

การตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของใบชะมวง

ธนวัฒน์ ทองจีน^{*}, อัครชัย ช่วยพรหม, สายันท์ เรืองเขตร, ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

^{*} ผู้รับผิดชอบบทความ: thanawat.t@dmsc.mail.go.th

บทคัดย่อ

ชะมวงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia cowa* Roxb. ex Choisy วงศ์ Clusiaceae ใบอ่อนของชะมวงมีรสเปรี้ยว ช่วยระบายท้อง แก้ไข้ กัดฟอกเสมหะ และใช้เป็นอาหาร จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอล (ethanol) จากใบชะมวงยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล สมุนไพรนี้ยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของใบชะมวง โดยรวบรวมตัวอย่างใบชะมวง จำนวน 17 ตัวอย่าง ที่เก็บจากเกือบทุกภาคของประเทศไทย นำมาศึกษาโดยเปรียบเทียบด้วยตัวอย่างจริง 1 ตัวอย่างที่ได้รับมาจากห้องปฏิบัติการฟิสิกส์ภัณฑ์พืช จากการตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี พบว่าให้ผลบวกกับกลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มฟีนอลิก เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง พบว่าให้ผลบวกกับกลุ่มฟลาโวนอยด์ และตรวจพบสารโอเรียนทิน จำนวน 13 ตัวอย่าง เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของใบชะมวงแห้ง ได้แก่ ปริมาณความชื้นด้วยวิธีกราวิเมตริก ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสิ่งสกปรกด้วยน้ำ ปริมาณสิ่งสกปรกด้วยเอทานอล 95% และปริมาณรวมของสารกลุ่มฟีนอลิก คำนวณในรูปกรดแกลลิก ในใบชะมวงแห้ง พบว่ามีค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับร้อยละ 6.98 ± 0.81 , 5.88 ± 1.26 , 0.03 ± 0.03 , 25.02 ± 5.85 , 22.09 ± 6.43 และ 2.36 ± 1.39 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ผลการศึกษานี้นำไปสู่การจัดทำมโนกราฟ ใบชะมวง และสามารถใช้เป็นแนวทางในการกำหนดมาตรฐานของใบชะมวงแห้งในตำรามาตรฐานยาสมุนไพร เพื่อเป็นมาตรฐานอ้างอิงของประเทศต่อไป

คำสำคัญ: ใบชะมวง, คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

The Evaluation of Physico-Chemical Properties of *Garcinia cowa* Roxb. Leaves

Thanawat Thongchin^{*}, Aussavashai Shuayprom, Sayan Ruengkhet, Sakwichai Ontong

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

^{*} **Corresponding author:** thanawat.t@dmisc.mail.go.th

Abstract

Garcinia cowa Roxb. ex Choisy, or *chamuang* in Thai, belongs to Family Clusiaceae. The young leaves of *G. cowa* are sour and used as laxative, antipyretic and mucolytic agents, and also as food. From a preliminary biological test, the ethanolic extract of *G. cowa* leaves inhibited cholesterol absorption. However, the standard methods for quality control guidelines of this plant have not been established in the Thai Herbal Pharmacopoeia. Therefore, the aim of this study was to investigate the physico-chemical properties of *G. cowa* leaves. Seventeen samples of *G. cowa* leaves were obtained from natural sources in Thailand and compared to the authentic sample received from the Herbarium Laboratory. As a result, the properties were shown as follows (mean \pm SD): the moisture, the total ash, the acid-insoluble ash, the water-soluble extractive, the 95% ethanol-soluble extractive and the total polyphenol contents (calculated on a dry basis as gallic acid), using Folin-Ciocalteu's method, were 6.98 \pm 0.81, 5.88 \pm 1.26, 0.03 \pm 0.01, 27.43 \pm 3.47, 22.66 \pm 2.75 and 2.10 \pm 0.53 % w/w, respectively. The thin layer chromatographic identification showed 13 samples were positive to flavonoids and contained orientin. The results of this study have led to the establishment of a monograph and standards of *G. cowa* leaves in the Thai Herbal Pharmacopoeia for use as a reference in Thailand.

Key words: *Garcinia cowa* leaves, physico-chemical properties

บทนำและวัตถุประสงค์

ชะมวง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia cowa* Roxb. ex Choisy จัดอยู่ในวงศ์ Clusiaceae^[1] มีชื่ออื่น ๆ เช่น กะมวง มวงส้ม หมากโมก มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 10 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว ขอบใบเรียบ ใบหนายาว สีเขียวอ่อนถึงสีเขียวอมม่วงแดง ก้านใบยาว 1-2 เซนติเมตร ติ้วใบยาว 18-20 เซนติเมตร ใบออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน มีกลิ่นหอม ดอกขนาดเล็ก ประมาณ 10-15 มิลลิเมตร มี 3 กลีบ กลีบดอกแข็ง

สีนวล มีกลิ่นหอม ออกดอกตามกิ่ง ผลทรงกลม ว่าเป็นพื้ ผลมีเนื้อสีเหลือง รสฝาด ผลสุกสีเหลืองส้ม มีเมล็ดอยู่ภายใน 4-6 เมล็ด เจริญเติบโตได้ดีตามป่าขึ้นทางภาคใต้และภาคตะวันออก อาจพบได้บ้างในเขตภาคกลาง ใบอ่อนของชะมวงมีรสเปรี้ยว มีสรรพคุณยาพื้นบ้านช่วยระบายท้อง แก้ไข้ กัดฟอกเสมหะ แก้ธาตุพิการ^[2] นอกจากนี้ใบอ่อนและยอดอ่อนนิยมนำมาใช้รับประทานเป็นผักจิ้มน้ำพริก หรือนำไปใช้ปรุงอาหาร ประชากรทางภาคใต้และตะวันออกนิยมรับประทานชะมวง โดยนำมาปรุงอาหารให้สุกก่อน เช่น

