

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์กรดไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงด้วยเทคนิค
GC-FID ใช้คอลัมน์ DB-225 ความยาว 20 เมตร

An appropriate extraction and analysis conditions for the determination of fatty acids from mango
seeds kernel by GC-FID using 20 meter DB-225 column

ศิริรัตน์ ชาญไววิทย^{1*}, อภินทร์พร ทวีพรกุลพัฒน์¹, ปิยะวรรณ ศรีวิลาศ² และ สุন্নทา วงگانต์³

¹ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

² สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

³ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Sirirat Chanvaivit^{1*}, Apinporn Taweepornkulpat¹ Piyawan Srivilas² and Sunanta Wangkarn³

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University

²The Institute of Marine Science, Burapha University

³Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiangmai University

บทคัดย่อ

ได้ทำการสกัดกรดไขมันจากตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วง ด้วยสารละลายผสมของไดคลอโรมีเทน เมทานอลและน้ำในอัตราส่วน 2: 1: 0.2 โดยแช่ตัวอย่าง 2 ชั่วโมง แล้วเมทิลเลชันที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 10 ชั่วโมงและทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออนเซชันดีเทคเตอร์โดยใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สพาด้วยอัตราการไหล 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิณ จุดฉีดสารและดีเทคเตอร์ 240 องศาเซลเซียส ฉีดสารปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ Split ratio 100:1 แยกสารด้วยคอลัมน์ DB-225 (ยาว 20 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.10 มิลลิเมตร เคลือบสารหนา 0.10 ไมโครเมตร) โปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 150 องศาเซลเซียส คงที่ 0.5 นาที เพิ่มด้วยอัตรา 100 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 200 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มด้วยอัตรา 60 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 220 องศาเซลเซียส คงที่ 14 นาที พบกรดไขมัน 9 ชนิดในตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงทั้ง 6 พันธุ์ กรดไขมันตัวสุดท้าย (C22:6n3) ออกมาที่เวลา 14.33 นาที

คำสำคัญ : กรดไขมัน เนื้อในเมล็ดมะม่วง แก๊สโครมาโทกราฟี

*Corresponding author. E-mail: sirirat@buu.ac.th

Abstract

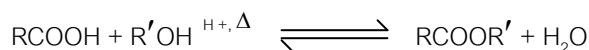
The fatty acids from mango seeds kernel were extracted with mixed solvents of dichloromethane methanol and water in the ratio of 2: 1: 0.2 by soak sample for 2 hours then methylation at 80 °C for 10 hours and analysis by gas chromatography-flame ionization detector. Helium was used as carrier gas at 0.3 ml/min. Injection and detector temperatures were 240 °C. Injection volume was 1 µl and split ratio at 100:1. Samples were separated with DB-225 column (20 m length, 0.10 mm. i.d., 0.1 µm. film thickness). The program temperature was start at 150 °C held for 0.5 min., then increase with the rate of 100 °C /min. to 200 °C followed by the rate of 60 °C/min to 220 °C and held for 14 min. We found 9 fatty acids in 6 varieties of mango seed kernels. The last fatty acid (C22:6n3) came out at 14.33 min.

Keywords : fatty acid, mango seed kernel, gas chromatography

1. บทนำ

น้ำมันเมล็ดมะม่วงเป็นส่วนเหลือทิ้งจากการบริโภคหรือในอุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์จากมะม่วง น้ำมันเมล็ดมะม่วงคือส่วนสีขาวที่อยู่ภายในส่วนแข็งของเปลือกเมล็ดมะม่วง ในน้ำมันเมล็ดมะม่วงจะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันเล็กน้อย ซึ่งขึ้นอยู่กับสถานที่ปลูก สภาพอากาศและอายุเมล็ด น้ำมันเมล็ดมะม่วงประกอบด้วย แป้ง โปรตีนและกรดไขมัน (Nzikou *et al.*, 2010) สำหรับกรดไขมันเป็นสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย โดยทั่วไปแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ กรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว นอกจากนี้มีความจำเป็นต่อร่างกายแล้ว กรดไขมันยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ อีก เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยาและอาหารสัตว์

การสกัดกรดไขมันโดยวิธีแบบดั้งเดิมใช้วิธีสกัดโดยใช้ซอกซ์เลตโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย (Muchiri *et al.*, 2012) หรือใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย (Solís-Fuentes and Durán-de-Bazúa, 2004) อย่างไรก็ตามการสกัดโดยใช้ซอกซ์เลตเป็นการสกัดที่ต้องใช้พลังงานความร้อนและอุปกรณ์ที่ใช้ทำการสกัด อีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจในการสกัดไขมันคือการแช่ในตัวทำละลายโดยการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งในการศึกษานี้เลือกสกัดโดยการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายผสม การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดไขมันได้ศึกษาชนิดของตัวทำละลาย อัตราส่วนการเติมน้ำ เวลาในการสกัดแช่ตัวอย่างและเวลาในการเมทิลเลชัน การวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันโดยทั่วไปจะเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่ระเหยได้ โดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันโดยมีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดังสมการ



เมื่อกรดไขมันผ่านปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชันจะทำให้จุดเดือดของสารลดลงและง่ายต่อการกลายเป็นไอและสามารถวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี เมื่อเทียบพีคของสารที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างที่ผ่านการเมทิลเลชันกับสารมาตรฐานกรดไขมันที่อยู่ในรูปเมทิลเอสเทอร์ทำให้ทราบชนิดของกรดไขมัน ซึ่งจากการวิจัยที่ผ่านมาได้มีการใช้คอลัมน์หลายชนิด โดยทั่วไปใช้เวลาในการวิเคราะห์นานกว่า 30 นาที เช่นงานของ Muchiri และคณะ ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 36 นาทีเมื่อใช้คอลัมน์ 4%polyethylene glycol 20 M ที่เคลือบบน 60 -70 mesh diatomite "C" ยาว 1.5 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร และงานของ Nzikou และคณะที่ใช้เวลาวิเคราะห์ 32 นาที เมื่อใช้คอลัมน์ BPX 70 ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร ยาว 60 เมตรและมีความหนาของฟิล์มที่เคลือบ 0.25 μM ซึ่งงานวิจัยนี้ใช้คอลัมน์ DB225 ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.10 มิลลิเมตร ยาว 20 เมตร สามารถวิเคราะห์ได้ภายใน 15 นาที ในส่วนของแก๊สโครมาโทกราฟีได้ศึกษาโปรแกรมอุณหภูมิและการฉีดสารแบบ Split ที่อัตราส่วนต่างๆ

