

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดอกดาหลา

สายัณห์ เรืองเขตร*, ธนวัฒน์ ทองจีน, อัสวชัย ช่วยพรหม, ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง นนทบุรี 11000

*ผู้รับผิดชอบบทความ: ruengkhetayan@gmail.com

บทคัดย่อ

บทนำและวัตถุประสงค์: ดาหลามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith วงศ์ Zingiberaceae มีรายงานว่าดาหลามีสรรพคุณทางยา ช่วยแก้โรคลมพิษ โรคผิวหนัง และต้านอนุมูลอิสระ สมุนไพรชนิดนี้ยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการควบคุมคุณภาพ ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดอกดาหลา

วิธีการศึกษา: รวบรวมตัวอย่างดอกดาหลา จำนวน 12 ตัวอย่าง จากแหล่งธรรมชาติของประเทศไทยนำมาศึกษาโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างจริง 1 ตัวอย่างที่ได้รับมาจากห้องปฏิบัติการพิษวิทยาพืช นำตัวอย่างดอกดาหลามาตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี พิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง และศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

ผลการศึกษา: ผลการตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี พบว่าให้ผลบวกกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิกและกรดอะมิโน เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง พบว่าให้ผลบวกกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และตรวจพบกรดคลอโรจีนิค จำนวน 11 ตัวอย่าง การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดอกดาหลา ได้แก่ ปริมาณความชื้นด้วยวิธีกราวิเมตริก ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% พบว่ามีค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับร้อยละ 9.05 ± 2.79 , 9.34 ± 0.53 , 0.20 ± 0.06 , 19.87 ± 3.45 และ 13.24 ± 1.90 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

อภิปรายผล: ตัวอย่างดอกดาหลาที่เก็บมาจากอำเภอบาง จังหวัดยะลา มีโครมาโทแกรมต่างไปจากตัวอย่างดอกดาหลาทั้ง 11 ตัวอย่าง คือมีองค์ประกอบทางเคมี 1 ชนิด และตรวจไม่พบกรดคลอโรจีนิค ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างของสายพันธุ์ อายุต้นสมุนไพร ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว สภาพดิน แร่ธาตุ สภาพภูมิประเทศหรือภูมิอากาศ

ข้อสรุป: ผลการศึกษานี้นำไปสู่การจัดทำมโนกราฟดอกดาหลาและสามารถใช้เป็นแนวทางในการกำหนดมาตรฐานของดอกดาหลาในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย เพื่อเป็นมาตรฐานอ้างอิงของประเทศต่อไป

คำสำคัญ: ดอกดาหลา, คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี, ข้อกำหนดมาตรฐาน

Physico-Chemical Properties of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith. Flowers

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

Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health,

Talat Khwan Subdistrict, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand

^{*}Corresponding author: sopidawan@gmail.com

Abstract

Introduction and Objective: *Dala* in Thai, scientifically known as *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith, belongs to the Family Zingiberaceae. It has been reported that *dala* is an antioxidant and has medicinal properties to cure hives and other skin diseases. However, the standard methods for quality control of this plant have not been established in Thai Herbal Pharmacopoeia. This study aimed to investigate the physico-chemical properties of *E. elatior* flowers.

Methods: Twelve samples of *E. elatior* flowers were obtained from natural sources in Thailand and compared to the authentic sample received from the Herbarium Laboratory. Samples of *E. elatior* flowers were preliminarily examined for chemical properties using color reaction. Chemical identification was performed using the thin layer chromatography (TLC) method and their physico-chemical properties were also determined.

Results: Of all 12 flower samples, based on the color reactions of the preliminary chemical examination, 11 were positive when tested for flavonoids and phenolic as well as amino acids; and based on the TLC method, they were positive to flavonoids and chlorogenic acid. As for their physico-chemical property tests including gravimetric method, their mean amounts $\pm$ SD for moisture, total ash, acid-insoluble ash, water-soluble extractive and 95% ethanol-soluble extractive were $9.05 \pm 2.79\%$, $9.34 \pm 0.53\%$, $0.20 \pm 0.06\%$, $19.87 \pm 3.45\%$ and $13.24 \pm 1.90\%$ w/w, respectively.

Discussion: One sample of *E. elatior* flowers collected from Betong district in Yala province had a chromatogram different from the other 11 samples. It had one chemical compound, but chlorogenic acid was not detected, possibly due to differences in species, herb age, harvest time, soil conditions, mineral contents, terrain or climate.

Conclusion and Recommendation: The results have led to the establishment of a monograph that contains standard specifications of *dala* flowers in the Thai Herbal Pharmacopoeia, which will be used as a reference in the country.

Key words: *Etlingera elatior* flowers, physico-chemical properties, monograph

บทนำและวัตถุประสงค์

ดาหลา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่ออื่น ๆ เช่น กะลา กาลา ดาหลา ดาหลาขาว เป็นต้น^[1] เป็นพืชที่มีลักษณะคล้ายข่ามีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า (rhizome) เหง้าเป็นบริเวณที่เกิดของหน่อดอกและหน่อต้น ส่วนลำต้นเหนือดินเป็น

กาบใบที่โอบซ้อนกันแน่น เช่นเดียวกับพวกกล้วย ส่วนนี้คือลำต้นเทียม (pseudo stem) ลำต้นเหนือดินสูง 2-3 เมตร มีสีเขียวเข้ม ใบมีรูปร่างยาวรี กลางใบกว้างแล้วค่อย ๆ เรียวไปหาปลายใบและฐานใบ ใบไม่มีก้านผิวเกลี้ยงทั้งด้านบนและด้านล่าง ใบยาว 30-80 เซนติเมตร กว้าง 10-15 เซนติเมตร ส่วนดอกเป็นดอกช่อมีลักษณะดอกแบบ head ประกอบด้วย

