

คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของเครื่องยากระชาย

ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก*, อภิรักษ์ ศักดิ์เพ็ชร, พีรธรรม เทียมเทียบรัตน์, สิริกาญจน์ ธนอริยโรจน์,
วิไลลักษณ์ ชื่นนางซี, สรเพชร มาสุต, ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

* ผู้รับผิดชอบบทความ: duangpen.p@dmsc.mail.go.th

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของเครื่องยากระชายซึ่งได้จากส่วนรากและเหง้าของกระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.) มีวัตถุประสงค์เพื่อจัดทำข้อกำหนดคุณภาพของเครื่องยากระชาย เนื่องจากยังไม่มีเกณฑ์มาตรฐานสำหรับการควบคุมคุณภาพสมุนไพรชนิดนี้ในตำรายามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ซึ่งเป็นมาตรฐานสมุนไพรของประเทศได้ทำการรวบรวมตัวอย่างเครื่องยากระชาย จำนวน 17 ตัวอย่าง ระหว่างกันยายน 2557-มกราคม 2560 พัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีและศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ พบว่า สารสกัดเมทานอลจากเครื่องยากระชายให้ผลบวกกับ Shinoda's test และพบสารฟิโนสโตรบินเมื่อตรวจด้วยวิธีรังเลขผิวบางบน silica gel 60 เมื่อใช้ส่วนผสมไดคลอโรมีเทนและเมทานอล (70:1) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ปริมาณความชื้นและน้ำมันระเหยง่าย มีค่าเท่ากับร้อยละ 7.83 ± 0.96 และ 2.11 ± 0.43 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ มีค่าเท่ากับร้อยละ 6.68 ± 0.88, 1.20 ± 0.73, 12.63 ± 4.31, 15.78 ± 2.54 และ 17.63 ± 3.35 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ข้อกำหนดคุณภาพของเครื่องยากระชายสรุปได้ดังนี้ การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วย Shinoda's test ต้องพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ รังเลขผิวบางต้องพบสารฟิโนสโตรบิน ปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 9 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ปริมาณเถ้ารวมและปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ไม่เกินร้อยละ 7 และ 1 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 11, 14 และ 16 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณน้ำมันระเหยง่าย ไม่น้อยกว่าร้อยละ 2 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผลการศึกษานี้จะเสนอบรรจุเป็นมโนกราฟในตำรายามาตรฐานยาสมุนไพรไทยเพื่อใช้เป็นมาตรฐานอ้างอิงของประเทศต่อไป

คำสำคัญ: กระชาย, *Boesenbergia rotunda*, คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

Physico-Chemical Properties of Fingerroot (*Boesenbergia rotunda*) Crude Drug

Duangpen Pattamadilok*, Apirak Sakpetch, Peradhamma Thiemthieprat, Sirikarn Thana-ariyaroj, Vilailuk Chuennangchee, Sorrapetch Marsud, Sakwichai Ontong

Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Talad-Kwan Sub-District, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand

*Corresponding author: duangpen.p@dmsc.mail.go.th

Abstract

The study on physico-chemical properties of fingerroot (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.), or *krachai* in Thai, crude drug, derived from the rhizomes and roots of the herb, aimed to establish the quality specifications of this medicinal plant. That was because there were no standard criteria for quality control of the crude drug in the Thai Herbal Pharmacopoeia, which is the national standard for herbal drugs. Seventeen fingerroot samples were collected during September 2014–January 2017. Chemical identification methods were developed and physico-chemical properties were evaluated. The methanolic extract of the crude drug gave a positive result with Shinoda's test. Pinostrobin was detected when TLC analysis was performed on silica gel 60 using a mixture of dichloromethane-methanol (70:1) as mobile phase. The amounts of moisture and volatile oil were $7.83 \pm 0.96\%$, and $2.11 \pm 0.43\%$ v/w, respectively. The amounts of total ash, acid-insoluble ash, 95% ethanol extractive, 50% ethanol extractive and water extractive were $6.68 \pm 0.88\%$, $1.20 \pm 0.73\%$, $12.63 \pm 4.31\%$, $15.78 \pm 2.54\%$ and $17.63 \pm 3.35\%$ w/w, respectively. Quality specifications of the fingerroot crude drug were set up as follows: flavonoids could be detected by Shinoda's test; pinostrobin could be observed in the TLC analysis; the moisture content should not be higher than 9% v/w; the amounts of total ash, acid-insoluble ash should not be more than 7% and 1% w/w, respectively; the amounts of 95% ethanol extractive, 50% ethanol extractive and water extractive should not be less than 11%, 14% and 16% w/w, respectively; and the amount of volatile oil should not be less than 2% v/w. The results of this study will be proposed for inclusion as a monograph in the Thai Herbal Pharmacopoeia to be used as national reference standards of fingerroot crude drug.

