b. 1144668

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ข้อกำหนดทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น

Pharmacognostic Specification of *Mahonis siamensis* Takeda ex. Craib.

โดย

จตุพงศ์ สิงหราไชย

เด่นพงษ์ วงศ์วิจิตร

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาข้อกำหนดทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น (Pharmacognostic specification of *Mahonis siamensis* Takeda ex. Craib.) สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ซึ่งไม่อาจจะทำมากล่าวได้ทั้งหมด ท่านแรกที่ผู้ศึกษาใคร่ขอกราบขอบพระคุณคือ *ศาสตราภิชาน ดร. ภก. นิจศิริ เรืองรังษี* และ *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนิดา พลานุเวช* ครูผู้ประสิทธิ์ประสาทองค์ความรู้และให้โอกาสผู้เขียนด้วยความเอาใจใส่ มาตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบัน เพื่อนๆ น้องๆ ที่ให้การสนับสนุนผู้ศึกษามาโดยตลอด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อาจารย์ ดร. ระวิวรรณ์ เจริญทรัพย์ อาจารย์ กิตติศักดิ์ จันทร์สุข และ ดร. ธิดารัตน์ ดวงยอด

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการ Herbal and Alternative Medicine วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนห้องปฏิบัติการวิจัย และขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่สนับสนุนทุนวิจัย ในการศึกษาครั้งนี้

อนึ่งหากงานวิจัยชิ้นนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ ผู้ศึกษาขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่ เหล่าคณาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ และขอมอบความกตัญญูกตเวทิตาคุณ แด่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน รวมถึงครอบครัว ที่ได้ให้ความสนับสนุนและกำลังใจผู้ศึกษมาโดยตลอด

คณะผู้วิจัย

เมษายน 2558

บทสรุปผู้บริหาร

สมุนไพรในปัจจุบันได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง จึงมีผลทำให้สมุนไพรต่างๆ ถูกนำมาใช้ในท้องตลาดมากขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อวัตถุดิบสมุนไพรบางชนิดทำให้มีราคาแพง และขาดแคลน จึงมีผลทำให้เกิดการปนปลอมและปนเปื้อนขึ้นในท้องตลาด ดังนั้นจึงมีการประเมินคุณภาพของสมุนไพร และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญต่างๆ ในสมุนไพร ทั้งนี้โดยกำหนดมาตรฐาน(Standard) ของสมุนไพรบางชนิดขึ้น เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ(Reference) โดยเขียนไว้ในเภสัชตำรับ (Pharmacopoeia) ของประเทศนั้นๆ ดังนั้นข้อกำหนดทางเภสัชเวทจึงเป็นเครื่องมือที่สำคัญต่อการกำหนดค่าอ้างอิงของพืชสมุนไพร โดยการกำหนดให้มี การตรวจสอบเอกลักษณ์ ลักษณะภายนอกที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า(Microscopic of morphology) การตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์(Microscpopic of histology) รวมไปถึงการตรวจสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้ปฏิกิริยาสีและรงคเลขผิวบาง(TLC) มากไปกว่านั้น ยังรวมไปถึงการตรวจสอบความบริสุทธิ์ (Pharmacognostical parameters) ได้แก่ การตรวจหาปริมาณเถ้า (Total Ash) การตรวจหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid-insoluble ash)การตรวจหาสารสกัดในตัวทำละลายที่กำหนด(Solvent extractive value) การตรวจหาน้ำหนักที่หายไปจากการทำให้แห้ง (Loss on drying) การตรวจหาปริมาณน้ำหรือความชื้น (Moisture content) ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เนื่องจากเป็นพืชประจำถิ่น จำกัดบริเวณ ไม่ได้ขึ้นกระจายทั้งประเทศไทยจึงเก็บได้เฉพาะถิ่น ได้แก่ อำเภอเมืองเชียงใหม่ 6 แหล่ง อำเภอแม่แตง 2 แหล่ง อำเภอจอมทอง 3 แหล่ง และ อำเภอเชียงดาว 1 แหล่ง พบว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาของขมิ้นต้น เป็นไม้พุ่มที่เป็นกิ่งกระโดง เปลือกต้นสีน้ำตาลหนาแตกเป็นร่องตามยาว เปลือกในมีสีเหลืองคล้ายขมิ้น เรือนยอดเป็นกลุ่มใบดกหนา ใบมีลักษณะเป็นแบบขนนกปลายคี่ เรียงแบบเวียนสลับ รูปไข่หรือหอก ขอบใบจักเป็นหนาม ใบเหนียว แข็ง หูใบใหญ่ ดอกออกเป็นช่อกระจุกตามซอกใบบริเวณปลายยอด มีดอกย่อยเล็กๆจำนวนมาก มีกลีบดอกมีสีเหลืองห่อเข้าหากัน ปลายมนหยักเว้า มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ช่วงเวลากลางวันและหอมแรงตอนพลบค่ำ ผลรูปทรงกลมแบนฉ่ำน้ำ ผลอ่อนมีสีเขียวเทา ผลแก่มีสีม่วงหรือน้ำเงิน มีนวล ในมีเมล็ด 1 เมล็ด ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ พบว่า การเรียงตัวของ ท่อลำเลียงน้ำ (Xylem fiber)เป็นรูปทรงกรวยโดยรอบตาม Vascular cambium โดยมีผลึกคริสตัล(Prism crystal) กระจายอยู่บริเวณเปลือกไม้ (cortex) และกระพี้ไม้(pith) และลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่า ส่วนใหญ่มีเศษหักของไฟเบอร์กระจายอยู่ทั่วไป พร้อมกับคริสตัล (Prism crystal of calcium oxalate) สารสำคัญที่พบในแต่ละส่วนของพืชจากการทำรงคเลขผิวบาง(TLC) มีค่า hRf

ใกล้เคียงกับ Berrine ผลของค่าคงที่ของขมิ้นต้นพบว่า การตรวจหาปริมาณสิ่งแปลกปลอม foreign matter ไม่สามารถหาได้เนื่องจากการเก็บตัวอย่างเป็นการเก็บแบบเฉพาะเจาะจง ไม่ได้เลือกสุ่มมาจากตลาดการซื้อขาย จึงไม่มีสิ่งแปลกปลอมในพืชสมุนไพร สำหรับ ค่าน้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง Loss on drying ปริมาณเถ้า Ash content และ ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด Acid-insoluble ash ควรมีค่าไม่เกิน 0.2496±0.0072, 2.9343±0.196 และ 0.0477±0.1307 ตามลำดับ ในส่วนของค่า ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย Solvent extractive values ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณสารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ethanol soluble extractives ควรมีสารสกัดไม่ต่ำกว่า 0.0647±0.0073 และ ปริมาณสารสกัดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย Water soluble extractives ควรมีสารสกัดไม่ต่ำกว่า 0.1140±0.0142 และ ปริมาณความชื้น Moisture content ควรมีไม่มากไปกว่า 2.2806±0.3823 แต่สำหรับ น้ำมันหอมระเหย volatile oil content ไม่สามารถหาได้เนื่องจากเป็นพืชที่ไม่มีน้ำมันหอยระเหยเป็นส่วนประกอบหลักประโยชน์จากการศึกษาข้อกำหนดทางเภสัชเวทของขมิ้นต้นข้างต้น สามารถใช้กำหนดเป็นมาตรฐานทางเภสัชเวท (Reference) ของประเทศไทยได้ รวมถึงเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและศึกษาถึงคุณภาพของวัตถุดิบสมุนไพรได้ในอนาคต