แกงหมูใบชะมวง แกงใบชะมวงกับเนื้อวัว และอาหารประเภทต้มส้ม เป็นต้น ในปี 2545 มีรายงานการแยกสารกรดอินทรีย์ (organic acids) จากสารสกัดด้วยน้ำของใบชะมวง พบกรดอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ (-)-hydroxycitric acid ในใบ ผล และเปลือกชะมวง โดยมีปริมาณเท่ากับ 1.7%, 2.3% และ 12.7% ตามลำดับ^[3] ต่อมา มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของใบชะมวง พบว่าสารสกัดจากใบชะมวงมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และฤทธิ์ลดไขมันในหลอดเลือดสูง สามารถยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์คาโค 2 (Caco-2) ได้ 14.6% ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮดรอกซีเมทิลกลูตาไรลโคเอนไซม์เอรีดักเตส (hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase) ได้ 97.06% และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แพนครีเอติกไลเปส (pancreatic lipase) ด้วยค่า IC₅₀ 196.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ซีไกลโคไซด์ (flavonoid C-glycoside) 2 ชนิด คือ ไวเทกซิน (vitexin) และโอเรียนทิน (orientin) และสารกลุ่มสเตียรอยด์ (steroids) ได้แก่ เบต้า-ซิโตสเตอรอล (beta-sitosterol) เป็นองค์ประกอบ^[4-5] ในปี 2555 มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและการแยกสารจากใบชะมวง พบว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) จากใบชะมวง ได้แก่ โพลีพรีนิลเวทเบนโซฟีรีโนน (polyprenylated benzophenone) และชะมวงโอน (chamuangone) มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pyogenes* โดยมีความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) เท่ากับ 7.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus viridans* และ *Helicobacter pylori* มี MIC เท่ากับ 15.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

subtilis และ *Enterococcus sp.* มี MIC เท่ากับ 31.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร^[6] และมีรายงานว่าสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดเอทานอล จากใบชะมวงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ^[7]

ปัจจุบันประชาชนมีการบริโภคใบชะมวงอย่างแพร่หลาย และจากข้อมูลการศึกษาทางวิทยาศาสตร์แสดงถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจหลายชนิด แสดงถึงศักยภาพของพืชสมุนไพรชนิดนี้ที่สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ยา หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อช่วยป้องกัน หรือรักษาโรคได้ ซึ่งการนำสมุนไพรไปพัฒนาต่อยอดดังกล่าว องค์การอนามัยโลก^[8] ได้ให้ความสำคัญเรื่องการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรก่อนนำสมุนไพรมาใช้เป็นยาให้มีประสิทธิผลในการรักษาที่ดี มีความปลอดภัยในการใช้และมีประโยชน์เชิงพาณิชย์ ควรทราบรายละเอียดเกี่ยวกับสมุนไพร ตามหัวข้อต่าง ๆ ได้แก่ ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสมุนไพร ข้อกำหนดคุณภาพ ข้อบ่งใช้ ความเป็นพิษ ข้อห้ามใช้ ข้อควรระวัง รวมทั้งรูปแบบและขนาดที่ใช้ เพื่อให้ได้ยาที่มีคุณภาพสม่ำเสมอทุกครั้งที่มีการผลิตและมีความปลอดภัย

เนื่องจากยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของใบชะมวงในประเทศไทย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี ประเมินคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญของใบชะมวง ผลของการศึกษา สามารถนำไปสู่การกำหนดมาตรฐานคุณภาพของสมุนไพรชนิดนี้ต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

1. วัสดุ

1.1 ตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างวัตถุดิบใบชะมวงสด จำนวน 17

ตัวอย่าง ที่เก็บจากเกือบทุกภาคของประเทศไทย ได้แก่ กรุงเทพฯ ตราด จันทบุรี นนทบุรี นครนายก แพร่ ขอนแก่น นครพนม ตรัง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และชุมพร ในช่วงระหว่างเดือน ตุลาคม 2562 ถึงเดือนพฤษภาคม 2563 (ตารางที่ 1) ผ่านการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเภสัชเวชเปรียบเทียบกับตัวอย่างจริง (authentic) จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่ได้จากอำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี ว่าเป็นใบชะมวง *Garcinia cowa* Roxb. วงศ์ Clusiaceae (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ชะมวง (*Garcinia cowa* Roxb.)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างวัตถุดิบใบชะมวงสด จำนวน 17 ตัวอย่าง ถูกรวบรวมจากแหล่งธรรมชาติใน จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย

ตัวอย่างที่	แหล่งธรรมชาติ
1	อำเภอบางเขน จังหวัดกรุงเทพมหานคร
2	อำเภอมะขาม สวนสมุนไพรจันทบุรี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (เก็บครั้งที่ 1)
3	อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี
4	อำเภอมะขาม จังหวัดตราด
5	อำเภอสอยดาว จังหวัดจันทบุรี
6	อำเภอยะยง จังหวัดตรัง
7	อำเภอบ้านนาสาร จังหวัดสุราษฎร์ธานี
8	อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี
9	อำเภอลอง จังหวัดแพร่
10	อำเภอมะขาม จังหวัดระยอง
11	อำเภอบ้านนา จังหวัดนครศรีธรรมราช
12	อำเภอบางใหญ่ จังหวัดนนทบุรี
13	อำเภอมะขาม จังหวัดนครพนม
14	อำเภอบึงสามพัน จังหวัดชุมพร
15	อำเภอมะขาม จังหวัดขอนแก่น
16	อำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก
17	อำเภอมะขาม สวนสมุนไพรจันทบุรี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (เก็บครั้งที่ 2)

โดยนักพฤกษศาสตร์ ห้องปฏิบัติการพิพิธภัณฑ์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร หมายเลขอ้างอิง DMSC 5215 จากนั้นนำมาคัดเลือกเฉพาะใบ ล้างด้วยน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และอบให้แห้งด้วยเตาอบร้อนไฟฟ้าที่มีพัดลมระบายอากาศที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง และนำตัวอย่างที่แห้งแล้วไปบดเป็นผงละเอียด ผ่านร่อนที่มีขนาดช่อง 180 ไมโครเมตร เก็บผงสมุนไพรใบชะมวงในขวดแก้วสีชาที่มีฝาปิดสนิท บรรจุใส่ถุงสุญญากาศ แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และวันที่เตรียมตัวอย่าง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.2 สารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน orientin (Chromadex, purity $\geq 95\%$, lot no. 00015380-404)

1.3 สารเคมีและตัวทำละลาย

ethyl acetate AR (Fisher Scientific, UK), chloroform AR (RCI Labscan Limited, Thailand), glacial acetic acid (Merck, Germany), methanol AR (Merck, Germany), ferric chloride (BDH, UK), hydrochloric acid (Merck, Germany), sulfuric acid (Labscan, Thailand), ethanol AR (RCI Labscan Limited, Thailand), absolute ethanol (RCI Labscan Limited, Thailand), DI

water, diphenylboric acid-2-aminoethyl ester (Sigma-Aldrich), polyethylene glycol 4000 (Sigma-Aldrich)

