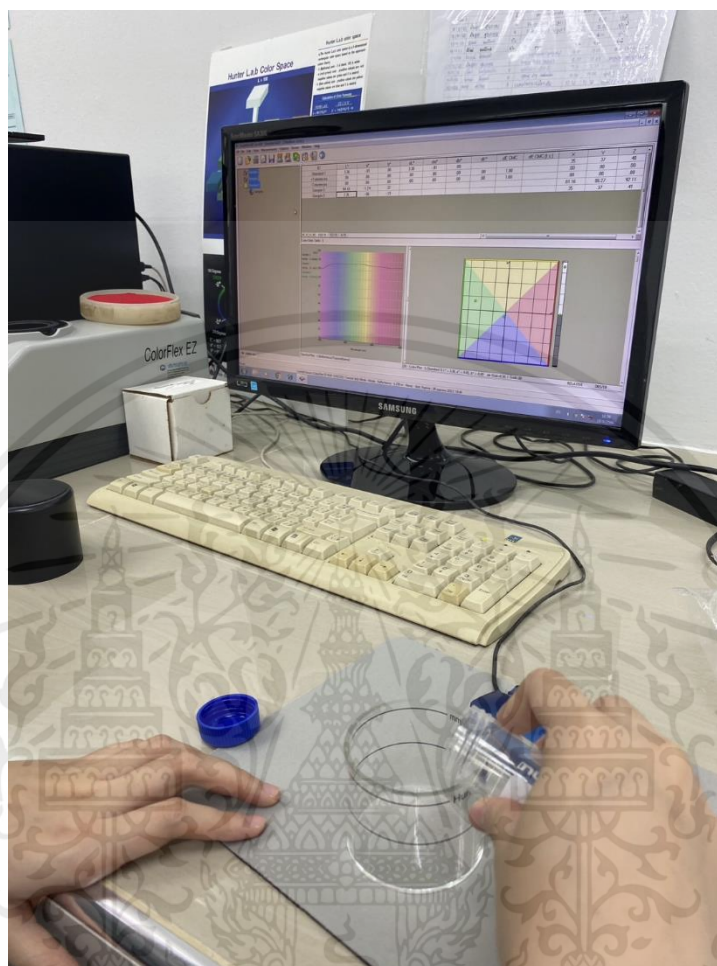
รูปที่ ก.5 การทดลองแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี



รูปที่ ก.6 ลักษณะตัวอย่างที่เก็บใส่หลอดทดลอง จำนวน 45 หลอด (fractions)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ก.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติของสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในกระบวนการสกัดสารสกัดหยาบ



รูปที่ ก.7 การวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่องวัดสีมาตรฐาน Spectrophotometer (HunterLab, ColorFlex EZ, USA)



รูปที่ ก.8 การวิเคราะห์ค่า Brix ด้วยเครื่อง Refractometer (ATAGO, Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