Key words: fingerroot, *Boesenbergia rotunda*, physico-chemical properties

บทนำและวัตถุประสงค์

กระชาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. วงศ์ Zingiberaceae^[1] เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี เหง้าสั้น รากรูปทรงกระบอกหรือรูปไข่ค่อนข้างยาวปลายเรียว กว้าง 1-2 เซนติเมตร ยาว 4-10 เซนติเมตร รากออกเป็นกระจุก ผิวนอกสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในสีเหลือง ลำต้นเทียมมีใบ 2-7 ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปไข่กลับแกมรูปขอบขนาน

หรือรูปรีแกมรูปใบหอก กว้าง 5-12 เซนติเมตร ยาว 12-50 เซนติเมตร ปลายเรียวแหลม โคนมนหรือแหลม ขอบเรียบ เส้นกลางใบ ก้านใบและกาบใบด้านบนเป็นร่อง ด้านล่างนูนเป็นสัน ก้านใบเรียบ ยาว 7-25 เซนติเมตร กาบใบสีชมพู ยาว 7-25 เซนติเมตร ลิ่นใบยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร ปลายเว้าตื้น ดอกออกเป็นช่อเชิงลดออกที่ยอดระหว่างกาบใบคู่ในสุด ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ดอกสีขาวอมสีชมพูอ่อน ใบ

ประดับรูปหอก ยาว 4-5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงสีขาว หรือสีขาวอมสีชมพูอ่อน โคนติดกันเป็นหลอด ยาว 1.5-2 เซนติเมตร ปลายแยกเป็น 3 แฉก โคนกลีบดอกติดกันเป็นหลอด ยาว 4.5-5.5 เซนติเมตร ปลายแยก 3 แฉก รูปขอบขนาน แฉกใหญ่ 1 กลีบ กว้างประมาณ 7 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 1.8 มิลลิเมตร อีก 2 แฉก ขนาดเท่ากัน กว้าง 5 มิลลิเมตร ยาว 1.5 เซนติเมตร กลีบข้างมี 2 กลีบ สีชมพูอ่อน รูปไข่กลับ ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร กลีบปากอยู่ตรงกลางมีสีขาวหรือสีชมพู รูปไข่กลับหรือรูปขอบขนาน กว้าง 2.5-3.5 เซนติเมตร โคนงอเข้าใน ขอบหยักงอเล็กน้อย ปลายผาย มีสีชมพูหรือสีม่วงแดงเป็นเส้น ๆ เกือบทั้งกลีบ เกสรเพศผู้สมบูรณ์มี 1 อัน ก้านชูอับเรณูสั้น หุ้มก้านชูยอดเกสรเพศเมีย สันอับเรณูพับกลับ ปลายเว้า ตื้น รังไข่ใต้วงกลีบรูปขอบขนาน มี 3 ช่อง แต่ละช่องมีออวุลจำนวนมาก ผลแบบผลแตกแห้ง เมล็ดสีดำ เยื่อหุ้มเมล็ดจักเป็นครุย^[2] กระจายเป็นสมุนไพรมินิเยน นำมาประกอบอาหารในชีวิตประจำวันและมีการใช้ในทางการแพทย์พื้นบ้านด้วย ส่วนที่นำมาใช้ทางยา คือ ส่วนใต้ดินที่มีทั้งเหง้าและราก สรรพคุณยาไทย กระจายมีรสเผ็ดร้อนขม แก้ปวดมวนในท้อง แก้ชัก แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ บำรุงกำลัง บำรุงกำหนด เป็นต้น^[2] ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2562 (บัญชียาจากสมุนไพรมินิเยน) กระจายเป็นส่วนประกอบในหลายตำรับยา ได้แก่ ยาหอมทิฟโอสถ ยาประสะกานพลู ยาเลือดจาง ยาชัชเส้น^[3] องค์ประกอบทางเคมีของกระจาย ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น pinostrobin, pinocembrin, boesenbergin A, boesenbergin B, panduratin A, 4-hydroxypanduratin A, panduratin B-1, panduratin B-2, rubranine, rotundaflavone นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่มโพลีฟีนอล และน้ำมันหอมระเหย^[4] ขณะที่มีวิกฤตการณ์แพร่

