หน้าปก

ปกใน/ปกรอง

คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

สารบัญ หน้า

กิตติกรรมประกาศ b

บทนำ 1

ชื่อการทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการสกัดแยกสารซาโปนินจากเปลือกเงาะ 4

ชื่อการทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดซาโปนินจากเปลือกเงาะ 6

บทคัดย่อ 7

บทสรุปและข้อเสนอแนะ..... 16

เอกสารอ้างอิง..... 17

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์ของบุคคลหลายท่าน ซึ่งไม่อาจจะนำมากล่าวได้ทั้งหมด ท่านแรกที่ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคือ ท่านผู้เชี่ยวชาญนุชนาฏ ณ ระนอง ผู้เชี่ยวชาญด้านผลิตภัณฑ์เกษตร เป็นผู้ให้คำปรึกษาตลอดทำการวิจัยในโครงการฯ รวมถึงคณะผู้เชี่ยวชาญทุกท่าน ขอขอบคุณผอ.สมบัติ ตงเต๊า ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชสวนจันทุรี ผู้ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในทุกเรื่อง ขอขอบคุณผอ.เกษสิริ ฉันทพิริยะพูน ผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิตที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องHPLC SPECTROPHOTMETER และอุปกรณ์อื่นๆ รวมทั้งสารเคมีบางตัว ขอขอบคุณคุณขนิษฐา วงศ์นิกรและคุณประไพ หงษา นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ ที่ให้คำปรึกษาและเป็นพี่เลี้ยงในการใช้เครื่องมือของกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต และขอขอบคุณพี่ๆในกลุ่มวิจัยและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ผู้วิจัยใช้เครื่องFTIR ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้โครงการฯสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และท้ายที่สุดขอขอบพระคุณท่านรองอธิบดีเสริมสุข สลักเพ็ชร์ ซึ่งขณะนั้นดำรงตำแหน่งผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ที่ให้แง่คิดและมุมมองในการปฏิบัติงานวิจัย ซึ่งผู้วิจัยยึดเป็นหลักในการปฏิบัติงานเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ สามี ขอขอบใจน้องชายและลูกๆ ที่อยู่เบื้องหลังในความสำเร็จที่ได้ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนและให้กำลังใจตลอดมา

อภิรดี กอร์ปไพบูลย์

รายงานโครงการวิจัย

ศึกษาสารสำคัญในเปลือกเงาะเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าให้แก่เงาะ

The Rambutan’s Peel Extracts Study to Create the Value Added

นางอภิรดี กอร์ปไพบูลย์
Ms.APIRADEE KORPPHAIBOON

ปี พ.ศ. ๒๕๕๘

รายงานโครงการวิจัย

ศึกษาสารสำคัญในเปลือกเงาะเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าให้แก่เงาะ

The Rambutan's Peel Extracts Study to Create the Value Added

นางอภิรดี กอร์ปไพบูลย์

Ms.APIRADEE KORPPHAIBOON

ปี พ.ศ. ๒๕๕๘

บทนำ

พื้นที่ปลูกเงาะของประเทศไทยในปี 2555 มีเนื้อที่ยืนต้น 335,695 ไร่ เนื้อที่ให้ผล 314,698 ไร่ มีผลผลิตรวมทั้งประเทศ 335,745 ตัน และมีการจำหน่ายในรูปเงาะผลสด 11,241,822 กิโลกรัม แปรรูปเป็นเงาะสอดไส้สับปรดในน้ำเชื่อม 5,986,429 กิโลกรัม(สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร,2556) จึงมีเปลือกเงาะซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรในปริมาณมาก ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากเปลือกเงาะที่มีอยู่มากมายในประเทศและไม่มีมูลค่า ให้เกิดประโยชน์สูงสุด เป็นการเพิ่มรายได้ให้เกษตรกรอีกทาง โดยการเพิ่มมูลค่าสิ่งเหลือใช้ทางการเกษตรโดยการสกัดสารสำคัญจากเปลือกเงาะให้ได้สารซาโปนิน เชิดศักดิ์ และธนพัฒน์ (2544) พบว่า ในเงาะมีสารซาโปนินสามารถทดสอบเบื้องต้นโดยนำเปลือกเงาะขยี้ในน้ำแล้วเขย่าจะเกิดฟองขึ้น และเมื่อเติมกรดฟองจะยังคงอยู่ จึงเป็นช่องทางในการศึกษาสารสำคัญในเปลือกเงาะเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่าให้แก่เงาะ สารซาโปนินสามารถพบในสมุนไพรหลายๆ ชนิดเช่น โสม แปะก๊วย ส้มป่อย เจียวกู้หลาน พรมมิ หางไหลแดง หนอนตายหยาก และพริก ซาโปนินเป็นสารสกัดที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ เนื่องจากในทางการเกษตรมีประสิทธิภาพในการกำจัดหอยเชอรี่ สามารถทดแทนการนำเข้ากากเมล็ดชาจากประเทศจีน และสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคผลเน่าและใบจุดที่สำคัญในผลไม้หลายชนิด สารซาโปนินที่พบว่ามีอยู่ในเงาะที่มีมากมายในประเทศ จึงควรนำสิ่งเหลือใช้ทางการเกษตรกลับมาใช้ได้อย่างคุ้มค่าให้เกิดประโยชน์สูงสุด ลดการนำเข้าสารเคมีที่มีราคาสูง เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ลดต้นทุนการผลิตให้แก่เกษตรกร เป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรอีกทางหนึ่ง

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสาร ชนิด และปริมาณสารซาโปนินจากเปลือกเงาะสำหรับการใช้ประโยชน์ในทางการเกษตร และเพิ่มมูลค่าการใช้ประโยชน์จากสิ่งเหลือใช้

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาวิธีการสกัด ชนิด และปริมาณสารซาโปนินจากเปลือกเงาะสำหรับการใช้ประโยชน์ในทางการเกษตร และเพิ่มมูลค่าการใช้ประโยชน์จากสิ่งเหลือใช้

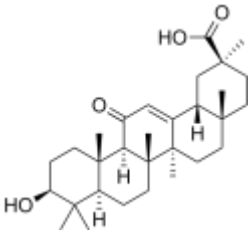
ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

กระบวนการสกัดส่วนสกัดหยาบ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) มี 2 วิธี คือ การสกัดสารและแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟี เป็นการทำให้สารมีความบริสุทธิ์ขึ้นโดยอาศัยการละลายที่แตกต่างกัน และเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการแยกสารต่างๆ ออกจากสารผสม การสกัดสารจากของเหลว การสกัดจะต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ ไม่ละลายกับตัวทำละลายที่มีอยู่เดิม และต้องละลายสารที่ต้องการได้ดีกว่าตัวทำละลายเดิม ไม่ละลายสารอื่นๆ ที่เราไม่ต้องการสกัด ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ตัวทำละลายสามารถแยกออกจากสารที่เราต้องการสกัด

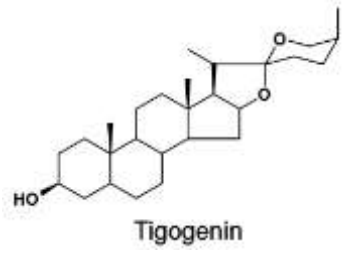
ได้ง่าย มีจุดเดือดต่ำ ระเหยง่าย ตัวทำละลายไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก ส่วนอีกวิธีเป็นการแยกสารบางชนิดออกจากสารผสมโดยใช้ตัวทำละลายสกัดออกมา เป็นเทคนิคที่ใช้กันมากในเคมีอินทรีย์ สารผสมที่นำมาสกัดเป็นสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ การสกัดสารด้วยวิธีนี้อาศัย สมบัติของการทำละลายของสารที่ต่างกันในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ซึ่งการสกัดทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดสารจากของแข็ง ทำการสกัดโดยทำให้ของแข็งแห้งแล้วจึงบดให้ละเอียด จากนั้นจึงนำไปแช่ในตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน อีเธอร์ เมธิลีนคลอไรด์ คลอโรฟอร์ม อะซิโตน แอลกอฮอล์ หรือน้ำ จะได้สารสกัดขั้นต้น (crude extract) นำมาแยกต่อให้ได้สารบริสุทธิ์ เพื่อนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างในขั้นต่อไป