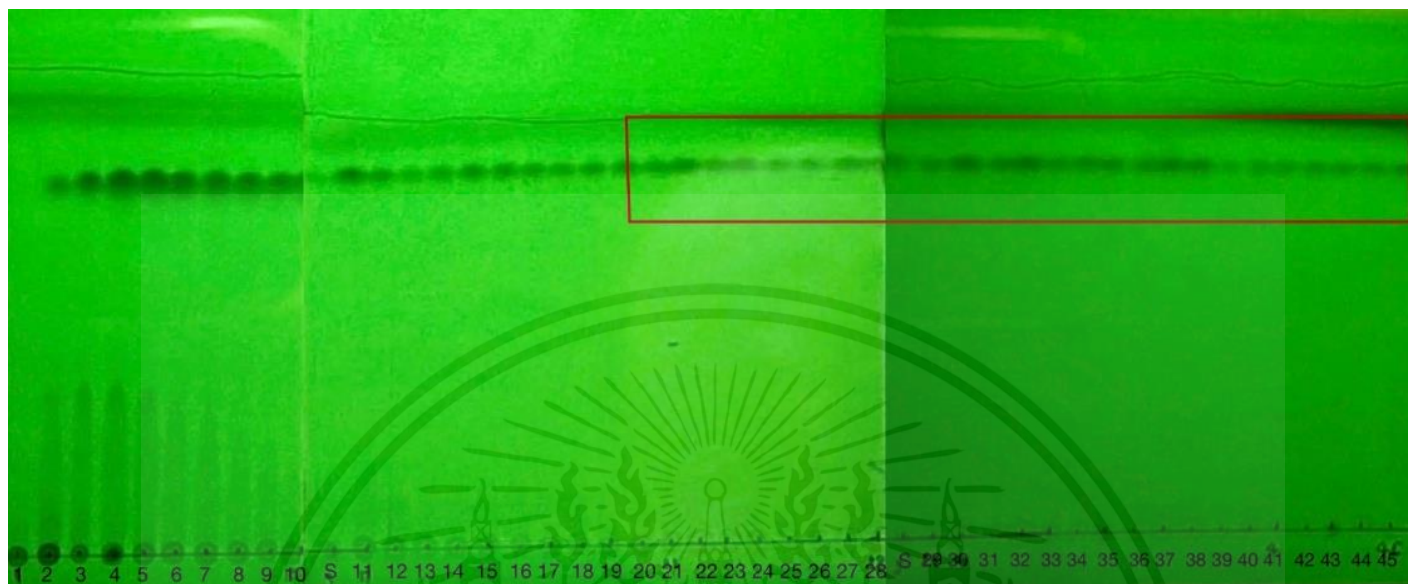
รูปที่ ก.9 การวิเคราะห์ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (EZDO, 7200, China)



รูปที่ ก.10 การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสตินด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Shimadzu, 20A, Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### ก.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติของสารแอลฟาแมงโกสตินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วน



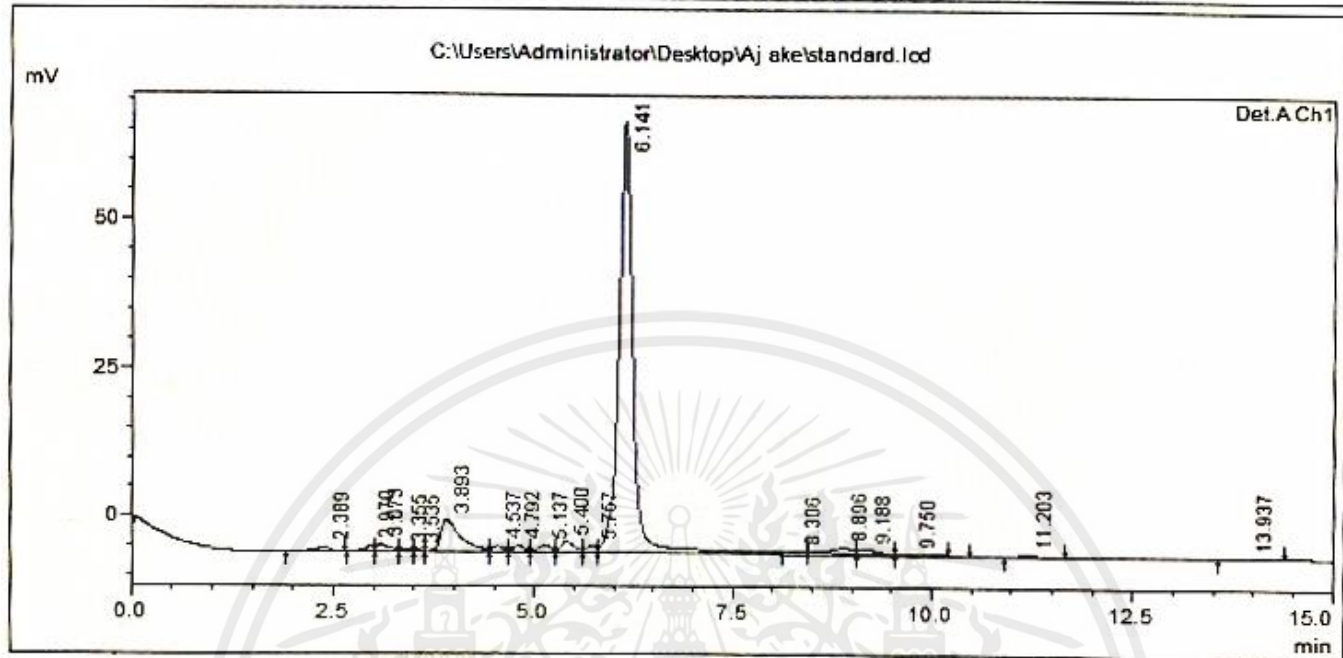
รูปที่ ก.11 การวิเคราะห์สารแอลฟาแมงโกสตินเบื้องต้นด้วยแผ่น Thin layer chromatography (TLC)