ข้อกำหนดทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น

จตุพงศ์ สิงหราไชย และ เด่นพงษ์ วงศ์วิจิตร

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย ประเทศไทย 57100

บทคัดย่อ

ความสำคัญ: ข้อกำหนดทางเภสัชเวทเป็นเครื่องมือที่มีความสำคัญมากสำหรับพืชสมุนไพร เนื่องจากจะสามารถใช้เป็นข้อกำหนด หรือ ข้อมูลอ้างอิง ในเภสัชตำรับ(Pharmacopoeia) ของประเทศได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ายังไม่มีการศึกษาข้อกำหนดทางเภสัชเวทของขมิ้นต้นในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมี**วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาข้อกำหนดมาตรฐานทางเภสัชเวทของขมิ้นต้นในประเทศไทย **วิธีดำเนินการวิจัย:** โดยการรวบรวมขมิ้นต้นโดยหมอพื้นบ้าน จำนวน 12 แหล่ง ในจังหวัดเชียงใหม่ และศึกษาถึงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ได้แก่ ลักษณะทางมหทรรศน์ ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ และ ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา รวมถึงการศึกษาค่าคงที่ทางเภสัชเวทของขมิ้นต้นตามข้อกำหนดมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก **ผลการศึกษา**: ลักษณะทางพฤกษศาสตร์แสดงลักษณะเป็นไม้พุ่ม เปลือกต้นมีสีน้ำตาลหนาแตกเป็นร่องตามยาว ใบเป็นใบประกอบขนนก ขอบใบหนามแกมรูปไข่ ดอกออกเป็นช่อกระจุก สีเหลือง ผลทรงกลมฉ่ำน้ำ สีเขียว น้ำเงิน อมเทา ลักษณะทางมหทรรศน์ กายวิภาคศาสตร์ พบว่าชั้น Xylem มีความกว้างเป็นสองเท่าของชั้น Phloem Xylem vessel เรียงตัวอัดเป็นรูปกระสวยโดยรอบตาม Vascular cambium และมี Prism crystal of calcium oxalate กระจายอยู่บริเวณ pith และชั้น phloem สำหรับเนื้อเยื่อวิทยา พบ fragment of parenchyma, fiber และ prism crystal of calcium oxalate กระจายอยู่โดยทั่วไป และรงคเลขผิวบางของขมิ้นต้นแสดง ค่า hRf ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Berberine ส่วนผลของข้อกำหนดทางเภสัชเวท พบว่า ค่าน้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง ปริมาณเถ้า และ ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ควรมีค่าไม่เกิน 0.2496±0.0072, 2.9343±0.196 และ 0.0477±0.1307 ตามลำดับ ในส่วนของค่า ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณสารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ควรมีสารสกัดไม่ต่ำกว่า 0.0647±0.0073 และ ปริมาณสารสกัดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ควรมีสารสกัดไม่ต่ำกว่า 0.1140±0.0142 และ ปริมาณความชื้น ควรมีไม่มากไปกว่า 2.2806±0.3823 **สรุป:** ลักษณะทางมหทรรศน์ กายวิภาคศาสตร์ เนื้อเยื่อวิทยา และรงคเลขผิวบางของขมิ้นต้นสามารถใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงครั้งแรก ในการกำหนดมาตรฐานทางเภสัชเวท และใช้ในการวิเคราะห์กำหนดค่าคงที่ทางเภสัชเวทของขมิ้นต้นในประเทศไทยได้

คำสำคัญ ข้อกำหนดทางเภสัชเวท ขมิ้นต้น

Pharmacognostic Specification of *Mahonis siamensis* Takeda ex. Craib.

Chatubhong Singharachai and Denpong Wongwichit

School of Health Science, Mae Fah Luang University, Chiang rai, Thailand, 57100

Abstract

Introduction: Pharmacognostic specification is an important tool for medicinal plant in order to establish their pharmacopoeia such as authenticity, purity, safety and quality. In a previous research, there are exhaustive reviews and few data reported of *Mahonis siamensis* Takeda ex. Craib. For that reason, the pharmacognsotic specification of *M. siamensis* was carried out and providing the sciencetific database for further used. **Method:** The samples were collected from 12 places by folk medicine healer through Chiang mai province. The morphology including macroscopic and microscopic were investigated. The quantitative determination of some pharmacognostic specification parameters and TLC was done follow by WHO guideline. **Results:** the macroscopic showed as a shrub with brown bark in color and longitudinal fragment, the leaves pinnate with unpaired terminal leaflet that are ovate-lance-shaped. Flowers are bright-yellow raceme. Fruits are globular with green blue and grayish. Transverse section revealed xylem is double extensive than phloem since prism crystal of calcium oxalate are distribute along with pith. The histological character illustrated a fragment of parenchyma, fiber and prism crystal of calcium oxalate. TLC expressed hRf rate as same as the standard compound Berberine. In case of the specification, the result of Loss on drying, Ash content and Acid-insoluble ash should be not more than 0.2496±0.0072, 2.9343±0.196 and 0.0477±0.1307 respectively. For Solvent extractive values including ethanol and water soluble extractives should be not less than 0.0647±0.0073 and 0.1140±0.0142 respectively while moisture content should be not more than 2.2806±0.3823. **Conclusion:** Based on this study, the parameters of *M. siamensis* as pharmacopeia reference have been carried out for the first time and the investigation will help identify and the quantitative determination of some pharmacognostic parameter is use full for setting standards of this plant.

Keywords: Pharmacognostic specification, *Mahonis siamensis* Takeda ex. Craib.

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	**บทนำ**	
	1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2	**แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	
	2.1 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	4
	2.2 ทฤษฎี สมมติฐาน	5
	2.3 การควบคุมมาตรฐานและคุณภาพพืชสมุนไพร	5
	2.4 การศึกษาเอกลักษณ์ของพืชสมุนไพร	6
	2.5 การศึกษา ตรวจสอบ ค่าคงที่ทางเภสัชเวท	7
	2.6 รงคเลขผิวบาง	10
บทที่ 3	**ระเบียบวิธีวิจัย**	
	3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	12
	3.2 การจัดทำเอกลักษณ์ทางพฤษศาสตร์	12
	3.3 การศึกษาค่าคงที่ทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น	13
	3.4 โครมาโตกราฟีแบบรงคเลขผิวบาง	16
	3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล	16
บทที่ 4	**ผลการวิจัย**	
	4.1 ชื่อ	17
	4.2 การกระจายพันธุ์	17
	4.3 การศึกษาทางเภสัชวิทยา	17
	4.4 ลักษณะของพืช	18
	4.5 ความเชื่อทางวัฒนธรรม	18
	4.6 แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	19

หน้า

บทที่ 5	**สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ**	
	5.1 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	48
	เอกสารอ้างอิง	50
	อ้างอิงภาพ	52
	ประวัตินักวิจัย	53

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 4-1	ค่าคงที่ทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น	35
ตารางที่ 4-2	ปริมาณความชื้นในตัวยา	36
ตารางที่ 4-3	ปริมาณเถ้าในตัวยา	37
ตารางที่ 4-4	ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด	38
ตารางที่ 4-5	ปริมาณสารสกัดเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย	39
ตารางที่ 4-6	ปริมาณสารสกัดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย	40
ตารางที่ 4-7	ปริมาณความชื้น	41

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1-1	กรอบแนวคิด	3
ภาพที่ 4-1	Whole plant ของขมิ้นต้น	20
ภาพที่ 4-2	ลักษณะใบของขมิ้นต้น	21
ภาพที่ 4-3	ลักษณะและขนาดใบของขมิ้นต้น	22
ภาพที่ 4-4	ดอกขมิ้นต้น	23
ภาพที่ 4-5	ผลขมิ้นต้น	23
ภาพที่ 4-6	เปลือกใน	24
ภาพที่ 4-7	เปลือกใน	25
ภาพที่ 4-8	เปลือกนอก	26
ภาพที่ 4-9	เปลือกนอก	27
ภาพที่ 4-10	ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์	28
ภาพที่ 4-11	ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์	29
ภาพที่ 4-12	ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์	30
ภาพที่ 4-13	ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา	31
ภาพที่ 4-14	ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา	32
ภาพที่ 4-15	ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา	33
ภาพที่ 4-16	รงคเลขผิวบางของส่วนเปลือกไม้ของขมิ้นต้น	42
ภาพที่ 4-17	รงคเลขผิวบางของส่วนเปลือกไม้ของขมิ้นต้น ภายใต้ UV 366 nm	43
ภาพที่ 4-18	รงคเลขผิวบางของส่วนเปลือกไม้ของขมิ้นต้น ภายใต้ UV 254 nm	44
ภาพที่ 4-19	รงคเลขผิวบางของส่วนเนื้อไม้ของขมิ้นต้น	45
ภาพที่ 4-20	รงคเลขผิวบางของส่วนเนื้อไม้ของขมิ้นต้นภายใต้ UV 366 nm	46
ภาพที่ 4-21	รงคเลขผิวบางของส่วนเนื้อไม้ของขมิ้นต้น ภายใต้ UV 254 nm	47

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สมุนไพร ในปัจจุบันได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งปัจจัยสำคัญ 2 ประการที่ช่วยผลักดันให้ความต้องการใช้ยาสมุนไพรมีแนวโน้มสูงขึ้น ประการแรก คือ กระแสการอนุรักษ์ธรรมชาติและกระแสการดูแลและใส่ใจในด้านสุขภาพ โดยเฉพาะความต้องการสินค้าปลอดสารพิษ เนื่องด้วยยาจากสารเคมีอาจมีผลข้างเคียงมาก ประการที่สองคือ การแพร่ระบาดของโรคบางโรค หรือเกิดโรคอุบัติใหม่ ซึ่งทางการแพทย์แผนปัจจุบันยังมีขีดจำกัดในการรักษา เช่น มะเร็ง เอดส์ เป็นต้น หรือข้อกังวลเกี่ยวกับการใช้ยาที่อาจจะทำให้เกิดการดื้อยาตามมาได้ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลให้ประชาชนให้ความสนใจและหันมาใช้ยาจากสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น โดยความสนใจในสมุนไพรมีทั้งในระดับประชาชนทั่วไป ภาครัฐที่มีการส่งเสริมการใช้ยาจากสมุนไพร และภาคเอกชนที่ให้ความสนใจอย่างจริงจังในการผลิตเป็นยา เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ ซึ่งผู้ผลิตจะซื้อวัตถุดิบมาจากท้องถิ่นในประเทศ หรือ อาจนำเข้ามาจากต่างประเทศ ไม่ว่าวัตถุดิบนั้นจะเป็นชิ้นส่วนของพืช หรือบดเป็นผงมาแล้ว[1]