การทบทวนวรรณกรรม

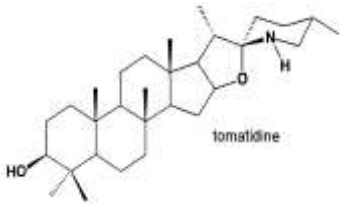
ซาโปนินเป็นสารกลุ่มไกลโคไซด์ที่มีมวลโมเลกุลสูง ไกลโคไซด์ หมายถึงกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดจาก อะไกลโคน จับกับส่วนที่เป็นน้ำตาล หรืออนุพันธ์ของน้ำตาลซึ่งเรียกว่า ไกลโคพาท โดยผ่านทางไกลโคไซด์ดิกบอนด์ส่วนของอะไกลโคล ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลจะเป็นกลุ่มสารที่มีโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน ดังนั้นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารในกลุ่มนี้จึงหลากหลาย ส่วนที่เป็นน้ำตาลไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแต่เป็นส่วนช่วยทำให้การละลายและการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายดีขึ้น ช่วยระบบกล้ามเนื้อหัวใจและระบบการไหลเวียนของโลหิตฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ซาโปนินส่วนใหญ่มีคุณสมบัติเป็นสาร Detergent ทำให้เกิดโฟมที่เสถียรในน้ำ มีรสขมและเป็นพิษในปลา คุณสมบัติของซาโปนินจะแตกต่างกันตามกลุ่มของพืช ซาโปนินเป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวาง เพื่อความสะดวกในการเรียกจึงมักเรียกซาโปนินตามโครงสร้างของโมเลกุลที่ไม่มีส่วนประกอบของน้ำตาล หรืออาจเรียกว่า จีนิน หรือสโปจีนิน ซึ่งสามารถแบ่งตามกลุ่มของจีนิน ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ ไตรเทอร์ปีน สเตียรอยด์ และสเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ (Hostettmann and Marston, 1995; Glycoside, 2007)



Triterpene class



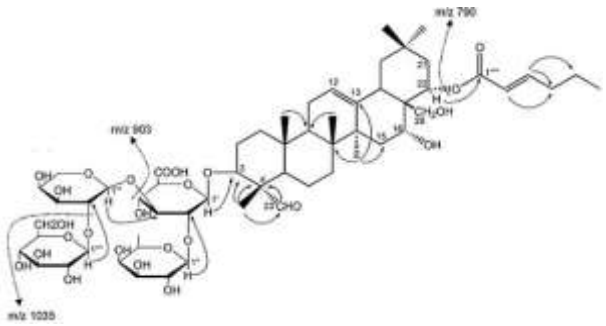
Steroid class



Steroid alkaloid class

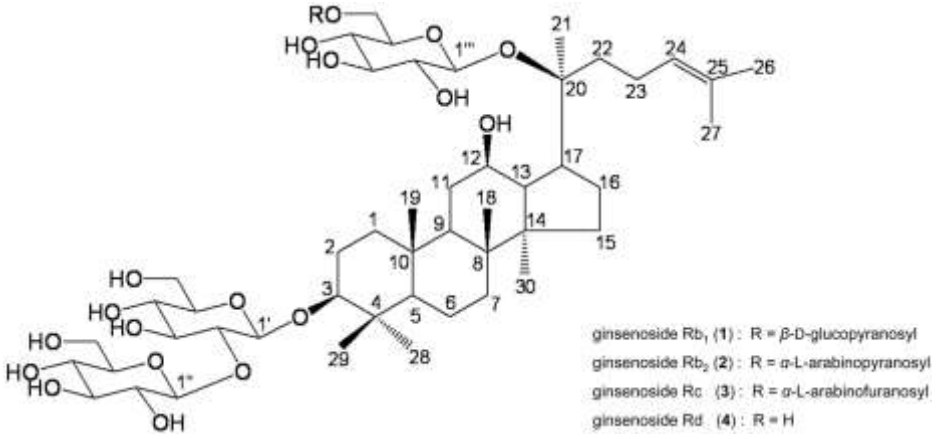
สารซาโปนินมีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวธรรมชาติ (natural surfactant) ในทางการเกษตรจึงใช้สารซาโปนินในการกำจัดหอยเชอรี่ ส่วนใหญ่นำเข้าจากประเทศจีนซึ่งได้มาจากการหีบเอาน้ำมันออกจากเมล็ดของชาที่มีชื่อวา Camellia oleifera ซึ่งมีชื่อเรียกกันทั่วไปวา Oil-seed Camellia, Tea Oil Camellia หรือ Lu Shan Snow Camellia เปนพืชที่พบแพรกระจายทั่วไปในประเทศจีนซึ่งในเมล็ดชามีสารซาโปนิน (Tea saponin) 11-18% ซึ่งสารซาโปนินนี้เปนสารประกอบ

ไกลโคไซด (Glycoside compound) จับกับ glucuronic acid, arabinose, xylose and galactoseเป็นซาโปนินในกลุ่ม triterpene(Li et al., 1994).



molecular structure of Camellia oleifera saponin

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของซาโปนินในรากโสม(Ginseng) พบซาโปนินเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญของโสมที่รู้จักกันเป็นซาโปนินที่เรียกว่า ginsenosides ซึ่งมีสูตรโครงสร้างหลักเป็นซาโปนินในกลุ่ม Steroid ซึ่งสามารถแยกออกเป็น ginsenosides Rb1, ginsenosides Rb2, ginsenosides Rc และ ginsenosides Rd (Jin-Gyeong Cho et al., 2010) ทำให้โสมเป็นสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายและเชื่อถือกันมากยิ่งขึ้นทั่วโลกโดยเฉพาะในด้านประสิทธิภาพ และประสิทธิผลในการป้องกันและบำบัดรักษาโรคของโสม โดยไม่มีฤทธิ์ข้างเคียงที่เป็นอันตรายหรือมีความเสี่ยงต่อการเสพติดเหมือนสารเคมีสังเคราะห์อื่นๆ



Chemical structures of ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd isolated from the roots of Panax ginseng.

ซาโปนินมีความเป็นพิษรุนแรงเฉพาะสัตว์เลือดเย็นหรือสัตว์ชั้นต่ำ เช่น ปลา กุ้ง และหอยเท่านั้น แต่ในสัตว์ชั้นสูงหรือสัตว์เลือดอุ่น เช่น คน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมซาโปนินเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อจะทำให้เกิดอาการระคายเคืองต่อเยื่อบุช่องจมูก แต่สลายตัวได้ง่าย ไม่สะสมในร่างกายของคนและสัตว์เลี้ยง ความเป็นพิษจะหมดไปหลังใช้ 7-14 วัน โดยสารซาโปนินจะมีผลต่อศูนย์ประสาทที่

ควบคุมการหายใจของสัตว์ชั้นต่ำ ทำให้ขาดออกซิเจนและทำให้เกิดการสลายตัวของเม็ดเลือดแดง และมีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวธรรมชาติ เหมือนกับ Sodium dodecyl sulfate และ Sodium linear alkylbenzene sulfonate ซึ่งสามารถใช้ในการกำจัดหอยเชอรี่ได้ และสารซาโปนินยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา สัมฤทธิ์ (2547) รายงานว่า สกัดสารซาโปนิน (Saponin) จากพริกมีคุณสมบัติในการควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคต่างๆในสตรอเบอรี่ โดยเฉพาะเชื้อราสำคัญอย่าง *Collectotrichum* และ *Phomopsis* สาเหตุโรคผลเน่า และโรคใบจุด โดยซาโปนินจะแทรกซึมเข้าไปตามรูเล็กๆ บนเซลล์เมมเบรนของเชื้อราจนทำให้เซลล์แตกในที่สุด และสามารถกำจัดเชื้อรา *Aspergillus flavus* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคในพืชหลายชนิด และโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้มากถึงร้อยละ 95