ระบาดทั่วโลกของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) นั้น นักวิจัยของประเทศไทยได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรมินิเยนในหลอดทดลองต่อเชื้อ SARS CoV-2 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคดังกล่าว พบว่า สารสกัดส่วนใต้ดินของกระจายที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ SARS CoV-2 ได้ถึง 99.95% และมีการศึกษาเชิงลึกซึ่งมีแนวโน้มที่จะพัฒนากระจายเป็นยาต้านโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ต่อไป^[5]

อย่างไรก็ตาม ขณะนี้ ประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพของเครื่องยากระจาย ซึ่งได้จากส่วนรากและเหง้าใต้ดิน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของเครื่องยากระจาย ซึ่งผลการศึกษาจะนำไปสู่การจัดทำข้อกำหนดคุณภาพและเสนอเป็นมาตรฐานคุณภาพของเครื่องยากระจายของประเทศต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

1. วัสดุ

1.1 ตัวอย่างสมุนไพรมินิเยน

ตัวอย่างกระจาย จำนวน 17 ตัวอย่าง จากแหล่งธรรมชาติในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคกลาง ตะวันตกเฉียงใต้ จำนวน 11 ตัวอย่าง และร้านยาสมุนไพรมินิเยนในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 6 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนกันยายน 2557 ถึงมกราคม 2560 ตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติผ่านการพิสูจน์ทราบชื่อวิทยาศาสตร์และจัดทำตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นำมาคัดเลือกส่วนที่ไม่ต้องการออก ล้างให้สะอาด ลดขนาด แล้วผึ่งลมให้

แห้ง จากนั้นนำไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 50 °C จนแห้งสนิท ส่วนตัวอย่างจากร้านยาสมุนไพรมาอบไล่ความชื้นในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตัวอย่างจากธรรมชาติและร้านยาสมุนไพรที่ยังไม่ได้แปดเป็นผง นำมาบดเป็นผง ผ่านร่อนเบอร์ 180 แล้วเก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิท ส่วนตัวอย่างจากร้านยาสมุนไพรที่มีลักษณะเป็นผง นำมาผ่านร่อนแล้วจึงเก็บในขวดสีชาปิดสนิท ได้เป็นผงกระชายเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 สารมาตรฐาน

pinostrobin ความบริสุทธิ์ 97.06% (แยกสารจากกระชาย)^[4]

1.3 สารเคมีและตัวทำละลาย

คลอโรฟอร์ม (บริษัท อาร์ซีไอ แล็บสแกน จำกัด, ประเทศไทย), ไดคลอโรมีเทน (บริษัท อาร์ซีไอ แล็บสแกน จำกัด, ประเทศไทย), เอทานอล (เมิร์ค, ประเทศเยอรมนี), เมทานอล (เมิร์ค, ประเทศเยอรมนี), โทลูอิน (พีซเซอร์ ไซแอนทิฟิก, สหราชอาณาจักร), กรดเกลือ (เมิร์ค, ประเทศเยอรมนี), โซลีน (บริษัท อาร์ซีไอ แล็บสแกน จำกัด, ประเทศไทย), น้ำกำจัดอิมอน, ไตฟีนิลบอริกแอซิดปีตาเอทิลอะมิโนเอสเทอร์ (แอลดริช, ประเทศเยอรมนี), โพลีเอทิลีนไกลคอล 4000 (ซิกมา, ประเทศเยอรมนี)

1.4 วัสดุวิทยาศาสตร์และเครื่องแก้ว

แผ่นที่แอลซีชนิดกระจกเคลือบด้วยซิลิกา เจล 60 ความหนา 0.25 มิลลิเมตร (เมิร์ค, ประเทศเยอรมนี), กระดาษกรอง เบอร์ 4 (วัตแมน, สหราชอาณาจักร), กระดาษกรองปราศจากเถ้า เบอร์ 41 (วัตแมน, สหราชอาณาจักร), กระดาษลิตมัส (เมิร์ค, ประเทศเยอรมนี), แมกนีเซียมริบบอน, ชุดกลิ่นแอซีโอโทรปิก, ชุดกลิ่นน้ำมันระเหยง่าย, กรวย, กระบอกตวง, ขวดแก้วกันกลม, ขวดแก้วปรับปริมาตร,