กลีบประดับ (bracts) มี 2 ขนาด ส่วนโคนประกอบด้วยกลีบประดับขนาดใหญ่ จะมีสีแดงชลิบขาวเรียงซ้อนกันอยู่และจะบานออก กลีบประดับขนาดเล็กอยู่ส่วนบนของช่อดอกมีสีเดียวกับกลีบประดับขนาดใหญ่ กลีบประดับเล็กนี้จะหุบเข้าเรียงเป็นระดับภายในกลีบประดับขนาดใหญ่ที่บานออกจะมีดอกขนาดเล็กกลีบดอกสีแดง ซึ่งเป็นดอกสมบูรณ์เพศอยู่จำนวนมาก ดอกบานเต็มที่จะมีขนาดความกว้างดอกประมาณ 14-16 เซนติเมตร ลักษณะก้านช่อดอกแข็งตั้งตรง ดอกจะพัฒนามาจากหน่อดอกที่แทงออกมาจากเหง้าใต้ดิน ลักษณะของหน่อจะมีสีชมพูที่ปลายหน่อ^[2] (Figure 1) ดาหลาเป็นพืชสมุนไพรที่มีการปลูกมาเป็นระยะเวลานานแล้วในภาคใต้ของไทย ซึ่งเดิมได้มีการนำหน่ออ่อนและดอกมาใช้เป็นผักสำหรับประกอบอาหารพื้นเมือง คือ ข้าวยา และเชื่อกันว่าเป็นสมุนไพรที่สามารถรักษาโรคกระเพาะอาหารได้อีกด้วย แต่ปัจจุบันมีการนำมาปลูกเพื่อใช้ประโยชน์ในการเป็นไม้ตัดดอก และปลูกตกแต่งเป็นพืชสวนประดับ^[3] มีรายงานจากงานวิจัยว่าดาหลาเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์มาก เนื่องจากมีสรรพคุณทางยา ช่วยแก้

ลมพิษ โรคผิวหนัง และยังมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูง ประกอบด้วยฟีนอลิก 462.51 มิลลิกรัม GAE/100 กรัม, เบต้า-แคโรทีน 2.096 ไมโครกรัม/100 กรัม, วิตามินอี 62.031 ไมโครกรัม/100 กรัม, วิตามินซี 89.683 ไมโครกรัม/100 กรัม และมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ได้เป็นอย่างดี^[4]

จากรายงานการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าดาหลามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ^[5-6] ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนส (collagenase) และไทโรซิเนส (tyrosinase)^[7] เป็นต้น Haleagrahara และคณะ (ค.ศ. 2010) พบว่าสารฟีนอลิกและแอนโทไซยานิน ที่พบในดาหลามีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง^[5] Chan และคณะ (ค.ศ. 2011) ได้รายงานผลการศึกษาพบว่าองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของดาหลาคือ คาเฟอิลควินิกแอซิด (caffeoylquinic acid), คลอโรจีนิกแอซิด (chlorogenic acid) , เควอซีทิน (quercetin) และไอโซเควอซีทิน (iso-quercetin)^[6] Nithitanakool และคณะ (ค.ศ. 2014) พบว่าสารฟิ

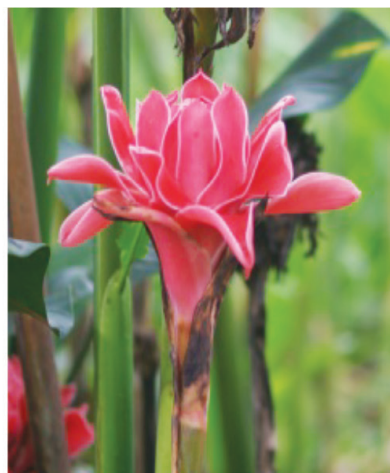
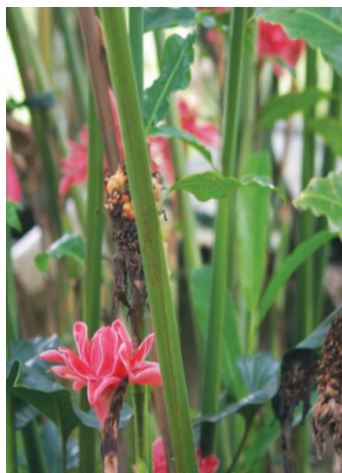


Figure 1 *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith

นอลิกและแอนโทไซยานินในดาหลา มีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนสและไทโรซิเนสที่เป็นสาเหตุทำให้ผิวหนังเกิดรอยเหี่ยวย่นและหมองคล้ำ^[7] Muangkaewngam และคณะ (ค.ศ. 2016) พบว่าการตรวจสอบด้วยวิธีการทางพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบของทั้ง 5 ส่วน คือสารสกัดหยาบที่สกัดจาก ลำต้น ใบ ดอก เหง้า และรากของดาหลาด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ เฮกเซน (hexane), ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane), อะซิโตน (acetone), เมทานอล (methanol) และเอทานอล (ethanol) พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลจากทุกส่วนของดาหลาจะมีองค์ประกอบของสารทั้ง 7 ชนิด คือ อัลคาลอยด์ (alkaloids), ฟลาโวนอยด์ (flavonoids), ฟีนอล (phenols), ไกลโคไซด์ (glycosides), เทอร์ปีนอยด์ (terpenoids), แทนนิน (tannins) และซาโปนิน (saponins)^[8] Rungruang และคณะ (ค.ศ. 2018) ได้รายงานผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกดาหลา พบว่าการสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 818.69 ± 85.37 มิลลิกรัม GAE/100 กรัมของตัวอย่างสารสกัด รองลงมาคือสกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 210.82 ± 8.59 มิลลิกรัม GAE/100 กรัมของตัวอย่างสารสกัด^[9] Kaew-on (ค.ศ. 2018) ได้รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบดาหลาสวนราก เหง้า ลำต้น ใบ และดอกในปิโตรเลียมอีเทอร์ เอธิลอะซิเตท และเอทานอล ตามลำดับ ความมีชีวิตต่อแบคทีเรียก่อโรค 7 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* O157:H7, *E. coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* S003, *S. typhimurium* TISTR 292, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Pectobacterium carotovorum* และ *Xanthomonas campestris*