นอกจากนี้ทางด้านเวชสำอางใช้เป็นสารทำให้เกิดฟอง ทางการแพทย์ใช้สารซาโปนินเป็นสารนำส่งวัคซีน การศึกษาการสกัดแยกซาโปนินจากส้มป่อยเพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันช่วยนำส่งวัคซีน นอกจากนี้ยังพบการใช้ประโยชน์จากสารซาโปนินที่สกัดได้จากสมุนไพรชนิดต่างๆ กรกนกและคณะ (2552) ทำการศึกษาวิจัยสมุนไพร “พรมมิ” ตั้งแต่การปลูก ศึกษาทางเคมีการสกัดและพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรพรมมิ การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดพรมมิในทางเภสัชวิทยาทั้งในระดับหลอดทดลองสัตว์ทดลอง การศึกษาพิษวิทยารวมถึงการทดลองทางคลินิกด้วย พบว่า สารสกัดที่ได้จากต้นพรมมิมีสารซาโปนิน (saponins) ทั้งนี้สารซาโปนินที่พบในพรมมิเป็นสารชนิดเดียวกับที่พบในโสม หรือ แปะก๊วย (Ginkgo) ซึ่งสามารถชะลอการเสื่อมของเซลล์สมอง มีผลกระตุ้นความจำ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการป้องกันการถูกทำลายของเซลล์ประสาท ซึ่งสามารถช่วยป้องกันไม่ให้ผู้สูงอายุเป็นโรคอัลไซเมอร์ได้

จากการศึกษาเชิดศักดิ์ และธนพัฒน์ (2544) พบว่าเมื่อนำเปลือกเงาะมาสกัดหาสารซาโปนินและทดสอบเบื้องต้นโดยทดสอบการเกิดฟองเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนินคือไตรเทอร์พีนนอยด์ ซาโปนิน และ สเตียรอยด์ ซาโปนิน พบว่าเป็นสารสกัดจากเปลือกเงาะเป็นสารซาโปนิน จากนั้นนำมาทำโครมาโทกราฟีผิวบาง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนินคือไตรเทอร์พีนนอยด์ซาโปนิน และสเตียรอยด์ ซาโปนิน พบว่าเป็นสารซาโปนินในกลุ่ม ไตรเทอร์พีนนอยด์ ซาโปนิน และสเตียรอยด์ ซาโปนิน แต่ยังไม่ทราบสูตรโครงสร้างและปริมาณของซาโปนินที่สกัดได้ ดังนั้นการศึกษาสารซาโปนินในเปลือกเงาะที่มีมากมายในประเทศ จึงเป็นการใช้ประโยชน์จากสิ่งเหลือใช้ทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์สูงสุด ลดการนำเข้าสารเคมีที่มีราคาสูง ลดต้นทุนการผลิต และสามารถเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรได้อีกทางหนึ่ง

ระเบียบวิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการสกัดแยกสารซาโปนินจากเปลือกเงาะ

- สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- สารเคมี Ethanol, Diethyl ether, n-Butanol, Chloroform, Andydrous sodium sulfate, Acetic anhydride, Sulfuric acid, Standard saponin, Digitonin

- อุปกรณ์เครื่องชั่ง, Rotary vacuum evaporator, กระดาษกรอง

- อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

<u>การสกัดหยาบ</u>

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำซ้ำ 3 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สกัดสารซาโปนินโดยใช้เอธานอล 70% เป็นตัวทำละลาย(เชิดศักดิ์ และธนพัฒน์ (2544)) เป็นกรรมวิธีควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 สกัดแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) โดยใช้เอธานอล 70% เป็นตัวทำละลาย

กรรมวิธีที่ 3 สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

กรรมวิธีที่ 4 สกัดแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

กรรมวิธีที่ 5 สกัดโดยใช้เมธานอล 70% เป็นตัวทำละลาย

กรรมวิธีที่ 6 สกัดแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction) โดยใช้เมธานอล 70% เป็นตัวทำละลาย

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่าง

- เตรียมตัวอย่างเปลือกเงาะโดยล้างทำความสะอาดเปลือกเงาะพันธุ์โรงเรียนในจังหวัดจันทบุรี

- อบแห้งที่ 50-60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่

- แบ่งเปลือกเงาะออกเป็น 6 ส่วน สกัดสารตามกรรมวิธี

2. การสกัดสารซาโปนิน (Extraction of saponin) ชั่งเปลือกเงาะแห้งกรรมวิธีละ 100 กรัม

2.1 สกัดโดยวิธีการแช่ (กรรมวิธีที่1,3และ5)

- แช่ด้วยสารละลายเอธานอล 70% ,น้ำ และเมธานอล 70% จำนวน 1,000 มิลลิลิตร(อัตราส่วน1:10) เป็นตัวทำละลาย เขย่าวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน นำสารละลายที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์1

- สกัดซ้ำ 3 ครั้ง

- ระเหยตัวทำละลายออกโดยการกลั่นลำดับส่วน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้เฉพาะชั้นน้ำ ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้

2.2 สกัดโดยวิธีการกลั่นแบบไหลย้อนกลับ(กรรมวิธีที่2,4และ6)

โดยใช้เอธานอล 70% เป็นตัวทำละลาย

- กลั่นแบบไหลย้อนกลับด้วยสารละลายเอธานอล 70% ,น้ำ และเมธานอล 70% จำนวน 1,000 มิลลิลิตร(อัตราส่วน1:10) เป็นตัวทำละลาย เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์1

- สกัดซ้ำ 3 ครั้ง

- ระเหยตัวทำละลายออกโดยการกลั่นลำดับส่วน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้

3. การทำให้สารซาโปนินบริสุทธิ์ (Purification of saponin) เพื่อศึกษาชนิดของซาโปนิน

นำสารสกัดหยาบจากเปลือกเงาะ จากข้อ2.1และ2.2 สกัดต่อด้วย Diethyl ether เก็บชั้น Diethyl ether ไว้ แล้วนำชั้นน้ำมาสกัดต่อด้วย n-Butanol ที่อิ่มตัวด้วยน้ำ(n-buthanol alcohol saturated with water)เก็บชั้น n-Butanol และชั้นน้ำไว้ นำสารซาโปนินที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary Evaporator ก็จะได้สารสกัดซาโปนิน นำมาหาศึกษาชนิดของซาโปนิน

3.1 การทดสอบคุณสมบัติของซาโปนิน

- การทดสอบการเกิดฟอง (Froth test) นำสารซาโปนินที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดจากข้อ2.1, 2.2และ2.3 และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนิน(ไตรเทอร์พีนนอยด์ ซาโปนิน และสเตียรอยด์ ซาโปนิน) โดยชั่งสาร 500 มก. ผสมน้ำร้อน 10 มล. ทิ้งไว้ให้เย็นหลังจากนั้นเขย่าแรงๆ 10 วินาที นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 6 นำสารละลายที่กรองได้มา 1 มล. จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 10 มล. เขย่าแรงๆ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สังเกตลักษณะการเกิดฟอง ความสูงของฟอง

- การทดสอบชนิดของซาโปนิน โดยวิธี Liebermann-Burchard test การนำสารซาโปนินที่สกัดได้จากตัวทำลายทั้ง 3 ชนิด จากข้อ2.1, 2.2และ2.3 และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนิน โดยชั่งสาร 50 มก. เติม เอธานอล 70% 5 มล. เติม H_2SO_4 เข้มข้น 0.2 M 10 มล. ต้มให้เดือดนาน 15 นาที นำสารละลายที่ต้มแล้วใส่ใน separatory funnel เติมคลอโรฟอร์ม 15 มล. เก็บชั้นคลอโรฟอร์มไว้ แล้วเติมanhydrous sodium sulfate จนสารละลายใส จากนั้นเติม acetic anhydride 1 มล. และ H_2SO_4เข้มข้น 2 มล. สังเกตุสีที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับสีของสารละลายมาตรฐานไตรเทอร์พีนนอยด์ ซาโปนินให้สีม่วงแดง และสเตียรอยด์ ซาโปนินให้สีเขียว

5. วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และสรุปผลการทดลอง

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดซาโปนินจากเปลือกเงาะ

- สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- สารเคมี Anisaldehyde, Glacial acetic acid, Sulfuric acid, Standard saponin, Digitonin, Acetic anhydride และ Iodine

- อุปกรณ์เครื่องชั่ง, Rotary vacuum evaporator, กระดาษกรอง

- อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ

- แบบและวิธีการทดลอง

ไม่มีกรรมวิธีและการวางแผนการทดลองทางสถิติ

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. การวิเคราะห์ปริมาณซาโปนิน (Quantitive analysis of saponin)

1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนินด้วยเทคนิค FTIR นำสารซาโปนินี่สกัดได้วัดด้วยเครื่องFTIR เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนิน

1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนินด้วยเครื่อง spectrophotometer ตามวิธีของ Pasaribu,2014

1.2.1 การเตรียมสารสกัด

นำวิธีการสกัดที่ให้สารสกัดหยาบปริมาณมากที่สุด 3 กรรมวิธี มาทำการสกัดใหม่ ระเหยตัวทำละลายออกโดยการกลั่นลำดับส่วน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้

1.2.2 การหาปริมาณซาโปนินรวม(Total Saponin)

การวิเคราะห์หาปริมาณซาโปนินรวมเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนินตามวิธีของ Pasaribu,2014 มีขั้นตอนดังนี้

1.2.2.1 การเตรียมสารมาตรฐานและการสร้างกราฟมาตรฐาน

ชั่ง สารมาตรฐานซาโปนิน 0.03 กรัม/มิลลิตร ได้ความเข้มข้น 30,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำมาใช้เตรียม 5, 10, 50 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำสารมาตรฐานทุกความเข้มข้นมา 50 ไมโครลิตร เติม 5% vanillin 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (Vortex) เติม perchloric 0.8 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (Vortex) นำไปต้มในwater bath ที่อุณหภูมิ 70% นาน 15 นาที หลังจากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งประมาณ 30 วินาที เติมglacial acetic acid 5 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (Vortex) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (A 550 nm) เพื่อทำกราฟมาตรฐาน ให้ได้สมการเส้นตรง เพื่อหาค่าความชัน นำมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารซาโปนินรวมในสารที่สกัดได้ต่อไป

1.2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณซาโปนินรวมในสารสกัดจากเปลือกเงาะ

นำสารสกัดหยาบทั้งหมดมาละลายด้วยน้ำ ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. มาสกัดต่อด้วย n-Butanol ที่อิ่มตัวด้วยน้ำ(n-buthanol alcohol saturated with water)เก็บชั้น n-Butanolมาระเหยบิวทานอลออก ชั่ง 0.1 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร นำตัวอย่างมา 50 ไมโครลิตร เติม 5% vanillin 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (Vortex) เติม perchloric 0.8 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (Vortex) นำไปต้มในwater bath ที่อุณหภูมิ 70% นาน 15 นาที หลังจากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งประมาณ 30 วินาที เติมglacial acetic acid 5 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกันด้วยเครื่องผสม (Vortex) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

(A 550 nm) หาปริมาณสารซาโปนินจากกราฟมาตรฐานที่ทำในวันเดียวกัน โดยทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณสารซาโปนินทั้งหมดในสารสกัด

การคำนวณปริมาณสาร
จากสูตร
ปริมาณสารซาโปนิน(มก.)ที่วัดได้จากสารสกัดหยาบ 1 กรัม = (ค่าabs.ที่วัดได้xปริมาณสารทั้งหมด)
(ค่าที่ได้จากกราฟxปริมาณสารสกัด)

ปริมาณสารซาโปนิน = ปริมาณสารซาโปนิน(มก.)จากสารสกัดหยาบ1กรัมxน้ำหนักสารสกัดทั้งหมด
(มก.)ที่วัดได้จากเปลือก น้ำหนักเปลือกเงาะแห้ง
เงาะแห้ง1กรัม

บทคัดย่อ

การสกัดสารซาโปนินจากเปลือกเงาะสำหรับใช้ประโยชน์ทางการเกษตร มีประสิทธิภาพในการกำจัดหอยเชอรี่ ยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคผลเน่าและใบจุดที่สำคัญในผลไม้หลายชนิด มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดสาร ชนิดและปริมาณของสารซาโปนินจากเปลือกเงาะ นำเปลือกเงาะแห้ง 100 กรัม สกัดโดยใช้ เอธานอล70% เมทานอล 70% และน้ำกลั่น โดยวิธีการแช่และสกัดแบบไหลย้อนกลับ พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดแบบแช่มีน้ำหนัก 42.47 45.91 และ 35.89 กรัม ตามลำดับ การสกัดแบบไหลย้อนกลับมีน้ำหนัก 51.63 47.74 และ 28.46 กรัมตามลำดับ ตรวจวิเคราะห์ชนิดสารสกัดเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานไตรเทอร์พีนนอยด์ ซาโปนิน และสารมาตรฐานดิจิโทนิน โดยวิธี Foam test และ Liebermann-Burchard test พบว่า สารสกัดมีคุณสมบัติเป็นไตรเทอร์พีน ซาโปนิน และ สเตียรอยด์ ซาโปนิน วิเคราะห์ปริมาณซาโปนินด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ตามวิธีของ Pasaribu, 2014 พบว่าสารที่สกัดแบบไหลย้อนกลับด้วย เมทานอล70 % มีปริมาณสารซาโปนิน 422.05 mg/g สูงกว่าเอธานอล70%และน้ำกลั่น นำสารสกัดหยาบทดสอบการกำจัดหอยเชอรี่โดยเลี้ยงในน้ำผสมสารสกัดหยาบซาโปนิน 0 1,000 2,000 4,000 ppm. พบว่าที่ความเข้มข้น 0 ppm หอยเชอรี่มีชีวิต ที่ 2,000 และ 4,000 ppm หอยเชอรี่ตายภายใน 12 ชม. ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา 3 ชนิดในจานเลี้ยงเชื้อ คือ *Phytophthora palmivora, Colletotrichum sp. and Marasmius palmivorus Sparples* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบซาโปนินที่ความเข้มข้น 0 1,000 2,000 ppm พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทั้ง 3 ชนิด

คำสำคัญ : เปลือกเงาะ สารสกัด สารซาโปนิน

ABSTRACT

The effect of Saponin extracted from Rambutan peel on snail and fungal control were studied. Dry rambutan peel was extracted for Saponin with 70% ethanol, 70% methanol or distilled water using Soak and Reflux Extraction methods. Crude extract weight of 42.47 g 45.91 g and 35.89 g were found from solvent extraction soak method, respectively. With Reflux Extraction method 51.63 g 47.74 g and 28.46 g were found, respectively. Triterpene Saponin and Steroid Saponin were found in the extracts.Determination of total saponin as described by Pasaribu et al., 2014 with Reflux Extraction methods 70% methanol. The absorbance measured by spectrophotometer at a wavelength at 544 nm had Total saponin concentrations 422.05 mg/g higher than 70% ethanol and distilled water. Snails control in 1 2 hours was achieved with 2,000 and 4,000 ppm Saponin extract. The growth of *Phytophthora palmivora, Colletotrichum sp.* and *Marasmius palmivorus Sparples* on PDA could be controlled with 2,000 ppm Saponin extract.