1.4 วัสดุวิทยาศาสตร์และเครื่องแก้ว

HPTLC Silica gel 60F₂₅₄ Glass plate ขนาด 20 × 10 เซนติเมตร No.1056420001 (Merck, Germany), กระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman, UK), กระดาษกรองปราศจากเถ้าเบอร์ 41 (Whatman, UK) และกระดาษลิตมัส (Merck, Germany), magnesium ribbon, ขวดซิงสาร, ถ้วยกระเบื้อง, ถ้วยระเหย, โถแก้วดูดความชื้น, ขวดแก้วปรับปริมาตร, pasture pipette

1.5 เครื่องมือ

ตู้อบร้อนไฟฟ้ารุ่น UL-50 (memmert), เครื่องบดปั่น รุ่น RT 34 (ChyunTseh Industrial), เครื่องแรง รุ่น AS 200 Basic (Retsch), เครื่องที่มีขนาดช่อง 180 ไมโครเมตร (Endocott), เครื่องระเหยสูญญากาศ ประกอบด้วย rotavapor รุ่น N-1000 (Eyela) และอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิรุ่น SB-1000 (Eyela), เครื่องทำสูญญากาศรุ่น A-3S (Eyela) และเครื่องทำน้ำเย็นหมุนเวียน รุ่น CA-101 (Eyela), เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle furnace, Thermolyne), ชุดเครื่อง TLC densitometer ประกอบด้วยเครื่องพ่นสารตัวอย่าง (Automatic TLC Sampler 4), เครื่องถ่ายภาพโครมาโตกราฟี (TLC Digital camera รุ่น TLC Visualizer 2) และเครื่องตรวจอ่านแผ่น TLC (TLC Scanner 3) ยี่ห้อ CAMAG, เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น GX-6100 (AND) และเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น XT 220A (Precisa)

2. วิธีการศึกษา

การศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมีและคุณภาพทาง

เคมีของตัวอย่างชะมวงที่เตรียม จำนวน 17 ตัวอย่าง ทำโดยวิธีการวิเคราะห์ตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ในการทดสอบแต่ละตัวอย่างทำ 2 ซ้ำ และใช้ค่าทางสถิติในการคำนวณเพื่อหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยใช้วิธีดังต่อไปนี้

2.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมี (chemical identification)

1) ปฏิกริยาการเกิดสี (color reaction)^[9-11]

1.1) Shinoda's test^[9-11]

ซึ่งตัวอย่าง 1 กรัม เติม absolute ethanol 20 มิลลิลิตร นำไปรีฟลักซ์ (reflux) นาน 20 นาที กรอง นำสารละลายที่กรองได้ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เจือจางด้วย absolute ethanol จำนวน 1-2 มิลลิลิตร เติมแผ่นแมกนีเซียม (magnesium ribbon) 2-3 ชิ้น และ hydrochloric acid จำนวน 1 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างอังไอน้ำ 5-10 นาที สังเกตผลที่เกิดขึ้น

1.2) Ferric chloride test^[9-11]

ซึ่งตัวอย่าง 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร นำไป reflux นาน 20 นาที กรอง นำสารละลายที่กรองได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย ferric chloride ความเข้มข้นร้อยละ 10.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในน้ำกลั่น (เตรียมโดยละลาย ferric chloride จำนวน 10 กรัม ในน้ำกลั่น จำนวน 100 มิลลิลิตร^[12]) จำนวน 2-3 หยด สังเกตผลที่เกิดขึ้น

2) โครมาโทกราฟีผิบบาง (Thin Layer Chromatography)

2.1) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ซึ่งตัวอย่าง 1 กรัม เติม absolute ethanol 20 มิลลิลิตร นำไป reflux นาน 20 นาที กรอง ระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ จากนั้นละลายสารที่เหลือ (residue) ด้วย absolute ethanol 3.0

มิลลิเมตร

2.2) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน
ละลายสารมาตรฐาน orientin ให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิเมตร ใน absolute ethanol

2.3) การเตรียมสารละลายทดสอบ (test solution)

แทนเซอร์ลโพรตักส์/โพลีเอทิลีนไกลคอล (Natural Products/Polyethylene Glycol, NP/PEG test solution)^[13]

สารละลายเอ็นพี (NP) เตรียมโดยละลายสาร diphenylboric acid-2-aminoethyl ester ใน methanol ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ส่วนสารละลายพีอีจี (PEG) เตรียมโดยละลายสาร polyethylene glycol 4000 ใน ethanol ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 5.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.4) การเตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase)

เตรียม mobile phase ที่พัฒนาเอง โดยผสม ethyl acetate, glacial acetic acid, formic acid และ DI Water ในอัตราส่วน 100:11:11:27 ให้เข้ากันดี นำมาใส่ในถังโครมาโทกราฟี ทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง ก่อนใช้ เพื่อให้บรรยากาศในถังอิมมัวด้วย mobile phase

ก. วิธีการ

ใช้เครื่อง Automatic TLC Sampler 4 หยดสารละลายตัวอย่าง ทั้ง 17 ตัวอย่าง ชนิดละ 1 ไมโครลิตร และสารละลายมาตรฐาน 1 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นเคลือบซิลิกาเจล ขนาด 20 × 10 เซนติเมตร ความหนา 0.25 มิลลิเมตร ในแนวระดับเดียวกัน (ความยาวของแถบประมาณ 6 มิลลิเมตร) โดยให้ห่างจากขอบล่างของแผ่นประมาณ 15 มิลลิเมตร ห่างจาก

ขอบด้านซ้ายและขวาประมาณ 10 มิลลิเมตร และให้มีระยะห่างระหว่างแถบของสารละลายตัวอย่างแต่ละชนิดไม่น้อยกว่า 4 มิลลิเมตร ผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปวางในถังโครมาโทกราฟีที่อิมมัวด้วย mobile phase ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อ mobile phase ซึมขึ้นไปตามผิวที่ฉาบสูง 8 เซนติเมตร นำแผ่นเคลือบซิลิกาเจล ออกมาผึ่งไว้ให้แห้งในตู้ดูดควัน แล้วนำไปตรวจสอบ

