

บทที่ 1

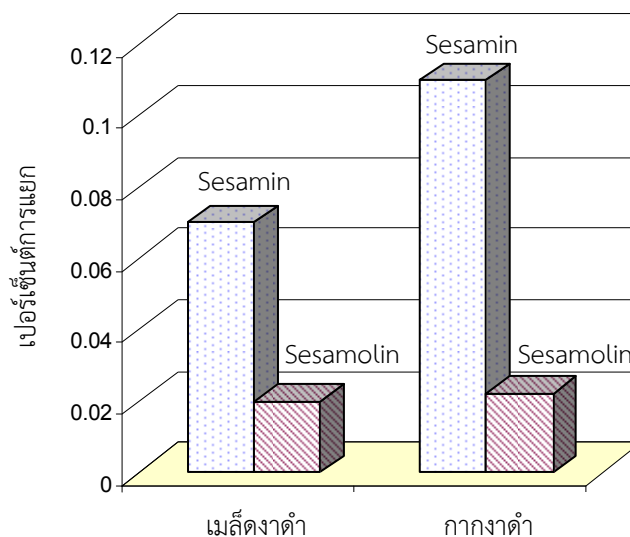
บทนำ

งา (sesame) เป็นพืชที่ปลูกได้ในประเทศไทย เพาะปลูกง่าย งามีความผูกพันกับวิถีชีวิตของชาวไทย มีการนำมาใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น ประกอบอาหาร หมักผสม ใช้เป็นน้ำมันนวดร่างกายตามการรักษาแบบแพทย์แผนไทย หรือมีการนำมาทำขนม เป็นส่วนประกอบของอาหารคาว หวานต่างๆ ส่วนกากงาซึ่งเป็นส่วนที่เหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันจากเมล็ดงา แม้มีคุณค่าทางอาหารแต่มูลค่าต่ำ ถูกนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ในครัวเรือน งาจึงเป็นพืชที่อยู่คู่กับวิถีชีวิตของชาวไทย นอกจากนี้งาเป็นพืชที่มีประโยชน์สูงและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีรายงานผลของงาต่อสุขภาพมากมาย เช่น ในแง่การลดสาเหตุของโรคทางระบบหลอดเลือดและหัวใจ หรือแม้แต่มะเร็ง โรคเรื้อรังเหล่านี้ได้กลายเป็นปัญหาการบริหารงบประมาณของระบบสาธารณสุขของประเทศเป็นอย่างมาก วิธีการหนึ่งที่จะป้องกันและช่วยบรรเทาให้น้อยลงคือการหาสิ่งที่มีอยู่ตามพื้นบ้านในท้องถิ่นและนำมาใช้ ซึ่งอาจจะทำให้อยู่ในรูปแบบที่ทันสมัย หรือสะดวกต่อการรับประทาน หรือให้อยู่ในรูปแบบที่รับประทานแล้วได้สารสำคัญครบถ้วน ดังนั้นจึงต้องรู้ข้อมูลคุณค่าจากสารสำคัญที่มีอยู่ในสมุนไพรจริง การสกัดสารสำคัญจากงาจึงเป็นงานที่ต้องทำโดยผู้เชี่ยวชาญ โดยต้องมีการเก็บข้อมูลเพื่อจัดทำมาตรฐานของสารสกัดเพื่อให้สามารถนำไปใช้อ้างอิงได้ต่อไป

นอกจากนี้การแปรรูปงาเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบต่างๆต้องมีการควบคุมคุณภาพและปริมาณ เนื่องจากสารสำคัญอาจมีการสูญหายไปในช่วงการผลิต ทำให้คุณภาพหรือประโยชน์ต่อสุขภาพที่พึงได้ของผลิตภัณฑ์แตกต่างกันในแต่ละครั้งที่ผลิต หรือการได้มาซึ่งวัตถุดิบในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน ตามฤดูกาล หรือตามสภาพการเก็บรักษาวัตถุดิบก็ทำให้สารสำคัญของวัตถุดิบนั้นๆ มีปริมาณที่แตกต่างกันด้วย ดังในรายงานวิจัยของสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ที่ได้ศึกษาพัฒนาวิธีการสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ ในเมล็ดงาและน้ำมันงาที่มีในประเทศ โดยใช้ตัวอย่างเมล็ดงาพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดต่างๆ พบว่าปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันมาก ขึ้นกับสายพันธุ์งา การปลูกและแหล่งปลูก และกรรมวิธีการแปรรูปผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการหาวิธีติดตามปริมาณสารสำคัญว่าจะคงอยู่ในวัตถุดิบโดยเบื้องต้นที่ใช้วิธีทางเคมีอย่างง่าย ๆ สะดวก และประหยัด จึงเป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่น่าสนใจ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ประกอบการที่ต้องการนำวัตถุดิบงาไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในการใช้ติดตามการคงอยู่ของสารสำคัญในเบื้องต้น ก่อนจะนำไปวิเคราะห์เชิงลึก เพื่อที่จะพัฒนาคุณภาพของงาให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และทำให้ผู้บริโภคเกิดความเชื่อมั่นต่อผลิตภัณฑ์จากงาต่อไป

จากงานวิจัยเรื่องการศึกษามาตรฐานและการเตรียมวัตถุดิบงา ในผลการดำเนินการปีที่ 1 สามารถใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายหลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่างกัน 3 ชนิด ในการแยกสารสำคัญที่ต้องการคือ sesamin (1) และ sesamol (2) ได้จากทั้งเมล็ดงาดำและกากงาดำ พบว่าสารทั้งสองแยกได้จากกากมีปริมาณมากกว่าที่แยกได้จากเมล็ด โดยกากงาดำ 4 กิโลกรัม ได้ sesamin (1) 4.5125 กรัม (0.11 %) และ sesamol (2) 0.9195 กรัม (0.02 %) ในขณะที่เมล็ดงาดำ 1.5 กิโลกรัม แยกได้ sesamin (1) 1.0752 กรัม (0.07 %) และ sesamol (2) 0.9195 กรัม (0.022 %) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 ดังนั้นในปีที่ 2 จึงใช้ประโยชน์จากกากงาดำที่เหลือจากการหีบน้ำมันงาแล้วเป็นวัตถุดิบในการสกัดแยกสาร sesamin (1) และ sesamol (2) ซึ่งเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต่างๆ และทำข้อมูลทางกายภาพและสเปกโทสโกปีของสารบริสุทธิ์ทั้งสอง รวมทั้งทำ TLC profile ของสารสกัดหยาบทั้งสามเพื่อการตรวจสอบวัตถุดิบงาดำโดยวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และประหยัด ซึ่งจะนำไปต่อยอดในงานวิจัยในโครงการย่อยที่อยู่ภายใต้โครงการชุดเดียวกัน คือ โครงการย่อยที่ 2 เรื่อง การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของสารสำคัญจากงา โดยมี รศ. ดร. สหพัฒน์ บัณฑิตรักษ์ เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย และโครงการย่อยที่ 3 เรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์เวชสำอางต้นแบบจากงา โดยมี รศ.ดร.นาถธิดา วีระปรียากร

เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย ผลงานวิจัยทั้งหมดจะนำไปสู่การพัฒนายกระดับและควบคุมคุณภาพวัตถุดิบงาดำ สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากงาดำ และเป็นฐานข้อมูลสำคัญเกี่ยวกับวัตถุดิบงาดำต่อไป



รูปที่ 1.1 เปอร์เซนต์การแยกสาร sesamin และ sesamolin จากเมล็ดและกากงาดำ

1.1 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ทำข้อมูลทางกายภาพและทางสเปกโทรสโกปีของสาร sesamin และ sesamolin
2. ทำ TLC profile ของสารสกัดหยาบเอ็น-เฮกเซน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตรต และ สารสกัดหยาบเมทานอล เทียบกับสาร sesamin และ sesamolin
3. จัดเตรียมวัตถุดิบกากงาดำที่ได้มาตรฐานสำหรับโครงการวิจัยย่อยที่ 2 และ 3

1.2 ขอบเขตของโครงการวิจัย

เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการ โดยการสกัดกากงาดำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดคือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตรต และเมทานอล ทำมาตรฐาน TLC profile ของสารสกัดหยาบทั้งสาม เปรียบเทียบกับสาร sesamin และ sesamolin ที่แยกได้ รวมทั้งทำข้อมูลทางกายภาพ และข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของสารทั้งสอง พร้อมทั้งเตรียมวัตถุดิบกากงาดำสำหรับโครงการวิจัยย่อยที่อยู่ภายใต้โครงการวิจัยชุดเดียวกัน

1.3 ทบทวนวรรณกรรม

งา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sesamum indicum* L. หรือรู้จักในชื่อ Sesame, Gingelly, beniseed, simsim อยู่ในวงศ์ Pedaliaceae (Sugano and Akinmto, 1993) งามีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย ต่อมานำไปปลูกในประเทศที่มีอากาศอบอุ่น งาที่พบในประเทศไทยมี 3 ชนิดคือ งาดำ งาขาวและงาแดงหรืองาน้ำตาล (สุขสันต์, 2549) ต้นงาเป็นพืชขนาดเล็ก ลำต้นตั้งตรง สูงราว 1 เมตร ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยม มีร่องตามยาวและมีขนปกคลุม ใบเป็นใบเดี่ยวรูปไข่หรือรูปใบหอก เรียงตรงข้ามหรือสลับกัน ดอกเป็นดอกเดี่ยว เป็นหลอด กลีบดอกสีขาวหรือสีชมพูและมีสีม่วงแดงแซมบางๆ ออกที่ซอกใบ ออกโดยรอบลำต้นตอนบน แต่จะปิดดอกมาบานในแนวเดียวกันอยู่ด้านหนึ่งของลำต้น ผลเป็นผลแห้งแตกได้ มี 4 พู เมื่อแก่จัดจะแตกออก ภายในมีเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดขนาดเล็กรูปไข่

แบน สีดำ (เรียก “งาดำ”) หรือสีนวล (เรียก “งาหม่น”) (ชยันต์ พิเชียรสุนทร แม้นมาส ชวลิต และ วิเชียร จีรวงส์, 2542)

สารสำคัญในงา มีหลายชนิด นอกจากองค์ประกอบสำคัญ sesamin และ sesamol แล้ว น้ำมันงา (sesame oil) ยังประกอบไปด้วย กรดไขมันต่างๆ ได้แก่ palmitic, palmitoleic, stearic, oleic และ linoleic acids

น้ำมันงาเป็นน้ำมันสีเหลืองทอง อุดมด้วย กรดไขมันต่างๆ เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย ปริมาณองค์ประกอบของกรดไขมันเหล่านี้ยังแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับพันธุ์และสถานที่ปลูก น้ำมันงาเป็นน้ำมันพืชที่มีคุณภาพดีเหมาะแก่การบริโภค เนื่องจากมีกรดไขมันอิ่มตัวอยู่น้อย กรดไขมันชนิดนี้ไม่สามารถซึมผ่านผนังหลอดเลือดด้านในออกไปได้ ทำให้มีโอกาสเกาะติดกับผนังหลอดเลือดและเกิดเป็นโรคเส้นเลือดอุดตันได้ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวซึ่งมีอยู่มากในน้ำมันงาเป็นกรดไขมันที่สำคัญและจำเป็นแก่ร่างกาย กรดโอเลอิกมีความคงตัว แตกตัวเป็นอนุมูลอิสระได้ยาก สามารถอยู่ได้นานโดยไม่เหม็นหืน นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยโปรตีน แร่ธาตุ แคลเซียม แมกนีเซียม วิตามินอี เลซิธิน กรดอะมิโนและ methionine ใช้ได้ดีในผิวทุกประเภทรวมถึงผิวที่ถูกแดดเผา ใช้ผสม 10 % ในน้ำมันหลัก (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2545)

นอกจากนี้ยังมีส่วนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/ต้านออกซิเดชัน ซึ่งเป็นสารพวก lignan คือ sesamin, sesaminol, sesamol, sesamolol, sesamol dimer แต่มีรายงานว่า sesamin และ sesamolol ไม่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยในระหว่างกระบวนการผลิต sesamol จะเปลี่ยนเป็น lignan ตัวอื่นคือ sesamol dimer และ sesaminol (Kamal-Eldin, and Appelqvist, 1994)

น้ำมันงามีความคงตัวสูง และลดการเกิด auto-oxidation เนื่องจากสาร sesamol (Namiki, M., 1990) ซึ่งความคงตัวนี้เกิดจากสาร sesamol α -tocopherol และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการ Maillard reaction อันเนื่องจากการคั่วเมล็ดงาก่อนนำมาแยกเอาน้ำมันงา (Fukuda, Osawa, and Nakami, 1981; Fukuda, 1990) นอกจากนี้ในการศึกษาของบังอรและคณะ (2546) พบว่าส่วนที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากที่สุดคือกากที่เหลือจากการผลิต เมื่อเทียบกับเมล็ดงาดำ และน้ำมันงาดำ ตามลำดับ

