

ข้อกำหนดทางเคมีของรากชำพลู

สารินี เลนะพันธ์*[†]

จิราณูช แจ่มทวีกุล*

จิตรา ชัยวัฒน์*

บทคัดย่อ

“รากชำพลู” เป็นรากของพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper sarmentosum* Roxb. วงศ์ Piperaceae จัดเป็นเครื่องยาที่ใช้ในตำรายาไทยมาแต่โบราณ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจัดทำข้อกำหนดทางเคมีของรากชำพลูเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของสมุนไพร โดยได้จัดหาตัวอย่างรากชำพลูจากร้านขายยาสมุนไพรและเก็บจากแหล่งธรรมชาติทั้งในกรุงเทพมหานคร และต่างจังหวัด จำนวน 15 ตัวอย่าง ทำการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี และการทดสอบคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ เปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงจากการศึกษาพบว่าสารสกัดของรากชำพลูด้วย 95% เอทานอล พบแถบของสารซึ่งแยกด้วยโครมาโตกราฟี ชนิดผิวนาง จำนวน 14 จุด และพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ คือ 8.85 ± 1.36 , 10.18 ± 2.18 , 2.30 ± 1.16 , 4.27 ± 1.29 และ 10.98 ± 2.31 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ประกอบการพิจารณาจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของรากชำพลู ต่อไป

คำสำคัญ : ข้อกำหนดทางเคมี, รากชำพลู, *Piper sarmentosum* root

ภูมิหลังและเหตุผล

ชำพลูมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper sarmentosum* Roxb. จัดอยู่ในวงศ์ Piperaceae เป็นไม้ล้มลุก ทั้งต้นมีกลิ่นหอม ลำต้นตั้งตรงหรือเลื้อยทอดตามผิวดิน ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปหัวใจรูปไข่ หรือรูปรี กว้าง 3-8 เซนติเมตร ยาว 5-14 เซนติเมตร ปลายแหลม โคนเว้ารูปหัวใจหรือโคนตัด

*สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ ถนนพหลโยธิน 11000

[†]ผู้รับผิดชอบบทความ: sarinee.l@dmsc.mail.go.th

Received date 20/03/14 ■ Accepted date 30/07/14

มักเขียว ช่อดอก แบบช่อทางกระบอกหรือช่อเชิงลด ออกที่ยอด รูปทรงกระบอก สีขาวหรือสีนวล ดอกเป็นดอกแยกเพศมีทั้งร่วมต้นหรือต่างต้นหรือดอกสมบูรณ์เพศ เล็กมาก ไม่มีก้าน เรียงแน่นตามแกนช่อ ไม่มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอก ใบประดับเล็กมาก รูปค่อนข้างกลม ช่อผลรูปทรงกระบอก กว้าง 0.8-1.3 เซนติเมตร ยาว 2-3.6 เซนติเมตร ก้านช่อผลยาว 0.5-1.6 เซนติเมตร ผลย่อยแบบผลมีเนื้อหนึ่งเมล็ด รูปค่อนข้างกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร ติดแน่นตามแกนช่อผล สุกสีดำ¹⁻³ (รูปที่ 1) รากชำพลู

เป็นเครื่องยาไทยโบราณชนิดหนึ่ง ในตำราสรรพคุณยาไทยว่ารากข้าพลูมีรสเผ็ดร้อน สรรพคุณแก้คุณเสมหะ แก้เสมหะในทรวงอก หมอพื้นบ้านใช้ปรุงเป็นยาแก้ธาตุพิการ แก้อาเจียน้ำพิษ รำงธาตุ⁴ รากข้าพลูเป็นตัวยาหนึ่งในพิภักตยา “เบญจกุล” ซึ่งประกอบด้วยดอกดีปลี รากข้าพลู เถาะค้ำน รากเจตมูลเพลิงแดง เหง้าขิงแห้ง พิกัดนี้มีสรรพคุณ รำงธาตุ แก้อาเจียน้ำพิษ บรรเทาอาการท้องอืด

ท้องเฟ้อ นอกจากนี้มีการใช้รากข้าพลูในตำรับยาหอมอินทจักร์ ยาประสะกานพลู ยามันทธาตุ ยาปลุกไฟธาตุ เป็นต้น⁵ ตำรายาของประเทศอินเดียระบุว่า รากข้าพลูมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ⁶ ตำรายาของจีน ใช้รากข้าพลูรักษาอาการปวดฟัน และเชื้อราที่เท้า⁷