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลโอสโตรไนเซนซันดิเทคเตอร์ โดยการวิจัยนี้ได้ศึกษาในส่วนของโปรแกรมอุณหภูมิและ Split ratio ด้วยเครื่อง GC-FID รุ่น 6890 Series II, Hewlett Packard, USA ที่มีอัตราการไหลของแก๊สพา (ฮีเลียม) 0.3 มิลลิตรต่อนาที ฉีดสาร 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิฉนวน จุดฉีดสาร 240 องศาเซลเซียส ใช้คอลัมน์ DB-225 ความยาว 20 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.10 มิลลิเมตร เคลือบด้วย (50%-Cyanopropylphenyl)-dimethylpolysiloxane หนา 0.10 ไมโครเมตร อุณหภูมิดีเทคเตอร์ 240 องศาเซลเซียส และใช้สารละลายมาตรฐานกรดไขมันผสม 18 ชนิด PUFA NO.3 ของบริษัท Supelco ความเข้มข้น 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร ศึกษาโปรแกรมอุณหภูมิ 3 แบบ ซึ่งแบบที่ 1 เป็นสภาวะที่เราได้จากการศึกษาโปรแกรมอุณหภูมิที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดไขมันที่ได้รายงานไว้ในภาคอินทราของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพาปี 2553 โดยรุ่งภา ไทยเจริญ โดย แบบที่ 1 เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส คงที่ 1.0 นาที เพิ่มด้วยอัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียสคงที่ 1 นาที แล้วเพิ่มด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 220 องศาเซลเซียส คงที่ 13 นาที จากโครมาโทแกรมที่ได้จากแบบที่ 1 ผู้วิจัยได้ทดลองลดเวลาในการวิเคราะห์โดยการปรับโปรแกรมอุณหภูมิ แบบที่ 2 เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส คงที่ 0.5 นาที เพิ่มด้วยอัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มด้วยอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 220 องศาเซลเซียส คงที่ 13 นาที และแบบที่ 3 เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส คงที่ 0.5 นาที เพิ่มด้วยอัตรา 100 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มด้วยอัตรา 60 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 220 องศาเซลเซียส คงที่ 14 นาทีสำหรับการศึกษา split ratio ฉีดสารแบบ split ที่อัตราส่วน 200: 1, 150: 1, 100: 1, 50: 1 และ 25: 1 สำหรับ split ratio จะพิจารณาจากค่าการแยกของพีคที่ติดกันและพื้นที่พีค การศึกษาทั้งหมดทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

2. การสกัดกรดไขมันจากเนื้อในเมล็ดมะม่วง โดยการนำเมล็ดมะม่วงมาตากแดด 3 วัน

แกะเอาเนื้อในเมล็ดมะม่วง ซึ่งน้ำหนัก แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง บดตัวอย่างให้ละเอียดแล้วเก็บใส่ขวดแล้วนำมาสกัดโดยซึ่งตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วง 1 กรัม เติมสารละลายผสมไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ 20 มิลลิลิตร แช่ตัวอย่างในตัวทำละลายแล้ว ถ่ายส่วนใสลงในกรวยแยกทำการสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง เติมสารละลาย 0.88% โพแทสเซียมคลอไรด์ 12 มิลลิลิตรเขย่าแล้วไซสารละลายชั้นล่างลงในขวดกั่นกลมโดยผ่านไซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส นำสารละลายชั้นบนไปสกัดต่อด้วยไดคลอโรมีเทนและปิเอซที่ 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วไซสารละลายชั้นล่างลงในขวดกั่นกลมใบเดิม นำไประเหยตัวทำละลายออก ซึ่งขวดกั่นกลมที่มีสารผลิตภัณฑ์อยู่ นำสารที่ได้ไปทำการเมทิลเลชันต่อโดยเติมสารละลายผสมไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ 3 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายใส่หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว 1 มิลลิลิตรและ 2% กรดซัลฟิวริกในเมทานอล 10 มิลลิลิตร ใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ใสสารในหลอดด้วยสารละลาย 5% โซเดียมคลอไรด์ 5 มิลลิลิตร เทลงในกรวยแยกเติมสกัดต่อด้วยเฮกเซน 10 มิลลิลิตร ไซสารละลายชั้นล่างลงหลอดทดลองแล้วเติมเฮกเซน 5 มิลลิลิตร เขย่าและใช้พาสเจอร์ปิเปตดูดสารละลายชั้นบนใส่รวมในกรวยแยกเติมเติมสารละลาย 2% โพแทสเซียมโบคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร เขย่าและเก็บส่วนเฮกเซนโดยผ่านไซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส นำไประเหยตัวทำละลายออก ปรับปริมาตรโดยใช้เฮกเซนให้ได้ 2 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเครื่อง แก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชันดีเทคเตอร์ ตัวแปรที่ศึกษา ในการสกัดได้แก่ อัตราส่วนตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน : เมทานอล (2:1) และอัตราส่วนตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน : เมทานอล : น้ำ (2:1: 0.2) อัตราส่วนการเติมน้ำ (0.04, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0) เวลาในการสกัดโดยแช่ตัวอย่าง (30 นาที 2, 6, 10, 15 และ 24 ชั่วโมง) และเวลาที่ใช้ในการทำเมทิลเลชัน 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สารเคมีที่ใช้ทั้งหมดที่ใช้เป็นเกรด AR โดยไดคลอโรมีเทนและเมทานอล จากบริษัท RCI LABSCAN สาร BHT จากบริษัท Sigma เฮกเซนจากบริษัท J.T. Baker โซเดียมคลอไรด์ จากบริษัท Ajax chemical โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัสจากบริษัท Fisher โพแทสเซียมโบคาร์บอเนตจากบริษัท QR₆CTM โพแทสเซียมคลอไรด์ เกรด AR จากบริษัท CARLO และกรดซัลฟิวริกเกรด AR จากบริษัท MERCK

3. วิเคราะห์กรดไขมันที่สกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงด้วยสภาวะที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง ใช้เนื้อในเมล็ดมะม่วง 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พิมเสน ที่เหลือทิ้งจากการแปรรูปของกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรปากน้ำใจได้ จ.ฉะเชิงเทรา พันธุ์ฟาลันจากห้างแมคโคร พันธุ์แก้ว เขียวสวย แรดและไซคอนันต์จากไร่สมปอง บ่อทอง จ.ชลบุรี