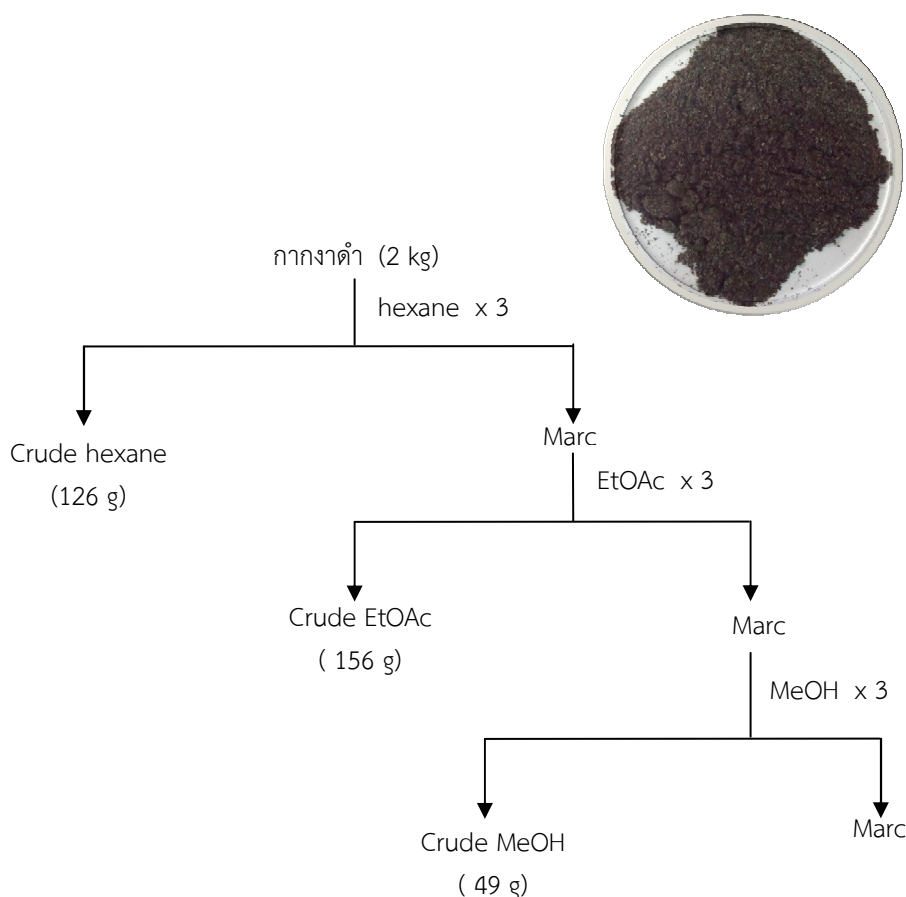
ผลการศึกษากากงา (sesame cake) จากส่วนที่เหลือจากการบีบน้ำมันงา พบว่ามีส่วนประกอบที่สำคัญคือไขมันร้อยละ 52 น้ำตาลร้อยละ 20.8 โปรตีนร้อยละ 3.8 และมีสารประกอบพวกลิแกนร้อยละ 15.4 โดยสารประกอบลิแกนที่พบในปริมาณมากคือ sesamol และ sesaminol ผลการทดสอบเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากส่วนที่เหลือจากการบีบน้ำมันงากับสารสกัดจากส่วนที่เหลือดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีกว่าสารสังเคราะห์ BHT (Suja et. al., 2004)

บทที่ 2

การทดลองและผลการทดลอง

2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากกากงาดำ

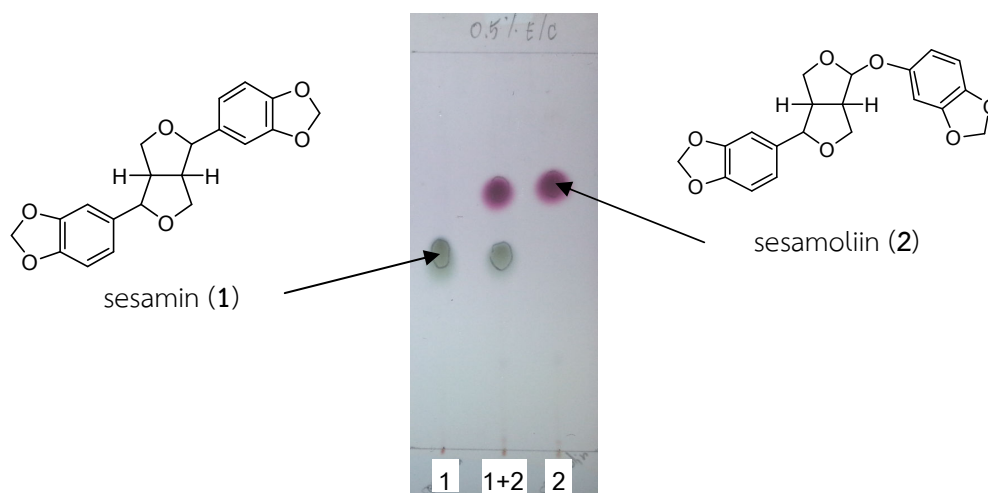
นำกากงาดำที่บดแล้ว น้ำหนัก 2 กิโลกรัม สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด โดยเริ่มจากแฮกซ์เฮกเซน (hexane) จำนวน 3 ลิตร กวนเป็นครั้งคราวแช่ไว้ 3 วัน แล้วกรองแยกสารละลายสกัดออก นำไปแช่สกัดซ้ำด้วยเฮกเซนอีก 2 ครั้ง ด้วยวิธีเดียวกัน โดยนำสารละลายสกัดรวมกันและระเหยตัวทำละลายเฮกเซนออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ส่วนสกัดหยาบเฮกเซน (crude hexane extract) น้ำหนัก 126 กรัม นำกาก (marc) ที่กรองได้ไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate, EtOAc) ด้วยวิธีเดียวกัน ได้ส่วนสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต (crude EtOAc extract) น้ำหนัก 156 กรัม และสุดท้ายนำกากงาดำที่กรองได้ไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายเมทานอล (methanol, MeOH) ได้ส่วนสกัดหยาบเมทานอล (crude MeOH extract) น้ำหนัก 49 กรัม ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 กากงาดำที่บดแล้วและแผนภาพการสกัดกากงาดำ (*Sesamum indicum* L.)

2.2 การแยกสารสำคัญ sesamin (1) และ sesamolin (2)

นำสารสกัดหยาบทั้งสามคือ สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และสารสกัดหยาบเมทานอล ไปแยกด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีต่างๆ ได้แก่ คลอัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography, CC) และ Preparative Thin Layer Chromatography (Prep-TLC) ตามขั้นตอนที่ได้รายงานแล้วในโครงการปีที่ 1 จนได้สารบริสุทธิ์ ที่ต้องการคือสาร sesamin (1) และ sesamolin (2) ดังแสดงในโครมาโทแกรมของ TLC (รูปที่ 2.2)

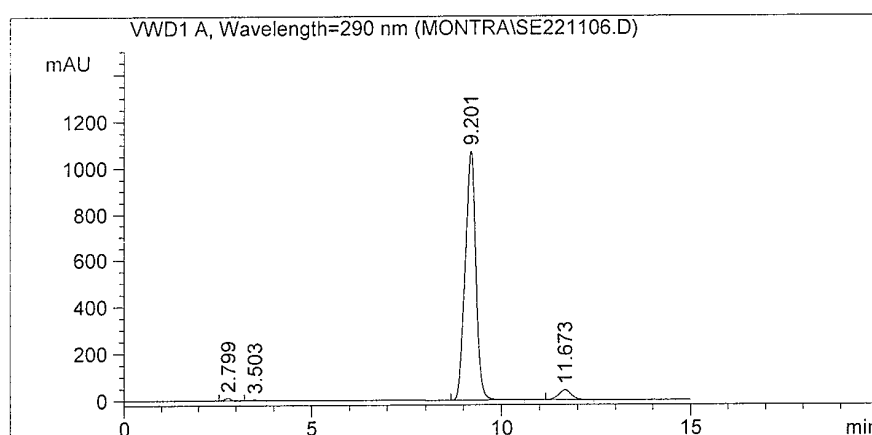


รูปที่ 2.2 TLC chromatogram ของ sesamin (1) $R_f = 0.43$ และ sesamolin (2) $R_f = 0.58$ (ระบบ 0.5% EtOAc/CH₂Cl₂)