ขวดซังสาร, ขวดพ่นน้ำยา, ขวดรูปชมพู่, ถ้วยกระเบื้อง, ถ้วยระเหย, โถดูดความชื้น, ถังสำหรับโครมาโทกราฟี ชนิดผิวบาง, หลอดทดลอง, หลอดแคปิลลารี ที่มีขีดบอกปริมาตร ขนาด 5 ไมโครลิตร สำหรับ spot สารละลายตัวอย่างลงบนแผ่นที่แอลซี, ปิเปต

1.5 เครื่องมือ

เครื่องบดสมุนไพร, แรง (แลบอราทอรี เทสต์ ซีฟ, สหราชอาณาจักร), ตู้อบร้อน (แมมเมิร์ท, ประเทศเยอรมนี), เครื่องชั่งไฟฟ้า ความละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (เมทเลอร์-โทเลโด, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์), ตู้แสงอัลตราไวโอเล็ต (คาแมก, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์), เต้าเผาอุณหภูมิสูง (เทอร์โมไลน์, สหรัฐอเมริกา), เครื่องเขย่า, เครื่องถ่ายภาพที่แอลซี (คาแมก, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์), อ่างน้ำร้อน, ชุดสกัดสาร ประกอบด้วย เต้าบวมไฟฟ้า, ส่วนควบแน่น และเครื่องทำน้ำเย็นหมุนเวียน

2. วิธีการศึกษา

2.1 การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี

1) ปฏิบัติการเกิดสี โดย Shinoda's test^[6] สกัดผงกระชาย น้ำหนัก 1 กรัม ด้วยเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิตร โดยวิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 5 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง ได้สารละลายตัวอย่าง จากนั้นนำสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 2 มิลลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมกรดเกลือ จำนวน 1-2 หยด เติมแมกนีเซียมริบบอน จำนวน 3-5 ชิ้น ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที สังเกตสีของสารละลาย เปรียบเทียบกับสีของสารละลายตัวอย่าง (หลอดควบคุม) สังเกตผลที่เกิดขึ้น โดยผลบวกของปฏิกิริยาจะปรากฏสารละลายสีส้มแดง

2) รงคเลขผิวบาง (thin layer chromatography; TLC)^[4]

สารละลายตัวอย่าง จากข้อ 1) นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีรณคเลขผิวบาง ระบบรณคเลขผิวบาง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ระบบรณคเลขผิวบาง

| | |
|--|---|
| ตัวอย่าง | สารละลายตัวอย่าง จากข้อ 1) |
| สารมาตรฐาน | สารละลายพีนอสโตรบินในเมทานอล ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร |
| ภูมิภาคคองที่ | ซิลิกาเจล 60, ความหนา 0.25 มิลลิเมตร |
| ภูมิภาคเคลื่อนที่ | ไดคลอโรมีเทน-เมทานอล อัตราส่วน 70:1 |
| ระยะทางการเคลื่อนที่ของภูมิภาคเคลื่อนที่ | 15 เซนติเมตร |
| ปริมาตรวิเคราะห์ | 15 ไมโครลิตร สำหรับสารละลายตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร สำหรับสารละลายมาตรฐาน |
| การตรวจวัด | น้ำยา Natural product/polyethylene glycol (เอ็นพี/พีอีจี), ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร |

2.2 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

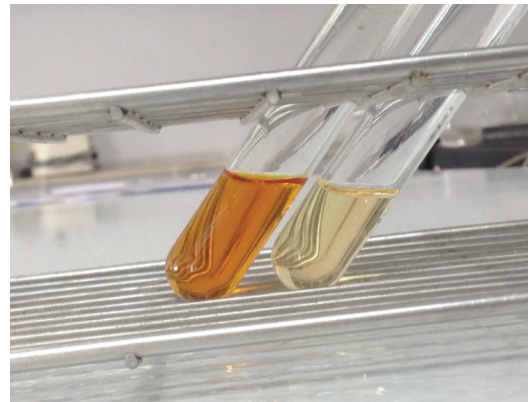
ประเมินคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของตัวอย่างกระชาย จำนวน 17 ตัวอย่าง ในหัวข้อ ปริมาณความชื้น (โดยวิธี Azeotropic distillation) ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ และปริมาณน้ำมันระเหยง่าย โดยดำเนินการตามวิธีขององค์การอนามัยโลก^[7]

ผลการศึกษา

1. การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี

1) ปฏิกริยาการเกิดสี โดย Shinoda's test

สารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดกระชายด้วยเมทานอลโดยวิธีรีฟลักซ์ จำนวน 17 ตัวอย่าง นำมาทดสอบด้วย Shinoda's test พบว่า สารละลายตัวอย่างจากกระชายทุกตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีส้ม (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 Shinoda's test ของกระชาย

