

ข้อกำหนดทางเคมีและกายภาพของผลมะตูม

อภิรักษ์ ตักดีเพชร^{*,‡}, ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก^{*}, สิริกาญจน์ ธนอริยโรจน์^{*},
พีรธรรม เทียมเทียบรัตน์^{*}, ตักดีวัชย์ อ่อนทอง^{*}, ณุฉิตรา จันทรสวานิชย์^{*}

^{*}สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี 11000

[‡]ผู้รับผิดชอบบทความ: Apirak.s@dmasc.mail.go.th

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลมะตูม [*Aegle marmelos* (L.) Corrêa วงศ์ Rutaceae] มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ข้อมูลไปจัดทำข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของผลมะตูมเพื่อประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรชนิดนี้ ดำเนินการศึกษาโดยรวบรวมตัวอย่างผลมะตูมจากแหล่งธรรมชาติและร้านสมุนไพรจำนวน 29 ตัวอย่าง ในระหว่างเดือนมิถุนายน 2554 - เมษายน 2556 ตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีโดยปฏิกิริยาการเกิดสี วิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง และประเมินคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50% และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณดังกล่าวในตัวอย่างผลมะตูม ผลการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีโดยปฏิกิริยาการเกิดสี พบว่า สารสกัดเอทานอลจากผลมะตูมให้ผลบวกกับปฏิกิริยา Liebermann Burchard, Shinoda's และกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1% และสามารถพอกางสีของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต การตรวจยืนยันโดยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง (TLC) ใช้ Silica gel GF254 เป็นวัสดุภาคคงที่ และใช้ส่วนผสมของโทลูอินและไดเอทิลอีเทอร์ (3 : 2) เป็นวัสดุภาคเคลื่อนที่ จะพบจุดของสาร imperatorin ที่ R_f เท่ากับ 0.67 ผลการประเมินคุณภาพทางเคมีพบว่า ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50% และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ เท่ากับ 8.05 ± 1.44 , 3.15 ± 0.31 , 0.15 ± 0.11 , 15.78 ± 3.71 , 41.36 ± 6.58 และ $49.93 \pm 5.71\%$ โดยน้ำหนัก (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ตามลำดับ ข้อกำหนดทางเคมีและกายภาพของผลมะตูม มีดังนี้ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ไม่เกิน 9, 3 และ 1% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50% และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ไม่น้อยกว่า 14, 37 และ 45% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี TLC พบสาร imperatorin

คำสำคัญ : *Aegle marmelos*, Rutaceae, ผลมะตูม, ข้อกำหนด

Abstract

Physico-chemical specification of Bael fruit

Apirak Sakpetch^{*†}, Duangpen Pattamadilok^{*}, Sirikarn Thana-ariyaroj^{*},
Peradhama Thiemthieprat^{*}, Sakwichai Ontong^{*}, Nuchattra Chansuvanich^{*}

^{*}Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000

[†]Corresponding author: Apirak.s@dmrc.mail.go.th

Study on physico-chemical characteristics of Bael fruits [*Aegle marmelos* (L.) Corrêa] family Rutaceae aimed to obtain specification data to establish standard for chemical quality control for this kind of medicinal plant. From 29 samples of Bael fruits were collected from natural sources and traditional drugstores during June 2011 - April 2013. Chemical identifications using color reaction and thin layer chromatography and evaluation of physico-chemical properties including contents of water, total ash, acid-insoluble ash, 95%ethanol extractive, 50%ethanol extractive and water extractive were performed. The percentage of these values were calculated. Study on color reaction of ethanolic extract of Bael fruits exhibited positive result with Liebermann Burchard, Shinoda's and 1% FeCl₃. It also showed to clear the color of KMnO₄ solution. In chemical identification by TLC technique, silica gel GF254 was used as stationary phase and mixture of toluene and ether (3 : 2) was used as mobile phase. Spot of imperatorin could be observed at R_f value of 0.67. Contents of water, total ash, acid-insoluble ash, 95%ethanol extractive, 50%ethanol extractive and water extractive were (mean±sd) 8.05±1.44, 3.15±0.31, 0.15±0.11, 15.78±3.71, 41.36±6.58 and 49.93±5.71% w/w, respectively. Standard for chemical quality control of Bael fruits should be established. Content of water content, total ash and acid-insoluble ash content should be not more than 9, 3 and 1% w/w, respectively. 95%ethanol, 50% ethanol and water extractive values should be not less than 14, 37 and 45% w/w, respectively. In chemical identification by TLC technique, imperatorin could be observed.