2.3 ข้อมูลของสาร sesamin (1)

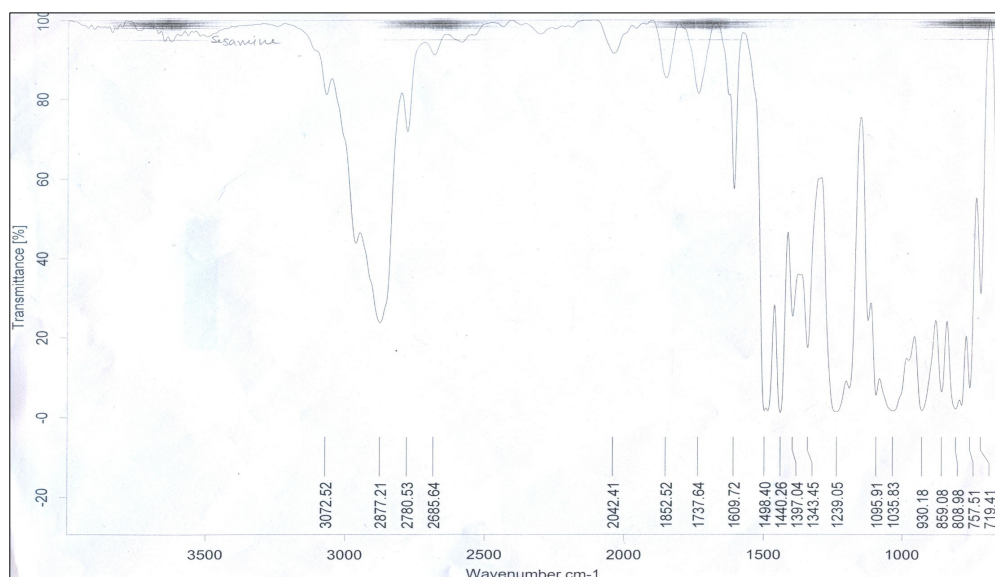
นำ sesamin ที่แยกได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเมทานอล และนำไปตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพและทางสเปกโทรสโกปีมีข้อมูลดังนี้

Sesamin (1) มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มใสไม่มีสี mp. = 122-123 °C, สูตรโมเลกุล C₂₀H₁₈O₆ (มวลโมเลกุล 354), $R_f = 0.43$ (0.5% EtOAc/CH₂Cl₂), Retention time ใน HPLC 9.201 นาที (รูปที่ 2.3)



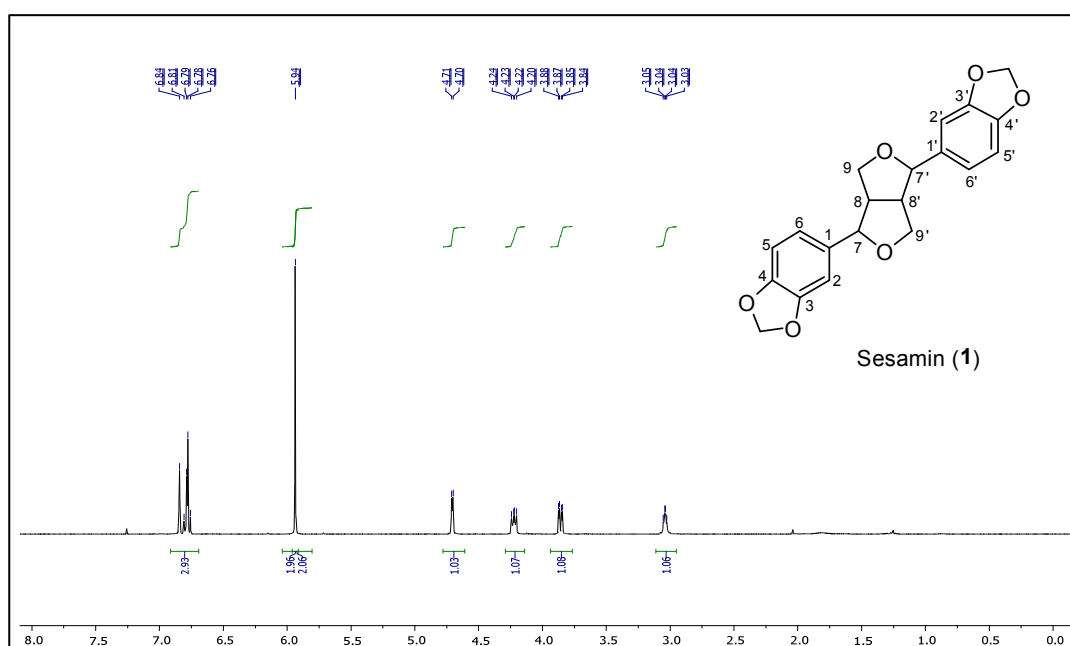
รูปที่ 2.3 HPLC chromatogram ของ sesamin (HiQ Sil C¹⁸ column (250 x 4.6 mm), MeOH/H₂O (70:30 v/v), flow rate 1 ml/min))

IR (KBr): ν_{\max} 2932, 2877, 1498, 1440, 1239, 1095 cm^{-1} (รูปที่ 2.4)



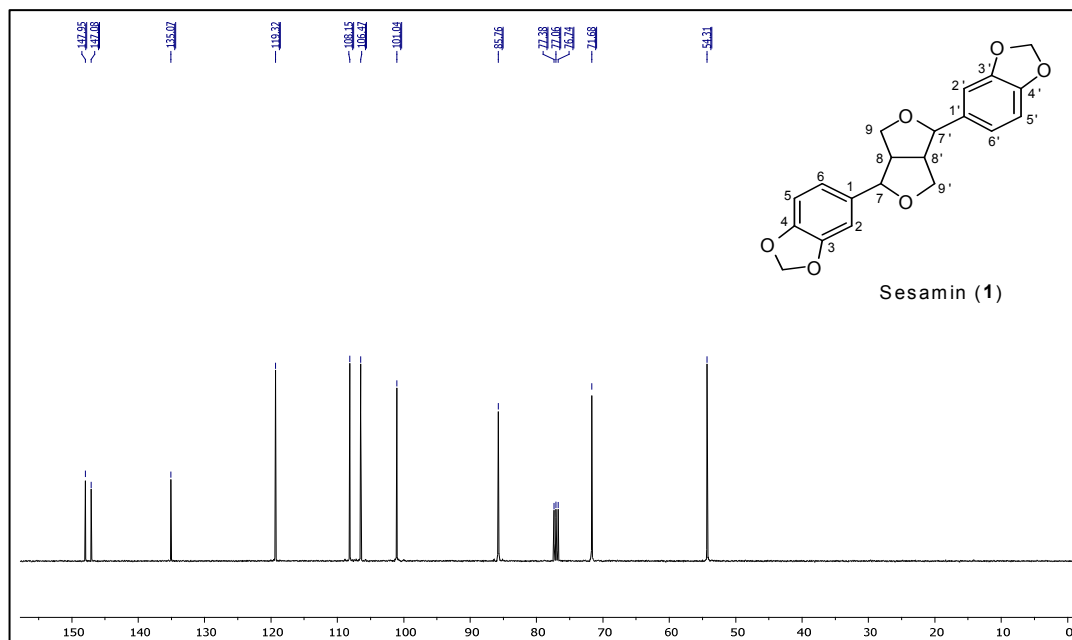
รูปที่ 2.4 IR spectrum ของ sesamin (1)