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

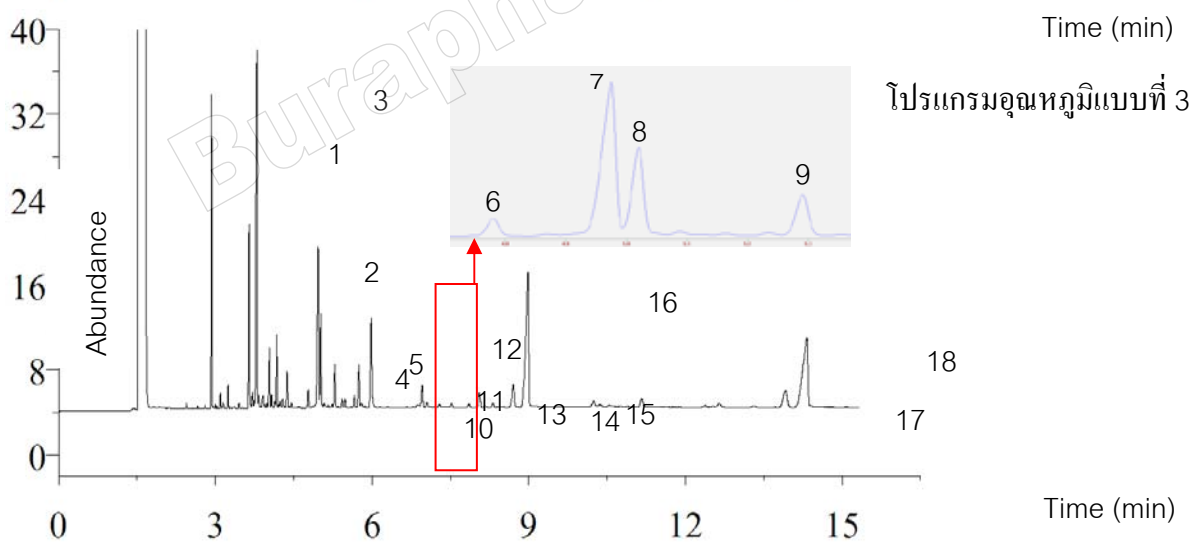
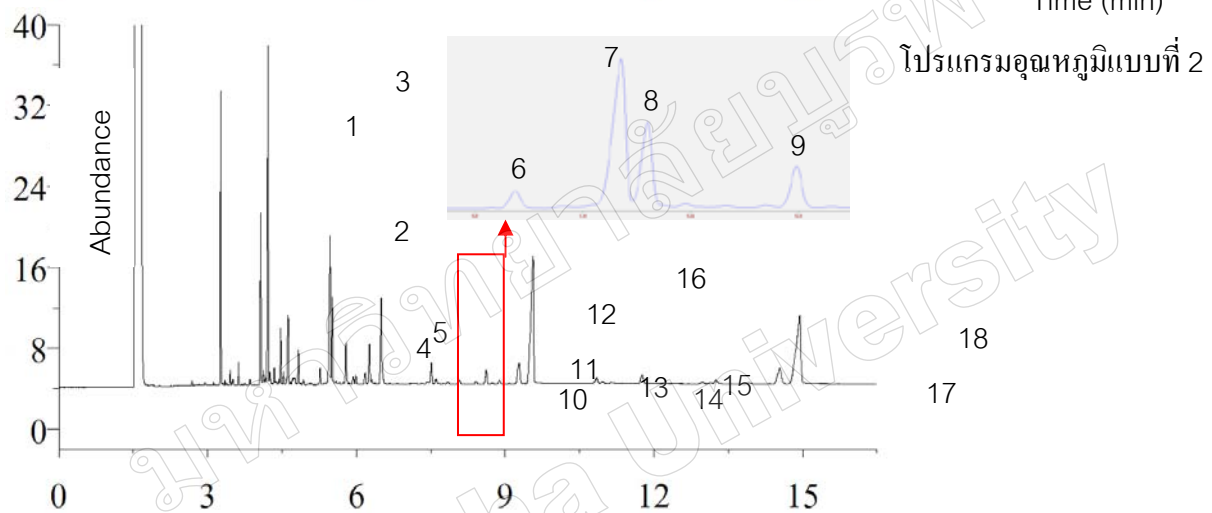
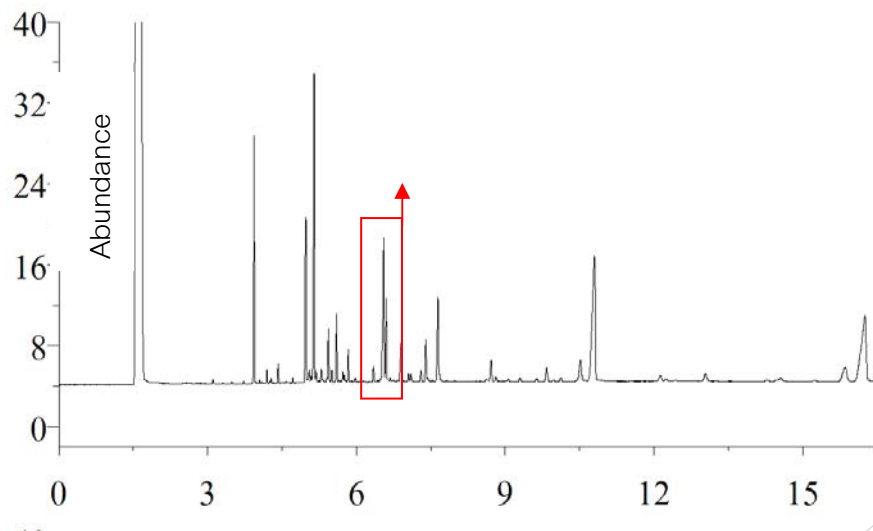
ผลการศึกษาสภาวะเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออไนเซชันดีเทคเตอร์

ผลการศึกษาโปรแกรมอุณหภูมิ

จากการศึกษาโปรแกรมอุณหภูมิเพื่อวิเคราะห์สารมาตรฐานกรดไขมันผสม 18 ชนิด PUFA NO.3 พบว่าโปรแกรมอุณหภูมิแบบที่ 1, 2 และ 3 ให้สารมาตรฐานกรดไขมันตัวสุดท้าย (C₂₂:6n₃) ออกมาที่เวลา 16.26, 14.95 และ 14.33 นาที ตามลำดับดังภาพที่ 1

กำหนดให้หมายเลขต่อไปนี้แทนชนิดของกรดไขมันที่แสดงบนโครมาโทแกรม

- 1 = Myristic acid (C14:0)
- 2 = Palmitic acid (C16:0)
- 3 = Palmitoleic acid (C16:1n7)
- 4 = Hexadecadienoic acid (C16:2n4)
- 5 = Hexadecatrienoic acid (C16:3n4)
- 6 = Stearic acid (C18:0)
- 7 = Oleic acid (C18:1n9)
- 8 = Vaccenic acid (C18:1n7)
- 9 = Linoleic acid (C18:2n6)
- 10 = Octadecatrienoic acid (C18:3n4)
- 11 = α -Linolenic acid (C18:3n3)
- 12 = Stearidonic acid (C18:4n3)
- 13 = Eicosenoic acid (C20:1n9)
- 14 = Arachidonic acid (C20:4n6)
- 15 = Eicosatetraenoic acid (C20:4n3)
- 16 = Eicosapentaenoic acid (C20:5n3)
- 17 = Docosapentaenoic acid (C22:5n3)
- 18 = Docosahexaenoic acid (C22:6n3)