ข. การตรวจสอบ

นำแผ่นเคลือบซิลิกาเจลไปพ่นด้วย สารละลายทดสอบ NP/PEG โดยมีเทคนิคดังนี้ นำแผ่นเคลือบซิลิกาเจลไปทำให้ร้อน ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นพ่นด้วยสารละลาย NP ขณะที่แผ่นเคลือบซิลิกาเจลยังร้อน จากนั้นพ่นทับด้วยสารละลาย PEG ทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศ และสังเกตผลภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet, UV) ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร (ตารางที่ 2 และ 3, ภาพที่ 2)

2.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (physico-chemical properties)^[14]

1) ปริมาณความชื้นด้วยวิธี gravimetric^[14]

ซึ่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้องเป็นทศนิยม 4 ตำแหน่งในขวดซึ่งน้ำหนักที่ทราบ น้ำหนักคงที่ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง และอบต่ออีก 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงในโถแก้วดูดความชื้นที่ใส่ซิลิกาเจล เพื่อหาน้ำหนักคงที่ (หมายถึง น้ำหนักที่ได้จากการชั่ง 2 ครั้ง มีค่าต่างกันไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม โดยการชั่งครั้งที่สองเพื่อหาความแตกต่างของน้ำหนัก จะชั่งภายหลังจากการอบที่ใช้เวลาเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งชั่วโมง) นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณความชื้นโดยคำนวณจากน้ำหนักที่สูญเสียไปเมื่ออบให้แห้ง (ตารางที่ 4)

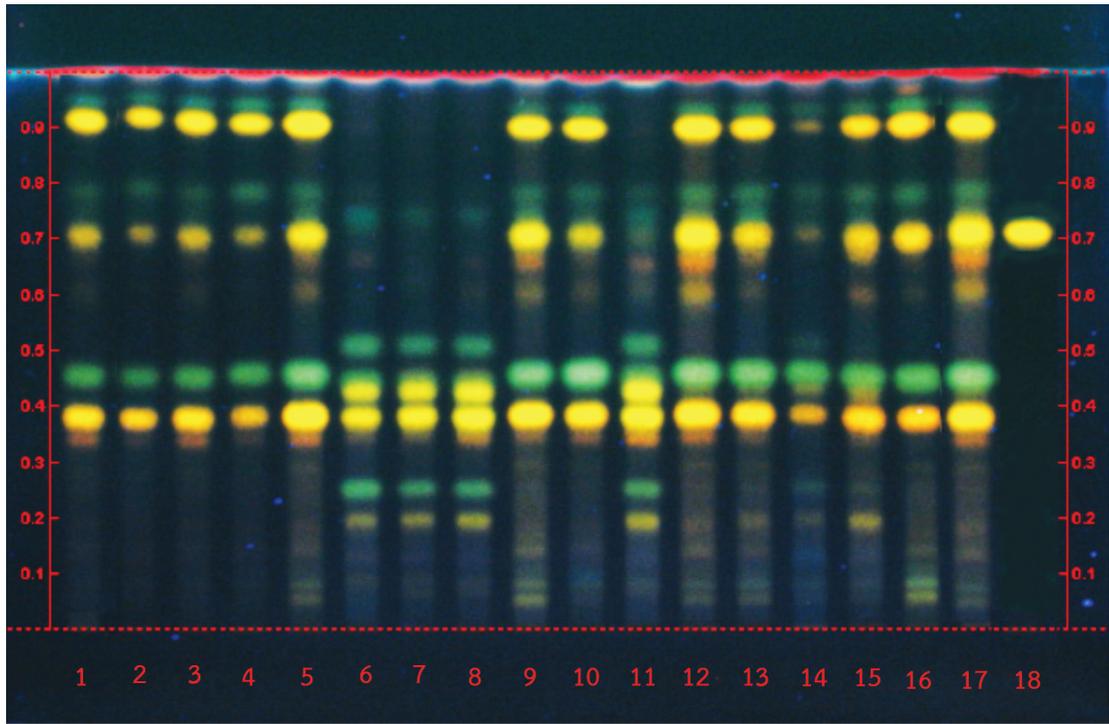
ตารางที่ 2 ค่า hR_f ขององค์ประกอบทางเคมีของแถบสารทั้ง 9 แถบของสารสกัดเอทานอลของใบชะมวงตัวอย่างที่ 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16 และ 17 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

แถบที่	ค่า hR_f	การสังเกตผลภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร หลังจากพ่นด้วยสารละลาย NP/PEG
1	34-35	สีส้ม
2	38-39	สีเหลืองปนส้ม
3	44-45	สีเขียว
4	59-60	สีเหลือง
5	67-68	สีส้ม
6*	69-70	สีเหลือง
7	78-79	สีเขียว
8	89-90	สีเหลือง
9	93-94	สีเขียว

*orientin

ตารางที่ 3 ค่า hR_f ขององค์ประกอบทางเคมีของแถบสารทั้ง 10 แถบของสารสกัดเอทานอลของใบชะมวงตัวอย่างที่ 6, 7, 8 และ 11 เมื่อทดสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography

แถบที่	ค่า hR_f	การสังเกตผลภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร หลังจากพ่นด้วยสารละลาย NP/PEG
1	19-20	สีเหลืองอมเขียว
2	25-26	สีเขียว
3	34-35	สีส้ม
4	38-39	สีเหลือง
5	42-43	สีเหลือง
6	44-45	สีเขียวอมฟ้า
7	50-51	สีเขียวอมฟ้า
8	59-60	สีเหลือง
9	67-68	สีส้ม
10	73-74	สีเขียว



ภาพที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเอทานอลจากใบชะมวง เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography เทียบกับ authentic sample (หมายเลข 5) และสารมาตรฐาน orientin (หมายเลข 18)

2) ปริมาณเถ้ารวม^[14]

ซึ่งตัวอย่างจำนวน 2 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้องเป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง ในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักคงที่ นำไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง โดยค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิเป็น 450 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวที่ปราศจากคาร์บอน ทิ้งไว้ให้เย็นในโถแก้ว ดูดความชื้นที่ใส่ซิลิกาเจล นำไปชั่งน้ำหนัก และเผาต่ออีก 1 ชั่วโมง นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักคงที่นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้ารวม (ตารางที่ 4)

3) ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด^[14]