^1H NMR spectrum (รูปที่ 2.5) (400 MHz, CDCl_3) : δ 6.84 (1H, s, H-2/H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6/H-6'), 6.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5/H-5'), 5.94 (2H, s, O- CH_2 -O-), 4.71 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7/H-7'), 4.23 (2H, dd, $J = 8.2, 9.2$ Hz, H-9a/H-9'a), 3.87 (2H, dd, $J = 3.6, 9.2$ Hz, H-9b/H-9'b), 3.04 (1H, m, H-8/H-8') ppm



รูปที่ 2.5 ^1H NMR spectrum ของ sesamin (1)

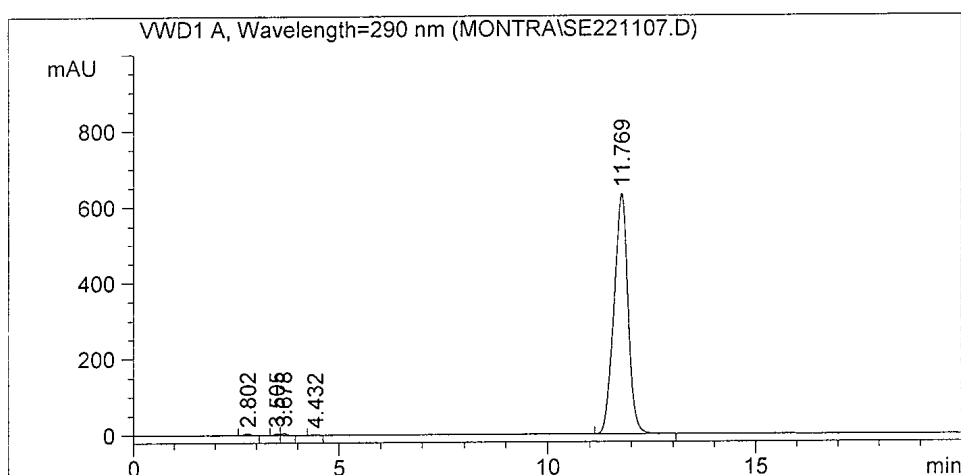
^{13}C NMR spectrum (รูปที่ 2.6) (100 MHz, CDCl_3) : δ 148.0 (C-3/C-3'), 147.1 (C-4/C-4'), 135.1 (C-1/C-1'), 119.3 (C-6/C-6'), 108.2 (C-5/C-5'), 106.5 (C-2/C-2'), 101.1 (-O-CH₂-O), 85.8 (C-7/C-7'), 71.7 (C-9/C-9'), 54.3 (C-8/C-8') ppm



รูปที่ 2.6 ^{13}C NMR spectrum ของ sesamin (1)

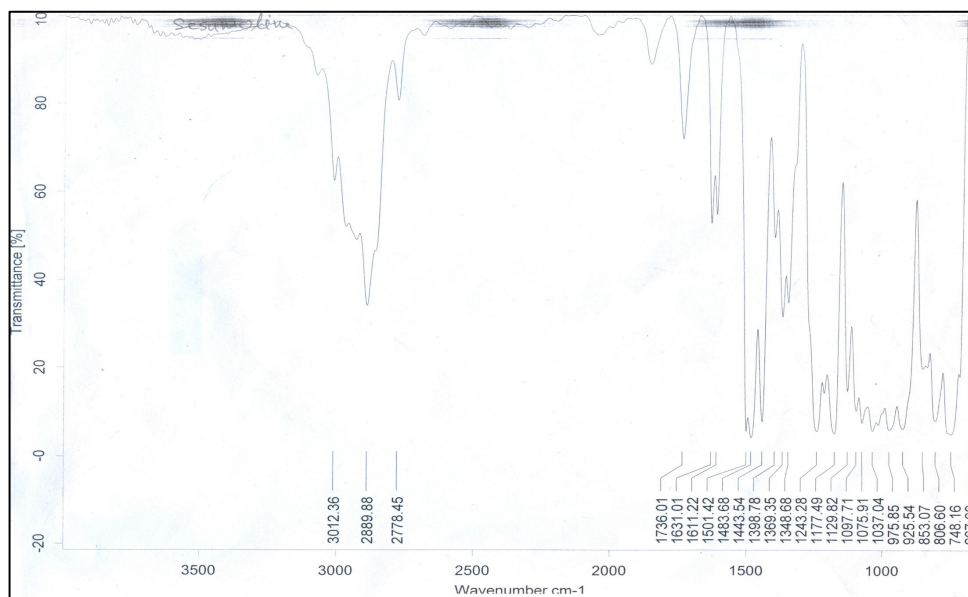
2.4 ข้อมูลของสาร sesamol (2)

Sesamol (2) มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มใสไม่มีสี mp. = 94-95 °C, สูตรโมเลกุล $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_7$ (มวลโมเลกุล 370) R_f = 0.58 (ระบบ 0.5% EtOAc/ CH_2Cl_2); Retention time ใน HPLC 11.769 นาที (รูปที่ 2.7)



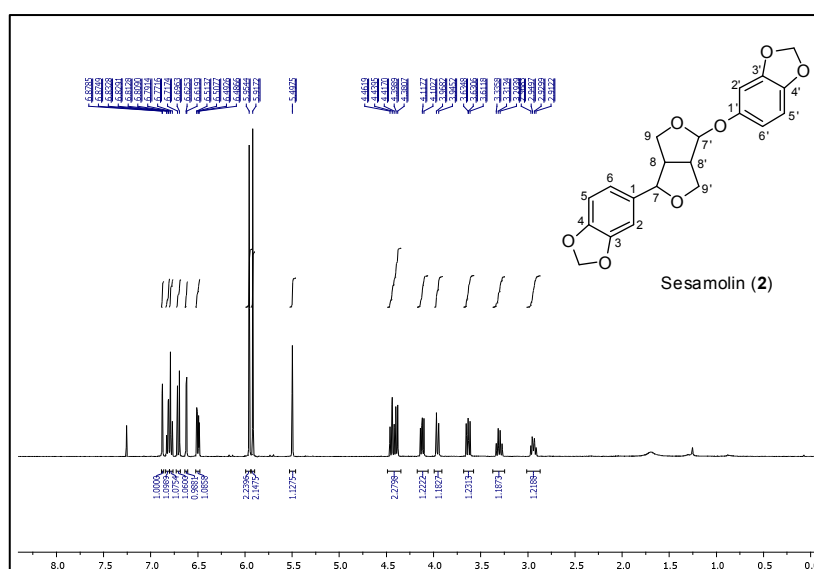
รูปที่ 2.7 HPLC chromatogram ของ sesamol (2) (HiQ Sil C¹⁸ column (250 x 4.6 mm), MeOH/H₂O (70:30 v/v), flow rate 1 ml/min)