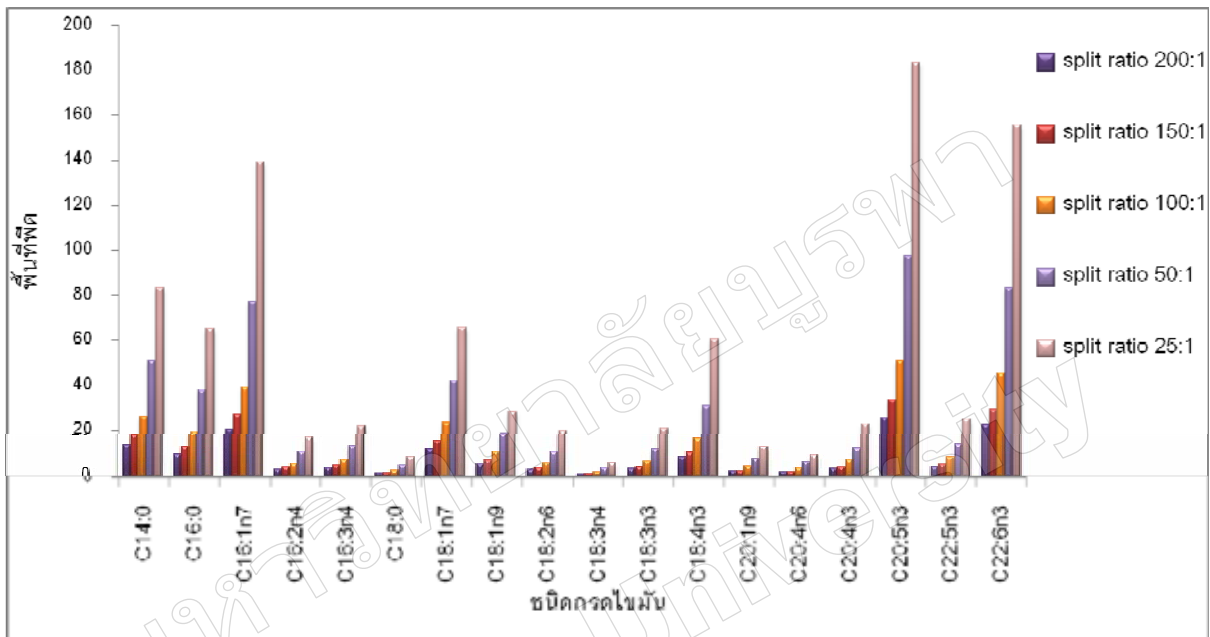


ภาพที่ 1 โครมาโทแกรมที่ได้จากการศึกษาโปรแกรมอุณหภูมิแบบที่ 1, 2 และ 3 โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดไขมันผสม 18 ชนิด ความเข้มข้น 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้การฉีดสารแบบ Split ratio 100:1

จากโครมาโทแกรมจะเห็นได้ว่าโปรแกรมอุณหภูมิแบบที่ 3 ใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดสั้นที่สุด การศึกษาต่อไปจึงเลือกใช้โปรแกรมอุณหภูมิแบบที่ 3 คือ เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส คงที่ 0.5 นาที เพิ่มด้วยอัตรา 100 องศาเซลเซียส ต่อนาทีจนถึง 200 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มด้วยอัตรา 60 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 220 องศาเซลเซียส คงที่ 14 นาที

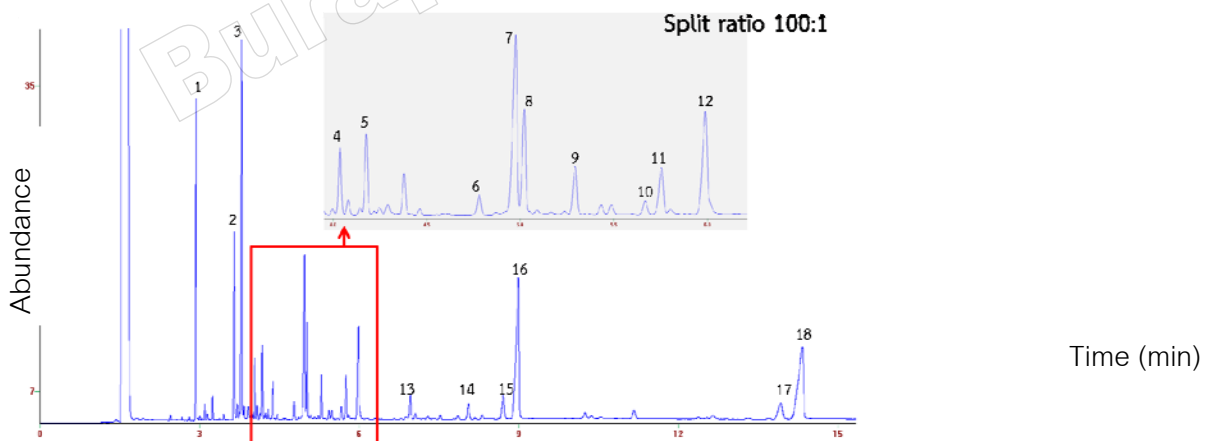
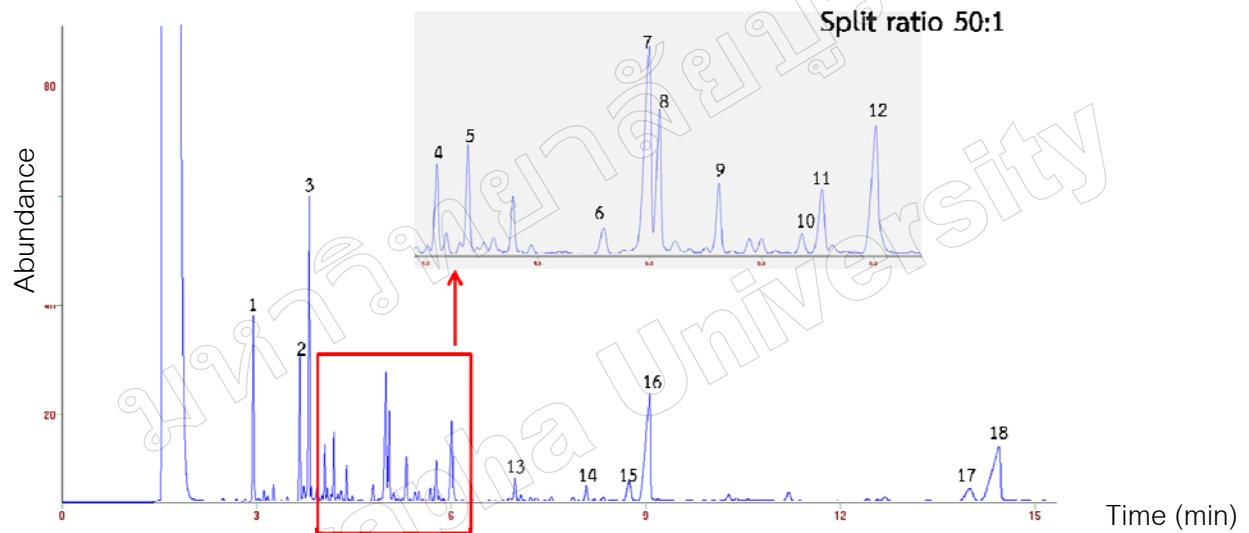
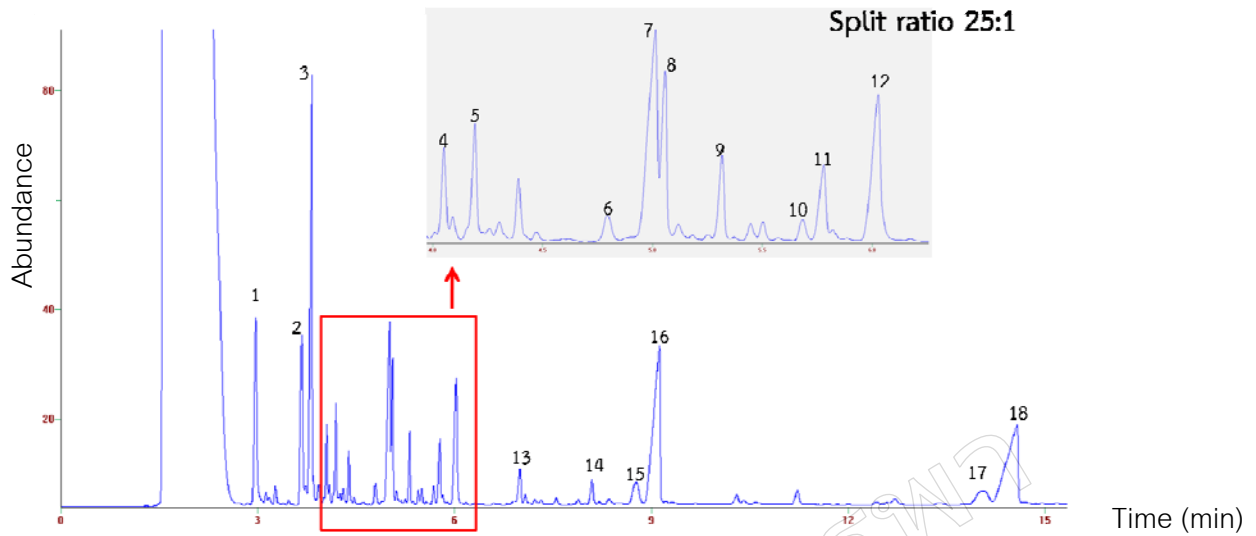
ผลการศึกษาการฉีดสารแบบ Split ที่อัตราส่วนต่างๆ