ด้วยเหตุดังกล่าวข้างต้นการพัฒนาสมุนไพรให้มีคุณภาพเป็นที่เชื่อถือแก่ผู้บริโภคนั้น ต้องมีการควบคุมคุณภาพเป็นอย่างดี มีข้อกำหนดคุณภาพมาตรฐานไว้สำหรับอ้างอิง ทั้งที่เป็นวัตถุดิบผลิตภัณฑ์สมุนไพรเดี่ยว หรือ ผลิตภัณฑ์สมุนไพรตำรับ มีวิธีตรวจวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐาน เนื่องจากสมุนไพรมักมีปัญหาเรื่องความไม่สม่ำเสมอของคุณภาพ อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ อายุ สภาพแวดล้อม กระบวนการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน แต่มีอีกหนึ่งปัจจัยสาเหตุที่มีความสำคัญที่ทำให้สมุนไพรเสื่อมคุณภาพหรือด้อยคุณภาพ หรือไม่มีคุณภาพเลยนั้น คือ เกิดจากความจงใจให้เกิดขึ้นเนื่องจากเหตุผลทางการค้าเป็นสำคัญซึ่งจะถือว่าเป็นการปนปลอม (Adulteration) และการปนเปื้อน (Contamination) [1,2]

ขมิ้นต้น(*Mahonis siamensis* Takeda ex. Craib.) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ BERBERIDACEAE[3] ซึ่งจัดที่เป็นวงศ์ขนาดเล็ก ทั่วโลกพบประมาณ 680 ชนิด พบได้ในเขต

อบอุ่นเหนือ และบนภูเขาบริเวณเขตศูนย์สูตร ในประเทศไทย ภาคเหนือพบเพียง 1 ชนิด[4] ซึ่งเป็นไม้หายาก และเฉพาะถิ่น โดยในต่างประเทศขมิ้นต้น ได้รับความสนใจเนื่องจากสามารถนำมาสกัดเพื่อให้ได้สาร Berberine เพื่อใช้เป็นสารสกัดเบื้อต้นสำหรับใช้เป็นยา แต่ในประเทศไทยยังมีการศึกษาน้อย ลักษณะของขมิ้นต้น เป็นไม้ไม่ผลัดใบ สูงถึง 2-8 เมตร เรือนยอดไม่แน่นอน กิ่งก้านหน้าใหญ่ ลำต้นสั้น จึงทำให้แตกกิ่งก้านต่ำ แผ่กว้าง เปลือกสีน้ำตาลอ่อน-ครีม หนาและมีรอยแตกลึกๆ เปลือกชั้นในสีเหลืองสดคล้ายขมิ้น ใบประกอบแบบขนนกโดยใบแก่จะมีลักษณะหนาและแข็ง ขอบใบมีซี่หยักแหลม ดอกสีเหลืองสด เป็นช่อตั้งยาว ออกตามซอกใบใกล้ปลายกิ่ง แต่ละช่อประกอบด้วยดอกย่อยจำนวนมาก กลีบดอกจะเรียงกันแน่นคล้ายระฆัง ผลจะมีลักษณะสีน้ำเงินมีเหลือบเทาอ่อน เนื้อผลฉ่ำน้ำสีแดงเข้ม มี 1 เมล็ด ส่วนใหญ่พบไม่มาก โดยจำกัดอยู่บริเวณโล่งแจ้งเป็นพื้นหิน ระดับสูงกว่า 1200 เมตร บางครั้งจะปลูกเป็นไม้ประดับ เนื่องจากเพาะง่ายจากเมล็ด

ตำรับโบราณใช้ส่วนของ เหง้าหรือราก เพื่อเจริญอาหาร[5-9] แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบันพบว่าขมิ้นต้น ยังไม่มีการศึกษาเอกลักษณ์ทางเภสัชเวทอย่างเป็นระบบและจัดทำเป็นมาตรฐาน ซึ่งสามารถใช้เป็นเกณฑ์กำหนดมาตรฐานของสมุนไพรที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องด้วยอาศัยการจัดทำมาตรฐานทางเภสัชเวทขององค์การอนามัยโลกเป็นตัวกำหนด[10-12] นอกจากนั้นยังจะสามารถใช้เป็นทางออกในการแก้ไขปัญหาของสถานการณ์การความขัดแย้งในปัจจุบัน ที่มักจะกล่าวอ้างถึงยาสมุนไพรที่ไม่ได้มาตรฐานในการควบคุม ทำให้มีการปนปลอมและปนเปื้อนของยาที่ไม่มีคุณภาพ ซึ่งขัดต่อการคุ้มครองผู้บริโภคที่จำเป็นต้องมีเกณฑ์ความปลอดภัยของการใช้ยาจากสมุนไพรในระดับหนึ่ง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจัดทำข้อกำหนดเบื้องต้นทางเภสัชเวทซึ่งจะนำไปสู่การกำหนดมาตรฐานของขมิ้นต้น เพื่อเป็นการนำสมุนไพรซึ่งเป็นทรัพยากรมีค่า และเป็นพืชหายากของประเทศมาใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่า

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาข้อกำหนดมาตรฐานทางเภสัชเวทของขมิ้นต้นในประเทศไทย

ขอบเขตของโครงการการวิจัย

ศึกษาข้อกำหนดมาตรฐานทางเภสัชเวทขมิ้นต้น(*Mahonis siamensis* Takeda **ex** craib.) (BERBERIDACEAE) โดยการเก็บตัวอย่างจากแหล่งต่างๆ จำนวนรวม 12ตัวอย่าง ตามเงื่อนไข

ของ Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งจะทำการสุ่มตัวอย่างแบบแบบง่าย Simple Random Sampling และ/หรือ Convenience sampling ภายในพื้นที่ของประเทศไทย

กรอบแนวความคิด(Conceptual Framework)

เก็บตัวอย่าง จำนวน 12 แหล่ง ของประเทศไทย

⇩

ตรวจพิสูจน์(Authentication) เปรียบเทียบ เพื่อยืนยันชนิดของตัวอย่าง
จากตัวอย่างพันธุ์ไม้อ้างอิง(Herbarium)
จาก สำนักหอพรรณไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และ พันธุ์พืช
ร่วมกับการยืนยันชนิดของต้นไม้โดยผู้เชี่ยวชาญ

⇩

วิเคราะห์มาตรฐานของพืชสมุนไพรตัวอย่างจากภูมิภาคต่าง ๆ

การตรวจทางมหาทรรศน์ : Macroscopic examination

การตรวจทางจุลทรรศน์ : Microscopic examination

กระสวนขององค์ประกอบทางเคมีบนรงคเลขผิวบาง Thin-layer Chromatographic identification

ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง : Loss on drying

ค่าเฉลี่ยของปริมาณความชื้น: Moisture content

ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำมัน : Volatile oil content

ค่าเฉลี่ยของปริมาณเถ้า : Total ash

ค่าเฉลี่ยของปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด : Total acid-insoluble ash

ค่าเฉลี่ยของปริมาณสิ่งสกัด: Ethanol - soluble extraction / Water - soluble extractive

ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารปนเปื้อน : Foreign matter

บทที่ 2

แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศึกษาข้อกำหนดมาตรฐานทางเภสัชเวทขมิ้นต้น(*Mahonis siamensis* Takeda **ex** craib.) (BERBERIDACEAE) โดยการเก็บตัวอย่างจากแหล่งต่างๆ จำนวนรวม 12ตัวอย่าง ตามเงื่อนไขของ Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งจะทำการสุ่มตัวอย่างแบบแบบง่าย Simple Random Sampling และ/หรือ Convenience sampling ภายในพื้นที่ของประเทศไทย

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาข้อกำหนดทางเภสัชเวท ซึ่งจะนำไปสู่การกำหนดมาตรฐานของพืชสมุนไพรนั้น ได้อาศัยหลักการขององค์การอนามัยโลก เรื่องการกำหนดมาตรฐานของสมุนไพร [10] (WHO, Quality control methods for medicinal plant materials) โดยประกอบด้วยเชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพ ได้แก่ การกำหนดลักษณะของพืช ทั้งที่ดูด้วยตาเปล่า (macroscopic method) และด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ลักษณะทางมหาทัศน์และทางจุลทรรศน์), น้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง, ปริมาณเถ้า, ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด, ปริมาณความชื้น, ประมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย(Solvent extractives), และ TLC fingerprint pattern

ขมิ้นต้น มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mahonia siamensis* Takeda ex Craib. เป็นพืชในวงศ์ BERBERIDACEAE โดยในประเทศไทย พบได้อย่างประปรายโดยส่วนใหญ่พบได้ทางภาคเหนือของประเทศไทย เชียงใหม่ ลำปาง[3] แม่ฮ่องสอน[13] บางส่วนสามารถพบได้ทางภาคอีสานของประเทศไทย[14] พืชในกลุ่มนี้พบว่ามีสารสำคัญคือ สารกลุ่ม Berberine ซึ่งเป็น quaternary ammonium salt จาก กลุ่ม protoberberine ของ isoquinoline alkaloids มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ against fungal infections, bacterial/viral infections[15-17] และ antibiotic[18] แต่ในประเทศไทยพบเพียงการศึกษา Constituents of *Mahonia siamensis.* ของ Runagrungsi N, De-Eknamkul and Lange GL. ในปี 1984 เท่านั้น ทางโบราณเภสัชของไทยใช้เหง้าหรือราก เพื่อการเจริญอาหารและบำรุงร่างกาย[19]