Key words: *Aegle marmelos*, Rutaceae, Bael fruit, specification

บทนำ

มะตูม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aegle marmelos* (L.) Corrêa วงศ์ Rutaceae มีชื่ออื่น ๆ ได้แก่ กะทันดาเถร, ตุ่มตัง, ตูม (ปัตตานี), พะโง้ง (เขมร), มะปิ่น (ภาคเหนือ), มะปิล่า (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน), Bael fruit tree, Bengal Quince, Bilak^[1] เป็นไม้ยืนต้นสูง 10 - 15 เมตร ใบเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ เรียงสลับ ใบย่อยรูปวงรีหรือรูปไข่แกมใบหอก กว้าง 2 - 7 เซนติเมตร ยาว 4 - 13 เซนติเมตร ขอบใบ

หยักมน ดอกออกเป็นช่อที่ซอกใบและปลายกิ่ง กลีบดอกด้านนอกสีเขียวอ่อน ด้านในสีนวล ใบและดอกมีกลิ่นหอม ผลเป็นผลสด เนื้อในสีเหลือง มีน้ำเมือก^[2] การแพทย์พื้นบ้านไทยมีการใช้ผลมะตูมที่ยังไม่สุก ฝานบาง ๆ สดหรือแห้ง ชงรับประทานแก้ท้องเสีย แก้บิด แก้โรคกระเพาะอาหาร ฝาดสมานเจริญอาหาร แก้อาการพิษไข้ ขับพยาธิ บำรุงกำลัง ผลแก่สุกทุบเปลือกให้แตก ต้มทั้งลูกกับน้ำตาลแดงเป็นยาระบายท้อง แก้อ่อนในกระหายน้ำ แก้มูกเลือด

บิตเรื่อรัง มะตูมทั้ง 5 ส่วน (ราก ลำต้น ใบ ดอก และผล) แก้วปวดศีรษะ ตาลาย เจริญอาหาร ลดความดันโลหิตสูง^[3]

สารเคมีที่พบในผลมะตูม เช่น marmelosin (imperatorin), luvangetin, auraptin, psoralen, marmelide, tannin และในส่วนอื่น ๆ ของมะตูม เช่น ใบมะตูม พบสาร skimmianine, aeglin, rutin, γ -sitosterol, β -sitosterol, flavone, lupeol, cineol, citral, glycoside, O-isopentenyl, halfordiol, marmeline, citronellal, eugenol, marmesinin, cuminaldehyde, phenylethyl cinnamamides เปลือกต้น พบสาร fagarine, marmin น้ำมันหอมระเหย พบสาร D-limonene, A-D-phellandrene, cineol, citronellal, citral, p-cymene, cumin aldehyde น้ำมันจากเมล็ด พบสาร palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid^[4] กิ่งอ่อน พบสาร xanthotoxin, marmisin, scopoletin ราก พบสาร aeglemarmelosina, skimmiamine, marmelosin, auraptin, epoxyauraptin, marmin^[5] เป็นต้น โครงสร้างทางเคมีของสารเคมีบางชนิด แสดงในรูปที่ 1