การศึกษาอัตราส่วนการฉีดสารใช้ Split ratio 200: 1, 150: 1, 100: 1, 50: 1 และ 25: 1 ให้พื้นที่พีคแสดงดังภาพที่ 2

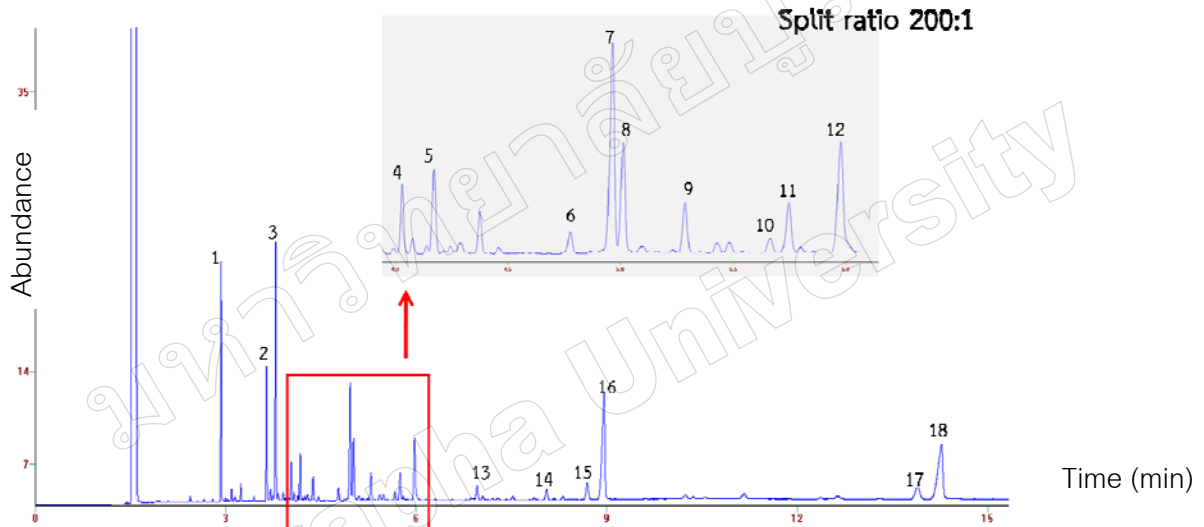
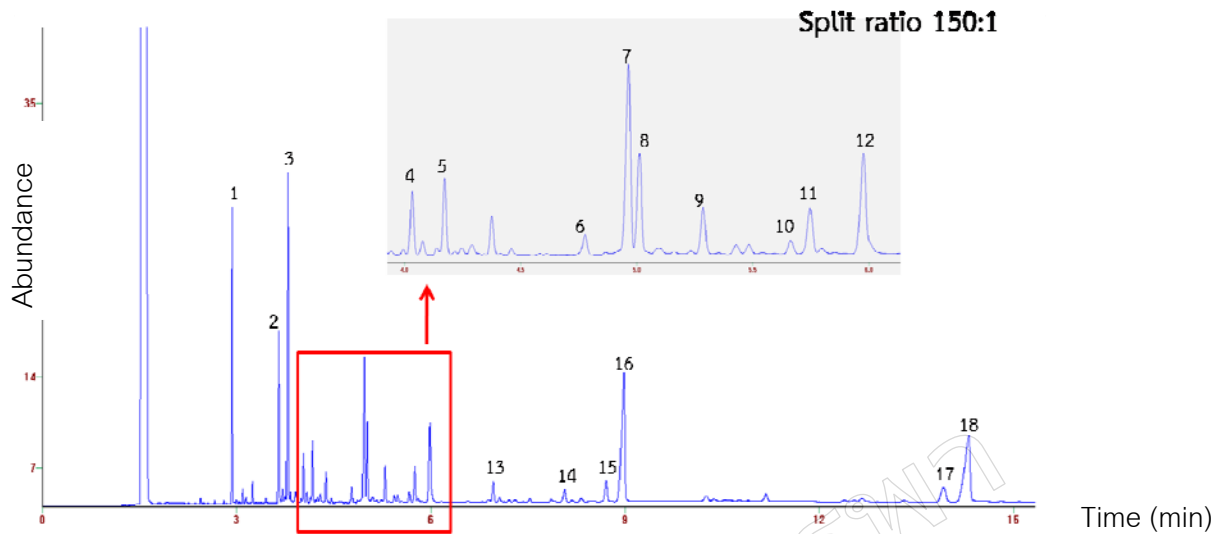


ภาพที่ 2 พื้นที่พีคของกรดไขมันจากการฉีดสารละลายมาตรฐานกรดไขมัน 5000 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ split ratio ต่างๆ ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิแบบที่ 3

จะเห็นได้ว่าที่ Split ratio น้อยให้พื้นที่พีคมากแต่เมื่อพิจารณาการแยกของพีคดังภาพที่ 3 และ 4 จะเห็นได้ว่ามีพีคที่ติดกันคือ พีคหมายเลข 7 (Oleic acid) และ พีคหมายเลข 8 (Vaccenic acid) ที่ไม่สามารถแยกได้ที่ Split ratio 25: 1 และ 50: 1 ส่วนที่ Split ratio 100: 1, 150: 1 และ 200: 1 พีคทั้งสองสามารถแยกได้ดีกว่า แต่ที่อัตราส่วน 100: 1 ให้พื้นที่พีคสูงกว่าในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้การฉีดสารที่อัตราส่วน 100: 1



ภาพที่ 3 โครมาโทแกรมที่ได้จากการศึกษาการขีดสารถลายมาตรฐานกรดไขมันผสม 18 ชนิด เข้มข้น 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ split ratio 25:1, 50:1 และ 100:1 ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิตัวแบบที่ 3