ผลการวิจัย

1. การสกัดสารซาโปนินด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ การสกัดแบบไหลย้อนกลับที่มีเอธานอล 70% และเมทานอล70% สามารถสามารถสกัดสารซาโปนินออกมาได้น้ำหนักแห้งของสารสกัดมากกว่าการแช่ โดยเอธานอล 70% สกัดแบบไหลย้อนกลับสามารถสกัดสารซาโปนินออกมาได้น้ำหนักแห้งของสารสกัดมากที่สุด 51.63 กรัม รองลงมา เมทานอล70% สกัดแบบไหลย้อนกลับ 47.74 กรัม ส่วนการแช่น้ำสกัดออกมาได้น้อยที่สุด คือ 35.89 กรัม

ตาราง 1 แสดงน้ำหนักแห้งของสารสกัดจากเปลือกเงาะแห้ง 100 กรัม ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งของสารสกัด(กรัม)
เอธานอล 70%	42.47 bc
เอธานอล 70% สกัดแบบไหลย้อนกลับ	51.63 a
น้ำ	35.89 cd
น้ำ สกัดแบบไหลย้อนกลับ	28.46 d
เมทานอล 70%	45.91 ab
เมทานอล 70% สกัดแบบไหลย้อนกลับ	47.74 ab
CV(%)	7.98

2. หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบจากเปลือกเงาะที่สกัดได้ มาทำให้สารซาโปนินบริสุทธิ์ (Purification of saponin) โดยนำสารสกัดหยาบ 25 กรัม ละลายด้วยน้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส มาสกัดต่อด้วย Diethyl ether ครั้งละ 50 มล. จำนวน 2 ครั้งเก็บชั้นน้ำมาสกัดต่อด้วย n-Butanol ครั้งละ 50 มล. จำนวน 2 ครั้ง และระเหยตัวทำละลายออก สารสกัดในชั้น Diethyl ether เป็นของแข็งมีสีเหลือง สารสกัดในชั้นn-Butanolและชั้นน้ำ มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นฉุน พบว่า สารสกัดที่อยู่ในชั้นบิวทานอลมีปริมาณน้อยประมาณ 0.1 ไม่สามารถนำมาทำการทดลองต่อได้ สารสกัดที่อยู่ในชั้น n-Butanol มีปริมาณใกล้เคียงสารสกัดในชั้นน้ำ ในชั้น n-Butanol เปลือกเงาะที่สกัดด้วยเอธานอล 70% มีปริมาณสารสกัดมากที่สุด รองลงมา คือ เมทานอล 70% และน้ำ ตามลำดับ ส่วนในชั้นน้ำเปลือกเงาะที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารสกัดมากที่สุดรองลงมาคือเอธานอล 70% และเมทานอล 70% มีปริมาณใกล้เคียงกัน

ตาราง2 แสดงน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่นำมาสกัดต่อด้วย Diethyl ether และ n-Butanol

กรรมวิธี	ชั้น Diethyl ether (กรัม)	ชั้น n-Butanol (กรัม)	ชั้นน้ำ (กรัม)	รวมสารสกัด 3 ชั้น (กรัม)	%สารสูญหาย (กรัม)
เอธานอล 70%	0.13 a	10.03 ab	8.61 c	38.73 ab	8.79 b
เอธานอล 70% สกัดแบบไหลย้อนกลับ	0.17 a	12.80 a	8.61 c	47.37 a	8.28 b
น้ำ	0.16 a	8.49 bc	13.69 a	29.25 bc	13.10 a
น้ำ สกัดแบบไหลย้อนกลับ	0.14 a	5.16 c	12.88 b	26.32 c	14.55 a
เมทานอล 70%	0.18 a	8.69 bc	8.64 c	42.42 a	7.66 b
เมทานอล 70% สกัดแบบไหลย้อนกลับ	0.16 a	9.19 ab	8.64 c	44.03 a	7.85 b
CV(%)	13.04	17.95	3.08	11.47	13.34

3. การทดสอบการเกิดฟอง โดยนำสารสกัดหยาบในชั้น n-Butanol และชั้นน้ำ มา 500 มก. เติมน้ำ 70-80 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็น เขย่าแรงๆ 10 วินาที กรองด้วยกระดาษกรอง นำสารละลายมา 1 มล.จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 10 มล. เขย่าแรงๆ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที สังเกตพบว่าเกิดฟองสูงประมาณ 1-2 ซม. แสดงว่ามีคุณสมบัติเป็นซาโปนิน สารสกัดทั้ง 3 ส่วนมีสมบัติเป็นซาโปนิน

ตาราง 3 แสดงความสูงของฟองของสารสกัดหยาบจากเปลือกเงาะแห้ง และสารสกัด n-Butanol และชั้นน้ำ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนินและดิจิโทนิน ดังนี้

กรรมวิธีในการสกัดสกัด	สารสกัดจากเปลือกเงาะ (ซม.)	ชั้น n-Butanol (ซม.)	ชั้นน้ำ (ซม.)
เอธานอล 70%	2.31 bc	2.63 ab	1.74 d
เอธานอล 70%สกัดแบบไหลย้อนกลับ	2.47 b	2.45 abc	1.76 d
น้ำสกัดแบบไหลย้อนกลับ	1.76 cd	1.93 bc	1.91 c
น้ำ	1.80 d	1.68 c	1.36 f
เมทานอล 70%	2.14 bcd	1.67 c	1.17 g
เมทานอล 70%สกัดแบบไหลย้อนกลับ	1.66 d	2.04 bc	1.46 e
สารมาตรฐานซาโปนิน	3.08 a	3.08 a	3.08 b
สารมาตรฐานดิจิโทนิน	3.24 a	3.24 a	3.24 a
CV(%)	11.60	15.36	1.91

ภาพ 1 แสดงความสูงของฟองของสารสกัด

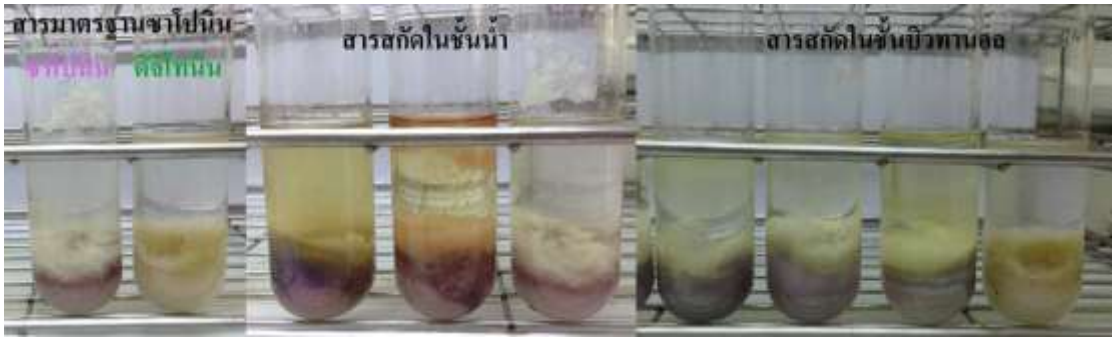
4. การทดสอบชนิดของซาโปนินโดยวิธี Liebermann-Burchard test โดยนำสารสกัดจากข้อ 1 2 3 และ4 จากการทดลองที่1.1 ในชั้น n-Butanol และชั้นน้ำ มา 500 มก. เติมเอทานอล 70% 5 มล. เติม H_2SO_4 0.2 M จำนวน 10 มล. ต้มให้เดือดนาน 15 นาที ใส่ในseperatory funnel เติม คลอโรฟอร์ม 15 มล. เก็บชั้นคลอโรฟอร์มมาเติม anhydrous sodium sulfate จนสารละลายใส เติม acetic anhydride 1 มล. และ H_2SO_4 เข้มข้น 2 มล. สังเกตสีที่เกิดขึ้น พบว่ามีสีเขียวและสีม่วงแดงเช่นเดียวกับสารมาตรฐานแสดงว่าสารสกัดทั้ง 2 ส่วนมีสมบัติเป็นซาโปนิน

ตาราง 4 แสดงสีของสารสกัดจากการทดสอบชนิดของซาโปนินโดยวิธี Liebermann-Burchard test ดังนี้