เติม hydrochloric acid ที่มีความเข้มข้น 2 โมลาร์ จำนวน 25.0 มิลลิลิตร ลงในถ้วยกระเบื้องที่มีเถ้ารวมที่ได้ จากข้อ 2 ปิดด้วยกระจกนาฬิกา ต้มนาน 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า ค่อย ๆ ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนจนน้ำล้างตะกอนมีความเป็นกลาง เมื่อทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส นำเถ้าที่กรองได้และกระดาษกรองใส่ลงในถ้วยกระเบื้องใบเดิม ทำให้แห้งด้วยเตาร้อน เมื่อแห้งแล้วนำไปเผาต่อด้วยเตาเผาอุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (ตารางที่ 4)

4) ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ^[14]

ซึ่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้องเป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำมาหมักด้วยน้ำที่ช่วยให้ต้มตัวด้วย chloroform 100 มิลลิลิตร (เตรียมโดยผสม chloroform 2.5 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำจนครบ 1,000 มิลลิลิตร) ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิทนาน 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรก ให้เขย่าด้วยเครื่องเขย่า ตั้งทิ้งไว้ 18 ชั่วโมง กรอง นำสารละลายที่กรองได้ จำนวน 20.0 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยปากกว้างที่ทราบน้ำหนักคงที่ ระเหยให้แห้งบนอ่างอังไอน้ำ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ (ตารางที่ 4)

5) ปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95%^[14]

ซึ่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้องเป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำมาหมักด้วยเอทานอล 95% จำนวน 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท นาน 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรก ให้เขย่าด้วยเครื่องเขย่า ตั้งทิ้งไว้ 18 ชั่วโมง กรอง นำสารละลายที่กรองได้ จำนวน 20.0 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยปากกว้างที่ทราบน้ำหนักคงที่ ระเหยให้แห้งบนอ่างอังไอน้ำ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% (ตารางที่ 4)

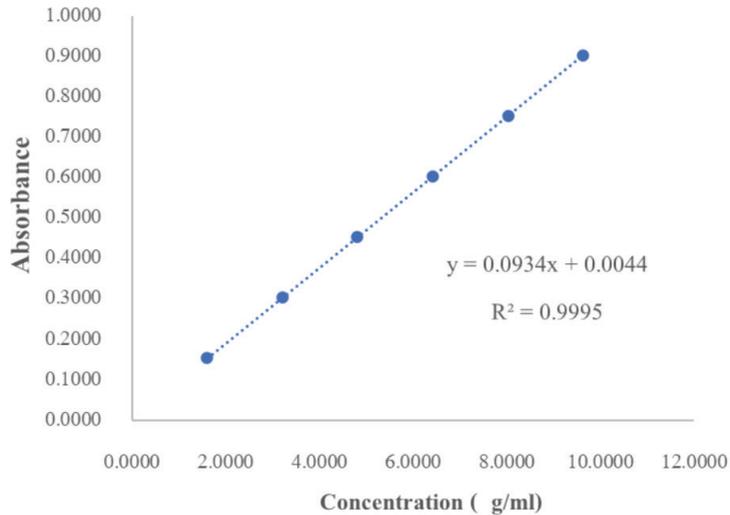
2.3 การศึกษาปริมาณสารสำคัญ (assay)

1) ปริมาณรวมของสาร phenolic คำนวณในรูป gallic acid^[15]

ซึ่งตัวอย่าง 200 มิลลิกรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้อง เป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร นำไปโซนิเคท (sonicate) นาน 30 นาที กรอง ปรับปริมาตร ให้ได้ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำ

จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid โดยให้มีความเข้มข้นของ gallic acid 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำ เตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid เจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1.6, 3.2, 4.8, 6.4, 8.0 และ 9.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำ แล้วปิเปตสารละลายมาตรฐาน gallic acid เจือจางแต่ละความเข้มข้นลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด จำนวน 1.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายเจือจาง Folin-Ciocalteu's phenol reagent ร้อยละ 10.0 โดยปริมาตร จำนวน 4.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 4.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี แล้วนำหลอดทดลองไปแช่ในอ่างอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นแช่ในน้ำที่อุณหภูมิห้องจนเย็นลง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร จำนวน 2 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย (A) เมื่อเปรียบเทียบกับหลอดควบคุมที่ใช้น้ำ 1.0 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเช่นเดียวกัน (C) นำค่าเฉลี่ยของ A-C แล้วนำค่าที่ได้มาแสดงเป็นกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 3) โดยแกน Y เป็นค่าการดูดกลืนแสงของ A-C และแกน X เป็นความเข้มข้นของ gallic acid พบว่ากราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง และมีค่าสัมประสิทธิ์เส้นตรงดังนี้ $Y = 0.0934X + 0.0044$, $R^2 = 0.9995$ สำหรับสารละลายตัวอย่าง ทำซ้ำเช่นเดียวกันกับสารละลายมาตรฐาน โดยให้เจือจางสารละลายตัวอย่างลงห้าเท่า แล้วนำไปคำนวณเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐาน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณรวมของสาร phenolic คำนวณในรูป gallic acid ในใบชะมวงแห้ง (ตารางที่ 4)

Calibration Curve of Gallic Acid



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานของ gallic acid

ตารางที่ 4 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของใบชะมวงแห้ง

ตัวอย่างที่	ปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนัก)	ปริมาณเถ้ารวม (% โดยน้ำหนัก)	ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (% โดยน้ำหนัก)	ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ (% โดยน้ำหนัก)	ปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% (% โดยน้ำหนัก)	ปริมาณรวมของสาร phenolic ในรูป gallic acid (% โดยน้ำหนัก)
1	5.86	6.18	0.07	24.34	16.92	1.22
2	6.54	5.69	0.04	15.90	10.45	1.07
3	6.89	4.99	0.02	17.17	14.78	4.18
4	7.16	6.66	0.02	18.23	11.18	1.61
5	7.24	5.90	0.02	22.82	18.38	2.16
6	5.93	6.66	0.02	29.67	25.02	1.56
7	5.38	7.13	0.02	27.60	22.15	1.69
8	5.94	6.99	0.02	23.35	23.20	2.62
9	8.08	6.72	0.04	36.83	32.42	2.62
10	8.38	5.08	0.05	20.02	23.57	4.73
11	6.99	6.71	0.04	27.69	26.30	2.36
12	7.39	4.64	0.03	32.73	34.73	6.06
13	7.68	3.72	0.00	21.51	22.46	2.14
14	7.09	7.37	0.12	32.28	24.60	1.13
15	7.46	7.56	0.03	25.56	22.55	2.24
16	7.31	3.76	0.03	28.23	25.25	1.36
17	7.34	4.28	0.01	21.37	21.52	1.38
ค่าเฉลี่ย	6.98	5.88	0.03	25.02	22.09	2.36
SD	0.81	1.26	0.03	5.85	6.43	1.39
10%	0.70	0.59	0.003	2.50	2.21	0.24