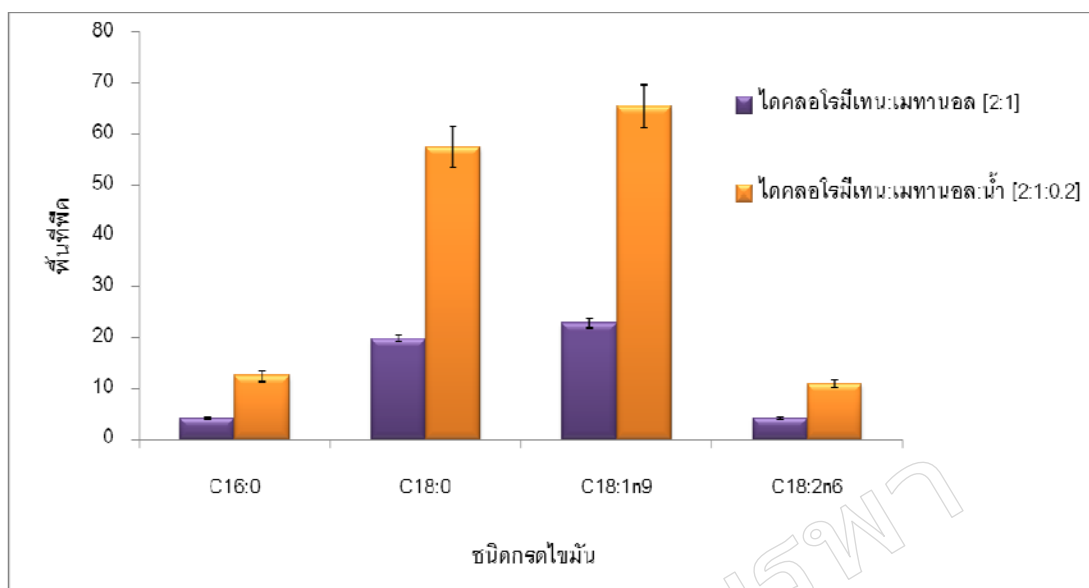


ภาพที่ 4 โครมาโทแกรมที่ได้จากการศึกษาการฉีดสารละลายมาตรฐานกรดไขมันผสม 18 ชนิด เข้มข้น 5000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ split ratio 150:1 และ 200:1 ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิแบบที่ 3

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดไขมัน

การศึกษานิตของตัวทำละลาย

จากการสกัดกรดไขมันจากเมล็ดมะม่วงหิมพาน์ที่ผสมโดยใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (2: 1) เปรียบเทียบกับตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ (2:1: 0.2) ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 5

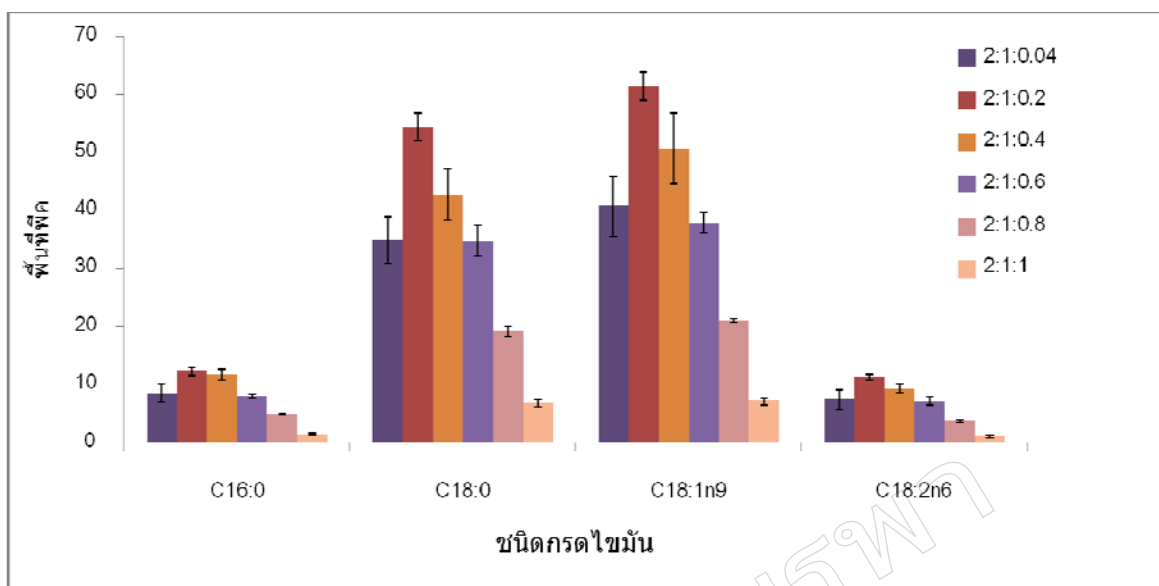


ภาพที่ 5 พื้นที่พีคของกรดไขมันที่ได้จากการสกัดเนื้อในเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ด้วยตัวทำละลาย (n=3)

จากการสกัดตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ด้วยตัวทำละลาย พบว่า การสกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ ที่อัตราส่วน 2: 1: 0.2 ให้พื้นที่พีคสูงกว่า ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน: เมทานอลที่อัตราส่วน 2: 1 ทั้งนี้เนื่องจาก สารละลายผสมที่ไม่ได้เติมน้ำจะเกิดการแยกชั้นของตัวทำละลาย การเติมน้ำปริมาตรที่เหมาะสมทำให้สารละลายผสมรวมกัน เป็นเนื้อเดียว ซึ่งส่งผลให้สามารถสกัดกรดไขมันได้ดีขึ้น

การศึกษาอัตราส่วนการเติมน้ำ

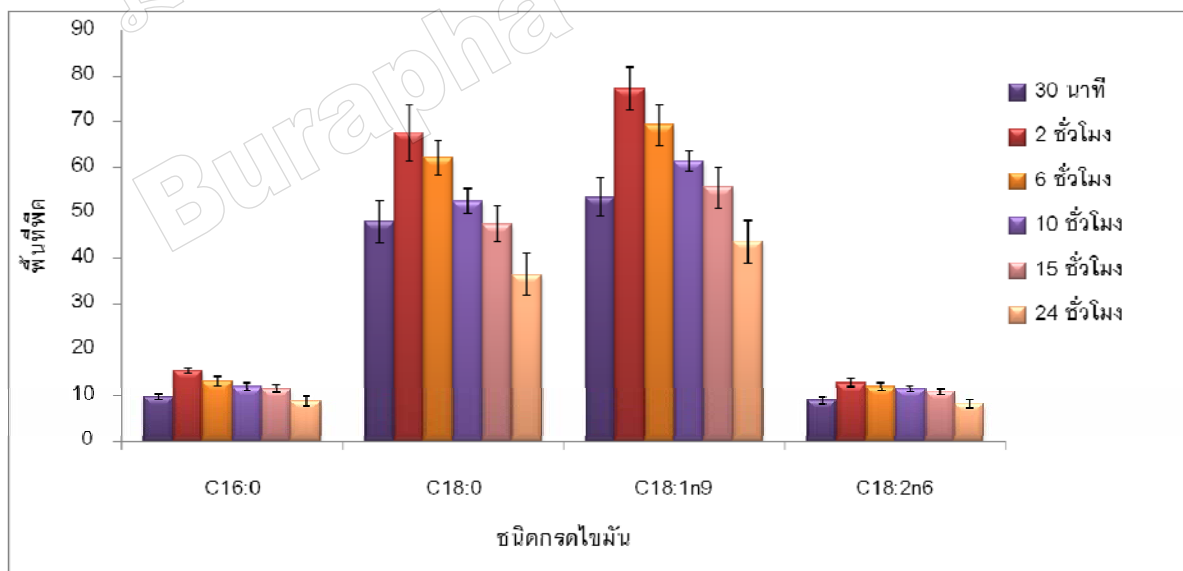
จากการสกัดตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ด้วยตัวทำละลายผสมไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ ในอัตราส่วน 2: 1: 0.04, 2: 1: 0.2, 2: 1: 0.4, 2: 1: 0.6, 2: 1: 0.8 และ 2: 1: 1 มิลลิลิตร ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 6 พบว่า การสกัดตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ด้วยตัวทำละลายผสมไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ อัตราส่วน 2: 1: 0.2 ให้พื้นที่พีคที่มีสัญญาณสูงที่สุด