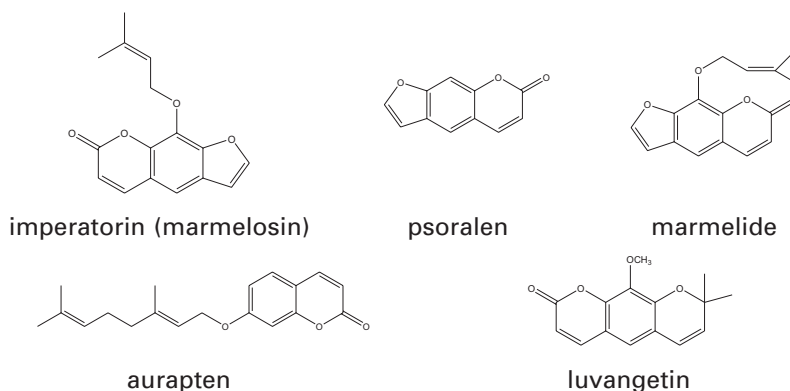
การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ซึ่งประกอบด้วย การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมี ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50% และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปจัดทำข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของผลมะตูม เพื่อประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ ตลอดจนการวิจัยและพัฒนาตำรับยาที่มีส่วนประกอบของผลมะตูมต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

1. วัสดุ

1.1 ตัวอย่างผลมะตูม

ตัวอย่างผลมะตูม ทั้งตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง จำนวน 29 ตัวอย่าง รวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งแหล่งธรรมชาติและร้านสมุนไพร จำนวน 29 ตัวอย่าง ในระหว่างเดือนมิถุนายน 2554 - เมษายน 2556 นำผลมะตูมสด (ผลแก่แต่ยังไม่สุก) มาล้างให้สะอาด ผ่านเป็นแว่นแล้วผึ่งให้แห้ง นำไปอบในตู้อบ



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญบางชนิดที่พบในผลมะตูม

ร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน นาน 3 วัน จากนั้นนำมาบดเป็นผงละเอียด ผ่านร่อนเบอร์ 180 แล้วเก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิท ส่วนผลมะตูมแห้ง นำมาอบไล่ความชื้นในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาบดเป็นผงละเอียด ผ่านร่อนเบอร์ 180 แล้วเก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิท

1.2 สารมาตรฐาน imperatorin ความบริสุทธิ์ $\geq 98.0\%$ (Sigma, India)

1.3 สารเคมีและตัวทำละลาย chloroform AR (RCI Labscan Limited, Thailand), diethyl ether (Merck, Germany), hexane (Merck, Germany), methanol AR (Merck, Germany), toluene (Fisher Scientific, UK), ethanol, DI water, hydrochloric acid (Merck, Germany), sulfuric acid (Labscan, Thailand), ferric chloride (BDH, UK), potassium permanganate (BDH, UK)

1.4 เครื่องมือ เครื่องบดสมุนไพร, เครื่องร่อน (Laboratory Test Sieve, UK), ตู้อบร้อน (Memmert, Germany), เครื่องชั่งไฟฟ้า ความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม (Mettler-Toledo, Switzerland), เตาเผาอุณหภูมิสูง (Thermolyne, USA), UV cabinet (CAMAG, Switzerland), TLC plate heater (CAMAG, Switzerland), อ่างน้ำร้อน, ชุดสกัดสาร ประกอบด้วย round bottom flask, heating mantle, condenser และเครื่องทำน้ำเย็นหมุนเวียน

1.5 วัสดุวิทยาศาสตร์และเครื่องแก้ว TLC plate ชนิด Silica gel GF254 (E. Merck, Germany), กระดาษกรอง เบอร์ 4 (Whatman, UK), กระดาษกรองปราศจากเถ้า เบอร์ 41 (Whatman, UK), กระดาษลิตมัส (Merck, Germany), magne-

sium ribbon, ขวดชั่ง, ถ้วยกระเบื้อง, ถ้วยระเหย, โถดูดความชื้น, ขวดปรับปริมาตร ขนาด 2 มิลลิลิตร (Pyrex, USA), pasture pipette

2. วิธีการศึกษา

2.1 การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี (Chemical Identification)^[6]

1) การตรวจสอบเบื้องต้น โดยปฏิกิริยาการเกิดสี

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ซึ่งผงมะตูม 0.5 กรัม ใส่ใน round bottom flask เติมน้ำ 95% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร สกัดโดยวิธีต้มสกัด (reflux) เป็นเวลา 10 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้ไปทำการทดสอบต่อไปนี้ข้อ ก.-ง.