รูปที่ ก.12 การวิเคราะห์ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ purity (%) ของสารแอลฟาแมงโกสตินจากช่วงของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์เบื้องต้นจาก TLC ด้วยเครื่อง HPLC (Shimadzu, 20A, Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<Chromatogram>



PeakTable						
Detector A Ch1 244nm						
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %	
1	2.389	11370	812	0.929	0.890	
2	2.970	9645	1189	0.788	1.303	
3	3.073	15495	1326	1.266	1.453	
4	3.355	4040	503	0.330	0.551	
5	3.535	2184	281	0.178	0.308	
6	3.893	98973	5369	8.085	5.885	
7	4.537	10492	995	0.857	1.091	
8	4.792	11672	1113	0.954	1.220	
9	5.137	15961	1312	1.304	1.438	
10	5.400	24299	1943	1.985	2.130	
11	5.767	13843	1297	1.131	1.422	
12	6.141	964569	72798	78.797	79.789	
13	8.306	1094	86	0.089	0.094	
14	8.896	17499	967	1.429	1.060	
15	9.188	12135	769	0.991	0.543	
16	9.750	5052	211	0.413	0.232	
17	11.203	1998	100	0.163	0.110	
18	13.937	3801	166	0.310	-0.132	
Total		1224121	91236	100.000	100.000	

รูปที่ ก.13 ตัวอย่างพื้นที่ใต้กราฟในโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน จากเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)) (Shimadzu, 20A, Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

## ผลการทดลอง

ตาราง ข.1 ผลการทดลองการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดแบบไม่ใช้คลื่นอัลตราโซนิก

การวิเคราะห์	ซ้ำที่			Avg.
	1	2	3	
$\Delta E$	16.33	16.36	17.35	16.68 $\pm$ 0.58
Brix	25.00	25.00	24.00	24.67 $\pm$ 0.58
pH	4.59	4.58	4.54	4.57 $\pm$ 0.03
yield ( $g_{\text{alpha-mangosteen}} / kg_{\text{pericarp powder}}$ )	0.98	1.02	0.98	1.00 $\pm$ 0.02

ตาราง ข.2 ผลการทดลองการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิก

การวิเคราะห์	ซ้ำที่			Avg.
	1	2	3	
$\Delta E$	18.90	19.75	20.59	19.75 $\pm$ 0.85
Brix	25.00	26.00	26.00	25.67 $\pm$ 0.58
pH	4.52	4.58	4.55	4.55 $\pm$ 0.03
yield ( $g_{\text{alpha-mangosteen}} / kg_{\text{pericarp powder}}$ )	1.04	1.11	1.12	1.09 $\pm$ 0.04

ตาราง ข.3 ผลการทดลองการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบไม่ใช้ความดัน

การวิเคราะห์	ซ้ำที่			Avg.
	1	2	3	
yield ( $mg_{\text{alpha-mangostin}} / g_{\text{crude extract}}$ )	9.29	9.66	10.16	9.70 $\pm$ 0.44
Purity (%)	89.36	82.37	89.84	87.19 $\pm$ 4.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.4 ผลการทดลองการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบใช้ความดันที่ 0.5 bar

การวิเคราะห์	ซ้ำที่			Avg.
	1	2	3	
yield (mg <sub>alpha-mangostin</sub> /g <sub>crude extract</sub> )	8.97	6.17	6.71	7.29 ± 1.49
Purity (%)	99.80	97.92	70.65	89.46 ± 16.31