ทฤษฎี สมมติฐาน และแนวความคิดของการวิจัย

เอกลักษณ์ทางเภสัชเวท ได้แก่ ลักษณะของสมุนไพรทั้งที่ดูด้วยตาเปล่าและด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ลักษณะทางมหทรรศน์และจุลทรรศน์) ปริมาณเถ้า ปริมาณความชื้น ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extractives) และ TLC fingerprint pattern เป็นมาตรฐานเบื้องต้นในการจัดทำตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia; THP) สามารถใช้เป็นข้อกำหนดมาตรฐานสำหรับการผลิตยา และหรือตำรับยาเพื่อการศึกษาวิจัยทางพรีคลินิกและทางคลินิกเพื่อนำไปสู่การพัฒนาตำรับยาจากสมุนไพรสู่การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และสาธารณสุข ขมิ้นต้นเป็นพืชที่มีการใช้มาแต่โบราณ กอปรกับเป็นพืชพื้นถิ่นที่หายาก และสมควรได้รับการขึ้นทะเบียนตามมาตรฐานของสมุนไพรไทยไว้ แต่ในปัจจุบันยังไม่การจัดทำข้อกำหนดทางเภสัชเวทเพื่อกำหนดเอกลักษณ์ของพืชสมุนไพร

การควบคุมมาตรฐานและคุณภาพพืชสมุนไพร

เภสัชตำรับของประเทศต่างๆ เช่นสหรัฐอเมริกา อังกฤษ ญี่ปุ่น และกลุ่มประเทศยุโรปต่างๆ เป็นต้น ได้กำหนดมาตรฐานของพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ ไว้เพื่อเป็นหลักเปรียบเทียบและเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพมาตรฐานของพืชสมุนไพร โดยในการควบคุมคุณภาพต้องเริ่มจากวัตถุดิบสมุนไพรที่จะนำมาผลิตเป็นยา เพื่อให้ได้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดี มีสาระสำคัญในปริมาณที่มากพอที่จะมีประสิทธิภาพในการรักษาโรค ร่วมทั้งไม่ปนเปื้อนจากสิ่งสกปรก จุลินทรีย์ และสารเคมีต่างๆ มักต้องใช้วิธีการตรวจสอบที่หลากหลายวิธีร่วมกัน แล้วแต่ความเหมาะสม วิธีการทั่วไปที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบันได้แก่

1. *การตรวจเอกลักษณ์*
    a. การตรวจสอบลักษณะภายนอกและตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์
    b. การตรวจสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้ปฏิกิริยาสีและรงคเลขผิวบาง
2. *การตรวจสอบความบริสุทธ์*
    a. การตรวจหาปริมาณเถ้า
    b. การตรวจหาสารสกัดในตัวทำละลายที่กำหนด
    c. การตรวจหาน้ำหนักที่หายไปจากการทำให้แห้ง

d. การตรวจหาปริมารน้ำหรือความชื้น

การศึกษาเอกลักษณ์ของพืชสมุนไพร

การตรวจสอบลักษณะภายนอกและการตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เพื่อเป็นการตรวจสอบว่าเป็นพืชหรือส่วนของพืชที่ต้องการนำมาใช้ทำยาหรือไม่ เนื่องจากสมุนไพรบางอย่างหายากหรือมีราคาแพง อาจมีการปนปลอมโดยอาศัยลักษณะภายนอกที่มองเห็นด้วยตาเปล่า และโดยการใช้สัมผัสทั้งห้า ได้แก่ การดูสีทั้งภายในและภายนอก การดมกลิ่น การชิมรส การฟังเสียงหักหรือแตก การสัมผัสจับต้อง จัดเป็นการตรวจสอบเบื้องต้นที่จะบอกลักษณะของพืชสมุนไพรอย่างหยาบๆ เช่น เปลือกอบเชยมีการนำส่วนเปลือกมาใช้เป็นยาและเครื่องเทศ ให้สังเกตลักษณะการม้วนตัวของเปลือกและความหนา กลิ่นและรส ขนาดและรูปร่าง สีและลักษณะที่น่าสังเกตภายนอก รอยหักและสีภายใน เป็นต้น

นอกจากนี้อาจทำการตรวจเอกลักษณ์โดยตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจหาสิ่งเจือในพืชสมุนไพร เนื่องจากวัตถุดิบที่ได้จากส่วนต่างๆ ของพืชที่มีลักษณะโครงสร้างภายในแตกต่างกันและในบางกรณีมีลักษณะซึ่งสามารถบ่งชี้ได้ว่าเป็นสมุนไพรอะไร หรือมาจากส่วนไหนของพืช เช่น สมุนไพรบางชนิดมีผลึกแคลเซียมออกซาเลต(Calcium oxalate) อยู่แต่ไม่มีแป้งและขน (epidermal trichomes) เช่น กาลพลู ลูกฝักชี หรือสมุนไพรบางชนิดมีแห้ง (Strach) แต่ไม่มีผลึกแคลเซียมออกซาเลตและขน เช่น ขิง เป็นต้น การตรวจสอบทำได้โดยนำพืชสมุนไพรนั้นมาบดเป็นผงแล้วนำไปศึกษาขนาด รูปร่าง ลักษณะและตำแหน่งของเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ รวมถึงผนังเซลล์ และส่วนประกอบภายในเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แต่เนื่องจากโครงสร้างต่างๆ มักจะถูกบดบังด้วยสีและส่วนประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์ จึงจำเป็นต้องใช้น้ำยาล้างเซลล์(Clearing reagent) เช่น คลอรัลไฮเดรต(Chloral hydrate), สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์(Sodium hypochlorite) เป็นต้น เพื่อฟอกสีและละลายส่วนประกอบอื่นๆ ของเซลล์ที่ไม่ต้องการออกไป จากนั้นจึงทำการปิดหรือเมาท์(mount) โดยใช้น้ำยาที่มีค่าดัชนีหักเห(refractive index) ต่างจากวัตถุนั้น เช่น สารละลายกรีเซอรรีน (Glycerin) ร้อยละ 30 ในน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้อาจใช้วิธีการย้อมสีด้วยน้ำยาที่มีความจำเพาะเจาะจงกับส่วนประกอบนั้นๆ เพื่อเป็นการยืนยันเอกลักษณ์ เช่น น้ำยาไอโอดี(iodine water) ให้มีสีม่วงหรือสีน้ำเงินกับแป้ง และเฮมิเซลลูโลส(hemicellulose) เป็นต้น

การศึกษา ตรวจสอบ ค่าคงที่ทางเภสัชเวท

การศึกษาตรวจสอบค่าคงที่ทางเภสัชเวทของสมุนไพร มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ เฉพาะตัวของพืชสมุนไพรนั้น ที่จำเป็นจะต้องระบุไว้เพื่อให้ทราบพืชสมุนไพรนั้นมีคุณภาพเหมาะสมเพียงใด

1. การตรวจหาปริมาณสิ่งปนปลอม foreign matter

พืชสมุนไพรที่มีคุณภาพดีควรปราศจากแมลง เชื้อรา และชิ้นส่วนอื่นๆ ของพืชหรือสัตว์ที่ไม่ต้องการเจือปนมา สิ่งปลอมปนในตัวยาอาจแบ่งเป็น

1.1 *Foreign elements* หมายถึง ชิ้นส่วนอื่นๆ ของพืชที่มิได้ระบุไว้ในหัวข้อ definition เช่น monograph ของชุมเห็นเทศ ระบุให้ใช้ส่วนของใบถ้าพบว่ามีรากหรือดอกปนมา ถือได้ว่าเป็นสิ่งปลอมปนในตัวยา

1.2 *Foreign matter* หมายถึง สารปลอมปนที่มิได้มาจากพืชที่เป็นแหล่งกำเนิด อาจจะเป็นการปลอมปนด้วยสมุนไพรชนิดอื่นๆ ที่ด้วยคุณภาพกว่าหรือเป็นอวัยวะส่วนใดส่วนหนึ่งของสัตว์ เช่น ขาหรือปีกแมลงสาบ และในบางครั้งเป็นสารอื่นๆ เช่น ก้อนกรวด หรือก้อนหิน

2. การตรวจหาน้ำหนักที่หายไปจากการทำให้แห้ง Loss on drying

เป็นการควบคุมปริมาณความชื้นในพืชสมุนไพรจากการหาปริมาณของสารที่ระเหยได้จากสมุนไพรภายใต้สภาวะที่กำหนด ซึ่งการควบคุมความชื้นของพืชสมุนไพรเป็นสิ่งที่จำเป็น เนื่องจากความชื้นที่มากเกินไป อาจทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเชื้อรา จุลินทรีย์และเกิดการสลายตัวของยาได้ง่าย โดยวิธีการหา loss on drying จะเป็นการตรวจหาปริมาณความชื้นและสารระเหยอื่นๆที่ระเหยได้ ที่อุณหภูมิ 105°C ซึ่งเป็นการไล่สารที่ระเหยได้ออกจากสมุนไพร จากนั้นจะทำการบันทึกน้ำหนักที่เหลืออยู่ตามเวลาที่กำหนด