IR (KBr) V_{\max} 3012, 2889, 1631, 1483, 1243, 1177 cm^{-1} (รูปที่ 2.8)

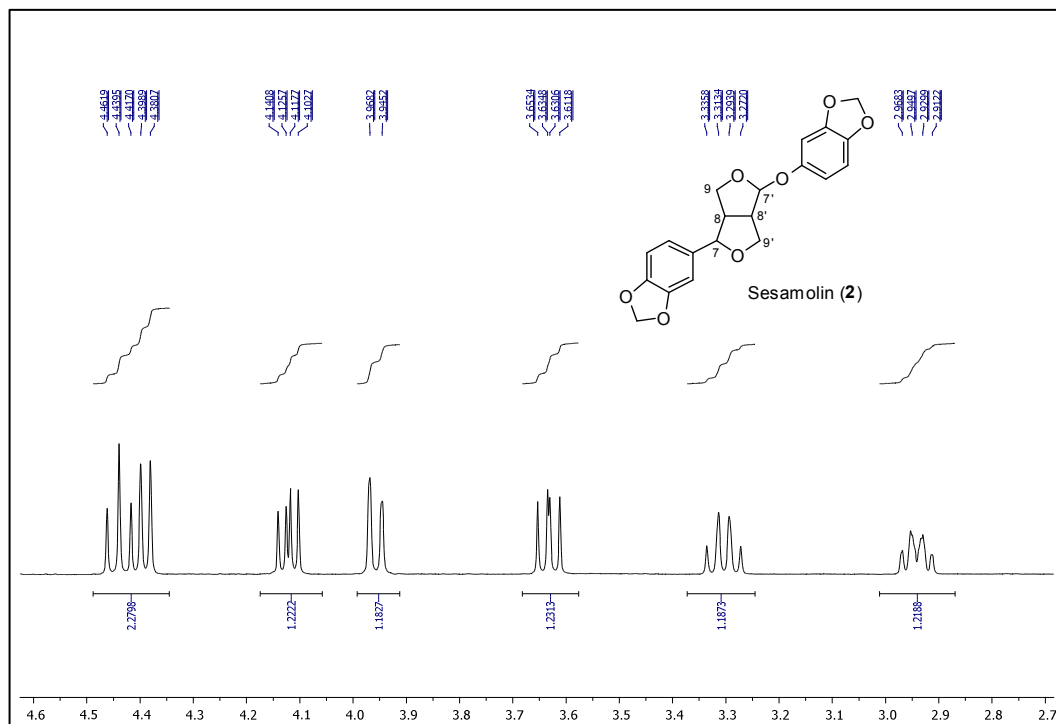


รูปที่ 2.8 IR spectrum ของ sesamol (2)

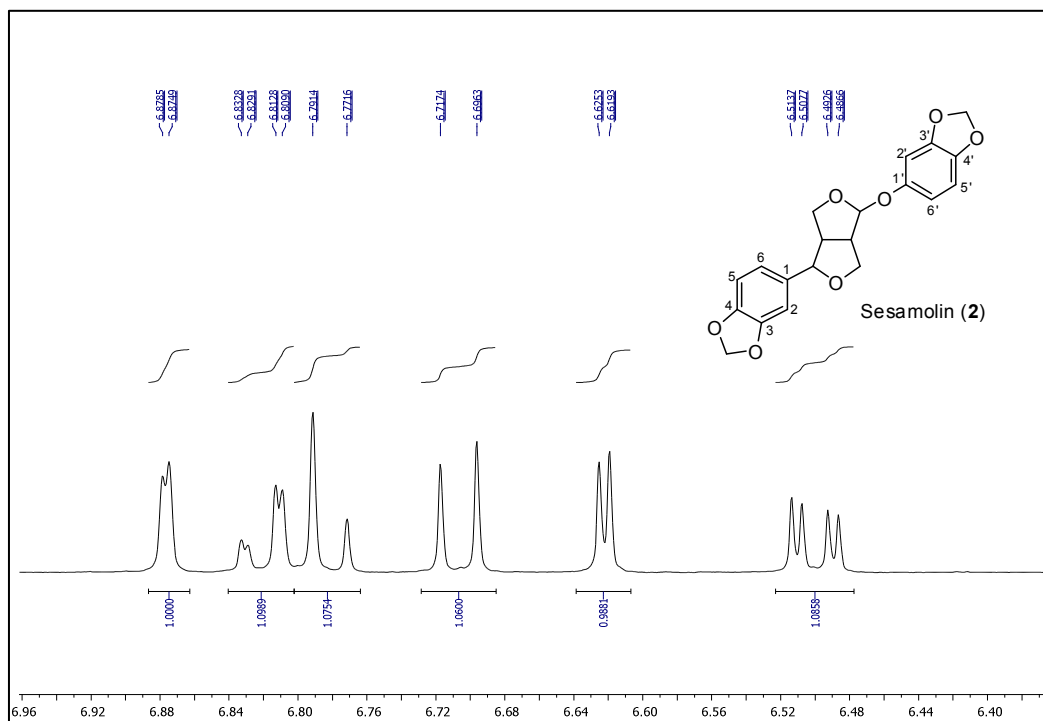
^1H NMR spectrum (รูปที่ 2.9-2.11) (400 MHz, CDCl_3) : δ 6.87 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2), 6.83 (1H, dd, $J = 1.5, 7.9$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5), 6.70 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.61 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 6.50 (1H, dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, H-6'), 5.95 (2H, s, 3'- OCH_2O -4'), 5.91 (2H, s, 3- OCH_2O -4), 5.50 (1H, s, H-7'), 4.44 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-9'b), 4.39 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-7), 4.12 (1H, dd, $J = 9.1, 7.5$ Hz, H-9b), 3.95 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-9a), 3.63 (1H, dd, $J = 9.1, 7.5$ Hz, H-9'a), 3.30 (1H, dd, $J = 8.8, 8.8$ Hz, H-8'), 2.93 (1H, dd, $J = 8.3, 6.2$ Hz, H-8) ppm



รูปที่ 2.9 ^1H NMR spectrum ของ sesamol (2)