ซ้าย: สารละลายสีส้ม (ผลบวก)

ขวา: สารละลายตัวอย่าง (หลอดควบคุม)

2) รณคเลขผิวบาง^[4]

สกัดผงกระชาย น้ำหนัก 1 กรัม ในเมทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยวิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 5 นาที กรอง นำสารละลายที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยวิธีรณคเลขผิวบาง เทียบกับสารละลายพีนอสโตรบิน โดยใช้ซิลิกาเจล 60 เป็นภูมิภาคคองที่ และส่วนผสมไดคลอโรมีเทนและเมทานอล อัตราส่วน 70:1 เป็นภูมิภาคเคลื่อนที่ ฝนด้วยน้ำยาเอ็นพี/พีอีจีแล้วสังเกตผลภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร ผลการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีรณคเลขผิวบาง พบว่า สารสกัดเมทานอลจากกระชายทั้ง 17 ตัวอย่าง จะปรากฏจุดของสารพีนอสโตรบิน ที่ค่า R_f อยู่ในช่วง 0.92-0.95

โครมาโทแกรมแบบรณคเลขผิวบางของสารสกัดเมทานอลจากกระชาย (ภาพที่ 2 และ ตารางที่ 2)



A B

- ภาพที่ 2** โครมาโทแกรมแบบรณรงค์เลขผิวบางของสารสกัดเมทานอลจากกระชาย
- A สารสกัดเมทานอลจากกระชาย
- B สารละลายฟิโนสโตรบินในเมทานอล

ตารางที่ 2 โครมาโทแกรมแบบรณรงค์เลขผิวบางของสารสกัดเมทานอลจากกระชาย

| จุดสี | R _f | การตรวจวัดด้วยน้ำยาเอ็นพี/พีอีจี |
|-------|----------------|----------------------------------|
| 1 | 7-9 | สีฟ้า |
| 2 | 38-44 | สีเขียว |
| 3 | 48-52 | สีฟ้าเขียว |
| 4 | 58-62 | สีฟ้า |
| 5 | 78-82 | สีเหลืองเขียว |
| 6 | 84-86 | สีเหลือง |
| 7* | 92-96 | สีเหลือง |
| 8 | 96-98 | สีเหลือง |

*ฟิโนสโตรบิน

2. การประเมินคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของกระชาย จำนวน 17 ตัวอย่าง ในหัวข้อต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาณความชื้นโดยวิธี Azeotropic distillation ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ และปริมาณน้ำมันระเหยง่าย (ตารางที่ 3)

จากการประเมินคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของเครื่องยากระชาย จำนวน 17 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำมันระเหยง่าย มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 7.83 ± 0.96 และ 2.11 ± 0.43 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ตามลำดับ ปริมาณเถ้ารวมและปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 6.68 ± 0.88 และ 1.20 ± 0.73 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 12.63 ± 4.31 , 15.78 ± 2.54 และ 17.63 ± 3.35 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่า ตัวอย่างเครื่องยากระชายเกือบทั้งหมด จะมีค่าปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 แต่พบกระชาย จำนวน 2 ตัวอย่าง ที่มีแนวโน้มปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายในทิศทางกลับกัน กล่าวคือ ตัวอย่างที่ 14 และ 15 จะมีค่าปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัด

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของเครื่องยากระชาย

| ตัวอย่างที่ | ปริมาณ ความชื้น (ร้อยละ ... โดยปริมาตร ต่อน้ำหนัก) | ปริมาณถ้ำ (ร้อยละ ... โดยน้ำหนัก) | | ปริมาณสารสกัดในตัวทำละลาย (ร้อยละ ... โดยน้ำหนัก) | | | ปริมาณน้ำมัน ระเหยง่าย (ร้อยละ ... โดยปริมาตร ต่อน้ำหนัก) |
|---------------------------------------|--|---|-------------------------|--|-------------------------------------|-------|---|
| | | ถ้ำรวม | ถ้ำที่ไม่ละลาย ในกรด | เอทานอล ความเข้มข้น ร้อยละ 95 | เอทานอล ความเข้มข้น ร้อยละ 50 | น้ำ | |
| 1* | 6.00 | 5.60 | 2.05 | 10.68 | 13.09 | 16.32 | 1.54 |
| 2* | 8.49 | 6.04 | 1.98 | 11.95 | 12.25 | 16.03 | 1.79 |
| 3 | 7.23 | 7.37 | 0.71 | 9.32 | 17.52 | 20.59 | 2.25 |
| 4 | 8.49 | 7.24 | 1.15 | 9.13 | 15.90 | 18.17 | 2.00 |
| 5* | 8.99 | 5.92 | 1.97 | 13.32 | 14.04 | 13.95 | 1.56 |
| 6* | 7.74 | 6.25 | 1.93 | 13.08 | 13.41 | 14.93 | 2.02 |
| 7* | 9.74 | 5.84 | 2.04 | 12.48 | 13.41 | 14.04 | 1.54 |
| 8* | 8.74 | 5.37 | 1.89 | 11.69 | 12.66 | 12.13 | 1.56 |
| 9 | 6.49 | 8.47 | 0.06 | 7.59 | 17.33 | 19.53 | 2.02 |
| 10 | 6.99 | 7.18 | 0.32 | 8.09 | 15.86 | 19.99 | 2.13 |
| 11 | 8.00 | 7.84 | 0.31 | 7.77 | 15.58 | 21.52 | 2.36 |
| 12 | 8.25 | 7.08 | 0.85 | 17.01 | 18.92 | 21.45 | 2.44 |
| 13 | 7.00 | 7.41 | 0.30 | 15.92 | 19.88 | 24.61 | 2.20 |
| 14 | 8.00 | 5.77 | 1.93 | 21.74 | 18.99 | 13.83 | 2.91 |
| 15 | 8.24 | 6.24 | 1.28 | 20.60 | 19.42 | 17.44 | 2.90 |
| 16 | 7.75 | 6.61 | 0.92 | 8.93 | 13.92 | 17.09 | 2.22 |
| 17 | 6.99 | 7.27 | 0.76 | 15.42 | 16.14 | 18.14 | 2.43 |
| ค่าเฉลี่ย | 7.83 | 6.68 | 1.20 | 12.63 | 15.78 | 17.63 | 2.11 |
| ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน | 0.96 | 0.88 | 0.73 | 4.31 | 2.54 | 3.35 | 0.43 |
| ร้อยละ 10 ของค่าเฉลี่ย | 0.78 | 0.67 | 0.12 | 1.26 | 1.58 | 1.76 | 0.21 |
| ค่าเฉลี่ย + ร้อยละ 10 ของค่าเฉลี่ย | 8.61 | 7.35 | 1.32 | - | - | - | - |
| ค่าเฉลี่ย - ร้อยละ 10 ของค่าเฉลี่ย | - | - | - | 11.37 | 14.20 | 15.87 | 1.9 |

*ตัวอย่างเครื่องยากระชาย จากร้านยาสมุนไพร

ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ซึ่งตัวอย่างทั้ง 2 เป็นตัวอย่างที่มีปริมาณน้ำมันระเหยง่ายสูงมากเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ โดยตัวอย่างที่ 14 และ 15 มีค่าปริมาณน้ำมันระเหยง่าย เท่ากับ ร้อยละ 2.91 และ 2.90 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ตามลำดับ

การกำหนดข้อกำหนดมาตรฐาน โดยกำหนดเกณฑ์สูงสุดจากค่าเฉลี่ยบวก 10% สำหรับปริมาณที่ระบุว่าเป็น “ไม่เกิน” และเกณฑ์ต่ำสุดจากค่าเฉลี่ยลบด้วย 10% สำหรับปริมาณที่ระบุว่าเป็น “ไม่น้อยกว่า” ดังนั้นจะได้ข้อกำหนดคุณภาพของเครื่องยากระชายได้ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ข้อกำหนดคุณภาพของเครื่องยากระชาย

| คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ | เกณฑ์กำหนด | | ข้อกำหนดคุณภาพ |
|------------------------------|--|--|--|
| | ค่าสูงสุด (ค่าเฉลี่ย + ร้อยละ 10 ของค่าเฉลี่ย) | ค่าต่ำสุด (ค่าเฉลี่ย - ร้อยละ 10 ของค่าเฉลี่ย) | |
| ปริมาณความชื้น | 8.61 | - | ไม่เกินร้อยละ 9.0 โดยปริมาตรต่อ น้ำหนัก |
| ปริมาณเถ้ารวม | 7.35 | - | ไม่เกินร้อยละ 7.0 โดยน้ำหนัก |
| ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายกรด | 1.32 | - | ไม่เกินร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก |
| ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 95% | - | 11.37 | ไม่น้อยกว่าร้อยละ 11.0 โดยน้ำหนัก |
| ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล 50% | - | 14.20 | ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14.0 โดยน้ำหนัก |
| ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ | - | 15.87 | ไม่น้อยกว่าร้อยละ 16.0 โดยน้ำหนัก |
| ปริมาณน้ำมันระเหยง่าย | - | 1.90 | ไม่น้อยกว่าร้อยละ 2.0 โดยปริมาตรต่อ น้ำหนัก |