ก. Liebermann Burchard test โดยนำสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร มาระเหยแห้งบนอ่างอังไอน้ำ จากนั้นละลายกลับด้วยแอซิดิกแอนไฮไดรต์ 0.5 มิลลิลิตร ดูดสารละลายใส่หลอดทดลอง จากนั้น เติมกรดกำมะถันอย่างช้า ๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จนเห็นเป็นสองชั้น สังเกตรอยต่อระหว่างสารละลายทั้งสองชั้น

ข. หยดสารละลายเฟอริกคลอไรด์ 1% จำนวน 2 - 3 หยด ลงในสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร สังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไป

ค. Shinoda's test นำสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร มาเติมกรดเกลือเข้มข้น 2 - 3 หยด แล้วเติมน้ำแอมโมเนียเข้มข้นเล็กน้อย 3 - 4 ชั้น สังเกตสีของสารละลายที่เกิดขึ้น

ง. หยดสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต จำนวน 1 - 2 หยด ลงในสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร สังเกตสีที่เปลี่ยน

แปลงไป

2) การตรวจยืนยัน โดยวิธีโครมาโทกราฟี ผิบบาง (thin layer chromatography)

การเตรียมตัวอย่าง

ซึ่งผงมะตูม 1 กรัม ใส่ใน round bottom flask เติมหะกษณ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร สกัดโดยวิธีต้ม สกัด (reflux) เป็นเวลา 20 นาที กรองผ่านกระดาษ กรอง นำสารละลายที่ได้ไประเหยลดปริมาตรเหลือ 2 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายสารมาตรฐาน

ละลายสาร imperatorin ด้วยเมทานอล ให้ได้ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ระบบโครมาโทกราฟี

วัฏภาคคงที่ silica gel 60 GF254
ความหนา 0.25 มิลลิเมตร

วัฏภาคเคลื่อนที่ โทลูอีน : ไดเอทิลอีเธอร์
อัตราส่วน 3 : 2

ระยะทางการเคลื่อนที่ -
ของวัฏภาคเคลื่อนที่ 10 เซนติเมตร

ปริมาตรสารละลายที่ใช้ 10 ไมโครลิตร สำหรับ
สารละลายตัวอย่าง
5 ไมโครลิตร สำหรับ
สารละลายมาตรฐาน

การตรวจวัด ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ ความยาวคลื่น 365 และ 254 นาโนเมตร

2.2 การประเมินคุณสมบัติทางเคมีและ กายภาพ^[7]

1) ปริมาณความชื้น โดยวิธี loss on drying

ซึ่งผงมะตูม น้ำหนัก 5 กรัม (ซึ่งอย่าง ละเอียด ทดนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในขวดซึ่งที่ทราบ น้ำหนักแน่นอน นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่ง น้ำหนัก จากนั้นนำไปอบซ้ำที่อุณหภูมิ 105 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วชั่ง น้ำหนัก ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักที่ได้จากการชั่ง 2 ครั้งติดต่อกัน มีค่าความแตกต่างไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม) จากนั้น นำมาคำนวณหาค่าร้อยละของน้ำ หนักที่หายไป