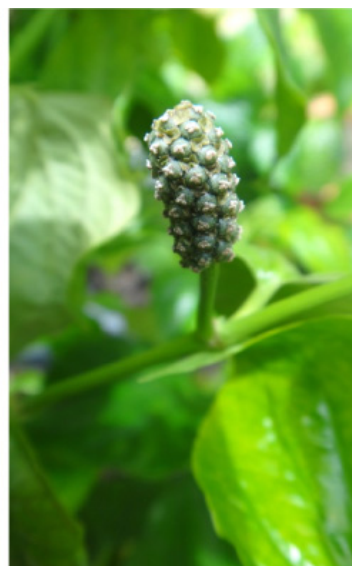
การศึกษาทางเคมีพบว่ารากข้าพลูมีสารสำคัญ ได้แก่ สารกลุ่ม phenylpropanoids เช่น 1-allyl-2-methoxy-4,5-methylenedioxybenzene



ก. ต้น



ข. ดอก



ค. ผล

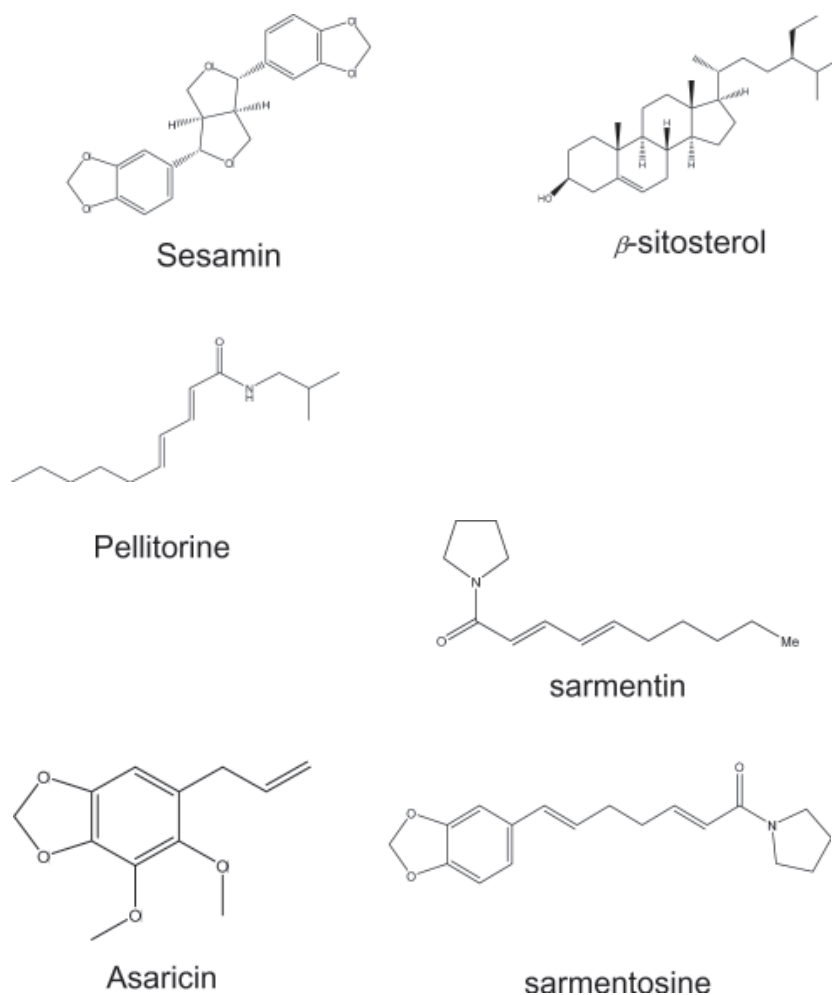


ง. รากข้าพลูแห้ง

รูปที่ 1 ก. ต้น ข. ดอก ค. ผล และ ง.รากข้าพลูแห้ง

(asaricin), สารกลุ่ม lignans เช่น (+)-sesamin, horsfieldin, สารกลุ่ม steroids เช่น (-)-sitosterol, สารกลุ่ม alkaloids เช่น sarmentine, pellitorine, guineensine, brachystamide B, brachyamide B, sarmentosine (รูปที่ 2) นอกจากนี้ยังมีสารกลุ่ม aromatic alkenes, สาร sarmentamide A, sarmentamide B และ sarmentamide C^{8,9} เป็นต้น ข้อมูลการศึกษาวิฉัยเบื้องต้นพบว่าเมื่อให้สารสกัดด้วยเมทานอลของรากข้าวพู่แก่หนูถีบจักร ในขนาด 1 กรัม ต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน

สามารถฆ่าเชื้อ *Entamoeba histolytica* ในลำไส้ใหญ่ตอนต้นของหนูถีบจักรได้ โดยมีอัตราการรักษาหาย ร้อยละ 40¹⁰ นอกจากนี้มีรายงาน⁸ การศึกษาในหลอดทดลอง พบว่าสารสำคัญในรากข้าวพู่ aromatic alkene และ N-[9-(3,4-methylene-dioxyphenyl)-2E,4E,8E-nonatrienyl]-pyrrolidine มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) เท่ากับ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับสาร sarmentine, brachyamide B,



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญบางชนิดในรากข้าวพู่

sarmentosine, pellitorine และ brachystamide B มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สาร sarmentine และ sarmentosine ยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อปรสิตชนิด *Plasmodium falciparum* โดยค่าความเข้มข้นที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ร้อยละ 50 (EC_{50}) เท่ากับ 4.5 และ 3.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ฆ่าเชื้อราพบว่าสาร brachya-mide B และ sarmentosine สามารถฆ่าเชื้อราชนิด *Candida albican* ได้ โดยค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 41.82 และ 32.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ⁸

การจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพร นอกจากจะเป็นการควบคุมคุณภาพสมุนไพรไทยให้ได้มาตรฐานสากลแล้ว ยังช่วยสนับสนุนธุรกิจการส่งออกของประเทศ และช่วยสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคในการใช้ยาสมุนไพรมากขึ้น¹¹ ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้เพื่อจัดทำข้อกำหนดทางเคมีของสมุนไพร “รากข้าพลู” สำหรับนำไปใช้ประกอบการพิจารณาจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของรากข้าพลูเพื่อบรรจุไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) ซึ่งใช้เป็นมาตรฐานอ้างอิงในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพร “รากข้าพลู” ต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

ตัวอย่างที่ศึกษา

1. ตัวอย่างรากข้าพลูสำหรับเป็นตัวอย่างมาตรฐานอ้างอิง เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งได้ตรวจยืนยันว่าเป็นชนิด *Piper sarmentosum* Roxb. โดยสำนักงานหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ

สัตว์ป่าและพันธุ์พืช

2. ตัวอย่างรากข้าพลูจำนวน 15 ตัวอย่าง จัดซื้อจากร้านขายยาสมุนไพร และเก็บจากแหล่งธรรมชาติทั้งในกรุงเทพมหานคร และต่างจังหวัด ได้แก่ สกลนคร สุพรรณบุรี เชียงใหม่ มหาสารคาม นนทบุรี สุรินทร์ สุราษฎร์ธานี ตาก และนครศรีธรรมราช ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556

เครื่องมือและอุปกรณ์

แรงเบอร์ 80 ซึ่งมี aperture size เป็น 177 ไมโครเมตร

เครื่องชั่งอย่างละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่งของบริษัท Mettler Toledo รุ่น AT200

เตาเผาอุณหภูมิสูง Heraeus รุ่น MR170E
เตาอบร้อนไฟฟ้า Heraeus รุ่น T6060

แผ่นกระจกเคลือบซิลิกาเจล (Silica Gel 60 F254) ความหนา 0.25 มิลลิเมตร ของบริษัท E. Merck

เครื่องถ่ายภาพโครมาโตกราฟีชนิดผิวบางของบริษัท CAMAG

สารเคมี

กรดเกลือเข้มข้น, กรดกำมะถันเข้มข้น, โทลูอีน, เอทิลแอลกอฮอล์, แอซิติกแอนไฮไดรด์, เมทานอล, แอนิซัลดีไฮด์, เพอริกคลอไรด์, คลอโรฟอร์ม, กรดแอซิติก และ เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นชนิดสำหรับการวิเคราะห์

วิธีการศึกษา

1. การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี

1.1 วิธีตรวจทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี

วิธีที่ 1 หมักผงสมุนไพรรากข้าพลู 5 กรัม

ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรกให้เขย่าบ่อยๆ และตั้งทิ้งไว้อีก 18 ชั่วโมง จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman No.1) อย่างรวดเร็ว (สารละลาย A) ปิเปตสารละลาย A จำนวน 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย iron (III) chloride จำนวน 2-3 หยด สังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไป

วิธีที่ 2 ปิเปตสารละลาย A ที่กรองได้จำนวน 5 มิลลิลิตร นำไประเหยแห้งบนอ่างอังไอน้ำ นำส่วนที่เหลือจากการระเหย (residue) มาละลายด้วยแอซิดิกแอนไฮไดรด์ (acetic anhydride) จำนวน 2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นค่อยๆ เติมกรดกำมะถันอย่างช้าๆ 1 มิลลิลิตร จนเห็นเป็นสองชั้น สังเกตรอยต่อระหว่างสารละลายทั้งสองชั้น