ตาราง ข.5 ผลการทดลองการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบใช้ความดันที่ 1 bar

การวิเคราะห์	ซ้ำที่			Avg.
	1	2	3	
yield (mg <sub>alpha-mangostin</sub> /g <sub>crude extract</sub> )	6.26	4.92	6.02	5.73 ± 0.71
Purity (%)	76.77	97.19	97.88	90.61 ± 11.99

ตาราง ข.6 พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสตินที่ความเข้มข้น 100 µg/ml

สารมาตรฐานแอลฟาแมงโกสติน (µg/ml)	พื้นที่ใต้กราฟ		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
100	964,569	1,059,309	1,016,179

## ภาคผนวก ค

## ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตาราง ค.1 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยรายคู่ (Paired samples T-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของ การศึกษาการสกัดสารสกัดหยาบเปลือกมังคุด

## Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	colorNo	16.6800	3	.58043	.33511
	colorSo	19.7467	3	.84500	.48786
Pair 2	brixNo	24.6667	3	.57735	.33333
	brixSo	25.6667	3	.57735	.33333
Pair 3	phNo	4.5700	3	.02646	.01528
	phSo	4.5500	3	.03000	.01732
Pair 4	yieldNo	.99667	3	.023692	.013679
	yieldSo	1.09200	3	.041761	.024111

## Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Significance	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				One-Sided p	Two-Sided p
					Lower	Upper				
Pair 1	colorNo - colorSo	-3.06667	.43662	.25208	-4.15128	-1.98205	-12.165	2	.003	.007
Pair 2	brixNo - brixSo	-1.00000	1.00000	.57735	-3.48414	1.48414	-1.732	2	.113	.225
Pair 3	phNo - phSo	.02000	.04359	.02517	-.08828	.12828	.795	2	.255	.510
Pair 4	yieldNo - yieldSo	-.095333	.037541	.021674	-1.188591	-.002076	-4.398	2	.024	.048

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

### ANOVA

yieldPresure

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.992	2	11.996	12.375	.007
Within Groups	5.816	6	.969		
Total	29.809	8			

ตาราง ค.3 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (วิธี Turkey's Honestly Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสทินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: yieldPresure

Tukey HSD

(I) Presure	(J) Presure	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
.0	.5	2.41467	.80391	.054	-.0520	4.8813
	1.0	3.96833*	.80391	.006	1.5017	6.4350
.5	.0	-2.41467	.80391	.054	-4.8813	.0520
	1.0	1.55367	.80391	.210	-.9130	4.0203
1.0	.0	-3.96833*	.80391	.006	-6.4350	-1.5017
	.5	-1.55367	.80391	.210	-4.0203	.9130

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## yieldPressure

Tukey HSD<sup>a</sup>

Pressure	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1.0	3	5.7333	
.5	3	7.2870	7.2870
.0	3		9.7017
Sig.		.210	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง ค.4 วิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of Variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสทินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

Purity	ANOVA				
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.195	2	9.097	.064	.939
Within Groups	854.962	6	142.494		
Total	873.157	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค.5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (วิธี Turkey's Honestly Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของการศึกษาเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ของสารแอลฟาแมงโกสตินจากการแยกสารบริสุทธิ์บางส่วนด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Purity

Tukey HSD

(I) Pressure	(J) Pressure	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
.0	.5	-2.26667	9.74658	.971	-32.1718	27.6385
	1.0	-3.42333	9.74658	.935	-33.3285	26.4818
.5	.0	2.26667	9.74658	.971	-27.6385	32.1718
	1.0	-1.15667	9.74658	.992	-31.0618	28.7485
1.0	.0	3.42333	9.74658	.935	-26.4818	33.3285
	.5	1.15667	9.74658	.992	-28.7485	31.0618

### Purity

Tukey HSD<sup>a</sup>

Pressure	N	Subset for alpha = 0.05	
.0	3		87.1900
.5	3		89.4567
1.0	3		90.6133
Sig.			.935

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้