pv. campestris ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าส่วนของดาหลาและชนิดของตัวทำละลายมีส่วนร่วมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ สารสกัดหยาบในเอธิลอะซิเตทและเอทานอลของดาหลาทุกส่วนยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด โดยสารสกัดหยาบราก ลำต้นและใบ ในเอธิลอะซิเตทเหมาะสมที่สุดต่อการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกชนิดยกเว้น *S. typhimurium* TISTR 292 ซึ่งสารสกัดหยาบเหง้าในปิโตรเลียมอีเทอร์และรากในเอทานอลยับยั้งได้ดีกว่า^[10]

ประเทศไทยมีการนำดอกดาหลามาบริโภคเป็นอาหารประจำวันอย่างแพร่หลาย ภาคใต้นิยมนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรผสมในข้าวยา ดอกตูมและหน่ออ่อนนำไปปรุงอาหาร ได้รสชาติเผ็ดซ่าอ่อน ๆ กลิ่นหอมเด่นเป็นเอกลักษณ์ และจากข้อมูลการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ข้างต้นแสดงถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของดาหลาที่น่าสนใจหลายชนิด มีศักยภาพสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ยาโรค ผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ หรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ ทำให้ข้อมูลในการควบคุมคุณภาพทางเคมีของวัตถุดิบดอกดาหลาเป็นสิ่งจำเป็น แต่ปัจจุบันข้อมูลดังกล่าวยังมีอยู่น้อยมาก จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาคุณภาพทางเคมีของดอกดาหลา เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพของดอกดาหลาและผลิตภัณฑ์จากดอกดาหลาต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

1. วัสดุ

1.1 ตัวอย่างสมุนไพร

ตัวอย่างวัตถุดิบดอกดาหลาสตรระยะดอกบาน

แล้วประมาณ 1-2 วัน จำนวน 12 ตัวอย่าง ที่เก็บจากเกือบทุกภาคของประเทศไทย ได้แก่ เพชรบุรี ชุมพร ยะลา พัทลุง ปัตตานี นราธิวาส จันทบุรี และสระแก้ว ในช่วงระหว่างเดือนมกราคม 2563 ถึงเดือนพฤษภาคม 2564 (Table 1) ผ่านการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเภสัชเวชเปรียบเทียบกับตัวอย่างจริง (authentic) จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่ได้จากอำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี ว่าเป็นดอกดาหลา *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith วงศ์ Zingiberaceae (Figure 1) โดยนักพฤกษศาสตร์ ห้องปฏิบัติการ

พิพิธภัณฑสถานวิทยาสมนไพร หมายเลขอ้างอิง DMSC 5256 จากนั้นนำมาคัดเลือกเฉพาะดอก ล้างด้วยน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และอบให้แห้งด้วยเตาอบร้อนไฟฟ้าที่มีพัดลมระบายอากาศที่อุณหภูมิ 45-50 °C นาน 72 ชั่วโมง และนำตัวอย่างที่แห้งแล้วไปบดเป็นผงละเอียดผ่านแร่งที่มีขนาดช่อง 180 ไมโครเมตร เก็บผงตัวอย่างในขวดแก้วสีชาปิดสนิท ระบุชื่อสมุนไพรมะขาม วันที่เก็บ และวันที่เตรียมตัวอย่าง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง

Table 1 Twelve samples of *Etlingera elatior* flowers obtained from natural sources in various provinces of Thailand

Sample	Natural sources
1	Betong District, Yala Province
2	Tha Yang District, Phetchaburi Province
3	Lang Suan District, Chumphon Province
4	Mueang District, Yala Province
5	Mueang District, Phatthalung Province
6	Tak Bai District, Narathiwat Province
7	Sungai Padi District, Narathiwat Province
8	Makham District, Chanthaburi Province
9	Mueang District, Sa Kaeo Province
10	Mueang District, Narathiwat Province
11	Nong Chik District, Pattani Province
12	Tak Bai District, Narathiwat Province

Note : The planting period takes 1 year before flowering and the flowering period is collected for 1–2 days.

1.2 สารมาตรฐาน

สารมาตรฐานกรดคลอโรจีนิก (chromadex, Grade P, lot no. 00003450-TVM)

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), distilled water, diphenyl-boric 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, ขวดซึ่งสาร, ถ้วยกระเบื้อง, ถ้วยระเหย, โถแก้วดูดความชื้น, ขวดแก้วปรับปริมาตร, pasture pipette

1.5 เครื่องมือ

ตู้อบร้อนไฟฟ้ารุ่น UL-50 (Memmert), เครื่องบดป่น รุ่น RT 34 (ChyunTseh Industrial), เครื่องแรง รุ่น AS 200 Basic (Retsch), แรงที่มีขนาดช่อง 180 ไมโครเมตร (Endocott), เครื่องระเหยสุญญากาศ ประกอบด้วย rotavapor รุ่น N-1000 (Eyela) และอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิรุ่น SB-1000 (Eyela), เครื่องทำสุญญากาศรุ่น A-3S (Eyela) และเครื่องทำน้ำเย็นหมุนเวียน รุ่น CA-101 (Eyela), เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle furnace, Thermolyne), ชุดเครื่อง TLC densitometer ประกอบด้วยเครื่องพ่นสารตัวอย่าง (Automatic TLC Sampler 4), เครื่องถ่ายภาพโครมาโตกราฟ (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