1.2 วิธีตรวจทางเคมีด้วยโครมาโทกราฟีชนิดผิวนาง

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง หมักผงสมุนไพรรากข้าวพลู 0.5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 25 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิททิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman No.1) นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยแห้งบนอ่างอังไอน้ำ นำส่วนที่เหลือจากการระเหย (residue) มาละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร

การเตรียมน้ำยาแยก (developing solvent) ผสมโทลูอีนและเอทิลแอซเตตในอัตราส่วน 30 : 90 เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายที่ได้มาใส่ในถังทำโครมาโทกราฟี แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง

การเตรียมน้ำยาพ่นแอนิซัลนีไฮด์ เติมแอนิซัลนีไฮด์ 0.5 มิลลิลิตร ลงใน กรดแอซิดิก จำนวน

10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมเมทานอล 85 มิลลิลิตร และกรดกำมะถันเข้มข้น จำนวน 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ

วิธีการ นำสารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบ 10 ไมโครลิตร มาแต้มบนแผ่นกระดาษด้วยซิลิกาเจล (Silica Gel 60 F254) เป็นแถบยาว 1 เซนติเมตร ในแนวระดับเดียวกันโดยให้ห่างจากขอบล่างของกระดาษ 2 เซนติเมตร และให้มีระยะห่างระหว่างแถบน้ำยาแต่ละชนิด 1 เซนติเมตร ผึ่งให้แห้ง นำไปตั้งในถังทำโครมาโทกราฟีที่มีน้ำยาแยก ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อน้ำยาแยกเคลื่อนที่ไปบนแผ่นกระดาษด้วยซิลิกาเจล ประมาณ 15 เซนติเมตร นำออกจากถัง ทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดควัน แล้วนำไปตรวจสอบ

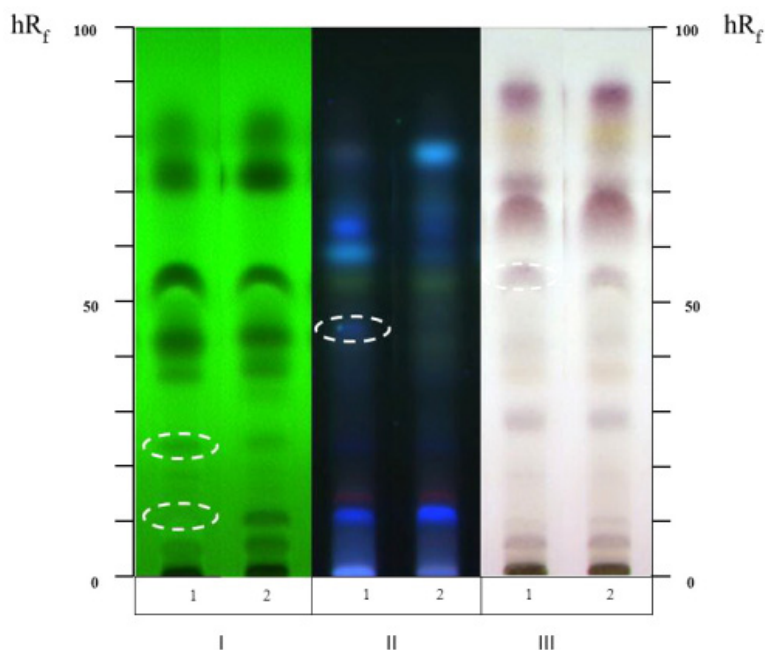
การตรวจสอบ นำแผ่นโครมาโตแกรมที่ได้ไปตรวจสอบภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และ 366 นาโนเมตร สังเกตสีที่เกิดขึ้น พร้อมบันทึกผล แล้วนำมาพ่นด้วยน้ำยาแอนิซัลนีไฮด์ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สังเกตด้วยตาเปล่า บันทึกโครมาโตแกรมที่ได้โดยใช้โปรแกรม VideoStore ของบริษัท Camag

2. การตรวจสอบคุณสมบัติอื่นๆ เพื่อการควบคุมคุณภาพ

2.1 การหาปริมาณความชื้น ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย¹² โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 2 กรัม (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน)

2.2 การหาปริมาณเถ้ารวมและปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย¹² โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 2 กรัม (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน)