กรรมวิธีในการสกัดสกัด	ชั้น n-Butanol	ชั้นน้ำ

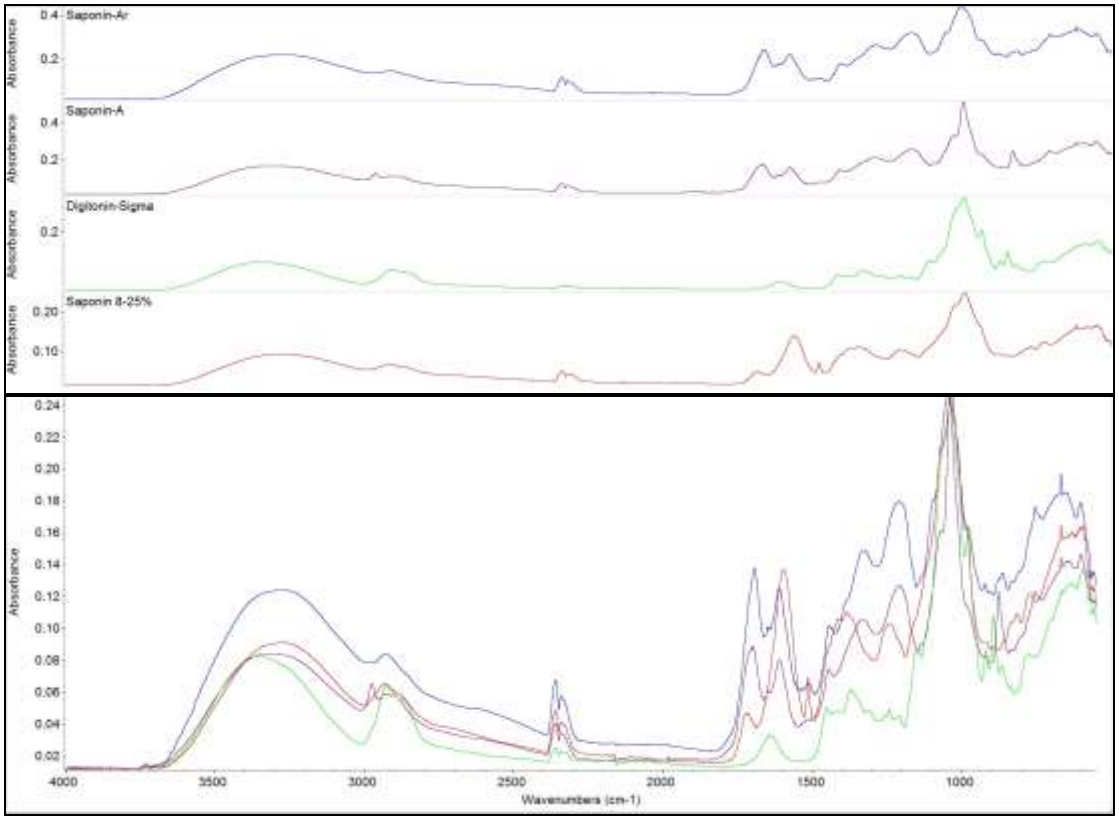
เอธานอล 70%	เขียว	ม่วงแดง
เอธานอล 70%สกัดแบบไหลย้อนกลับ	เขียว	ม่วงแดง
น้ำสกัดแบบไหลย้อนกลับ	เขียว	ม่วงแดง
น้ำ	เขียว	ม่วงแดง
เมทานอล 70%	เขียว	ม่วงแดง
เมทานอล 70%สกัดแบบไหลย้อนกลับ	เขียว	ม่วงแดง
สารมาตรฐานซาโปนิน	ม่วงแดง	
สารมาตรฐานดิจิโทนิน	เขียว	

ภาพ 2 แสดงแสดงสีของสารสกัดการทดสอบชนิดของซาโปนินโดยวิธี Liebermann-Burchard test

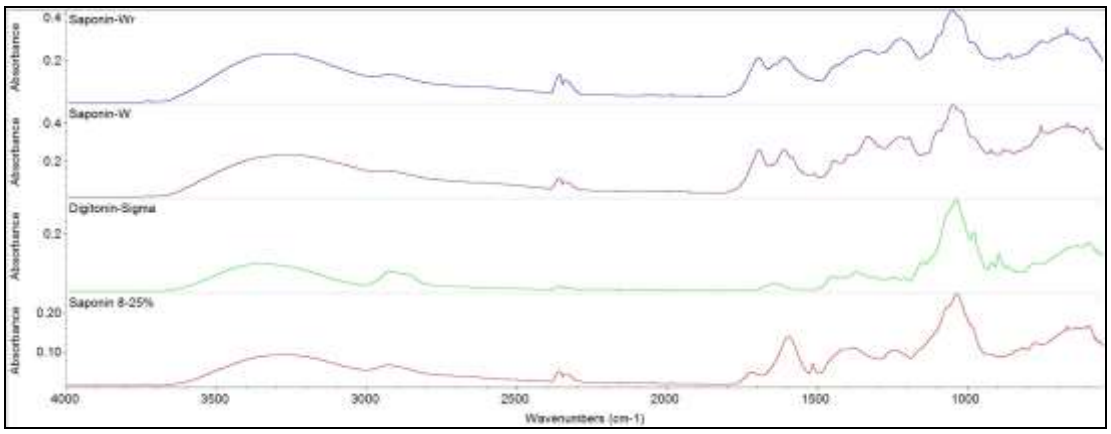


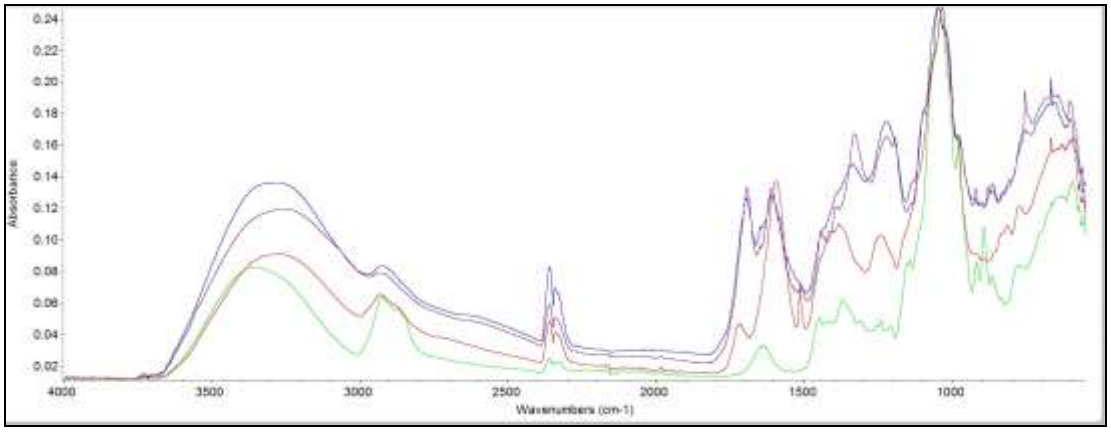
5. จากผลของIR พิจารณาได้ว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกเงาะอบแห้งด้วยกรรมวิธีที่สกัดด้วย 70%เอทานอล, 70%เมทานอล และน้ำ ทั้งแบบแช่และแบบกลั่น reflux มีสารซาโปนินเป็นส่วนประกอบ

ภาพ 3 แสดง FTIR spectra ของสารสกัดจากเปลือกเงาะ, saponin-AR สารสกัดจาก 70% Ethanol Reflux, saponin-A สารสกัดจาก 70% Ethanol Soak, Digitonin-Sigma และ Saponin 8-25% สารมาตรฐานซาโปนิน