2) ปริมาณเถ้ารวม

ซึ่งผงมะตูม น้ำหนัก 3 กรัม (ซึ่งอย่าง ละเอียด ทดนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ในถ้วยกระเบื้องที่ ทราบน้ำหนักแน่นอน เฝานในเตาเผา โดยค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 450 องศาเซลเซียส จนเกิดการ เฝานไหม้อย่างสมบูรณ์ จะได้เถ้าสีขาว (ถ้าปราศจาก คาร์บอน) ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก ถ้ายังไม่ได้ เถ้าสีขาวให้ตั้งถ้วยกระเบื้องทิ้งไว้ให้เย็น ค่อยเติมน้ำ กลั่นประมาณ 2 มิลลิลิตร นำไประเหยแห้งบนอ่าง น้ำร้อน แล้วนำมาเผาซ้ำอีกครั้ง จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้าจากผงมะตูมที่ใช้

3) ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

นำถ้วยกระเบื้องที่มีเถ้าสีขาว จากข้อ 2) มาเติมกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปิดฝา ถ้วยกระเบื้องด้วยกระดาษฟิวส์ แล้วนำไปต้มเป็น เวลา 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรองชนิดที่ปราศ จากเถ้า ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนจนน้ำล้างตะกอนมี ความเป็นกลางเมื่อทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส จากนั้นนำเถ้าที่กรองได้และกระดาษกรองชนิดที่ปราศ จากเถ้าใส่ในถ้วยกระเบื้องใบเดิมแล้วทำให้แห้งบน เตาไฟฟ้า จากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศา เซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณค่าร้อยละของ เถ้าที่ไม่ละลายในกรดจากผงมะตูมที่ใช้

4) ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95%

สกัดผงมะตูม น้ำหนัก 5 กรัม (ซึ่งอย่าง

ละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ด้วยเอทานอล 95% จำนวน 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทนาน 24 ชั่วโมง โดยเขย่าบ่อย ๆ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้ว ตั้งทิ้งไว้นาน 18 ชั่วโมง จากนั้น กรองผ่านกระดาษกรองอย่างรวดเร็ว แล้วนำสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไประเหยแห้งบนอ่างน้ำร้อน จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดที่ได้จากผลมะตูมที่ใช้

5) ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50%
ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% แต่เปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเอทานอล 50% แทน

6) ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ
ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% แต่เปลี่ยนตัวทำละลายเป็นน้ำที่อิ่มตัวด้วยคลอโรฟอร์มแทน

ผลการศึกษา

1. การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี (Chemical Identification)

1.1 การตรวจสอบเบื้องต้น โดยปฏิกิริยาการเกิดสี

ผลการตรวจสอบเบื้องต้นโดยปฏิกิริยาการเกิดสีในผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 2

1.2 การตรวจยืนยัน โดยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง (thin layer chromatography)

การตรวจเอกลักษณ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางของผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง ดังรูปที่ 3 สามารถสรุปลักษณะสำคัญของ TLC chromatogram ของสารสกัดเฮกเซนจากผลมะตูมได้ดังตารางที่ 2

2. การประเมินคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

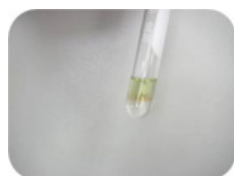
ผลการประเมินคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 3

สรุปคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

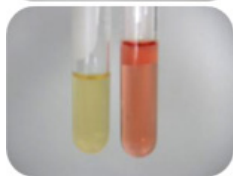
การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง โดยการหาปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50% และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ พบว่า มีค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 8.05 ± 1.44 , 3.15 ± 0.31 , 0.15 ± 0.11 ,

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบเบื้องต้นโดยปฏิกิริยาการเกิดสีของสารสกัดเอทานอลจากผลมะตูม