หมายเหตุ : 10% หมายถึง 10% ของค่าเฉลี่ย

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

ผลการศึกษา

จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีของสารสกัดด้วยตัวทำละลายจากใบชะมวงแห้ง พบว่าเมื่อเติม magnesium ribbon และทดสอบด้วยการทำปฏิกิริยากับ hydrochloric acid ทุกตัวอย่างเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดงแกมชมพู แสดงว่าให้ผลบวกกับสารกลุ่ม flavonoids และการทดสอบด้วยสารละลาย ferric chloride ทุกตัวอย่างเปลี่ยนจากสีเหลืองแกมน้ำตาลเป็นสีน้ำเงินแกมดำ แสดงว่าให้ผลบวกกับสารกลุ่ม phenolic

ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีของใบชะมวงมีสารกลุ่ม flavonoids และ phenolic เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี Thin Layer Chromatography โดยตรวจสอบด้วยการนำแผ่นเคลือบซิลิกาเจลไปทำให้ร้อนด้วยเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วทำปฏิกิริยากับสารละลายทดสอบ NP/PEG และสังเกตผลด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร จะให้แถบสารสีส้ม สีเหลือง สีเหลืองปนส้ม และสีเขียว รวมกันทั้งหมด 9 แถบ โดยมีตัวอย่างจำนวน 13 ตัวอย่าง ให้ผลโครมาโทแกรมที่มีลักษณะเหมือนกัน โดยอาจแตกต่างกันเพียงแต่ปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในแต่ละชนิด คือสังเกตได้จากความเข้มของแถบสารแต่ละชนิดที่ปรากฏในแต่ละตัวอย่างไม่เท่ากัน และตัวอย่างทั้ง 13 ตัวอย่าง ตรวจพบสาร orientin สำหรับตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่าง ที่เก็บมาจากจังหวัดทางภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดตรัง

จังหวัดสุราษฎร์ธานี และจังหวัดนครศรีธรรมราช มีโครมาโทแกรมต่างไปจาก 13 ตัวอย่าง ที่กล่าวมาข้างต้น คือ ให้แถบสารสีส้ม สีเหลือง สีเหลืองปนส้ม และสีเขียว รวมกันทั้งหมด 10 แถบ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างของสายพันธุ์ อายุต้นสมุนไพร ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว สภาพดินและแร่ธาตุ หรืออาจจะเป็นเพราะสภาพภูมิประเทศหรือภูมิอากาศ ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป (ตารางที่ 2 ตารางที่ 3 และภาพที่ 2)

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของใบชะมวงแห้ง โดยการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยวิธี gravimetric ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% และปริมาณรวมของสาร phenolic จำนวนในรูป gallic acid (ตารางที่ 4) โดยค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยซึ่งได้จากการทำการทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง จากผลการศึกษาดังกล่าว พบว่ามีค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ ร้อยละ 6.98 ± 0.81 , 5.88 ± 1.26 , 0.03 ± 0.03 , 25.02 ± 5.85 , 22.09 ± 6.43 และ 2.36 ± 1.39 โดยน้ำหนักตามลำดับ (ตารางที่ 5)

การกำหนดข้อกำหนดมาตรฐาน โดยกำหนดเกณฑ์สูงสุดจาก ค่าเฉลี่ย+10% สำหรับปริมาณที่ระบุว่า “ไม่เกิน” และเกณฑ์ต่ำสุดจาก ค่าเฉลี่ย-10% สำหรับปริมาณที่ระบุว่า “ไม่น้อยกว่า” ดังนั้น จะได้ข้อกำหนดคุณภาพของใบชะมวงที่ควรจะเป็นได้ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ข้อกำหนดคุณภาพของใบชะมวงแห้ง

คุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมี	ค่าเฉลี่ย \pm SD	เกณฑ์กำหนด		ข้อกำหนดคุณภาพ
		ค่าสูงสุด (ค่าเฉลี่ย + 10%)	ค่าต่ำสุด (ค่าเฉลี่ย - 10%)	
ปริมาณความชื้น	6.98 \pm 0.81	7.68	-	ไม่เกิน 8% โดยน้ำหนัก
ปริมาณเถ้ารวม	5.88 \pm 1.26	6.47	-	ไม่เกิน 7% โดยน้ำหนัก
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด	0.03 \pm 0.03	0.03	-	ไม่เกิน 1% โดยน้ำหนัก
ปริมาณสิ่งสกปรกด้วยน้ำ	25.02 \pm 5.85	-	22.52	ไม่น้อยกว่า 23% โดยน้ำหนัก
ปริมาณสิ่งสกปรกด้วยเอทานอล 95%	22.09 \pm 6.43	-	19.88	ไม่น้อยกว่า 20% โดยน้ำหนัก
ปริมาณรวมของสาร phenolic คำนวณในรูป gallic acid	2.36 \pm 1.39	-	2.12	ไม่น้อยกว่า 2% โดยน้ำหนัก

อภิปรายผล

การศึกษานี้มีความสำคัญเนื่องจากจะนำไปสู่การกำหนดมาตรฐานของใบชะมวงของประเทศไทย เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรชนิดนี้ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการผลิตยาหรือผลิตภัณฑ์สุขภาพ ซึ่งประกอบด้วย 1) การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีของใบชะมวงโดย color reaction และ Thin Layer Chromatography เพื่อตรวจสอบว่าเป็นสมุนไพรชนิด และ 2) การประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีเพื่อกำหนดเป็นข้อกำหนดคุณภาพสำหรับใบชะมวง ผลจากการศึกษานี้จะเสนอเข้าสู่การพิจารณาบรรจุเป็นมอโนกราฟในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยต่อไป การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีของใบชะมวงจะอาศัยปฏิกิริยาเคมีที่สัมพันธ์กับกลุ่มสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในใบชะมวง ปฏิกิริยา Shinoda's test เป็นการทดสอบสารกลุ่ม flavonoids ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในใบชะมวง เช่น orientin และ vitexin เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในอดีต ผลบวกของปฏิกิริยาคือ สารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดงแกมชมพู ส่วน