3. การตรวจหาปริมาณเถ้า Ash content

เป็นการทดสอบวิธีหนึ่งในการตรวจสอบคุณภาพของพืชสมุนไพรว่ามีความบริสุทธิ์มากน้อยขนาดไหน โดยตรวจดูว่า มีสารเจือปนหรือปลอมปนอื่นๆ มาพร้อมกับพืชสมุนไพรหรือไม่ โดยในพืชสมุนไพรนั้น ซึ่งมักเป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่มีอยู่ในสมุนไพรตามธรรมชาติและที่ติดมา โดยส่วนที่เป็น “physiological ash” เป็นเถ้าที่มาจากพืชโดยตรง หรืออาจเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เติมลงไปเพื่อวัตถุประสงค์ของการปนปลอมด้วย อาจเป็นผลึกของแคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate) ที่พบในพืชหลายชนิด เช่น ใบชุมเห็ดเทศ สำหรับเถาอีกประเภทหนึ่งซึ่งเรียกได้

ว่า "non-polysiological ash" เป็นเถ้าที่ได้จากสารอื่นๆที่มิใช่พืช เช่น ดิน ทราย ซึ่งอาจจะปนเปื้อนมาจากการเก็บเกี่ยวที่ไม่เหมาะสมหรือตั้งใจปนปลอมเพื่อผลประโยชน์ทางการค้า โดยปกติการตรวจหาปริมาณเถ้าแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท

3.1 การตรวจหาปริมาณเถ้าทั้งหมด Total ash

เป็นการหาเถ้าจากการเผาสมุนไพรจนกระทั่งไม่มีคาร์บอนหลงเหลืออยู่ที่อุณหภูมิไม่เกิน 450 องศาเซลเซียส ตามตำรามาตรฐานสมุนไพรไทย การหาปริมาณเถ้าด้วยวิธีนี้เหมาะกับตัวยาและพืชสมุนไพรที่มีสารอนินทรีย์ชนิด non-volatile เช่น wax และ สมุนไพรที่มีปริมาณ calcium oxalate น้อยมาก โดยการเผาแต่ละครั้งจะต้องเผาจนได้เถ้าสีขาว การเพิ่มอุณหภูมิขณะเผาจำเป็นต้องเพิ่มอุณหภูมิครั้งละน้อยๆ เพื่อไม่ได้เกิด graphite carbon

3.2 การตรวจหาปริมารเถ้าที่ไม่ละลายในกรด Acid-insoluble ash

เป็นการหาจากการต้มเถ้าทั้งหมดที่ได้มากจาก total ash กับกรดเกลือเจือจาง จากนั้นจึงกรองด้วยกระดาษ ashless แล้วล้างตะกอนที่เหลือ และเก็บส่วนที่ไม่ละลายมาเผาที่ 550-700 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ หากมีปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดสูง จะเป็นเครื่องบ่งชี้ว่าในสมุนไพรนั้นมีดินทรายปะปนมาก เนื่องจากเถ้าที่ไม่ละลายในกรดมักประกอบด้วยซิลิกา

4. การตรวจหาสารสกัดในตัวทำละลายที่กำหนด solvent extractive value

เป็นการทดสอบที่ใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ถึงความบริสุทธิ์โดยวัดปริมาณขององค์ประกอบบางกลุ่มที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรโดยประมาณ โดยการหาปริมาณของสารสกัดที่ได้จากพืชสมุนไพรเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกัน ซึ่งการหาปริมาณสารสกัดของพืชสมุนไพรนั้นทำได้โดยสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายที่กำหนด จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การเลือกใช้ตัวทำละลายจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารสำคัญและส่วนประกอบอื่นๆในตัวยาว่าละลายได้มากน้อยเพียงใดในตัวทำละลายนั้น จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยไล่ตัวทำละลายออกมาจนได้น้ำหนักคงที่ โดยการตรวจหาสารสกัดในตัวทำละลายของการศึกษาครั้งนี้ สามารถแบ่งออกได้ 2 วิธี ได้แก่

1. *การหาปริมาณสารสกัดที่ละลายในแอลกอฮอล์ alcohol extractive value*
2. *การหาปริมาณสารสกัดที่ละลายในน้ำ Water extractive value*

โดยในตำรายาของประเทศไทยทั้งสองวิธีดังกล่าวข้างต้นใช้ วิธีการสกัดใช้แบบ การแช่ยุ่ย (cold maceration)

5. การตรวจหาปริมาณน้ำ/ความชื้น Moisture content

การทดสอบประเภทนี้จะมีวัตถุประสงค์เพื่อการทดสอบเฉพาะปริมาณน้ำหรือความชื้นเท่านั้น วัตถุดิบที่นำมาใช้ถึงแม้จะผ่านกระบวนการทำให้พืชสมุนไพรแห้งมาก่อนแล้วก็ตาม แต่มักมีน้ำในปริมาณหนึ่งในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากสมุนไพรสามารถดูดความชื้นเข้าไปได้ ซึ่งอาจอยู่ในรูปของน้ำผลึก (water of crystallization) หรือน้ำที่ถูกดูดซับบนผิวของสมุนไพร(adsorbed form) ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรจึงมีการกำหนดปริมาณน้ำที่อนุญาตให้มีได้ในสมุนไพร ส่วนใหญ่กำหนดปริมาณน้ำ/ความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 หากปริมาณน้ำ/ความชื้นมากกว่าที่กำหนด อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทางเคมีหรือเกิดการสลายตัวได้ และถือว่าเป็นสิ่งปนปลอมเนื่องจากทำให้เปอร์เซ็นต์ องค์ประกอบสำคัญที่มีอยู่ลดลงเมื่อคิดเทียบกับน้ำหนักของสมุนไพรทั้งหมด การหาปริมาณน้ำในวัตถุดิบหรือยาจากพืชสมุนไพรจึงเป็นสิ่งสำคัญมาก ซึ่งอาจทำได้โดย วิธีอะซีโอโทรปิกดิสทิลเลชั่น (Azeotropic distillation method) โดยน้ำในตัวยาจะถูกกลั่นออกมาพร้อมกับตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ toluene ซึ่งควรทำให้ toluence อิ่มตัวด้วยน้ำก่อนใช้เพื่อมิให้ toluene ดูดซึมน้ำไว้กับตัวเองทำให้ปริมาตรน้ำที่วัดได้คลาดเคลื่อนจากความจริง ในการกลั่น toluene จะเป็นตัวดังน้ำพร้อมกับน้ำมันหอมระเหยออกมาและหลังจากที่กลั่นได้ของเหลวใน receiving tube แล้วเมื่อทิ้งไว้จนเย็นลง ชั้นของน้ำและของ toluene จะแยกออกจากกัน โดยวิธีนี้น้ำมันหอมระเหยหรือสารระเหยอื่นๆ ที่กลั่นออกมาจะละลายอยู่ในชั้นของ toluene นั่นเอง ทำให้ทราบปริมาณน้ำในตัวยาได้

6. ค่าเฉลี่ยน้ำมันหอมระเหย volatile oil content

น้ำมันหอมระเหย(volatile หรือ essential oils) เป็นส่วนประกอบสำคัญที่พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น กระเพราแดง กระวาน ไพล น้ำมันหอมระเหยจะถูกหลั่งออกจากเซลล์น้ำมัน ท่อส่งน้ำมัน หรือจาก glanular hairs มีคุณสมบัติระเหยได้ที่อุณหภูมิห้อง ลักษณะของน้ำมันหอมระเหย จะมีกลิ่นเฉพาะตัวส่วนประกอบในน้ำมันหอมระเหย จะเป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด ได้แก่ terpenes, sesquiterpenes และ พวก ketones หรือ alcolhols ในทางยาใช้ประโยชน์เป็นสารแต่งกลิ่นรส และช่วยขับลม (carminative)

การตรวจสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้ปฏิกิริยาสี หรือ

รงคเลขผิวบาง(Thin Layer Chromatography: TLC)

รงคเลขผิวบาง(Thin Layer Chromatography) หรือนิยมเรียกสั้นๆ ว่า TLC เป็นวิธีการแยกสารประกอบประเภทหนึ่งที่อาศัยหลักการทางโครมาโตกราฟี วิธีนี้มีใช้อย่างแพร่หลายในการศึกษาวิจัยด้านต่างๆ โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับการพิสูจน์เอกลักษณ์ การตรวจสอบความบริสุทธิ์ การแยกสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารระหว่างขั้นตอนการสังเคราะห์

รงคเลขผิวบางเริ่มเป็นที่รู้จักกันตั้งแต่ราวปี ค.ศ. 1950 นักวิจัยชาวเยอรมันชื่อ Egon Stahl เป็นท่านแรกที่เขียนและตีพิมพ์คู่มือเกี่ยวกับหลักการของรงคเลขผิวบางและเทคนิคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในปี ค.ศ. 1962 เป็นภาษาเยอรมัน ต่อมาได้รับการแปลเป็นภาษาอังกฤษ ส่งผลให้รงคเลขผิวบางเป็นที่รู้จักมากยิ่งขึ้นและมีการพัฒนาประยุกต์ใช้อย่างต่อเนื่องเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน

เหตุผลประการสำคัญที่ทำให้รงคเลขผิวบางได้รับความนิยมคือ ความง่ายและสะดวกในการใช้งาน ค่าใช้จ่ายของวิธีโดยรวมค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับวิธีวิเคราะห์อื่นๆ การเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยากซับซ้อน และใช้สารตัวอย่างในปริมาณเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังให้ผลวิเคราะห์ รวมเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ

รงคเลขผิวบางจัดเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีในสารตัวอย่างประเภทต่างๆ วิธีนี้เป็นที่นิยมใช้กันมากในการตรวจหาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากแหล่งต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นสารสกัดหยาบจากพืช สัตว์หรือจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้วิธีรงคเลขผิวบางในงานควบคุมคุณภาพยา อาหาร ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ และยังนำมาใช้เป็นวิธีในการตรวจพิสูจน์เบื้องต้นในงานต่างๆ อาทิเช่น การตรวจหาสารเจือปน การตรวจหาสารเสพติดและสารพิษในสิ่งแวดล้อมและชีววัตถุ เป็นต้น

หลักการแยกสารโดยวิธีรงคเลขผิวบาง

รงคเลขผิวบางหรือ TLC จัดเป็นวิธีทางโครมาโทกราฟีประเภทหนึ่งที่ใช้สำหรับแยกองค์ประกอบแต่ละชนิดในสารตัวอย่างออกจากกันบนแผ่นรงคเลขผิวบาง ซึ่งเป็นวัฏภาคคงที่ (Stationary phase) ที่เคลือบอยู่บนวัสดุรองรับที่เป็นระนาบ(อาจเป็นแผ่นแก้ว แผ่นอะลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติก) โดยการใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เหมาะสมในการนำพาสารให้เคลื่อนที่ไปบนแผ่นรงคเลขผิวบางและทำให้เกิดการแยกออกจากกันของสาร

สารแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ไปบนวัฏภาคคงที่เป็นระยะทางมากน้อยแตกต่างกันขึ้นกับคุณสมบัติภายภาพเคมีของสาร ชนิดของวัฏภาคคงที่และวัฏภาคเคลื่อนที่ โดยตำแหน่งที่ปรากฏของสารแต่ละจุดแสดงได้ด้วยค่า R_f ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1

โดยทั่วไปแล้วสารที่มีสัมพรรคภาพ(affinity) ดีกับวัฏภาคเคลื่อนที่มักพบว่าสามารถเคลื่อนที่ไปบนแผ่นรงคเลขผิวบางได้ไกลกว่าสารที่มีสัมพรรคภาพต่ำ อันตรกิริยาระหว่างสารแต่ละชนิดกับวัฏภาคคงที่มีผลต่อการแยกสารออกจากกันเช่นกัน สารที่มีความแรงในการดูดซับ(adsorption) บนวัฏภาคคงที่สูงจะเคลื่อนที่ไปได้ระยะทางน้อยกว่าสารที่เกิดการดูดซับได้น้อย

ข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติทางภายภาพเคมีของสารตัวอย่าง เช่น คุณสมบัติการละลาย ความมีขั้ว ความเป็นกรด-ด่าง กลุ่มทางเคมี ฯลฯ มีความสำคัญต่อการพิจารณาเลือกชนิดของวัฏภาคคงที่และวัฏภาคเคลื่อนที่ สภาวะที่เหมาะสมสามารถทำให้เกิดการแยกองค์ประกอบชนิดต่างๆ ในสารผสมออกจากกันได้ ความรู้ความเข้าใจที่ดีเกี่ยวกับเทคนิคพื้นฐานของรงคเลขผิวบางมีผลต่อการวิเคราะห์

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่าง ขมิ้นต้น *(Mahonia siamensis* Takeda ex Craib.) เนื่องจากเป็นพืชที่หายาก และ เป็นพื้นพื้นถิ่นและจำกัดบริเวณ โดยเก็บตัวอย่างโดยหมอพื้นบ้านจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 12 แหล่ง นำตัวอย่างมายืนยันเปรียบเทียบกับชนิดของตัวอย่างจากตัวอย่างพันธุ์ไม้อ้างอิง (Herbarium) เลขที่ QBG No. 29669: Scientific name Mahonia siamensis Takeda ex Craib. Family name: BERBERIDACEAE, Collector C. Glamwaewwong 1403, Chiang mai/Thailand จากสำนักงานหอพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ร่วมกับยืนยันชนิดของต้นไม้โดย ศาสตราภิชาน ดร. ภก. นิจศิริ เรืองรังษี วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จัดทำเอกลักษณ์ทางพฤกษศาสตร์ ได้แก่

1. ศึกษาลักษณะทางมหทรรศน์ (Macroscopic description)

การศึกษาลักษณะมหทัศน์ของ ขมิ้นต้น ด้วยตาเปล่า ซึ่งเป็นการตรวจสอบดูลักษณะภายของของสมุนไพร เช่น รูปร่าง ขนาด ของสมุนไพร(Shape and Size) สี และลักษณะผิวด้านนอก (Color and external makings) รอยหัก และสีด้านในเนื้อของสมุนไพร(fracture and internal color) และ กลิ่นและรส (odor and taste)

2. ศึกษาลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ (Anatomical characteristics)

การศึกษาลักษณะทางภายวิภาคศาสตร์ของภาคตัดขวางของ ขมิ้นต้น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 4x, 10x และ 40x เปรียบเทียบขนาดกับสเกลมาตรฐาน เพื่อเป็นการตรวจสอบเอกลักษณ์การเรียงตัวของเนื้อเยื่อต่างๆ ซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์และส่วนประกอบภายในเซลล์ของพืชซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของพืชนั้นๆ ทั้งนี้โดยอาศัยการตรวจดูลักษณะของการเรียงตัวของเซลล์ที่เป็นลักษณะเฉพาะ ดูขนาด การเรียงตัวของเซลล์ และปริมาณของสิ่งที่ตรวจพบ เช่น เมล็ดแป้ง ผลึกของสารของเซลล์พืช ซึ่งการตรวจสอบดังกล่าวทำได้โดยอาศัยการตัด(section) ส่วนของพืชให้บางมากๆ การตัดอาจตัดตามยาว(longitudinal) หรือ ตามขวาง(Transverse) แล้วนำมาตรวจดูลักษณะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. ศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา (Histological characteristics)

การศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของพืชสมุนไพรที่บดเป็นผงและกรองผ่านแร่งขนาด 250 μm ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 4x, 10x แล 40x เปรียบเทียบขนาดกับสเกลมาตรฐาน ซึ่งจะทำให้สามารถบอกได้ว่าสมุนไพรนั้นมาจากส่วนใดของพืช และเป็นพืชชนิดไหน ในการตรวจสอบดังกล่าวจะเป็นการตรวจดูจุลทรรศน์ลักษณะต่างๆ ของผงยา(Powder drugs)

4. บันทึกภาพเสมือนจริง

บันทึกภาพเป็นภาพเสมือนจริงจากภาพถ่ายสีของพืช (Whole plant) ตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ และภาพเสมือนจริงของภาพถ่ายสีตามลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์และเนื้อเยื่อวิทยา

ศึกษาค่าคงที่ทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น ทั้ง 12 แหล่ง

ศึกษาค่าคงที่ทางเภสัชเวทของ ขมิ้นต้น ตาม WHO Guideline (Quality control methods for medicinal plant materials, ISBN 92 415 45100, NLM Classification QV 766, 1998) ซึ่งประกอบด้วย

1. ศึกษา*การตรวจหาปริมาณสิ่งปนปลอม foreign matter*

สิ่งปนปลอมหมายถึงสิ่งอื่นๆ นอกเหนือไปจากสมุนไพรที่ต้องการ อาจเป็นชิ้นส่วนของพืชชนิดอื่นๆ วัชพืช หรือชิ้นส่วนของแมลงที่ปนมา สิ่งปนปลอมดังกล่าวอาจเรียกว่า สิ่งปนปลอมชนิดสารอินทรีย์(foreign organic matter) ซึ่งได้แก่ แร่ธาตุต่างๆ ที่ติดมา เช่น ดิน ทราย หิน เป็นต้น

2. น้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง (Loss on drying)

เป็นการศึกษาหาปริมาณความชื้นของสมุนไพรชนิดหนึ่ง ซึ่งหากสมุนไพรมีปริมาณความชื้นมากจะมีผลทำให้สมุนไพรเสื่อมคุณภาพลงได้อย่างรวดเร็ว และไม่ได้ตามมาตรฐานของเภสัชตำรับที่จะนำมาใช้ปรุงยา โดยองค์การอนามัยโลกได้กำหนดวิธีการทำไว้ดังนี้

นำผงยาที่รู้น้ำหนักแน่นอน 10 กรัม มาอบที่เตาอบอุณหภูมิ 105° C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้นำออกมาชั่ง และอบต่อช่วงละ 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ น้ำหนักที่หายไป คือ ปริมาณความชื้นของวัตถุดิบสมุนไพร