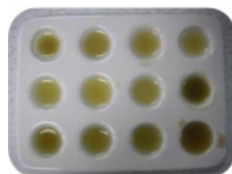
ลำดับที่	การทดสอบเบื้องต้น	ผลการทดสอบ
1	Liebermann Burchard test	วงแหวนสีน้ำตาลระหว่างชั้นของสารละลาย และสารละลายชั้นบนสีเขียว
2	Shinoda's test	สารละลายสีชมพู
3	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1%	สารละลายสีเขียว
4	สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต	สีของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตหายไป



ก. Liebermann Burchard Test
วงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อ
ชั้นสารละลาย และสารละลาย
ชั้นบนสีเขียว (ผลบวก)



ข. Shinoda's Test หลอดซ้าย
หลอดควบคุม หลอดขวา สาร
ละลายสีชมพู (ผลบวก)

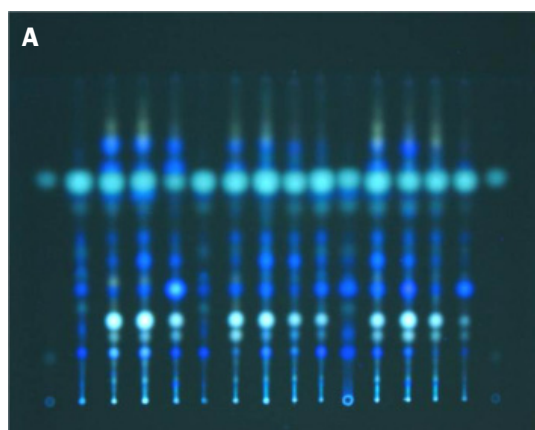


ค. สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์
1% สารละลายตัวอย่างเปลี่ยน
เป็นสีเขียว (ผลบวก)

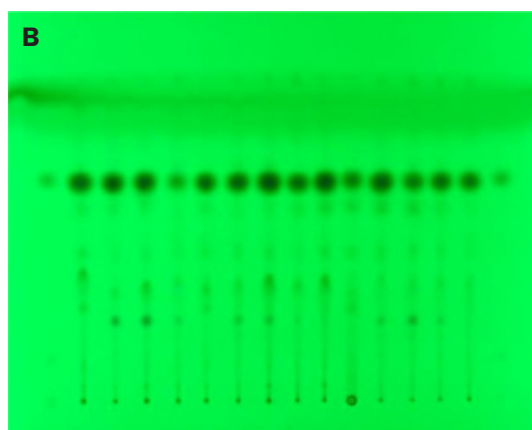


ง. สารละลายโพแทสเซียมเปอร์
แมงกาเนตหลอดซ้าย หลอด
ควบคุม หลอดกลาง สารละลาย
ตัวอย่าง หลังเติมสารละลาย
โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

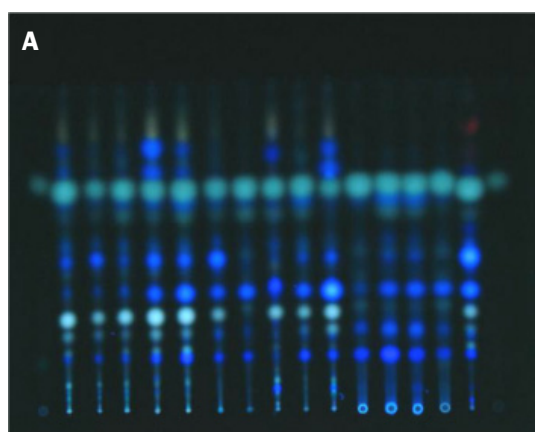
รูปที่ 2 ปฏิบัติการเกิดสีของสารสกัดเอทานอลจากผลมะตูม



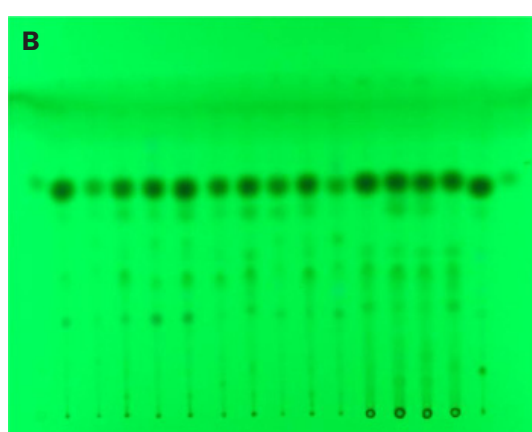
std. 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 std.



std. 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 std.



std. 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 std.



std. 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 std.