ปฏิกิริยา Ferric chloride test เป็นการทดสอบสารกลุ่ม phenolic ผลบวกของปฏิกิริยา คือ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองแกมน้ำตาลเป็นสีน้ำเงินแกมดำ จากผลการทดสอบนี้แสดงว่าใบชะมวงแห้งมีองค์ประกอบทางเคมีกลุ่ม flavonoids และ phenolic ตามลำดับ จากการทบทวนรายงานการศึกษา พบว่าสาร orientin ซึ่งเป็นสารกลุ่ม flavonoids มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจหลายชนิด เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์^[4] ฤทธิ์ยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Hydroxy-methyl-glutaryl-Coenzyme A reductase และฤทธิ์ลดไขมันในหลอดเลือด สามารถยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ Caco-2 ได้ 14.6% ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Hydroxy-methyl-glutaryl-Coenzyme A reductase ได้ 97.06% และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ด้วยค่า IC₅₀ 196.60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และพบสารกลุ่ม flavonoid C-glycoside 2 ชนิด คือ vitexin และ orientin และสารกลุ่ม steroids ได้แก่ beta-

sitosterol เป็นองค์ประกอบ^[6] ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เลือกใช้สาร orientin เป็นสารเทียบ (marker) ในการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของใบชะมวงแห้ง สำหรับผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี Thin Layer Chromatography โดยทำปฏิกิริยากับสารละลายทดสอบ NP/PEG ซึ่งเป็นสารเคมีที่ให้ผลบวกในการทำปฏิกิริยากับสารกลุ่ม flavonoids จากผลการทดสอบ พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากใบชะมวงแห้งมีองค์ประกอบทางเคมี 10 ชนิด และพบว่า มีตัวอย่าง จำนวน 13 ตัวอย่าง ตรวจพบสารที่มีค่า hR_f และสีตรงกันกับสารมาตรฐาน orientin ที่ค่า hR_f เท่ากับ 71-72 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2) สำหรับตัวอย่างใบชะมวง จำนวน 4 ตัวอย่าง ที่เก็บมาจากจังหวัดทางภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดตรัง จังหวัดสุราษฎร์ธานี และจังหวัดนครศรีธรรมราช นั้น ได้ผ่านการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเภสัชเวชแล้วว่าเป็นใบชะมวงจริง แต่เป็นอีกสายพันธุ์หนึ่ง โดยนักพฤกษศาสตร์ ห้องปฏิบัติการพิพิธภัณฑ์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร มีโครมาโทแกรมต่างไปจาก 13 ตัวอย่าง ที่กล่าวมาข้างต้น ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะความแตกต่างของสายพันธุ์ อายุต้นสมุนไพร ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว สภาพดินและแร่ธาตุ หรืออาจจะเป็นเพราะสภาพภูมิประเทศหรือภูมิอากาศ ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป

การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของใบชะมวง ปริมาณความชื้นด้วยวิธี gravimetric ปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด การกำหนดปริมาณความชื้นมีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพทางเคมีเนื่องจากความชื้นมีผลต่อความคงสภาพของตัวอย่าง ถ้ามีความชื้นมากจะทำให้สมุนไพรเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อราได้ง่าย รวมทั้งอาจเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยน้ำ (hydrolysis) ทำให้องค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ส่วนเถ้า

นั้น หมายถึง สิ่งที่คงเหลืออยู่จากการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ เถ้าของพืชส่วนใหญ่ประกอบด้วยคาร์บอน (carbonate) ฟอสเฟต (phosphate) คลอไรด์ (chloride) และซัลเฟต (sulphate) ปริมาณเถ้ารวม เป็นการบ่งบอกถึงคุณสมบัติทางกายภาพของสมุนไพรตามธรรมชาติ เถ้าของพืชมีการละลายได้ดีใน hydrochloric acid มีสารคงเหลือจากการเผาไหม้น้อย การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดจึงเป็นวิธีตรวจสอบสิ่งแปลกปลอมที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น หิน กรวด หรือทราย ที่เกิดขึ้น ในกระบวนการเก็บเกี่ยวและทำความสะอาด หรืออาจมีสิ่งแปลกปลอมที่ได้จากปุ๋ยเคมี การกำหนดมาตรฐานปริมาณเหล่านี้จึงต้องระบุว่า “ไม่เกิน” โดยทั่วไปสมุนไพรไม่ควรมีความชื้นมากกว่าร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ปริมาณเถ้ารวมจะมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 1-20 โดยน้ำหนัก และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดจะมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 1-10 โดยน้ำหนัก^[16-21] ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย ในการศึกษาที่เลือกใช้น้ำและเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นสิ่งบ่งชี้ถึงคุณภาพทางเคมี เนื่องจากบ่งชี้ถึงสารที่ออกฤทธิ์หรือกลุ่มของสารออกฤทธิ์หรือสารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายแล้วนำไปใช้ประโยชน์ทางยาได้ การหาปริมาณสารสำคัญในใบชะมวงแห้งในการศึกษาที่ได้วิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลรวม เนื่องจากสารกลุ่ม phenolic ในสารสกัดใบชะมวงเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ^[7] การกำหนดมาตรฐานปริมาณเหล่านี้จึงต้องระบุว่า “ไม่น้อยกว่า” จากผลการทดสอบเมื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีในใบชะมวงแห้ง จำนวน 17 ตัวอย่าง โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยวิธี gravimetric ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสิ่งสกัด

ด้วยน้ำ ปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% และ ปริมาณรวมของสาร phenolic คำนวณในรูป gallic acid ในสภาวะที่ทำให้แห้ง (on dried-basis) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's พบว่ามีค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD) เท่ากับ ร้อยละ 6.98 ± 0.81 , 5.88 ± 1.26 , 0.03 ± 0.03 , 25.02 ± 5.85 , 22.09 ± 6.43 และ 2.36 ± 1.39 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ทั้งนี้ การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของ ใบชะมวงแห้งในวิธีการต่าง ๆ ที่กล่าวมา ค่าที่นำมา ใช้ในการจัดทำเกณฑ์หรือข้อกำหนดทางเคมีได้จากการคำนวณทางสถิติ โดยแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย $+10\%$ สำหรับเกณฑ์สูงสุดที่ยอมรับได้ ที่ระบุว่า “ไม่เกิน” เช่น ปริมาณความชื้นด้วยวิธี gravimetric ปริมาณ เถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด และแสดง เป็นค่าเฉลี่ย -10% สำหรับเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับได้ ที่ระบุว่า “ไม่น้อยกว่า” เช่น ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% และปริมาณรวม ของสาร phenolic คำนวณในรูป gallic acid (on dried-basis) (ตารางที่ 5)