เคมีของตัวอย่างดอกดาหลา จำนวน 12 ตัวอย่าง โดยวิธีการวิเคราะห์ตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ในการทดสอบแต่ละตัวอย่างทำ 2 ซ้ำ และใช้ค่าทางสถิติในการคำนวณเพื่อหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยใช้วิธีดังต่อไปนี้

2.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมี (chemical identification)

1) ปฏิกริยาการเกิดสี (color reaction)^[11-13]

ก. Shinoda's test^[11-13]

ซึ่งตัวอย่าง 0.5 กรัม เติมน้ำเอทานอล (absolute ethanol) 20 มิลลิลิตร นำไปรีฟลักซ์ (reflux) นาน 20 นาที กรอง นำสารละลายที่กรองได้ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เจือจางด้วยน้ำเอทานอล จำนวน 1-2 มิลลิลิตร เติมน้ำแมกนีเซียม (magnesium ribbon) 2-3 ชิ้น และกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) จำนวน 1 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อน 5-10 นาที สังเกตผลที่เกิดขึ้น ถ้าเป็นผลบวกสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม

ข. Ferric chloride test^[11-13]

ซึ่งตัวอย่าง 0.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร นำไปรีฟลักซ์ นาน 20 นาที กรอง นำสารละลายที่กรองได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมน้ำสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (ferric chloride) ความเข้มข้นร้อยละ 10.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในน้ำกลั่น (เตรียมโดยละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ จำนวน 10 กรัม ในน้ำกลั่น จำนวน 100 มิลลิลิตร^[12]) จำนวน 2-3 หยด สังเกตผลที่เกิดขึ้น ถ้าเป็นผลบวกสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินแกมดำ

ค. Ninhydrin test^[11-13]

ซึ่งตัวอย่าง 0.5 กรัม เติมน้ำเอทานอล 20 มิลลิลิตร นำไปรีฟลักซ์ นาน 20 นาที กรอง นำสารละลายที่กรองได้ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

แล้วเติมสารละลายนินไฮดริน (ninhydrin) (เตรียมโดยละลายนินไฮดริน จำนวน 200 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น จำนวน 10 มิลลิตร^[12]) ปริมาตร 0.5 มิลลิตร สังเกตผลที่เกิดขึ้น ถ้าเป็นผลบวกสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วง

2) โครมาโทกราฟีผิวบาง (Thin Layer Chromatography)

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม เติมแอ็บโซลูทเอทานอล 30 มิลลิตร นำไปรีฟลักซ์ นาน 30 นาที กรอง ระเหย ให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จากนั้นละลายสารที่เหลือ (residue) ด้วยแอ็บโซลูทเอทานอล 3.0 มิลลิตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ละลายสารมาตรฐานกรดคลอโรจีนิก ให้มีความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิตร ในเมทานอล

การเตรียมสารละลายทดสอบ (test solution)

แทนทเซอร์ลโปรดักส์/โพลีเอทิลีนไกลคอล (natural products/polyethylene glycol, NP/PEG test solution)^[14]

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

การเตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase)

เตรียมวัฏภาคเคลื่อนที่ที่พัฒนาเอง โดยผสมเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate), กรดแกลซีล

แอซิติก (glacial acetic acid), กรดฟอร์มิก (formic acid) และน้ำกลั่น (distilled water) ในอัตราส่วน 100:11:11:26 ให้เข้ากันดี นำมาใส่ในโถแก้วโครมาโทกราฟี ทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง ก่อนใช้ เพื่อให้บรรยากาศในโถแก้วอิ่มตัวด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่

ก. วิธีการ

ใช้เครื่อง Automatic TLC Sampler 4 หยดสารละลายตัวอย่าง ทั้ง 12 ตัวอย่าง ชนิดละ 6 ไมโครลิตร และสารละลายมาตรฐาน 2 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นเคลือบซิลิกาเจล ขนาด 20 × 10 เซนติเมตร ความหนา 0.25 มิลลิเมตร ในแนวระดับเดียวกัน (ความยาวของแถบประมาณ 6 มิลลิเมตร) โดยให้ห่างจากขอบล่างของแผ่นประมาณ 15 มิลลิเมตร ห่างจากขอบด้านซ้ายและขวาประมาณ 10 มิลลิเมตร และให้มีระยะห่างระหว่างแถบของสารละลายตัวอย่างแต่ละชนิดไม่น้อยกว่า 4 มิลลิเมตร ผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปวางในโถแก้วทำโครมาโทกราฟีที่อิ่มตัวด้วยวัฏภาคเคลื่อนที่ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อวัฏภาคเคลื่อนที่ซึมขึ้นไปตามผิวที่ฉาบสูง 8 เซนติเมตร นำแผ่นเคลือบซิลิกาเจลออกมาผึ่งไว้ให้แห้งในตู้ดูดควัน แล้วนำไปตรวจสอบ

ข. การตรวจสอบ

นำแผ่นเคลือบซิลิกาเจลไปพ่นด้วยสารละลายทดสอบเอ็นพี/พีอีจี โดยมีเทคนิคดังนี้ นำแผ่นเคลือบซิลิกาเจลไปทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C นาน 10 นาที จากนั้นพ่นด้วยสารละลายเอ็นพี/พีอีจีที่แผ่นเคลือบซิลิกาเจลยังร้อน แล้วพ่นทับด้วยสารละลายพีอีจี ทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศและสังเกตผลภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet, UV) ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร (Table 2 and 3, Figure 2)

2.2 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี (physico-chemical properties)^[15]