3. ศึกษาปริมาณเถ้า(Ash content)

2.1 ปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total ash)

หมายถึง ปริมาณเถ้าทั้งหมดที่ได้เมื่อเผาผงยาที่อุณหภูมิไม่เกิน 450°C จนได้น้ำหนักคงที่ การที่ไม่ใช้อุณหภูมิสูงเพื่อป้องกันไม่ให้สารพวก alkali chlorides ระเหยหรือสลายไป โดย องค์การอนามัยโลกได้กำหนดวิธีการหาปริมาณเถ้าไว้ดังนี้

เผาผงยาปริมาณ 2-3 กรัม ซึ่งรู้น้ำหนักแน่นอนในถ้วย (Crucible) ที่รู้น้ำหนักแน่นอนที่อุณหภูมิไม่เกิน 450°C จนได้เถ้าสีขาว(ปราศจากคาร์บอน) ถ้ายังมีคาร์บอนเหลืออยู่ให้ปล่อยถ้วยให้เย็นลง ล้างเถ้าด้วยน้ำร้อนกรองด้วยกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า (ashless filter paper) ค่อยๆ เผากระดาษกรองพร้อมตะกอนที่ได้ เติมสารละลายที่กรองได้ทีละน้อย อบจนได้สารแห้ง เผาต่อที่อุณหภูมิไม่เกิน 450°C จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาปริมาณเถ้าโดยคิดเป็นน้ำหนักร้อยละของผงยาแห้ง

2.2 ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid-insoluble ash)

เป็นการหาปริมาณของเถ้าที่ไม่ละลายในกรดเกลือสารเหล่านี้เป็นสิ่งปนปลอมประเภทสารอินทรีย์ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ ทราย องค์การอนามัยโลกได้กำหนดวิธีการหาปริมาณเถ้าไว้ดังนี้

นำเถ้าทั้งหมดมาต้มกับกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิลิตร จำนวน 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า ล้างด้วยน้ำร้อน นำสารที่อยู่บนกระดาษกรองพร้อมด้วยกระดาษกรองมาเผาจนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาน้ำหนักของเถ้าต่อ 100 กรัม ของผงยาแห้ง

4. ศึกษาปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extractive values)

ปริมาณสารที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถใช้ประเมินคุณภาพของสมุนไพรได้ ตัวทำละลายที่เลือกใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของสารสำคัญในสมุนไพร ตัวทำละลายที่ใช้เสมอๆ คือ น้ำและแอลกอฮอล์ ตามปกติการสกัดจะหมายถึงการหมัก (maceration) แต่ในบางกรณีจะหมายถึงการสกัดแบบต่อเนื่อ(continuous extraction process) เภสัชตำรับมักกำหนดปริมาณสารสกัดไว้เป็นค่าต่ำสุด ปริมาณสารสกัดที่มีกกำหนดได้แก่

3.1 ปริมาณสารสกัดเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (Ethanol soluble extractives) โดยวิธี maceration

หมายถึง น้ำหนักของสาร**(Residue)** ที่ได้จากการสกัดผงยาด้วยแอลกอฮอล์ด้วยความเข้มข้นต่างๆ กัน แล้วแต่ชนิดของสมุนไพร องค์การอนามัยโรค ได้กำหนดวิธีไว้ดังนี้

หมักผงยา **5** กรัม ด้วย **ethanol** ความเข้มข้นที่เหมาะสมจำนวน **1000** มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท นาน **24** ชั่วโมง โดย **6** ชั่วโมงแรกให้เขย่าบ่อยๆ ตั้งทิ้งไว้อีก **18** ชั่วโมง กรองอย่างรวดเร็วโดยพยายามไม่ให้แอลกอฮอล์ระเหย นำสารละลายที่กรองได้มา **20** มิลลิลิตร ปล่อยให้ระเหยแห้งในถ้วยปากกว้าง นำมาอบที่ **105 C** จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาน้ำหนักของสารที่ได้ต่อผงยา **100** กรัม

3.2 ปริมาณสารสกัดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (Water soluble extractives) โดยวิธี maceration

องค์การอนามัยโรคได้กำหนดวิธีทำไว้เช่นเดียวกับเมื่อใช้ แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย แต่เปลี่ยนเป็น น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายแทน

หมักผงยา **5** กรัม ด้วย **distill water** จำนวน **1000** มิลลิลิตร ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท นาน **24** ชั่วโมง โดย **6** ชั่วโมงแรกให้เขย่าบ่อยๆ ตั้งทิ้งไว้อีก **18** ชั่วโมง กรองอย่างรวดเร็วโดยพยายามไม่ให้น้ำกลั่นระเหย นำสารละลายที่กรองได้มา **20** มิลลิลิตร ปล่อยให้ระเหยแห้งในถ้วยปากกว้าง นำมาอบที่ **105 C** จนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาน้ำหนักของสารที่ได้ต่อผงยา **100** กรัม

5. ศึกษาปริมาณความชื้น (Moisture content) โดยวิธี Azeotropic distillation method

เภสัชตำรับมักกำหนดมาตรฐานความชื้นของพืชสมุนไพรไว้ เนื่องจากถ้าความชื้นมากและมีอุณหภูมิที่เหมาะสม จะทำให้เอนไซม์ในสมุนไพรทำงาน เป็นเหตุให้สมุนไพรเสื่อมคุณภาพ ทำให้มีเชื้อราขึ้นได้ง่าย การหาปริมาณความชื้นสมุนไพร ตามองค์การอนามัยโลกได้กำหนดไว้ดังนี้

โดยการศึกษาจะเป็นการศึกษาโดยใช้วิธีวัดปริมาตร **Volumetric method** เป็นวิธีกลั่นสมุนไพรกับโทลูอีน **(toluene)** โดยใช้เครื่องมือกลั่นชนิดต่อเนื่อง เครื่องมือที่ใช้เรียกว่า **Dean-strark apparatus** โดยวิธีการกลั่นดังกล่าว น้ำ และ โทลูอีน จะถูกกลั่นออกมาในหลอดข้างๆ เครื่องมือ**(side tube)** โดยน้ำและ โทลูอีนจะถูกแยกชั้นออกอย่างชัดเจน และวัดเฉพาะปริมาณน้ำที่กลั่นออกมาได้ ซึ่งจะมีขีดวัดปริมาตรของน้ำที่กลั่นได้

6. ค่าเฉลี่ยน้ำมันหอมระเหย volatile oil content

การปริมาณน้ำมันหอมระเหยในสมุนไพรทำได้โดยการใช้เครื่องมือ Cleveneaur apparatus พืชสมุนไพรที่จะนำมากลั่นน้ำมันหอมระเหยได้จำเป็นต้องมีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบและทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ ในส่วนของใบ ผล เมล็ด หรืออาจเป็นส่วนของสมุนไพรทั้งต้น

7. โครมาโตกราฟี Chromatography

โครมาโตกราฟฟี่เป็นวิธีการแยกสารโดยอาศัยหลักการกระจายของสารในระหว่าง phase 2 ชนิด ซึ่งไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน คือ stationary phase โดยการพาของ mobile pahse ซึ่งเป็นอัตราการเคลื่อนที่ ของสารไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับ interaction ระหว่างสาร (solute) กับ stationary phase และ ระหว่าง solute กับ mobile phase สารที่มีการ interact กับ stationary ได้ดี สารนั้นจะเคลื่อนที่ไปได้ช้า Interaction ที่เกิดอาจจะเกิดโดยกระบวนการดังต่อไปนี้

5.1 การดูดซับที่ผิว particles ของ stationary phase (adsorption)

5.2 การดูดซึมเข้าไปในช่องว่าง (pores) ของ stationary phase (Absorption)

5.3 การกระจายตัว (partition) เข้าไปในของเหลวที่เคลือบอยู่ที่ผิว particle ของ stationary phase หรืออยู่ในช่องว่างของ particles ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติในการละลายของสาร

5.4 การสร้าง heteropolar bonds กับ ion ของ stationary phase

5.5 การระเหย volatility

โดยทั่วไปแล้วการแยกไม่ได้ผ่านกระบวนการข้างต้นอย่างใดอย่างหนึ่ง แต่อาจผ่านกระบวนการดังกล่าวร่วมกัน เช่น มีทั้ง adsorption และ absorption เป็นต้น

รงคเลขผิวบาง Thin-layer Chromatography(TLC)