ภาพที่ 6 อัตราส่วนตัวทำละลายผสมของไตรกลีเซอไรด์: เมทานอล: น้ำ ในอัตราส่วนต่างๆ กับพื้นที่ฟัดของกรดไขมันที่สกัดได้จากเนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์พิมเสน (n=3)

การศึกษาเวลาในการสกัดโดยแช่ตัวอย่าง

จากการสกัดตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์พิมเสนด้วยตัวทำละลายผสมไตรกลีเซอไรด์: เมทานอล: น้ำ อัตราส่วน 2: 1: 0.2 โดยใช้เวลาในการสกัด 30 นาที, 2, 6, 10, 15 และ 24 ชั่วโมง ได้ผลแสดงดังภาพที่ 7

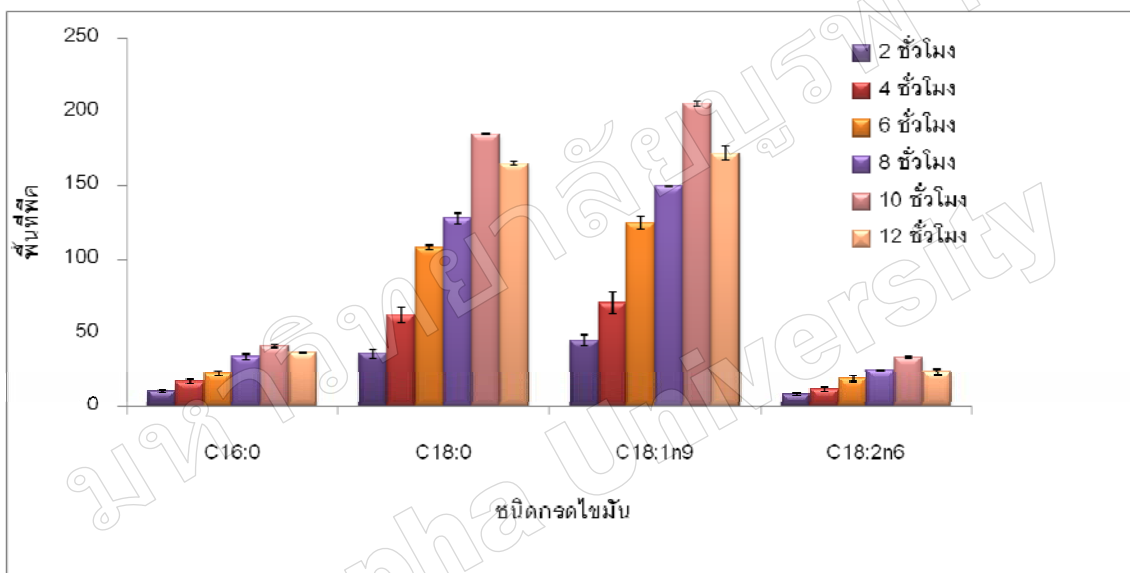


ภาพที่ 7 พื้นที่ฟัดของกรดไขมันที่ได้จากการสกัดตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์พิมเสน ด้วยตัวทำละลายไตรกลีเซอไรด์: เมทานอล: น้ำ (2:1:0.2) ที่เวลาสกัดโดยการแช่ตัวอย่างต่างๆ (n=3)

จะเห็นได้ว่าเวลาในการสกัดด้วยอย่าง 2 ชั่วโมงจะให้พื้นที่ฟีดที่มีสัญญาณสูงที่สุด และสัญญาณของพื้นที่ฟีดจะลดต่ำลงเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มเป็น 6, 10, 15 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ ที่เวลาการสกัดแค่ 30 นาที ระยะเวลาการสกัดด้วยอย่างอาจสั้นเกินไป กรดไขมันในตัวอย่างอาจยังละลายในตัวทำละลายไม่หมดยังคงเหลืออยู่ในตัวอย่าง ทำให้พื้นที่ฟีดน้อย แต่เมื่อใช้เวลากัดด้วยอย่างเกินกว่า 2 ชั่วโมง พื้นที่ฟีดของกรดไขมันมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยอย่างเพียง 2 ชั่วโมง ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากเวลาที่นานเกินไปทำให้ ตัวทำละลายบางส่วนระเหยไป และส่งผลต่อทำประสิทธิภาพในการสกัดที่ลดลง

การศึกษาเวลาในการเมทิลเลชัน

จากการศึกษาเวลาในการทำเมทิลเลชันพบว่าการทำเมทิลเลชันที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง ให้พื้นที่ฟีดที่สูงขึ้นเรื่อยๆ และสูงที่สุดที่เวลา 10 ชั่วโมงดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ผลของเวลาในการทำเมทิลเลชันของตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์พิมเสนที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ (2:1:0.2) (n=3)

ซึ่งในการเมทิลเลชันกรดไขมันจะต้องใช้เวลาเพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้สมบูรณ์แต่ถ้าใช้เวลานานเกินไป พื้นที่ฟีดกลับลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่กรดไขมันได้รับความร้อนสูงเป็นเวลานานจึงเกิดการสลายตัวได้

ผลการศึกษาชนิดของกรดไขมันในตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วง

เปอร์เซ็นต์ไขมันทั้งหมด

จากการศึกษาไขมันทั้งหมดที่ได้จากการสกัดตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงของมะม่วงทั้ง 6 ชนิด ด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำ (2: 1: 0.2) โดยใช้เวลากัดด้วยอย่างในตัวทำละลาย 2 ชั่วโมง ทำการเมทิลเลชันที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง พบว่ามะม่วงพันธุ์แก้วให้เปอร์เซ็นต์ไขมันสูงที่สุด (6.83± 0.26) % และมะม่วงพันธุ์พิมเสนให้เปอร์เซ็นต์ไขมันต่ำที่สุด (3.41± 0.08) %

เปอร์เซ็นต์กรดไขมันที่พบในมะม่วงแต่ละชนิด

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน ในมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น แก้ว เขียวสวย แรด และโชคอนันต์ พบว่า เมื่อเปรียบเทียบชนิดกรดไขมันที่พบในตัวอย่างเนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์พิมเสนกับมะม่วงพันธุ์อื่น ชนิดของกรดไขมันที่พบเหมือนกัน เปอร์เซ็นต์กรดไขมันที่พบในมะม่วงแต่ละชนิดมีเปอร์เซ็นต์ต่างกันเล็กน้อย ซึ่งผลของเปอร์เซ็นต์กรดไขมันแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันที่พบในมะม่วงแต่ละชนิด (n=3)