อภิปรายผล

การศึกษานี้มีความสำคัญเนื่องจากจะนำไปสู่การกำหนดมาตรฐานของเครื่องยากระชายของประเทศไทย เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรชนิดนี้ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการผลิตยาหรือผลิตภัณฑ์สุขภาพ การศึกษานี้ประกอบด้วย 1) การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี โดยปฏิบัติการเกิดสี ซึ่งเป็นการตรวจสอบเบื้องต้น และรงค์เลขผิวบางซึ่งเป็นการตรวจยืนยัน การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีเป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ เพื่อตรวจสอบว่าสมุนไพรที่นำมาใช้ เป็นสมุนไพรถูกต้องชนิด และ 2) การประเมิน

คุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มากำหนดข้อกำหนดคุณภาพสำหรับกระชาย

การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีของกระชายด้วยปฏิบัติการเกิดสี เป็นการตรวจเบื้องต้นหากกลุ่มสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบ จึงเลือกใช้ Shinoda's test หรือ Cyanidin reaction ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยการเติมแมกนีเซียมและกรดเกลือ เกิดปฏิกิริยารีดักชัน โดยผลของปฏิกิริยาดังกล่าว หากตรวจพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จะปรากฏสีของสารละลายเป็นสีส้ม (ฟลาโวนอยด์ให้สีแดงกับ Shinoda's test แต่เมื่ออยู่

ในสารละลายตัวอย่างของกระชายซึ่งเป็นสารละลายสีเหลือง สีของปฏิกิริยาที่ปรากฏจึงเห็นเป็นสีส้ม) สารพิโนสโตรบินที่พบในกระชายเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างทางเคมีชนิดฟลาโวนอน จึงให้ผลบวกกับปฏิกิริยา Shinoda's test

การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีรังคเลซผิบบาง ใช้พิโนสโตรบินเป็นสารเทียบ ซึ่งสารดังกล่าวเป็นองค์ประกอบทางเคมีชนิดหลักชนิดหนึ่งที่พบในกระชาย และเลือกใช้น้ำยาเอ็นพี/พีอีจีซึ่งเป็นน้ำยาเฉพาะสำหรับการตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์เอ็นพี/พีอีจีเป็นน้ำยาตรวจวัดที่เตรียมแยกกัน กลไกของปฏิกิริยา คือ เมื่อพ่นน้ำยาเอ็นพีซึ่งเป็นสารละลายไอดีฟิโนลอบริกแอซิดบิตาเอทิลอะมิโนเอสเทอร์ในเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 1 จะทำปฏิกิริยากับสารฟลาโวนอยด์ จะเกิดการเรืองแสง เมื่อส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร และเพื่อพ่นน้ำยาพีอีจีซึ่งเป็นสารละลายโพลีเอทิลีน-ไกลคอล 4000 ในเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 (พ่นทับ) จะเพิ่มความไวในการตรวจวัดหรือเพิ่มความเข้มของจุดสีของสาร

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของกระชาย ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด เป็นคุณลักษณะทางฟิสิกส์ที่ควรควบคุม เนื่องจากความชื้นที่ปริมาณสูงเกินจะเป็นปัจจัยเอื้อต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และอาจเร่งการเสื่อมสลายของสารสำคัญในสมุนไพรร ส่วนปริมาณเถ้าเป็นสิ่งที่บ่งถึงการปนปลอมปนเปื้อน การกำหนดมาตรฐานปริมาณเหล่านี้จึงต้องระบุว่า “ไม่เกิน” ส่วนปริมาณน้ำมันระเหยง่าย ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และสารสกัดด้วยน้ำ เป็นสิ่งบ่งชี้ถึงคุณลักษณะทางเคมีที่ควร

เป็น เนื่องจากบ่งชี้ถึงสารที่ออกฤทธิ์หรือกลุ่มของสารออกฤทธิ์หรือสารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายแล้วนำไปใช้ประโยชน์ทางยาได้ การกำหนดมาตรฐานปริมาณเหล่านี้จึงต้องระบุว่า “ไม่น้อยกว่า”