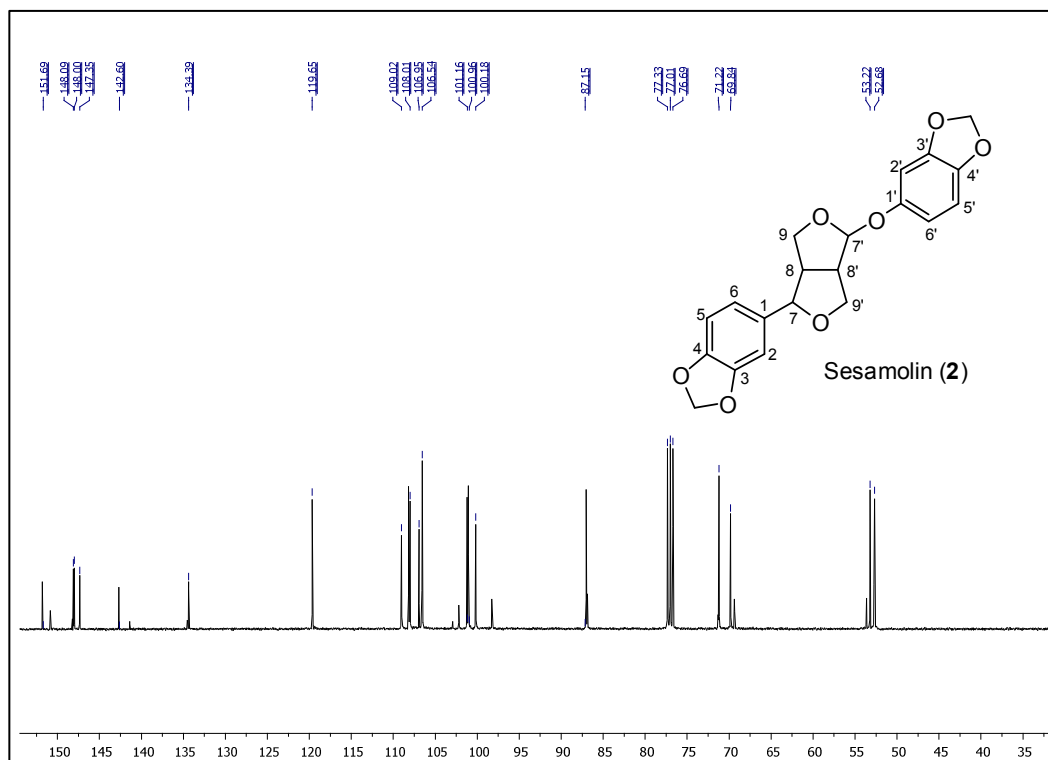


รูปที่ 2.10 ^1H NMR สเปกตรัมของ sesamol (2) ขยาย ช่วง 4.6-2.7 ppm



รูปที่ 2.11 ^1H NMR สเปกตรัมของ sesamol (2) ขยาย ช่วง 6.96- 6.40 ppm

^{13}C NMR spectrum (รูปที่ 2.12) (100 MHz, CDCl_3) : δ 151.7 (C1'), 148.1 (C-3), 148.0 (C-3'), 147.4 (C-4), 142.7 (C-4'), 134.4 (C-1), 119.7 (C-6), 109.0 (C-6'), 108.2 (C-5), 108.0 (C-5'), 106.9 (C-7'), 106.6 (C-2), 101.1 (3'-O-CH₂-O-4'), 101.0 (3-O-CH₂-O-4), 100.1 (C-2'), 87.1 (C-7), 71.2 (C-9'), 69.8 (C-9), 53.2 (C-8'), 52.7 (C-8) ppm



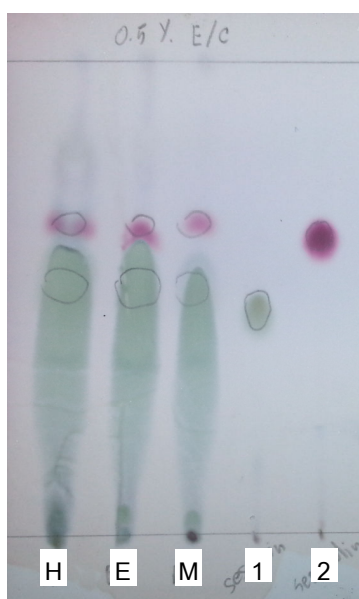
รูปที่ 2.12 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ sesamol (2)

2.5 การทำ TLC profile ของสารสกัดหยาบเทียบกับสาร sesamin (1) และ sesamol (2)

นำสารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และสารสกัดหยาบเมทานอล มาทำ TLC profile เทียบกับสาร sesamin (1) และ sesamol (2) ดังนี้

1. เตรียมตัวทำละลายระบบ 0.5% EtOAc/ CH_2Cl_2 เทใส่ปีกเกอร์ขนาด 400 ml ให้สูงจากพื้นล่าง 0.5 cm ใส่กระดาษกรองขนาด 15x9 cm² ลงในปีกเกอร์ เอียงปีกเกอร์ให้ตัวทำละลายดูดซึมกระดาษกรองและแนบติดผนังปีกเกอร์ ใช้กระดาษอะลูมิเนียมปิดด้านบน ปล่อยให้ตัวทำละลายอิมตัวในปีกเกอร์
2. เตรียมแผ่น Silica gel TLC ขนาด 5x9 cm² วางแผ่น TLC โดยด้านยาวอยู่แนวตั้ง ใช้ดินสอขีดเส้นขนาน 2 เส้น เส้นล่างห่างขอบล่าง 0.7 cm และเส้นบนห่างจากขอบบน 0.3 cm เขียนจุด 5 จุดลงบนเส้นขนานด้านล่าง แต่ละจุดห่างกัน 1 cm ใช้หลอดรูเล็กจุดสารลงบนแต่ละจุดตามลำดับดังนี้ 1. สารสกัดหยาบเฮกเซน 2. สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต 3. สารสกัดหยาบเมทานอล 4. Sesamin (1) และ 5. sesamol (2)

3. นำแผ่น TLC ไปวางในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ปิดด้วยกระดาษอะลูมิเนียม ปล่อยให้ตัวทำละลายชะสารขึ้นไป
4. เมื่อตัวทำละลายซึมถึงเส้นด้านบน เปิดกระดาษอะลูมิเนียม และเอา แผ่น TLC ออก ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยไป
5. นำแผ่น TLC ไปพ่นด้วยสารละลาย anisaldehyde reagent นำไปให้ความร้อน จะเห็นจุดที่ 4 คือ sesamin (1) ปรากฏเป็นสีเขียวอมน้ำตาล และจุดที่ 5 คือ sesamol เป็นสีม่วงแดง และจุดที่เหลือทั้งสามปรากฏเป็นสีของสารต่างๆที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดหยาบทั้งสาม ดังแสดงในรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 TLC chromatogram ของ สารสกัดหยาบ Hexane, EtOAc, MeOH, สาร sesamin (1) และ sesamol (2) (ระบบ 0.5% EtOAc/CH₂Cl₂)

2.6 เครื่องมือและสารเคมี

เครื่องมือ Gallenkamp melting point apparatus
 Bruker Tensor 27 FT-IR spectrophotometer
 Varian Mercury Plus 400 NMR spectrometer
 HP Agilent 1100 HPLC