2.3 การหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล



รูปที่ 3 โครมาโตแกรมชนิดผิบบางของสารสกัดด้วยเอทานอลของรากข้าพลูแห้ง

1 = ตัวอย่างอ้างอิง 2 = ตัวอย่างที่ทำการศึกษา

I = ตรวจสอบภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

II = ตรวจสอบภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร

III = ตรวจสอบด้วยน้ำยาฟ่นแอนนิลีนไฮด์ อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 10 นาที

○ = พบในบางตัวอย่าง

ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย¹² โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 5 กรัม (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน)

2.4 การหาปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล แต่เปลี่ยนใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำที่อมตัวด้วยคลอโรฟอร์ม (chloroform water) และคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดที่ได้¹²

ผลการศึกษา

ตัวอย่างรากข้าพลูแห้งที่นำมาศึกษามีลักษณะเป็นเส้นหักงอ รูปร่างไม่แน่นอน อาจมีรากแขนงและรากฝอย หรืออาจเป็นท่อน สีนํ้าตาลถึงสีนํ้าตาล

เข้ม กลิ่นเฉพาะ รสเผ็ดร้อน (รูปที่ 1)

การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี

การตรวจทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี เมื่อทดสอบด้วยวิธีที่ 1 พบว่า สารละลายของทุกตัวอย่างจะมีสีเขียวเข้ม เมื่อทดสอบด้วยวิธีที่ 2 จะปรากฏแถบสีแดงบนนํ้าตาลระหว่างรอยต่อของชั้นแอซิติคแอนไฮไดรด์และกรดกำมะถันเข้มข้น จากนั้นชั้นของแอซิติคแอนไฮไดรด์จะเปลี่ยนเป็นสีแดงบนนํ้าตาลเข้ม

การตรวจทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีชนิด

ผิบบาง สามารถแยกและตรวจสอบสารสำคัญในรากข้าพลูแห้งดังแสดงในรูปที่ 3 และแสดงค่า hR_f ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า hR_f และผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยเอทานอลของรากข้าพหลูแห้ง

จุด	ค่า hR_f	การตรวจสอบ		
		แสงยูวี 254 นาโนเมตร	แสงยูวี 366 นาโนเมตร	น้ำยาฟันทอนิลไฮดริส
1	5-7	ทึบแสง	-	ม่วงเทา
2	9-11	ทึบแสง	น้ำเงินสว่าง	-
3	14-16	-	แดง	-
4	24-26	ทึบแสง	น้ำเงิน	-
5	29-31	-	น้ำเงิน	ม่วงเทา
6	36-38	ทึบแสง	น้ำเงิน	เหลืองเทา
7	41-44	ทึบแสง	น้ำเงินสว่าง	ม่วงเทาอ่อน
8	54-56	ทึบแสง	เขียว	ม่วง
9	59-61	-	ฟ้าสว่าง	เหลืองเทา
10	63-68	-	น้ำเงินสว่าง	ม่วงเข้ม
11	71-74	ทึบแสง	น้ำเงิน	ม่วง
12	76-79	-	น้ำเงิน	ม่วงเทา
13	79-83	ทึบแสง	-	เหลืองเขียว
14	87-90	-	-	ม่วงเข้ม

การตรวจสอบคุณสมบัติอื่นๆ เพื่อการควบคุมคุณภาพ

การทดสอบทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น, ปริมาณเถ้ารวม, ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด, ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ได้ค่าปริมาณต่างๆ คิดเป็นร้อยละดังรายละเอียดในตารางที่ 2 เมื่อนำค่าเฉลี่ยในตารางที่ 2 มาบวกด้วยร้อยละ 10 สำหรับปริมาณที่ระบุไว้ “ไม่มากกว่า” และลบด้วยร้อยละ 10 สำหรับปริมาณที่ระบุไว้ “ไม่น้อยกว่า” จะได้ค่าปริมาณต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3

วิจารณ์ผล

การศึกษานี้ได้จัดซื้อตัวอย่างรากข้าพหลูซึ่งเป็นตัวแทนเกือบทั่วทุกภาคของประเทศ แบ่งเป็น

ตัวอย่างจากภาคเหนือ 3 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 3 ตัวอย่าง ภาคกลาง 2 ตัวอย่าง ภาคใต้ 3 ตัวอย่าง และในกรุงเทพฯ 4 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ทำการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี และการทดสอบคุณสมบัติอื่นๆ เปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงซึ่งเก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรี และได้ตรวจยืนยันว่าเป็นชนิด *Piper sarmentosum* Roxb. โดยสำนักงานหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช หมายเลขตัวอย่างอ้างอิง 184896