การหาปริมาณความชื้นในสมุนไพรมี 2 วิธี คือวิธี Azeotropic distillation สำหรับสมุนไพรมีสารระเหยได้อื่น ๆ นอกเหนือจากน้ำ เช่น น้ำมันระเหยง่าย และวิธี Gravimetric หรือ Loss on drying สำหรับสมุนไพรมีน้ำเป็นองค์ประกอบชนิดเดียวที่ระเหยได้^[7] ดังนั้น การหาปริมาณความชื้นในกระชายจึงเลือกใช้วิธี Azeotropic distillation ตามหลักการที่กล่าวข้างต้น ตัวอย่างเครื่องยากระชายที่ได้จากร้านยาสมุนไพรร จำนวน 6 ตัวอย่าง มีค่าปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 6.00-9.74 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักส่วนตัวอย่างที่ได้จากแหล่งธรรมชาติ จำนวน 11 ตัวอย่าง มีค่าปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 6.49-8.49 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ค่าเฉลี่ยปริมาณความชื้นของตัวอย่างจากร้านยาสมุนไพรรและแหล่งธรรมชาติ มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 8.28 และ 7.59 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างจากร้านยา มีแนวโน้มปริมาณความชื้นสูงกว่าตัวอย่างจากแหล่งธรรมชาติ อันอาจเนื่องจากการกระบวนการเก็บรักษา

การหาปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายในสมุนไพรมี 2 แบบ คือ การสกัดโดยใช้ความร้อนด้วยวิธีสกัดต่อเนื่อง ได้แก่ ปริมาณสารสกัดด้วยเฮกเซน ปริมาณสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และการสกัดโดยไม่ใช้ความร้อนด้วยวิธีการหมัก เช่น ปริมาณสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในแต่ละชนิดขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีหรืออ้างอิงตามองค์ความรู้ดั้งเดิมในการใช้สมุนไพรร การหาปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายในเครื่องยากระชายซึ่งได้จาก

ส่วนเหง้าและราก จึงเป็นการหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลและปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ

ผลจากการศึกษานี้จะเสนอเข้าสู่การพิจารณาบรรจุเป็นมอโนกราฟของวัตถุดิบสมุนไพรกระชายในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) เพื่อเป็นตำราอ้างอิงของประเทศต่อไป

ข้อสรุป

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของเครื่องยากระชาย จำนวน 17 ตัวอย่าง สามารถสรุปข้อกำหนดคุณภาพ ดังนี้ การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีต้องให้ผลบวกกับปฏิกิริยา Shinoda's test เมื่อตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีรงคเลขผิวบางจะต้องพบสารฟิโนสโตรบิน ปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 9 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ปริมาณเถ้าและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ไม่เกินร้อยละ 7 และ 1 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 11, 14 และ 16 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณน้ำมันระเหยง่ายไม่น้อยกว่าร้อยละ 2 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัยนี้

References

1. Office of the Royal Society. Royal Institute Dictionary 2011. Bangkok: Siri Wattana Interprint Co. Ltd.; 2013. p. 28. (in Thai)
2. Department of Thai Traditional and Alternative Medicine. Monographs of Selected Thai Materia Medica Volume 2. Bangkok: Amarin Printing and Publishing Co., Ltd.; 2015. p. 21-5. (in Thai)
3. National List of Essential Medicines B.E. 2019. Published in Government Gazette, Vol. 124, Part 95D. (2019 April 17). (in Thai)
4. Pattamadilok D, Sakpetch A. Isolation of pinostrobin, a chemical marker from fingerroots for quality control purposes. J Thai Trad and Alt Med. 2021;19(2):424-34. (in Thai)
5. Kanjanasiritat P, Suksatu A, Manopwisedjaroen S, Munyoo B, Tuchinda P, Jearawuttanakul K, Seemakhan S, Charoensutthivarakul S, Wongtrakoongate P, Rangkasenee N, Pitiporn S, Waranuch N, Chabang N, Khemawoot P, Sa-ngiamsuntorn K, Pewkliang Y, Thongsri P, Chutipongtanate S, Hongeng S, Borwornpinyo S, Thitithyanant A. High-content screening of Thai medicinal plants reveals *Boesenbergia rotunda* extract and its component panduratin A as anti-SAR-CoV-2 agents. Sci Rep [Open Access] 2020;10(19963). doi: 10.1038/s41598-020-77003-3.
6. Shaikh JR, Patil MK. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: an overview. Int J Chem Stud. 2020;8(2):603-8. doi: 10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834.
7. World Health Organization. Quality Control Method for Herbal Materials. Geneva: WHO Press; 2011. 173 p.