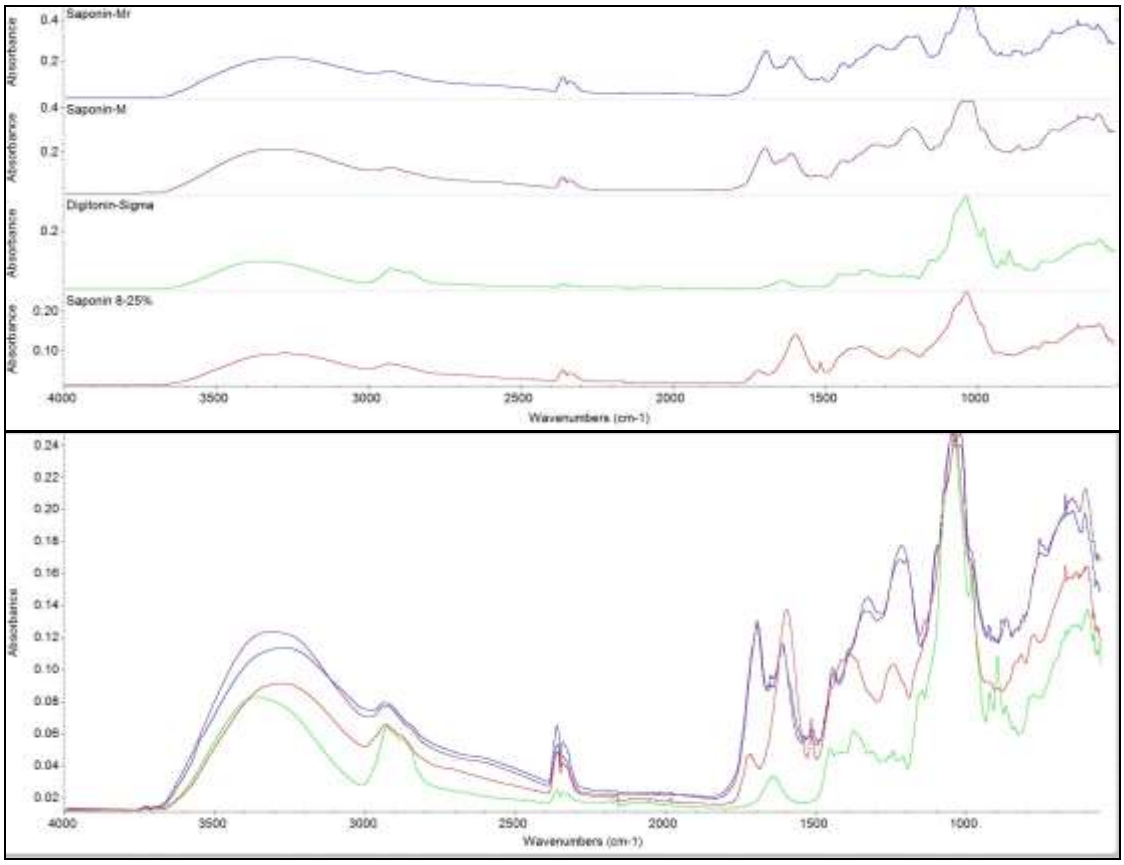


ภาพ 4 แสดง FTIR spectra ของสารสกัดจากเปลือกเงาะ, saponin-WR สารสกัดจาก 70% Water Reflux, saponin-W สารสกัดจาก 70% Water Soak, Digitonin-Sigma และ Saponin 8-25% สารมาตรฐานซาโปนิน



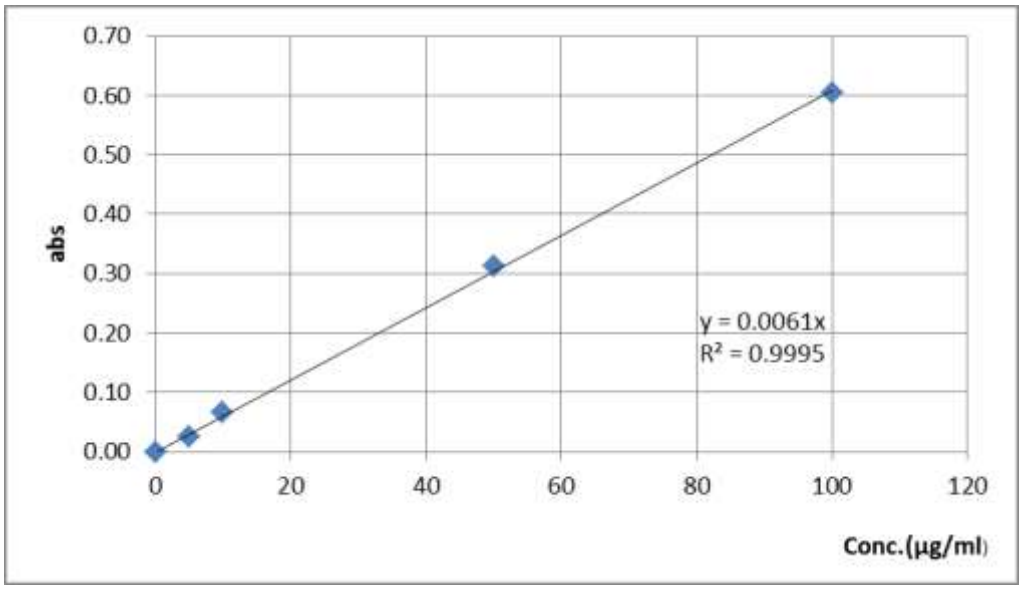


ภาพ 5 แสดง FTIR spectra ของสารสกัดจากเปลือกเงาะ, saponin-MR สารสกัดจาก 70% Methanol Reflux, saponin-M สารสกัดจาก 70% Methanol Soak, Digitonin-Sigma และ Saponin 8-25% สารมาตรฐานซาโปนิน



6. การวิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนินด้วยเครื่อง spectrophotometer ตามวิธีของ Pasaribu,2014

ภาพ 6 แสดงกราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐานซาโปนินที่ความเข้มข้น0,5,10,50และ 100µg/ml



ตาราง 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร และปริมาณซาโปนิน(µg/ml)ที่คำนวณจากค่า การดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความเข้มข้น 1/1,000 1/500 และ 1/100

กรรมวิธี	ค่าการดูดกลืนแสงที่550 nm.	ปริมาณซาโปนิน(µg/ml) ที่คำนวณจากค่า abs.
สารสกัดจากน้ำ(reflux) 1/1000	0.02	335229.51
สารสกัดจากน้ำ(reflux) 1/500	0.04	389778.69
สารสกัดจากน้ำ(reflux) 1/100	0.15	301706.56
สารสกัดจาก70%เมทานอล(reflux) 1/1000	0.02	456229.51
สารสกัดจาก70%เมทานอล(reflux) 1/500	0.04	403663.93
สารสกัดจาก70%เมทานอล(reflux) 1/100	0.20	406242.62
สารสกัดจาก70%เอทานอล(reflux) 1/1000	0.02	372918.03
สารสกัดจาก70%เอทานอล(reflux) 1/500	0.04	372918.03
สารสกัดจาก70%เอทานอล(reflux) 1/100	0.18	365578.69

ตาราง 6 แสดงน้ำหนักสารสกัด และปริมาณ Total saponin จากสารสกัด 1 กรัมและเปลือกเงาะแห้ง 1 กรัม

กรรมวิธี	น้ำหนักสารสกัดจากเปลือกเงาะแห้ง 100 กรัม	น้ำหนักสารสกัดที่สกัดด้วย buthanol	สารสกัด 1 กรัม มี Total saponin (มก.)	เปลือกเงาะแห้ง 1 กรัมมี Total saponin(มก.)

	(กรัม)	(กรัม)		
เอธานอล 70%สกัดแบบไหลย้อนกลับ	40.19 b	25.09 a	370.47 ab	92.95 a
น้ำสกัดแบบไหลย้อนกลับ	24.24 c	6.07 c	342.24 b	20.77 c
เมทานอล 70%สกัดแบบไหลย้อนกลับ	43.97 a	19.95 b	422.05 a	84.20 b
CV(%)	0.10	0.48	8.18	5.76

การนำไปใช้ประโยชน์

ปี2556 ทำการทดสอบการนำไปใช้ประโยชน์เบื้องต้น โดยการทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกเงาะมาทดลองการฆ่าหอยเชอรี่ โดยนำหอยเชอรี่ที่เก็บได้จากนาข้าวมาทดลองแช่ในน้ำผสมสารซาโปนินอัตราต่างๆ ดัง นี้ 0 20 40 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตราละ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัว พบว่าที่อัตรา 0 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หอยเชอรี่มีชีวิต ในขณะที่อัตรา40 และ80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หอยเชอรี่หยุดเคลื่อนไหวภายใน 1 ชั่วโมง และแสดงชัดเจนว่าเสียชีวิตภายใน 12 ชั่วโมง และอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร หอยเชอรี่หยุดเคลื่อนไหวภายใน 12 ชั่วโมง และแสดงชัดเจนว่าเสียชีวิตภายใน 24 ชั่วโมง ดังภาพ