การทดสอบทางเคมีเบื้องต้นพบว่าทุกตัวอย่างให้ผลเหมือนกันในการทดสอบด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี คือ ตรวจพบสารประเภทฟีนอลโดยใช้ ferric chloride test¹³ และตรวจพบสารประเภทเทอร์ปีนส์ และสเตอรอล โดยใช้ Liebermann-Burchard Test¹⁴ การหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัด

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบคุณสมบัติอื่นๆ ของตัวอย่างรากข้าพลุแห้ง

ตัวอย่าง	ร้อยละของ ปริมาณความชื้น (% w/w)	ร้อยละของ ปริมาณเถ้ารวม (% w/w)	ร้อยละของ ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลาย ในกรด (% w/w)	ร้อยละของปริมาณ สารสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 (% w/w)	ร้อยละของ ปริมาณสารสกัด ด้วยน้ำ (% w/w)
ตัวอย่าง อ้างอิง	10.31	11.45	2.99	3.65	10.18
1	7.81	9.69	3.26	4.83	13.38
2	5.91	11.66	2.38	3.70	12.67
3	6.43	14.15	4.29	6.57	14.07
4	7.05	12.30	3.74	3.37	10.55
5	9.42	7.29	1.06	3.83	10.60
6	9.54	10.88	2.26	6.29	13.39
7	9.38	13.57	4.06	4.62	11.23
8	9.53	11.04	2.48	5.02	13.51
9	9.93	6.01	0.51	4.16	10.20
10	9.58	8.66	0.76	2.78	5.91
11	10.20	9.05	1.51	3.38	9.26
12	9.29	9.67	1.93	4.74	10.99
13	9.98	9.32	2.62	2.81	9.00
14	9.48	10.17	2.11	5.71	12.10
15	9.26	9.21	1.55	2.24	7.93
$\bar{x} \pm SD$ (n=15)	8.85 $\pm$ 1.36	10.18 $\pm$ 2.18	2.30 $\pm$ 1.16	4.27 $\pm$ 1.29	10.98 $\pm$ 2.31
min-max	5.91 - 10.20	6.01 - 14.15	0.51 - 4.29	2.24 - 6.57	5.91 - 14.07

ตารางที่ 3 ข้อกำหนดคุณภาพของรากข้าพลุแห้ง

การทดสอบ (หน่วย)	ตัวอย่าง อ้างอิง	$\bar{x} \pm SD$ (n=15)	$\bar{x} + 10\%$ ค่าเฉลี่ย $\pm 10\%$	$\bar{x} - 10\%$
ปริมาณความชื้น (%w/w)	10.31	8.85 $\pm$ 1.36	9.74	-
ปริมาณเถ้ารวม (%w/w)	11.45	10.18 $\pm$ 2.18	11.20	-
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (%w/w)	2.99	2.30 $\pm$ 1.16	2.53	-
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 (%w/w)	3.65	4.27 $\pm$ 1.29	-	3.84
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (%w/w)	10.18	10.98 $\pm$ 2.31	-	9.88

ด้วยเอทานอลของตัวอย่างรากข้าวพุลูแห้งเพื่อหาลายพิมพ์โครมาโทกราฟีชนิดผิวบาง พบว่าน้ำยาแยกที่เป็นส่วนผสมระหว่าง toluene และ ethyl acetate ในอัตราส่วน 30 : 90 สามารถแยกและตรวจสอบสารสกัดด้วยเอทานอลของรากข้าวพุลูแห้งของตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างที่ทำการทดสอบโดยให้ผลเหมือนกันภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร พบจุดที่บ่งแสง 8 จุด ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร พบจุดเรืองแสงสีแดง 1 จุด เรืองแสงสีน้ำเงินสว่าง 3 จุด เรืองแสงสีน้ำเงิน 5 จุด เรืองแสงสีเขียว 1 จุด เรืองแสงสีฟ้าสว่าง 1 จุด และเมื่อพ่นด้วยน้ำยาแอนิลีนไฮโดรคลอไรด์ ซึ่งเป็นน้ำยาทดสอบที่มีความเฉพาะกับสารกลุ่มเทอร์ปีนส์¹⁵ พบจุดสีม่วงเทา 3 จุด สีม่วงเทาอ่อน 1 จุด สีม่วง 2 จุด สีม่วงเข้ม 2 จุด สีเหลืองเทา 2 จุด และสีเหลืองเขียว 1 จุด ทั้งนี้พบว่าภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร มีตัวอย่างทดสอบบางตัวอย่างมีการเรืองแสงสีน้ำเงิน ($hR_f = 71-74$) ที่เข้ม และสว่างกว่าตัวอย่างอ้างอิง ซึ่งอาจเนื่องจากตัวอย่างที่นำมาศึกษา มีความแตกต่างในเรื่องของการเพาะปลูก แหล่งเพาะปลูกที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญในตัวยาสมนไพร¹⁶

ในการประเมินคุณภาพของสมุนไพรมตามมาตรฐานสากลนั้น นอกจากการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีแล้วยังต้องทำการทดสอบคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ การหาปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณสารสกัด เป็นต้น ซึ่งการหาปริมาณความชื้น และปริมาณสารสกัด เป็นการทดสอบเพื่อตรวจสอบคุณสมบัติเฉพาะของยาสมุนไพรมนั้นๆ โดยปริมาณความชื้นของสมุนไพรมแห้งไม่อนุญาตให้มีค่าเกินกว่าที่กำหนด หากสมุนไพรมมีความชื้นสูง จะเป็นผลให้สมุนไพรมมีคุณภาพต่ำ และเสื่อมคุณภาพเร็ว หรือมี

ความเสี่ยงจากการปนเปื้อนด้วยเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อรา หรือแมลง¹⁷ ส่วนการหาปริมาณสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรมด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่เหมาะสมเป็นการตรวจหาปริมาณสารสำคัญเพื่อการควบคุมคุณภาพสมุนไพรมวิธีหนึ่งใช้กรณีที่ไม่มีความวิเคราะห์ทางเคมีหรือชีววิทยาที่เหมาะสมในการหาปริมาณสารสำคัญในตัวยาดังกล่าว¹⁷ การหาปริมาณเถ้าเป็นการทดสอบความบริสุทธิ์ของยาสมุนไพรมว่ามีสารเจือปน (impurities) หรือการปลอมปน (adulterants) สารอื่นๆ ที่อาจปลอมปนมาในขั้นตอนการเก็บเกี่ยว การผลิต และระหว่างการเก็บรักษา สารเจือปนเหล่านี้อาจจะมาจาก ดิน หวาย หรือสารตกค้างเนื่องจากการใช้ปุ๋ยเคมี และยาฆ่าแมลงในจำนวนมากเกินความต้องการ¹¹ โดยในการศึกษาได้ทำการทดสอบหาปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ทั้งนี้การหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดเป็นการทดสอบเพื่อตรวจหาสาร non-volatile ที่ปนเปื้อนมากับตัวยาคือ ดิน หวาย siliceous earth ที่มักปนมากับรากหรือเหง้าของสมุนไพรม¹¹ และจากผลการศึกษาตัวอย่างที่มาจากจังหวัดต่างๆ เกือบทั่วทุกภาคของประเทศครั้งนี้พบว่า ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำของตัวอย่างอ้างอิง และตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีค่าอยู่ในช่วงต่ำสุด-สูงสุด คือ 5.91 - 10.31, 6.01 - 14.15, 0.51 - 4.29, 2.24 - 6.57 และ 5.91 - 14.07 ตามลำดับ

ข้อสรุป

การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีเป็นหัวข้อการทดสอบที่เป็นข้อบังคับตามกฎหมายในการประเมินคุณภาพสมุนไพรม ซึ่งผลการศึกษาเอกลักษณ์ทาง

เคมีโดยทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และโครมาโทกราฟีชนิดผิวบาง ที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ตรวจยืนยันเอกลักษณ์ของตัวอย่างรากข้าพลูแห้ง และจากข้อมูลในการศึกษาค้นคว้านี้สามารถกำหนดเกณฑ์ในการทดสอบคุณสมบัติอื่นๆ โดยกำหนดเกณฑ์สูงสุดจากค่าเฉลี่ยบวกด้วยร้อยละ 10 สำหรับปริมาณที่ระบุไว้ “ไม่มากกว่า” และเกณฑ์ต่ำสุดจากค่าเฉลี่ยลบด้วยร้อยละ 10 สำหรับปริมาณที่ระบุไว้ “ไม่น้อยกว่า” จะได้ค่าปริมาณต่างๆ เพื่อการควบคุมคุณภาพรากข้าพลูแห้ง ดังนี้

1. ปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 9.74 โดยน้ำหนัก
2. ปริมาณเถ้ารวม ไม่เกินร้อยละ 11.20 โดยน้ำหนัก
3. ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดไม่เกินร้อยละ 2.53 โดยน้ำหนัก
4. ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.84 โดยน้ำหนัก
5. ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 9.88 โดยน้ำหนัก