1) ปริมาณความชื้นด้วยวิธีการวิเทริก (gravimetric)^[15]

ซึ่งตัวอย่าง 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้อง เป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง ในขวดซึ่งน้ำหนักที่ทราบ น้ำหนักคงที่ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105° ซ นาน 5 ชั่วโมง และอบต่ออีก 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงในโถแก้วดูดความชื้นที่ใส่ซิลิกาเจล เพื่อหาน้ำหนักคงที่ (หมายถึง น้ำหนักที่ได้จากการชั่ง 2 ครั้ง มีค่าต่างกันไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม โดยการชั่งครั้งที่สองเพื่อหาความแตกต่างของน้ำหนัก จะชั่งภายหลังจากการอบที่ใช้เวลาเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งชั่วโมง) นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณความชื้นโดยคำนวณจากน้ำหนักที่สูญเสียไปเมื่ออบให้แห้ง (Table 4)

2) ปริมาณเถ้ารวม^[15]

ซึ่งตัวอย่าง 2 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้อง เป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง ในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักคงที่ ในเตาเผาอุณหภูมิสูง โดยค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิเป็น 450° ซ จนได้เถ้าสีขาวที่ปราศจากคาร์บอน ทั้งไว้ให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้นที่ใส่ซิลิกาเจล นำไปชั่งน้ำหนัก และเผาต่ออีก 1 ชั่วโมง นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้ารวม (Table 4)

3) ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด^[15]

เติมกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 25.0 มิลลิลิตร ลงในถ้วยกระเบื้องที่มีเถ้ารวมที่ได้ จากข้อ 2 ปิดด้วยฝากระจกนาฬิกา ต้ม นาน 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า ค่อย ๆ ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนจนน้ำล้างตะกอน

มีความเป็นกลาง เมื่อทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส นำเถ้าที่กรองได้และกระดาษกรองใส่ลงในถ้วยกระเบื้องใบเดิม ทำให้แห้งด้วยเตาร้อน เมื่อแห้งแล้วนำไปเผาต่อด้วยเตาเผาอุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิ 500° ซ จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Table 4)

4) ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ^[15]

ซึ่งตัวอย่าง 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้อง เป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำมาแช่สกัดด้วยน้ำที่ทำให้อิ่มตัวด้วยคลอโรฟอร์ม (chloroform) 100 มิลลิลิตร (เตรียมโดยผสมคลอโรฟอร์ม 2.5 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร) ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท นาน 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรก ให้เขย่าด้วยเครื่องเขย่า ตั้งทิ้งไว้ 18 ชั่วโมง กรอง นำสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยปากกว้างที่ทราบน้ำหนักคงที่ ระเหยให้แห้งบนอ่างอังไอน้ำ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105° ซ จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ (Table 4)

5) ปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95%^[15]

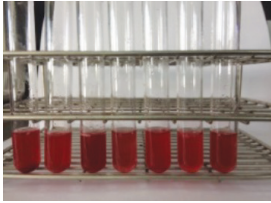
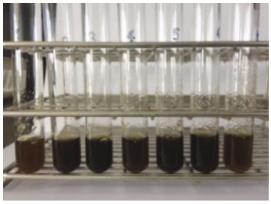
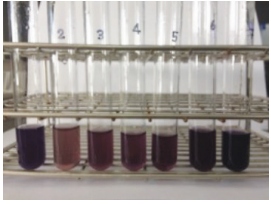
ซึ่งตัวอย่าง 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักที่ถูกต้อง เป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำมาแช่สกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท นาน 24 ชั่วโมง โดย 6 ชั่วโมงแรกให้เขย่าด้วยเครื่องเขย่า ตั้งทิ้งไว้ 18 ชั่วโมง กรอง นำสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยปากกว้างที่ทราบน้ำหนักคงที่ ระเหยให้แห้งบนอ่างอังไอน้ำ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105° ซ จนได้น้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% (Table 4)

ผลการศึกษา

จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีของสารสกัดจากดอกดาหลา พบว่าเมื่อเติมแผ่นแมกนีเซียมและทดสอบด้วยการทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริก ทุกตัวอย่างเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีแดงเข้ม แสดงว่าให้ผลบวกกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ การทดสอบด้วยสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ทุกตัวอย่างเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีน้ำเงินแกมดำ แสดงว่าให้ผลบวกกับสารกลุ่มฟีนอลิกและการทดสอบด้วยสารละลายนินไฮดริน ทุกตัวอย่างเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีม่วงปนน้ำเงิน (Table 2)

ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีของดอกดาหลามีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง โดยตรวจสอบด้วยการนำแผ่นเคลือบซิลิกาเจลไปทำให้ร้อนด้วยเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 80 °ซ นาน 10 นาที แล้วทำปฏิกิริยากับสารละลายทดสอบเอ็นพี/พีอีจี และสังเกตผลด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร จะให้แถบสารเรืองแสงสีฟ้า และสีส้ม รวมกันทั้งหมด 5 แถบ โดยมีตัวอย่างที่ 1 ถึง 5 ให้ผลโครมาโทแกรมที่แตกต่างกับตัวอย่างที่ 6 ถึง 12 สังเกตได้จากความเข้มของแถบสารแต่ละชนิดที่ปรากฏในแต่ละตัวอย่าง

Table 2 Preliminary phytochemical test results of *Etlingera elatior* flowers extract

Test	Test results of <i>Etlingera elatior</i> flowers extract
Shinoda's test (Detect flavonoids)	 Positive
Ferric chloride test (Detect phenolic compounds and tannins)	 Positive
Ninhydrin test (Detect amino acid)	 Positive