รูปที่ 3 TLC chromatogram ของสารสกัดเฮกเซนจากผลมะตูม ตัวอย่างที่ 1 - 29 std. imperatorin การตรวจวัด

A. UV 365 นาโนเมตร

B. UV 254 นาโนเมตร

ตารางที่ 2 TLC chromatogram ของสารสกัดเฮกเซน
จากผลมะตูม

spot	hR _f value	การตรวจวัด	
		UV 365	UV 254
1	7 - 8	เหลือง	quenching
2	14 - 18	ม่วง	-
3	18 - 19	เหลือง	-
4	21 - 25	เหลือง	-
5	26 - 32	เหลือง	quenching
6	33 - 38	ม่วง	-
7	38 - 43	-	quenching
8	43 - 48	ม่วง	quenching
9	55 - 60	เหลือง	quenching
10*	63 - 70	เหลือง	quenching
11	72 - 74	ม่วง	-
12	77 - 81	ม่วง	-

*imperatorin

15.78±3.71, 41.36±6.58 และ 49.93±5.71% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถกำหนดเกณฑ์ในการจัดทำข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของผลมะตูม โดยกำหนดเกณฑ์สูงสุดจากค่าเฉลี่ยบวก 10% ของค่าเฉลี่ยนั้น สำหรับปริมาณที่ระบุ “ไม่เกิน” และเกณฑ์ต่ำสุดจากค่าเฉลี่ยลบด้วย 10% ของค่าเฉลี่ยนั้น สำหรับปริมาณที่ระบุ “ไม่น้อยกว่า” ดังตารางที่ 4

อภิปรายผล

ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพผลมะตูมทั้งการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสี และการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง และการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้ข้อกำหนดคุณลักษณะของผลมะตูมเป็นเกณฑ์คุณภาพได้

ข้อสรุป

ข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของผลมะตูม สรุปได้ดังนี้ ปริมาณความชื้นไม่เกิน 9% โดยน้ำหนัก ปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรดไม่เกิน 3 และ 0.5% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50% และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ไม่น้อยกว่า 14, 37 และ 45% โดยน้ำหนัก ตามลำดับ การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีโดยปฏิกิริยาการเกิดสี พบว่าสารสกัดเอทานอลจากผลมะตูมให้ผลบวกกับปฏิกิริยา Liebermann Burchard, Shinoda's, สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1% และสามารถพอกจางสีของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เมื่อตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางจะต้องพบสาร imperatorin ที่ค่า R_f เท่ากับ 0.67

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยนี้

ตารางที่ 3 ผลการประเมินคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของผลมะตูม

ตัวอย่าง ที่	ปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนัก)	ปริมาณเถ้า (% โดยน้ำหนัก)		ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย (% โดยน้ำหนัก)		
		เถ้ารวม	เถ้าที่ไม่ละลาย ในกรด	เอทานอล 95%	เอทานอล 50%	น้ำ
1	7.49	3.06	0.11	15.34	34.21	41.71
2	9.07	3.13	0.13	14.36	43.76	52.62
3	9.18	3.20	0.13	15.87	40.30	50.16
4	8.52	2.97	0.11	17.66	44.93	54.69
5	9.70	3.24	0.08	17.05	44.68	57.37
6	8.54	3.34	0.05	11.63	34.40	47.16
7	9.13	3.09	0.07	16.74	43.15	49.38
8	6.84	3.48	0.01	14.57	39.82	51.10
9	6.08	3.27	0.18	15.02	39.45	50.64
10	8.66	3.00	0.14	18.68	54.80	61.51
11	7.02	3.89	0.08	15.79	47.23	50.08
12	6.40	3.30	0.14	13.48	36.44	48.64
13	7.37	3.11	0.11	9.84	32.50	45.27
14	7.07	3.53	0.06	11.74	34.09	46.73
15	7.16	2.92	0.07	12.69	37.96	49.77
16	7.78	2.71	0.03	13.29	31.33	42.56
17	7.08	3.08	0.13	13.30	36.38	45.27
18	7.28	2.99	0.05	21.55	50.46	59.70
19	9.34	3.00	0.07	18.90	46.69	56.56
20	7.30	3.12	0.11	11.56	40.54	51.25
21	4.76	3.21	0.19	11.25	32.71	46.77
22	6.87	3.66	0.08	10.60	33.41	43.34
23	8.18	3.01	0.22	21.55	47.55	58.57
24	7.71	2.37	0.13	16.98	39.00	49.75
25	8.34	3.31	0.03	17.93	42.90	40.57
26	8.63	2.95	0.17	23.74	53.46	57.32
27	9.79	2.65	0.04	22.03	52.06	51.78
28	10.15	3.53	0.64	14.32	41.35	40.87
29	11.99	3.27	0.04	20.12	43.91	46.86
$\bar{x}$	8.05	3.15	0.15	15.78	41.36	49.93
SD	1.44	0.31	0.11	3.71	6.58	5.71

ตารางที่ 4 ข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของผลมะตูม

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ	เกณฑ์กำหนด		ข้อสรุป
	ค่าสูงสุด ($\bar{x}+10\%$)	ค่าต่ำสุด ($\bar{x}-10\%$)	
ปริมาณความชื้น	8.855	–	ไม่เกิน 9% โดยน้ำหนัก
ปริมาณเถ้ารวม	3.465	–	ไม่เกิน 3% โดยน้ำหนัก
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายกรด	0.165	–	ไม่เกิน 0.5% โดยน้ำหนัก
ปริมาณสารสกัดด้วย 95%ethanol	–	14.202	ไม่น้อยกว่า 14% โดยน้ำหนัก
ปริมาณสารสกัดด้วย 50%ethanol	–	37.224	ไม่น้อยกว่า 37% โดยน้ำหนัก
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ	–	44.937	ไม่น้อยกว่า 45% โดยน้ำหนัก

เอกสารอ้างอิง

- Office of the Forest Herbarium, Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation, Ministry of Natural Resource and Environment. Tem Smitinand's Thai plant names. 2014 rev. ed. Bangkok: National Office of Buddhism Press; 2014. 828 p. (in Thai)
- Boonyapapat N, Chokechaicharoenporn O, editors. Samunpai Maipuenban (3). Bangkok: Prachachon Co. Ltd; 1999. 823 p. (in Thai)
- Wutthamwet W. Encyclopedia of medicinal plants. Bangkok: O.S. Printing House; 1997. 618 p. (in Thai)
- Dhankhar S, Ruhil S, Balhara M, Dhankhar S, Chhillar AK. *Aegle marmelos* (Linn.) Correa: a potential source of phytomedicine. Journal of Medicinal Plants Research. 2011;5(9):1497-507.
- Laphookhieo S, Phungpanya C, Tantapakul C, Techa S, Tha-in S, Narmdorkmai W. Chemical constituents from *Aegle marmelos*. Journal of the Brazilian Chemical Society. 2011;22(1):176-8.
- Pattamadilok D, Sakpetch A, Thiemthieprat P, Thanariyaroj S, Ontong S. Medicinal Plant Research Institute Final report: Physico-chemical specification of Bael fruits. Nonthaburi: Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Science; 2013. (28 p). (in Thai)
- World Health Organization. Quality Control Method for Herbal Materials. Geneva: WHO Press; 2011. 173 p.