ภาพ 3 แสดงการตายของหอยเชอรี่เมื่อแช่ในน้ำผสมสารซาโปนินอัตรา 0 20 40 80 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ปี 2557 ทำการทดลองการใช้ประโยชน์จากสารสกัดซาโปนินเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* จากทุเรียน, *Colletotrichum sp.* จากมะละกอ และเชื้อ *Marasmius palmivorus Sparples*.จากผลสละ พบว่าสารสกัดซาโปนินสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทั้ง 3 ชนิด โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดให้สูงขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรามีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

ตาราง 7 แสดงค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา *Marasmius palmivorus*, *Phytophthora palmivora* และ *Colletotrichum* ในวันที่ 1 3 และ 5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบซาโปนินจากเปลือกเงาะที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ(เซนติเมตร)								
	Marasmius palmivorus			*Phytophthora palmivora*			*Colletotrichum*		
	1วัน	3 วัน	5 วัน	1วัน	3 วัน	5 วัน	1 วัน	3 วัน	5 วัน
0 ppm. (ชุดควบคุม)	0.95 a	5.37 a	9.00*a	1.33 a	6.67 a	9.00*a	0.88 a	3.23 a	4.10 a
1,000ppm.	0.87 b	2.20 b	3.03 b	1.07 b	5.20 b	8.16 b	0.62 b	1.97 b	2.83 b
2,000ppm.	0.87 b	2.27 b	2.76 c	0.90 c	4.13 c	7.50 c	0.63 b	1.73 c	2.13 c
CV(%)	3.27	2.82	0.78	4.46	2.61	2.70	2.84	1.24	2.88

* คือ โคโลนีเชื้อราเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

ตาราง 8 แสดงภาพการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora, Colletotrichum sp. และ Marasmius palmivorus Sparples* ในวันที่ 3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบซาโปนินจากเปลือกเงาะที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น	*Marasmius palmivorus*	*Phytophthora palmivora*	*Colletotrichum*
0 ppm. ชุดควบคุม			

1,000 ppm.	
2,000 ppm.	

อภิปรายผล

การสกัดสารซาโปนินโดยใช้70%เอทานอลตามวิธีของ เชิดศักดิ์ และธนพัฒน์ (2544)โดยวิธีการแช่พบว่าจากการทดลองในครั้งนี้เมื่อนำมากลั่นแบบไหลย้อนกลับโดยตัวทำละลายตัวเดียวกันและอัตราส่วนของเปลือกเงาะต่อเอทานอลเท่ากันได้สารสกัดในปริมาณที่มากกว่าและประหยัดเวลากว่าจาก 9 วันลดเวลาเหลือ 3 ชั่วโมง

ปริมาณสารสกัดที่ได้

และเมื่อใช้ตัวทำละลายอื่นที่มีราคาถูกลง เช่น 70%เมทานอล และน้ำ พบว่าปริมาณสารที่สกัดได้โดยใช้70%เมทานอลได้สารสกัดในปริมาณที่ใกล้เคียงกับใช้70%เอทานอล แต่การใช้น้ำได้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่า 70%เอทานอล และ70%เมทานอล เท่าตัว การใช้น้ำในการสกัดสารซาโปนินจึงไม่เหมาะ เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการเกิดฟองและการเกิดสีเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานดิจิโทนินและสารมาตรฐานซาโปนินพบว่า การเกิดฟองสารที่สกัดได้เมื่อนำมาสกัดด้วยบิวทานอล สารในชั้นบิวทานอลมีความสูงของฟองประมาณ 2 ซม. และให้สีเขียว ชั้นน้ำ1.5 ซม.และให้สีม่วงแดง สารมาตรฐานดิจิโทนิน 3 ซม.ให้สีเขียว สารมาตรฐานซาโปนิน 3 ซม.ให้สีม่วงแดง และนำมายืนยันอีกครั้งด้วยเทคนิค FTIR ดังนั้นสารที่สกัดได้มีคุณสมบัติเป็นสารซาโปนินสอดคล้องกับการทดลองของเชิดศักดิ์ และธนพัฒน์ (2544) จึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารซาโปนินที่มีอยู่ในสารสกัดตามวิธีของPasaribu (2014) พบว่าในเปลือกเงาะแห้ง 1 กรัมมีปริมาณซาโปนินที่สกัดโดยการกลั่นแบบไหลย้อนกลับด้วย70%เอทานอลมากที่สุดคือ 92.95 มิลลิกรัม สารสกัดจากกรรมวิธีดังกล่าวยังมีประสิทธิภาพในการฆ่าหอยเชอรี่และยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชอีกด้วย

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การสกัดสารซาโปนินจากเปลือกเงาะด้วยการกลั่นแบบ reflux โดยใช้70%เอทานอลให้สารสกัดที่มีน้ำหนักมากที่สุด เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินในสารสกัด 1 กรัม การการกลั่นแบบ reflux โดยใช้ 70%เมทานอล ให้สารซาโปนินมากที่สุด เมื่อตรวจสอบชนิดของซาโปนินพบว่าสารสกัดมีคุณสมบัติเป็นไตรเทอร์พีน ซาโปนิน และ สเตียรอยด์ ซาโปนิน เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาใช้ประโยชน์ในการกำจัดหอยเชอรี่ พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 4,000 ppm หอยเชอรี่ตายภายใน 12 ชม. ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา 3 ชนิดในจานเลี้ยงเชื้อ *คือ Phytophthora palmivora, Colletotrichum sp.* และ *Marasmius palmivorus Sparples* พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด2,000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 ชนิดได้

เอกสารอ้างอิง

การนำเข้า ส่งออก เงาะ. สืบค้นจาก http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export.php. วันที่ 22 พฤษภาคม 2556.

เชิดศักดิ์ ใจแข็ง และธนพัฒน์ ศาสตระรุจิ. 2544. ซาโปนินในเงาะ. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ณัฏฐวี สิทธิไกรพงษ์ นิรมล อุตมอ่าง และอรุณี อภิชาติสรางกูร. 2550. ประสิทธิภาพในการสกัดซาโปนินจากเจียวกู้หลานโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟและเทคนิคความดันสูงยิ่ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิตสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2548. ปัญจขันธ์. นนทบุรี: 1241 มิราคูลัส.

สัมฤทธิ์ เกียววงษ์. วารสาร BIOTECH. ปีที่ 2 ฉบับที่ 19 เดือนกรกฎาคม 2547.

สุชาดา ไชยสวัสดิ์. การเปรียบเทียบกระบวนการสกัดซาโปนินในสมุนไพรหางไหลแดงเชิงพานิชย์. 34th Congress on Science and Technology of Thailand AOAC International. Official methods of analysis of AOAC International., Sixteenth Edition: 1995.

Hostettmann , k. and Marston, A. 1995. Saponins. Cambridge University. NY. USA. P 1-3.

Jin-Gyeong Cho et al. 2010. Physicochemical Characterization and NMR Assignments of Ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd Isolated from *Panax ginseng*. Journal of Ginseng reseach. No. 2, 113-121.

Li He, Zhou Guoying, Zhang Huaiyun and He Yuanhaoet. 2010. Chemical constituents and biological activities of saponin from the seed of *Camellia oleifera***.** Scientific Research and Essays Vol. 5(25), pp. 4088-4092, 24 December, 2010.

T. Pasaribu et al. 2014. Saponin Content of Sapindus rarak Pericarp Affected by particle Size and Type of Solvent, its Biological Activity on Eimeria tenella Oocysts.

Visetson, S., Bullangpoti, V., Kunjerm, T., Milne, M., Milne, J., and Kannasutra, P. 2006. Thai Herbs for Agricultural Pest Control and Household Pest Control. Research WayFair, Jakapanpensiri building Kasetsart University, 27 January – 4 February 2006.

Zar, H. J. 1999. Biostatistical Analysis. 4th ed. Prentice Hall International, Inc. USA.