ผลจากการศึกษานี้สามารถเสนอเข้าสู่การ พิจารณาบรรจุเป็นมอโนกราฟ (monograph) ของ วัตถุดิบสมุนไพรใบชะมวงในตำรามาตรฐานยา สมุนไพรไทย เพื่อเป็นตำราอ้างอิงของประเทศต่อไป

ข้อสรุป

จากผลการศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมีเบื้องต้น ด้วยปฏิบัติการเกิดสีพบว่าใบชะมวงแห้งทุกตัวอย่าง ให้ผลบวกกับกลุ่ม flavonoids และ phenolic จาก ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี Thin Layer Chromatography พบว่าตัวอย่างจำนวน 13 ตัวอย่าง ให้ผลบวกกับกลุ่ม flavonoids และตรวจพบสาร orientin จากผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและ

ทางเคมี พบว่าเกณฑ์ข้อกำหนดทางกายภาพและทาง เคมีของใบชะมวงแห้งควรเป็นดังนี้ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ควรมีค่าไม่เกินร้อยละ 8, 7 และ 1 โดยน้ำหนัก ตาม ลำดับ สำหรับปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสิ่ง สกัดด้วยเอทานอล 95% ควรมีค่าไม่น้อยกว่าร้อยละ 23.0 และ 20.0 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และปริมาณ รวมของสาร phenolic คำนวณในรูป gallic acid (on dried-basis) ควรมีค่าไม่น้อยกว่าร้อยละ 2.0 โดยน้ำหนัก (ตารางที่ 5) ผลจากการศึกษานี้สามารถ ใช้เป็นแนวทางในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานทาง เคมีของใบชะมวงแห้งในตำรามาตรฐานยาสมุนไพร ไทย เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของใบชะมวงใน ประเทศไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในห้องปฏิบัติการ การวิจัยเพื่อแยกสารสำคัญจากสมุนไพร และห้อง ปฏิบัติการพิษภยันต์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร และ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ให้การสนับสนุนในการ ศึกษา

References

1. Office of Forest Herbarium, Forest and Plant Conservation Research Office, Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation. Tem Smitinand's Thai plant names. 2001 revised edition. Bangkok: National Office of Buddhism Printing House; 2001. 71 p. (in Thai)
2. Boonyaprapat N, Chokchaicharoenporn O. Medicinal plants indigenous to Thailand. Bangkok: Prachachon; 1996. 1(1): p. 761. (in Thai)
3. Jena BS, Jayaprakasha GK, Sakariah KK. Organic acids from leaves, fruits, and rinds of *Garcinia cowa*. J Agric Food Chem. 2002;50(12):3431-4.
4. Pattamadilok D, Setakanna P, Kamphonchaidech S, Anulakkanapakorn K, Wongsinkongman P. Chemical

- constituent of *Garcinia cowa* leaves extract. J Thai Trad Alt Med. 2009;7(2 Supplement):135. (in Thai)
5. Pattamadilok D, Niomsakul S, Limpeanchob N, Ingkaninan K, Wongsinkongman P. Chemical constituents and anti-hyperlipidemic activity of *Garcinia cowa* leaves. J Thai Trad Alt Med. 2010;8(2-3):158. (in Thai)
 6. Sakunpak A, Panichayupakaranant P. Antibacterial activity of Thai edible plants against gastrointestinal pathogenic bacteria and isolation of a new broad spectrum antibacterial polyisoprenylated benzophenone, chamuangone. Food Chemistry. 2012;130(4):826-31.
 7. Saenprakob P. Total phenolic contents and antioxidant activities of local edible plants in Roi Et province. Thai Agricultural Research Journal. 2018;36(3):293-301. (in Thai)
 8. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: WHO; 1998.
 9. Osman ME, Ahmed EM, Eltohami MS. Preliminary phytochemical evaluation and seed proximate analysis of Surib (*Sesbania leptocarpa* DC.). Sudan JMS. 2013;8(1):29-34.
 10. Department of Medical Sciences. Thai Herbal Pharmacopoeia. Volume II. Bangkok: Prachachon; 2007.
 11. Ahuja J, Suresh J, Deep A, Madhuri, Pratyusha, Ravi. Phytochemical screening of aerial parts of *Artemisia parviflora* Roxb.: A medicinal plant. Der Pharm. Lett. 2011;3(6):116-24.
 12. Deachathai S, Mahabusarakam W, Phongpaichit S, Taylor WC. Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*. Phytochemistry. 2005;66(19):2368-75.
 13. Jansakul C, Srichanbarn A, Saelee A. Some pharmacological studies of a hypotensive fraction from *Derris scandens*. J. Sci. Soc. Thailand. 1997;23:323-34.
 14. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Herbal Pharmacopoeia 2018. Bangkok: Keawjawjom Printing & Publishing SuanSunandhaRajabhat University; 2018.
 15. Everette JD, Bryant QM, Green AM, Abbey YA, Wangila GW, Walker RB. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. J Agric Food Chem. 2010;58(14):8139-44.
 16. Plant Research and Development Division. Inspection methods to control quality and standardization. In: Herbal Guide to Basic Public Health. Department of Medical Sciences, Bangkok: Text and Journal Corporation Co., Ltd.; 1988. p. 17-9. (in Thai)
 17. Evans WC. Trease and Evans' Pharmacognosy. 13th ed. London: Bailliere Tindall; 1989. p. 39-57, 127-9.
 18. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Herbal Pharmacopoeia. Volume I. Bangkok: Prachachon Co.Ltd.; 1995.
 19. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Herbal Pharmacopoeia. Volume II. Bangkok: Prachachon Co.Ltd.; 2000.
 20. Drug Control Division, Food and Drug Administration. Guidelines for quality control of medicinal products from herbs. Bangkok: Agricultural Cooperative Assembly Printing Company of Thailand Limited; 2005.
 21. Jirawattanapong W. Quality control and herbal standardization. Chemical quality of herbs. Volume I. Nonthaburi: Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences; 2007. p. 1-6. (in Thai)