เอกสารอ้างอิง

1. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Supplement to Thai Herbal Pharmacopoeia 2011. Bangkok: Prachachon Co. Ltd.; 2011:9-17.
2. เฉลิมพล สุวรรณภักดี. การศึกษานุกรมวิชาการพืชสกุลพริกไทย (*Piper* L.) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. บัณฑิตวิทยาลัย: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2548. (174 หน้า).
3. Backer CA, Barkhuizen van den Brink RC. Piperaceae. Flora of Java, Vol. 1. Groningen (The Netherlands): Wolters-Noordhoff N.V.; 1963:168-72.
4. เสี่ยม พงษ์บุญรอด. ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของยาเทศและยาไทย. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เพื่ออักษร; 2514. (หน้า 180).
5. ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2555. บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. 2555 แนบท้าย ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2555. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 129, ตอนพิเศษ 85 ง, (ลงวันที่ 25 พฤษภาคม 2555).
6. Kirtikar KR, Basu BD, An ICS. Indian medicinal plant, Vol. III. 2nd ed. Dehra Dun: Bishen Singh Mahendra Pal Singh; 1980:2136.
7. Duke JA., Ayensu ED. Medicinal plant of china, Vol. 2. Michigan: Reference Publications, Inc.; 1985. p. 485.
8. Tuntiwachwuttikul P, Phansa P, Pootaeng-on Y, Taylor WC. Chemical constituent of the roots of *Piper sarmentosum*. Chem Pharm Bull. 2006;54(2):149-51.
9. Ee GC, Lim CM, Lim CK, Rahmani M, Shaari K, Bong CF. Alkaloids from *Piper sarmentosum* and *Piper nigrum*. Nat Prod Res. 2009;23(15):1416-23.
10. Sawangjaroen N, Sawangjaroen K, Poonpanang P. Effects of *Piper longum* fruit, *Piper sarmentosum* root and *Quercus infectoria* nut gall on caecal amoebiasis in mice. J Ethnopharmacol. 2004;91(2-3):357-60.
11. นันทนา สิทธิชัย. มาตรฐานของสมุนไพรในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย. วารสารสมุนไพร. 2547;11(1):21-32.
12. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Herbal Pharmacopoeia, Vol. III. Bangkok: Office of National Buddhism Press; 2009:155-62.
13. Moffat AC, Osselton MD, Widdop B. Clarke's Analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 4th ed. London: Pharmaceutical Press; 2011:477.
14. นันทวัน บุญยะประภัศร. การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากพืช. ใน: วันดี กุญชรพันธ์ (บรรณาธิการ). ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่มที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2536. (หน้า 116-29).
15. Coscia CJ. CRC handbook of chromatography terpenoids, Vol. I. Florida: CRC Press, Inc.; 1984:107-17.
16. อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. การเตรียมสมุนไพรเพื่อการค้า. ใน: วันดี กุญชรพันธ์ (บรรณาธิการ). ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเล่มที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2536. (หน้า 9-19).
17. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: WHO Press; 2011: 31-5.

Abstract**Chemical Specifications of *Piper sarmentosum* Roxb. Roots**

Sarinee Lenapun*, Jiranut Jamthaweekul*, Jitra Chaiwut*

*Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health 11000

“*Rak cha-phlu*” is the root of *Piper sarmentosum* Roxb., Family Piperaceae, and been used in Thai traditional medicine for a long time. The purpose of this study was to set up the chemical specifications of crude drug “*rak cha-phlu*”. The study was conducted on 15 sample of the root purchased from crude drugstores and collected from natural sources in Bangkok and other provinces. The chemical identification of and other tests for quality control, loss on drying, total ash, acid insoluble ash, and ethanol-and water-soluble extractive values, were undertaken and compared with an authentic sample. It was found that the thin-layer chromatogram of 95% ethanolic extract of *rak cha-phlu* showed 14 spots of its major constituents. The mean values of loss on drying, total ash, acid-insoluble ash, ethanol-soluble extractive and water-soluble extractive were $8.85 \pm 1.36\%$ w/w, $10.18 \pm 2.18\%$ w/w, $2.30 \pm 1.16\%$ w/w, $4.27 \pm 1.29\%$ w/w and $10.98 \pm 2.31\%$ w/w, respectively. The results of this study can be used for setting up the chemical specifications of *rak cha-phlu* which will be useful for quality control of this crude drug.

Key words: chemical specifications, *rak cha-phlu*, *Piper sarmentosum* root