ไม่เท่ากัน และตัวอย่างที่ 2 ถึง 12 ตรวจพบสารคลอโรจินิกแอซิด ส่วนตัวอย่างที่ 1 ที่เก็บมาจากอำเภอเบตง จังหวัดยะลา ให้แถบสารสีฟ้า 1 แถบ และตรวจไม่พบสารคลอโรจินิกแอซิด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่าง

ของสายพันธุ์ อายุต้นสมุนไพร ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว สภาพดินและแร่ธาตุ หรืออาจจะเป็นเพราะสภาพภูมิประเทศหรือภูมิอากาศ ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป (Table 3 and Figure 2)

Table 3 hR_f Value of Components in twelve Ethanolic Extract samples of *Etilingera elatior* Flowers

Band	hR_f Value	Detection ultraviolet light 366 nm after spraying with NP/PEG Test Solution
1*	50-51	light-blue
2	60-61	orange
3	65-66	orange
4	78-79	orange
5	85-86	orange

* chlorogenic acid

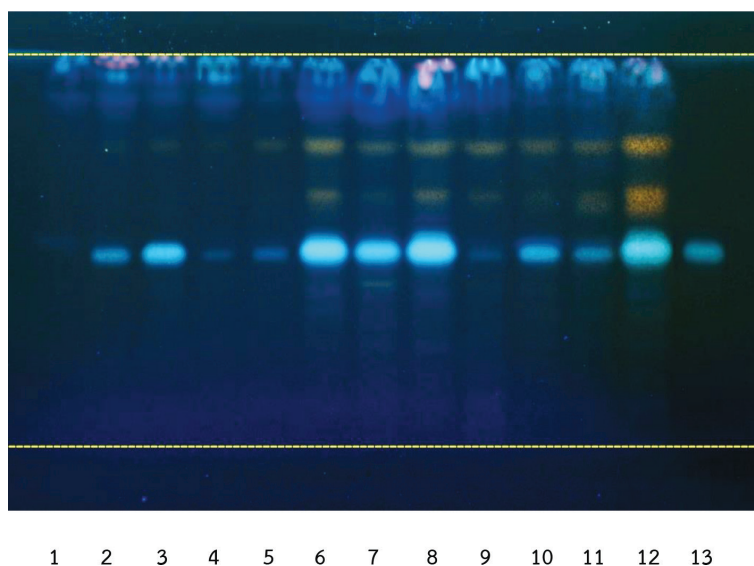


Figure 2 Thin Layer Chromatogram of Ethanolic Extract of the Flowers of *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, and 12) compare with authentic sample (8) and standard solution of chlorogenic acid (13)

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดอกดาหลาโดยการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ด้วยวิธีกราวิเมตริก ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% (Table 4) โดยค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยซึ่งได้จากการทำการทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง จากผลการศึกษาดังกล่าว พบว่ามีค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ ร้อยละ 9.05 ± 2.79 , $9.34 \pm$

0.53 , 0.20 ± 0.06 , 19.87 ± 3.45 และ 13.24 ± 1.90 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (Table 5)

การกำหนดข้อกำหนดมาตรฐาน โดยกำหนดเกณฑ์สูงสุดจาก ค่าเฉลี่ย + 10% สำหรับปริมาณที่ระบุว่า “ไม่เกิน” และเกณฑ์ต่ำสุดจาก ค่าเฉลี่ย - 10% สำหรับปริมาณที่ระบุว่า “ไม่น้อยกว่า” ดังนั้นจะได้ข้อกำหนดคุณภาพของดอกดาหลาที่ควรจะเป็นได้ (Table 5)

Table 4 Assessment of Physico-Chemical Properties of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith Flowers

Sample	Moisture content (%w/w)	Total ash content (%w/w)	Acid-insoluble ash content (%w/w)	Water-soluble extractive content (%w/w)	95%ethanol-soluble extractive content (%w/w)
1	12.32	9.65	0.16	12.11	6.12
2	7.11	8.97	0.14	19.53	12.67
3	6.61	9.96	0.34	18.08	11.20
4	6.47	9.33	0.26	18.30	8.33
5	6.71	9.87	0.12	19.74	8.76
6	10.59	8.55	0.17	18.64	14.00
7	11.66	8.69	0.21	21.80	13.81
8	14.29	10.02	0.25	18.60	15.77
9	9.34	9.26	0.18	19.60	10.17
10	6.23	9.19	0.15	25.50	12.20
11	6.63	9.88	0.20	21.93	11.98
12	10.65	8.76	0.19	24.59	14.78
Mean	9.05	9.34	0.20	19.87	13.24
SD	2.79	0.53	0.06	3.45	1.90
10%	0.91	0.93	0.02	1.99	1.32

Note : 10% is 10% of mean

SD is Standard Deviation

Table 5 Quality control guidelines of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith Flowers

Physico-Chemical Properties	Mean $\pm$ SD	Criteria		Quality control guidelines
		(Mean + 10%)	(Mean - 10%)	
Moisture content	9.05 $\pm$ 2.79	9.96	-	Not more than 10% w/w
Total ash content	9.34 $\pm$ 0.53	10.27	-	Not more than 11% w/w
Acid-insoluble ash content	0.20 $\pm$ 0.06	0.22	-	Not more than 1% w/w
Water-soluble extractive content	19.87 $\pm$ 3.45	-	17.88	Not less than 18% w/w
95%ethanol-soluble extractive content	13.24 $\pm$ 1.90	-	11.92	Not less than 12% w/w