สารเคมี silica gel 60 (230-400 mesh) for Column chromatography
 silica gel PF₂₅₄ for Preparative TLC
 Solvents: Hexane, EtOAc, MeOH, CH₂Cl₂, EtOH, Acetone
 Anisaldehyde reagent (*p*-anisaldehyde 1.13 ml, EtOH 51.8 ml,
 conc.H₂SO₄ 1.7 ml and CH₃COOH (glacial) 0.5 ml)

บทที่ 3

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการทำวิจัยต่อเนื่องจากโครงการในปีที่ 1 โดยได้จัดทำข้อมูลทางกายภาพและข้อมูลสเปกโทรสโกปี ของสเปกตรัมต่างๆ ได้แก่ IR ^1H NMR และ ^{13}C NMR รวมถึง TLC และ HPLC profile ของสารบริสุทธิ์ที่เป็นสารสำคัญในงาดำคือ สาร sesamin (1) และ sesamol (2) เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการตรวจสอบควบคุมวัตถุดิบที่เตรียมสำหรับ อ่างอิงและเปรียบเทียบต่อไป

สำหรับการทำมาตรฐานตรวจสอบวัตถุดิบงาดำ ได้เลือกใช้กากงาดำเป็นวัตถุดิบเนื่องจากการใช้ประโยชน์ของกากงาดำที่เหลือจากการทึบน้ำมันงาแล้ว และในการศึกษาในปีที่ 1 พบว่ากากงาดำมีปริมาณของสารสำคัญทั้งสองมากกว่าในน้ำมันงา จากการทำ TLC profile ของสารสกัดหยาบ hexane สารสกัดหยาบ EtOAc และสารสกัดหยาบ MeOH ของกากงาดำ โดยใช้ระบบ 0.5% EtOAc/CH₂Cl₂ ที่ทำเปรียบเทียบกับสารสำคัญทั้งสอง พบว่าสารสำคัญทั้งสองมีในสารสกัดหยาบทั้งสาม โดยสารสกัดหยาบ hexane จะมีสารประกอบที่มีขั้วต่ำเช่น สารประเภทไขมันและน้ำมันปรากฏอยู่ด้านบนของโครมาโทแกรม อยู่ด้านบนสำหรับสารสกัดหยาบ EtOAc พบว่าจุดของสาร sesamol (2) จะค่อนข้างเด่นชัดกว่าในสองสารสกัดหยาบ อย่างไรก็ตามในสารสกัดหยาบ MeOH พบสารสำคัญทั้งสอง แม้จะพบจุดสีของสารสำคัญเข้มข้นน้อยกว่าในสารสกัดหยาบ EtOAc ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารสำคัญทั้งสองละลายได้ดีใน EtOAc ดังนั้นจะพบว่าในสารสกัดหยาบ MeOH มีตะกอนของสารสำคัญทั้งสองตกอยู่ก้นขวด การทำ TLC profile ของสารสกัดหยาบเทียบกับสารอ้างอิงนี้ใช้ในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ ก่อนส่งให้โครงการย่อยที่นำไปต่อยอดพัฒนาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นต่อไป

ผลการวิจัยนี้ทำให้ได้ข้อเสนอแนะดังนี้ ในการตรวจสอบปริมาณสารสำคัญ คือ สาร sesamin (1) และ sesamol (2) ในวัตถุดิบกากงาดำ ด้วยเครื่องมือราคาแพง เช่น HPLC สามารถให้ข้อมูลในเชิงคุณภาพและปริมาณได้ละเอียด อย่างไรก็ตามสำหรับการตรวจสอบติดตามการคงอยู่ของสารสำคัญในวัตถุดิบระดับเบื้องต้น ควรใช้วิธีสกัดด้วย MeOH แล้วนำมาทำ TLC profile ใช้ระบบ 0.5% EtOAc/CH₂Cl₂ เป็นตัวทำละลายในการชะ และตรวจสอบสีของสารด้วยตัวทำละลาย anisaldehyde reagent ซึ่งวิธีนี้จะป็นวิธีที่สามารถทำได้เอง ง่าย สะดวก รวด และราคาถูก เหมาะสำหรับผู้ประกอบการนำไปใช้ตรวจสอบการคงอยู่ของสารสำคัญทั้งสองได้ สำหรับการสกัดเพื่อแยกสารสำคัญทั้งสองควรสกัดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ เช่น น้ำมันออกก่อนด้วย hexane แล้วจึงสกัดต่อด้วย MeOH ได้เลย ก่อนนำไปแยกโดยวิธีทางโครมาโทกราฟีแบบต่างๆ ตามลำดับต่อไป จะทำให้แยกสารได้เร็วขึ้น

บทที่ 4

เอกสารอ้างอิง

- ชยันต์ พิเชียรสุนทร แม้นมาศ ขวลิขิต และ วิเชียร จีรวงส์. (2542) ตำราพระโอสถพระนารายณ์. กรุงเทพฯ: บริษัทอมรินทร์บุ๊คเซ็นเตอร์ จำกัด. หน้า 302.
- บังอร ศรีพานิชกุลชัย นาถธิดา วีระปรียากร และ แคทรียา สุทธานุช. (2546) รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเมล็ดงา กากงา และน้ำมันงาที่ได้จากกระบวนการบดเย็น ใน รายงานของศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- พิมพ์พร สีสภาพพิสิฐ. (2545). สுகนธบำบัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- สุขสันต์ สุทธิผลไพบูลย์. **งานาคคตที่สไต** [ออนไลน์] ม.ป.ป. [อ้างเมื่อ 23 ตุลาคม 2551].จาก http://web.oae.go.th/e_book./plant/nga.pdf.
- Kamal-Eldin, A. and Appelqvist, L. A. (1994). Variation in fatty acid composition of the different acyl lipids in seeds in lipids in seed oils from four sesamum species. **J Am Oil Chem Soc**, 71, 135-139.
- Fukuda, Y., Osawa, T. and Nakami, M. (1981). Antioxidant in sesame seed. **Nippon Shokushi Kogyo Gakkaishi**, 28: 461.
- Fukuda, Y. (1990). Food chemical studies on antioxidant in sesame seed. **Nippon Shokushi Kogyo Gakkaishi**, 37: 484-492.
- Namiki, M. (1990). Antioxidations/antimutagens in food. **Clin. Rev. Food Sci Nutr**, 29(4), 273-300.
- Osawa, T., Nagata, M., Namiki, M. and Fuguda, Y. (1985). Sesamolinal, a novel antioxidant isolated from sesame seed. **Agric Biol Chem**, 49: 33-51.
- Rangkadilok, N., Pholphana, N., Mahidol, C., Wongyai, W., Saengsooksree, K., Nookabkaew, S., and Satayavivad, J. (2010) Variation of sesamin, sesamol and tocopherols in sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds and oil products in Thailand. **Food Chem.**, 122, 724-730.
- Sugano, M., and Akinmoto, K.A. (1993). Multifunctional gift from nature. **Journal of the Chinese Society of Animal Science**. 18: 1-11.
- Suja, KP., Abraham, JT., Thamizh, SN., Jayalekshmy, A. and Arumughan, C. (2004). Antioxidant efficacy of sesame of sesame cake extract in vegetable oil protection. **Food Chem.**, 84, 393-400.