ชนิดกรดไขมัน	เปอร์เซ็นต์กรดไขมัน					
	มะม่วงพิมเสน	มะม่วงฟ้าลั่น	มะม่วงแก้ว	มะม่วงเขียวสวย	มะม่วงแรด	มะม่วงโชคอนันต์
Myristic acid (C14:0)	0.07±0.01	0.24±0.04	0.04±0.02	0.08±0.01	0.04±0.01	ND
Palmitic acid (C16:0)	9.37±0.07	13.92±0.61	8.93±0.28	11.75±0.46	10.72±0.44	12.50±0.61
Hexadecatrienoic acid (C16:3n4)	0.13±0.01	0.16±0.01	0.18±0.01	0.16±0.01	0.15±0.00	0.15±0.01
Stearic acid (C18:0)	38.69±0.04	39.00±0.66	42.04±0.35	44.24±0.84	44.39±0.18	37.06±0.42
Oleic acid (C18:1n9)	43.19±0.03	37.98±0.26	42.77±0.11	35.85±0.20	36.05±0.69	43.38±0.74
Linoleic acid (C18:2n6)	7.05±0.02	6.73±0.35	4.83±0.07	6.15±0.42	7.08±0.03	5.42±0.43
Octadecatrienoic acid (C18:3n4)	0.10±0.01	0.19±0.04	0.11±0.02	0.10±0.02	0.09±0.03	0.11±0.04
α-Linolenic acid (C18:3n3)	0.70±0.03	0.96±0.02	0.56±0.06	1.03±0.10	0.77±0.04	0.57±0.08
Eicosenoic acid (C20:1n9)	0.69±0.01	0.82±0.15	0.54±0.20	0.65±0.10	0.71±0.12	0.82±0.10

เปอร์เซ็นต์กรดไขมันจากเมล็ดมะม่วงจากการศึกษาครั้งนี้ได้ค่าใกล้เคียงกับกรดไขมันที่พบจากการสกัดโดยใช้ซ็อกเล็ต เช่น งานของ Fahimdanesh และ Bahrami (2013) ที่พบ Stearic acid 37.73% และ Oleic acid 46.22% นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานของ Kaphueaknam, Flood และ Sonwai (2009) ที่พบ Palmitic acid 5.39%, Stearic acid 46.55% และ Oleic acid 41.09% ในมะม่วงแก้วเมื่อสกัดโดยใช้ ซ็อกเล็ตที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และงานของ Supraluckpanya และ Srivilai (2013) ที่พบกรดไขมัน 6 ชนิด ได้แก่ Palmitic acid 8.50-8.93%, Stearic acid 37.37-38.50%, Oleic acid 43.45-44.75%, Linoleic acid 5.67-6.78%, Linolenic acid 0.49-0.79% และ Eicosenoic acid 2.19-2.51% เมื่อสกัดโดยใช้ซ็อกเล็ต โดยเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทานอลและเฮกเซน

4. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาพบว่า การสกัดโดยใช้สารละลายผสมที่เติมน้ำในปริมาณที่เหมาะสม ช่วยให้สามารถสกัดกรดไขมันได้ดีขึ้น เนื่องจากกรดไขมันมีสภาพขี้ดต่ำแต่ในโมเลกุลมีหมู่คาร์บอกซิลิกที่มีขี้ด การสกัดโดยใช้สารละลายผสมที่ไม่ได้เติมน้ำจะเกิดการแยกชั้นของตัวทำละลาย การเติมน้ำปริมาณที่เหมาะสมทำให้สารละลายผสมรวมกันเป็นเนื้อเดียว ซึ่งส่งผลให้สามารถสกัดกรดไขมันได้ดีขึ้น จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ใช้สารละลายผสม ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล: น้ำในอัตราส่วน 2: 1: 0.2 โดยแช่ตัวอย่าง 2 ชั่วโมง แล้วเมทิลเลชันที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 10 ชั่วโมง ให้พื้นที่ผิวของกรดไขมันสูงที่สุด การวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ที่สั้นทำให้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว แต่ต้องปรับอัตราการไหลของแก๊สพาและ split ratio ให้เหมาะสม การใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สพาด้วยอัตราการไหล 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ ณ จุดฉีดสารและดีเทคเตอร์ 240 องศาเซลเซียส ฉีดสารปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ Split ratio 100:1 แยกสารด้วยคอลัมน์ DB-225 (ยาว 20 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.10 มิลลิเมตร เคลือบสารหนา 0.10 ไมโครเมตร) โปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 150 องศาเซลเซียส คงที่ 0.5 นาที เพิ่มด้วยอัตรา 100 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 200 องศาเซลเซียส แล้วเพิ่มด้วยอัตรา 60 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 220 องศาเซลเซียส คงที่ 14 นาที สามารถแยกสารมาตรฐานกรดไขมัน (PUFA NO.3) ทั้ง 18 ชนิดได้โดยใช้เวลาเพียง 14.33 นาที จากการศึกษาวิเคราะห์กรดไขมัน 9 ชนิดในเนื้อในเมล็ดมะม่วงพิมเสน ฟาลัน แก้ว เขียวสวย แรด และโชคอนันต์

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่สนับสนุนทุนวิจัยและห้องปฏิบัติการวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

- รุ่งนภา ไทยเจริญ. (2553). การศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดกรดไขมันจากเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-เฟลมไอออนในเซชันดีเทคเตอร์. ภาคนิพนธ์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
- Fahimdanesh, M. and Bahrami M.E. (2013). Evaluation of Physicochemical Properties of Iranian Mango Seed Kernel Oil. Paper presented at 2 nd International Conference on Nutrition and Food sciences. *IPCBE*, vol.53, IACSIT Press, Singapore, 44-49.
- Kaphueakngam, P., Flood, A. and Sonwai, S. (2009). Production of cocoa butter equivalent from mango seed almond fat and palm oil mid-fraction. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. 2(4), 441-447.
- Muchiri, D.R., Mahungu, S.M. and Gituanja, S.N. (2012). Studies on Mango (*Mangifera indica*, L.) Kernel Fat of Some Kenyan Varieties in Meru. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 89, 1567-1575.
- Nzikou, J.M., Kimbonguila, A., Matos, L., Loumouamou, B., Pambou-Tobi. N.P.G., Ndangui, C.B., et al. (2010). Extraction and Characteristics of Seed kernel Oil from Mango (*Mangifera indica*). *Journal of Environmental and Earth Sciences*. 2(1), 31-35.

Solís-Fuentes, J.A. and Durán-de-Bazúa, M.C. (2004). Mango seed uses: thermal behaviour of mango seed almond fat and mixtures with cocoa butter. *Bioresource Technology*. 92, 71-78.

Supraluckpanya, K., and Srivilai S. (2013). Mango seed kernel oil and its physicochemical properties. *International Food Research Journal*. 20(3), 1145-1149.

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University