อภิปรายผล

การศึกษานี้มีความสำคัญเนื่องจากจะนำไปสู่การกำหนดมาตรฐานของดอกดาหลาในประเทศไทยเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรชนิดนี้ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการผลิตเป็นยาหรือผลิตภัณฑ์สุขภาพซึ่งประกอบด้วย 1) การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีของดอกดาหลาโดยปฏิกิริยาการเกิดสีและวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางเพื่อตรวจสอบว่าเป็นสมุนไพรถูกชนิด และ 2) การประเมินคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีเพื่อกำหนดเป็นข้อกำหนดคุณภาพสำหรับดอกดาหลา ผลจากการศึกษานี้จะเสนอเข้าสู่การพิจารณาบรรจุเป็นโมโนกราฟในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยต่อไป การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีของดอกดาหลาจะอาศัยปฏิกิริยาเคมีที่สัมพันธ์กับกลุ่มสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในดอกดาหลา ปฏิกิริยา Shinoda's test เป็นการทดสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในดอกดาหลา เช่น กรดคลอโรจีนิก เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับ

รายงานการวิจัยที่ได้ตีพิมพ์แล้ว ผลบวกของปฏิกิริยา คือ สารละลายเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีแดงเข้ม ส่วนปฏิกิริยา ferric chloride test เป็นการทดสอบสารกลุ่มฟีนอลิก ผลบวกของปฏิกิริยา คือ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีน้ำเงินแกมดำ และปฏิกิริยา ninhydrin test เป็นการทดสอบสารกลุ่มกรดอะมิโน ผลบวกของปฏิกิริยา คือ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูอ่อนเป็นสีม่วงปนน้ำเงิน จากผลการทดสอบนี้แสดงว่าดอกดาหลาแห้งมีองค์ประกอบทางเคมีกลุ่มฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก และกรดอะมิโนตามลำดับ จากการทบทวนรายงานการศึกษา พบว่ากรดคลอโรจีนิกซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และมีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจหลายชนิด เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ^[6-7] ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์คอลลาจิเนสและไทโรซิเนส^[8] เป็นต้น ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้เลือกใช้กรดคลอโรจีนิกเป็นสารเทียบ (marker) ในการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของดอกดาหลา สำหรับผลการพิสูจน์เอกลักษณ์

ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง โดยทำปฏิกิริยากับสารละลายทดสอบเอ็นพี/พีอีจี ซึ่งเป็นสารเคมีที่ให้ผลบวกในการทำปฏิกิริยากับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ จากผลการทดสอบ พบว่าสารสกัดเอทานอลจากดอกดาหลามีองค์ประกอบทางเคมีอย่างน้อย 5 ชนิด ตัวอย่างลำดับที่ 1 ถึง 5 มีผลโครมาโทแกรมไม่เหมือนกับตัวอย่างลำดับที่ 6 ถึง 12 ตัวอย่างลำดับที่ 2 ถึง 12 ตรวจพบสารที่มีค่า R_f และสีตรงกันกับสารมาตรฐานกรดคลอโรจีนิกที่ค่า R_f เท่ากับ 50-51 (Table 3 and Figure 2) สำหรับตัวอย่างดอกดาหลาลำดับที่ 1 ที่เก็บมาจากอำเภอบางบาล จังหวัดอยุธยา มีโครมาโทแกรมต่างไปจาก 11 ตัวอย่าง ที่กล่าวมาข้างต้น คือมีองค์ประกอบทางเคมี 1 ชนิด และตรวจไม่พบกรดคลอโรจีนิก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างของสายพันธุ์ อายุต้นสมุนไพร ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว สภาพดินและแร่ธาตุ หรืออาจจะเป็นเพราะสภาพภูมิประเทศหรือภูมิอากาศ ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป (Table 3 and Figure 2)

การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดอกดาหลา ปริมาณความชื้นด้วยวิธีกราวิเมตริก ปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด การกำหนดปริมาณความชื้นมีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพทางเคมีเนื่องจากความชื้นมีผลต่อความคงสภาพของตัวอย่าง ถ้ามีความชื้นมากจะทำให้สมุนไพรเกิดการปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ง่าย รวมทั้งอาจเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวด้วยน้ำ (hydrolysis) ทำให้องค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ส่วนถ้านั้น หมายถึง สิ่งที่จะเหลืออยู่จากการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ เถ้าของพืชส่วนใหญ่ประกอบด้วยต่าง ในรูปคาร์บอเนต (carbonate) ฟอสเฟต (phosphate) คลอไรด์ (chloride) และซัลเฟต (sulphate) ปริมาณเถ้ารวม เป็นการบ่งบอกถึงคุณสมบัติทางกายภาพของ

สมุนไพรตามธรรมชาติ เถ้าของพืชมีการละลายได้ดีในกรดไฮโดรคลอริก มีสารคงเหลือจากการเผาไหม้น้อย การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดจึงเป็นวิธีตรวจสอบสิ่งแปลกปลอมที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น หิน กรวด หรือทราย ที่เกิดขึ้น ในกระบวนการเก็บเกี่ยว และทำความสะอาด หรืออาจมีสิ่งแปลกปลอมที่ได้จากปุ๋ยเคมี การกำหนดมาตรฐานปริมาณเถ้านี้จึงต้องระบุว่า “ไม่เกิน” โดยทั่วไปสมุนไพรไม่ควรมีความชื้นมากกว่าร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ปริมาณเถ้ารวมจะมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 1-20 โดยน้ำหนัก และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดจะมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 1-10 โดยน้ำหนัก^[16-21] ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย ในการศึกษานี้เลือกใช้น้ำและเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำและปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% เป็นสิ่งบ่งชี้ถึงคุณภาพทางเคมี เนื่องจากบ่งชี้ถึงสารที่ออกฤทธิ์หรือกลุ่มของสารออกฤทธิ์หรือสารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายแล้วนำไปใช้ประโยชน์ทางยาได้ การกำหนดมาตรฐานปริมาณเถ้านี้จึงต้องระบุว่า “ไม่น้อยกว่า” จากผลการทดสอบเมื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีในดอกดาหลา จำนวน 12 ตัวอย่าง โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยวิธีกราวิเมตริก ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสิ่งสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสิ่งสกัดด้วยเอทานอล 95% พบว่ามีค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับร้อยละ 9.05 ± 2.79 , 9.34 ± 0.53 , 0.20 ± 0.06 , 19.87 ± 3.45 และ 13.24 ± 1.90 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (Table 5) ทั้งนี้ การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดอกดาหลา ในวิธีการต่าง ๆ ที่กล่าวมา (Table 5)

ผลจากการศึกษานี้สามารถเสนอเข้าสู่การพิจารณาบรรจุเป็นมโนกราฟของวัตถุดิบสมุนไพร

ดอกดาหลาในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย เพื่อเป็น
ตำราอ้างอิงของประเทศต่อไป

ข้อสรุป

จากผลการศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมีเบื้องต้น
ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีพบว่าดอกดาหลาทุกตัวอย่าง
ให้ผลบวกกับกลุ่มฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิกและกรด
อะมิโน จากผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี
โครมาโทกราฟีผิวบาง พบว่าตัวอย่างดอกดาหลา 11
ตัวอย่าง ให้ผลบวกกับกลุ่มฟลาโวนอยด์และตรวจ
พบกรดคลอโรจีนิก จากผลการศึกษาคูสมบัติทาง
กายภาพและทางเคมี พบว่าเกณฑ์ข้อกำหนดทาง
กายภาพและทางเคมีของดอกดาหลาควรเป็นดังนี้
ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่
ไม่ละลายในกรด ควรมีค่าไม่เกินร้อยละ 10, 11 และ
1 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สำหรับปริมาณสิ่งสกปรกด้วย
น้ำ และปริมาณสิ่งสกปรกด้วยเอทานอล 95% ควรมีค่า
ไม่น้อยกว่าร้อยละ 18 และ 12 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ
(Table 5) ผลจากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นแนวทาง
ในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานทางเคมีของดอกดา
หลาในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย เพื่อใช้ในการ
ควบคุมคุณภาพของดอกดาหลาในประเทศไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยทุกท่านในห้องปฏิบัติการ
การวิจัยเพื่อแยกสารสำคัญจากสมุนไพร และห้อง
ปฏิบัติการพิษวิทยาพิษ สถาบันวิจัยสมุนไพร กรม
วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ให้การสนับสนุนในการศึกษา
นี้

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. 2014 revised edition. Bangkok: National Office of Buddhism Printing House; 2014. 240 p. (in Thai)
2. Soontornnon P. Antioxidants in *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith. (Thesis). Biochemistry, Faculty of Science. Songkhla: Prince of Songkhla University; 2008. (p. 26-7). (in Thai)
3. Rattanawinkul C, Kulwasu S, Sukkhi T. Dala, a tropical cut flower plant in the far future. Kasetsart Extension Journal. 1994;39(5):13-26. (in Thai)
4. Kanpairo K, Srisuk S. Production and utilization of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith for nutraceutical food product. Yala: Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University; 2016. 1 p. (in Thai)
5. Haleagrahara N, Jackie T, Chakravarthi S, Rao M, Anupama K. Protective effect of *Etlingera elatior* (torch ginger) extract on lead acetate: Induced hepatotoxicity in rats. J Toxicol Sci. 2010;35:663-71.
6. Chan EWC, Lim YY, Wong SK. Phytochemistry and pharmacological properties of *Etlingera elatior*. A review. Pharmacog J. 2011;3(22):6-10.
7. Nithitanakool S, Teeranachaideekul v, Ponpanich L, Nopporn N, Junhunkit T, Wanasawas P, Chulasiri M. In vitro and in vivo skin whitening and anti-aging potentials of hydroglycolic extract from inflorescence of *Etlingera elatior*. JAASP. 2014;3:314-25. (in Thai)
8. Muangkaewngam A, Phetcharat P, Pangtip P, Thongnual T, Kanpairo K, Srisuk S, Kaew on S, Benhawan A. Approach to potential development of torch ginger for flowering economy in 3 southern border provinces. Yala: Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University; 2016. (p. 103-4) (in Thai)
9. Rungruang R, Chantree K, Modsuwan J, Sae-Lee N, Kaisangsri N, Kerdchoechuen O, Laohakunjit N. Anthocyanins and antioxidant activity of *Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith extract. J Agricultural Sci. 2018;49(2) (Suppl.):221-4. (in Thai)
10. Kaew-on S. Antibacterial activity of Torch Ginger (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith) crude extracts.

- Wichcha J. 2018;37(2):24-34. (in Thai)
11. 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.
 12. Department of Medical Sciences. Thai Herbal Pharmacopoeia. Volume II. Bangkok: Prachachon; 2007.
 13. Ahuja J, Suresh J, Deep A, Madhuri, Pratyusha, Ravi. Phytochemical screening of aerial parts of *Artemisia parviflora* Roxb.: A medicinal plant. Pharm Lett. 2011;3:116-24.
 14. Jansakul C, Srichanbarn A, Saelee A. Some pharmacological studies of a hypotensive fraction from *Derris scandens*. J Sci Thailand. 1997;23:323-34.
 15. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai Herbal Pharmacopoeia 2018. Bangkok: Keawjawjom Printing & Publishing Suan Sunandha Rajabhat University; 2018. 782 p.
 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 W.C. Trease and Evans' pharmacognosy. 13th ed. London: ELBS; 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. Dechatiwongse Na Ayudhya T, Jirawattanapong W. Standardization and quality control of herbs. Nonthaburi: Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences; 2001. p.1-25. (in Thai)
 21. 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.