เป็นการแยกสารโดยใช้ stationary phase ซึ่งแผ่เป็นแผ่นเคลือบบน support ซึ่งอาจเป็นแก้ว หรือ อะลูมิเนียม เมื่อหยดสารผสมลงบน stationary phase แล้วจึงนำแผ่น TLC ที่ได้ไปใส่ Tank ซึ่งบรรจุ mobile phase ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดกระบวนการที่ตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ผ่านไปบน stationary phase ซึ่งเรียกว่า development ขณะที่เกิด development สารก็จะแยกออกจากกัน กลวิธีในการแยกจะมีทั้ง adsorption และ partition แต่จะมีกลวิธีใดมากกว่า ขึ้นกับว่าแผ่น TLC ที่เตรียมขึ้นนั้นถูกนำไป active หรือไม่ การ active แผ่น TLC โดย อบที่ 110° C เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง จะทำให้น้ำระเหยออกไปจาก particle แต่ถ้าไม่ได้นำ plate ไป active น้ำที่จับอยู่ที่ particle จะทำหน้าที่เป็น liquid stationary phase จะมี partition mechanism เกิดมากกว่าเดิม น้ำที่เคลือบอยู่นี้มาจากความชื้นอากาศนั่นเอง องค์การอนามัยโลกได้กำหนดวิธีการไว้ดังนี้ นำผงยาจำนวน 1กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิด Methanol โดยวิธี Maceration แล้วกรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง และนำไประเหยให้แห้ง ละลายสารสกัดใน methanol จำนวน 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายปริมาณ 10 ไมโครลิตร หยดลงบน TLC ซึ่งฉาบด้วย ซิลิกาเจล 60F 254 (หนา 0.25 มิลลิเมตร ขนาด 20x20) Develop แผ่น TLC ใน chamber ที่ทำให้อิ่มตัวด้วยตัวทำละลายไว้แล้ว เมื่อ TLC plate ผ่านการ develop เรียบร้อย นำออกมาตากให้แห้งในอุณหภูมิห้อง และสังเกตการพัฒนาของจุดสารเคมีที่ได้ และนำไปสังเกตภายใต้ความยาวคลื่นแสงที่แตกต่างกันทั้งความยาวคลื่นสั้น 254 นาโนเมตร และ คลื่นยาวที่ 366 นาโนเมตร หลังจากสังเกตเรียบร้อยแล้ว จึงทำการ active TLC ด้วยการสเปรย์ regents เฉพาะแล้วนำไปอบในอุณหภูมิ ที่ 110°C แล้วสังเกตพัฒนาการของ จุดบน TLC plate

การวิเคราะห์ข้อมูล

โดยทุกการวิเคราะห์จะดำเนินการพิสูจน์และตรวจวัดแหล่งละ 3 ซ้ำ หลังจากนั้นจึงคำนวณหาค่า **Grand average ± pooled standard deviation**

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ชื่อสามัญ **ขมิ้นต้น**

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mahonia siamensis* Takeda ex Craib.

ชื่อพ้อง *Mahonia duclouxiana* Gagnp.

ชื่ออื่นๆ Siam hollygrape, ตองเค้า, ขี้มิ้นต้น, เคาะขมิ้น, ขมิ้น(ลำปาง), เข็มช้าง (นครศรีธรรมราช), เพลาจังหัน(นครราชสีมา), ลังขาว(ระนอง)

วงศ์ BERBERIDACEAE

การกระจายพันธุ์ ขมิ้นต้นมีเขตการกระจายพันธุ์ตั้งแต่อินเดีย จีนตอนใต้ และพม่าพบมากทางตอนเหนือของประเทศไทย โดยในประเทศไทย พบได้อย่างประปรายโดยส่วนใหญ่พบได้ทางภาคเหนือของประเทศไทย เชียงใหม่ ลำปาง[3] แม่ฮ่องสอน[13] บางส่วนสามารถพบได้ทางภาคอีสานของประเทศไทย[14] ขึ้นในป่าดิบเขา ที่โล่งบนเขาหินปูน ระดับความสูง 1000-2200 เมตร ในต่างประเทศพบในระดับความสูงจนถึง 2800 เมตร

ส่วนที่ใช้ ราก เปลือกราก หรือ เปลือกต้น

สารสำคัญ สารกลุ่ม Berberine ซึ่งเป็น quaternary ammonium salt จาก กลุ่ม protoberberine ของ isoquinoline alkaloids

ประโยชน์ทางยา ทางโบราณเภสัชของไทยใช้เหง้าหรือราก เพื่อการเจริญอาหารและบำรุงร่างกาย[19] แก่นเป็นยาแก้ท้องร่วง ราก เป็นยาเจริญอาหาร แก้โรคทางผิวหนัง แก้โรคตา ลดไข้ แก้แก้ดีไม่ปกติ ลำต้นต้มน้ำดื่มแก้โรคเบาหวาน (ม้ง) ตำราแพทย์แผนไทยใช้แก่นขมิ้นต้นเข้ายาแก้ท้องร่วง ราก เป็นยาเจริญอาหาร แก้โรคทางผิวหนัง แก้โรคตา ลดไข้ แก้ดีไม่ปกติ แก้เบาหวาน ลดน้ำตาลในเลือด ควบคุมความดันของโลหิต

การศึกษาทางเภสัชวิทยา มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ against fungal infections, bacterial/viral infections[15-17] และ antibiotic[18]

ลักษณะเครื่องยา ขมิ้นต้นมีลักษณะเป็นสีเหลือเข้มเหมือนสีขมิ้น เหนียว มีกลิ่นอ่อน มีรสขมเล็กน้อย

ลักษณะของพืช[21]

ไม้พุ่ม สูง 2-5 เมตร ทรงพุ่มแผ่กว้างที่แตกแต่กิ่งยาวหรือกิ่งกระโดง ลำต้นไม่มีหนาม เปลือกต้นมีสีน้ำตาล หนา แตกเป็นร่องตามยาว เปลือกในมีสีเหลืองเหมือนสีขมิ้น เรือนยอดเป็นกลุ่มใบดกหนาเฉพาะส่วนยอดไม่เป็นระเบียบ

ใบ ใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ เรียงแบบเวียนสลับ ก้านใบหลักออกสลับ ยาว 20-70 ซม. ใบย่อย ออกตรงกันข้าม มี 4-9 คู่ ขอบขนานแกมรูปไข่หรือรูปใบหอก กว้าง 4-5 ซม. ยาว 7-8 ซม. ขอบจักเป็นหนาม ใบเหนียว แข็ง หูใบใหญ่ 2 ใบ โคนก้านใบแผ่โอบลำต้น ใบย่อยด้านล่างสั้นกว่านี้ ไร้ก้าน ใบย่อยใบปลายยาว อาจมีก้านใบยาวได้ 1-3 ซม. ปลายใบแหลมหรือแหลมยาว โคนใบกลมเบี้ยว ขอบใบจักซี่ฟันห่างๆ

ดอก ออกเป็นช่อแบบช่อกระจุก ตามซอกใบบริเวณปลายยอด มีดอกย่อยเล็กๆจำนวนมาก กลีบดอกห่อเข้าหากัน ยาว 20-30 ซม. ช่อดอกมี 4-15 ช่อ ยาว 8-30 ซม. ใบประดับรูปใบหอก ยาว 2-3.5 ซม. ก้านดอกย่อยยาว 0.3-0.6 ซม. ใบประดับย่อยรูปขอบขนานหรือรูปไข่ ยาว 0.3-0.7 ซม. กลีบดอกสีเหลือง มีกลีบรวม 2 ชั้น ชั้นละ 3 กลีบ กลีบเลี้ยงเรียง 3 วง กลีบเลี้ยงด้านนอกรูปไข่สามเหลี่ยม ยาว 0.1-0.3 ซม. กลีบด้านในรูปรีหรือรูปขอบขนาน ยาว 0.3-0.8 ซม. กลีบดอกรูปรีหรือรูปขอบขนาน ยาว 0.3-0.7 ซม. ที่โคนกลีบมีต่อมชัดเจน ปลายมนหยักเว้า เกสรเพศผู้ 6 อัน ยาว 3.5-5.5 มม. อับเรณูเป็นรยางค์ยาว ปลายมน รังไข่เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.6 มม. ออวุลมี 4-7 เม็ด ก้านเกสรเพศเมียยาว 0.2-0.3 ซม. ติดทน *ฤดูดอกบาน:* มกราคม-มีนาคม ดอกทยอยบานทั้งช่อ โดยดอกจะทยอยบานจากโคนช่อเรื่อยขึ้นไปจนถึงปลายช่อ บานวันเดียวโดย กลิ่นหอมอ่อนๆช่วงกลางวันและ หอมแรงตอนพลบค่ำ

ผล รูปทรงกลมแบบฉ่ำน้ำ มีเนื้อ เมื่อผลอ่อนสีเขียวอมเทา ผลแก่สีม่วงหรือน้ำเงินเข้ม กลม เนื้อนิ่ม มีนวล เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 ซม. ภายในมีเมล็ด 1 เมล็ด สีขาวหม่น กลม ขนาด 3 มิลิเมตร

ความเชื่อทางวัฒนธรรม

เป็นเครื่องไหว้ ขอขมาและคารวะศพพระภิกษุสามเณร เดิมทีชาวผู้ไทยโบราณจะใช้ต้นขมิ้นต้นนำมามัดธูปเทียน เพื่อใช้คารวะศพ พระภิกษุ สามเณรในงานประชุมเพลิง ต้นขมิ้นต้นเมื่อปอกเปลือกออกจากลำต้นจะมีสีเหลือง คล้ายๆขมิ้น ต่อมาบ้านเมืองได้พัฒนาขึ้นทำให้ไม่มีเวลาไปดงไป

ป่าเพื่อหาไม้ชนิดนี้ พอถึงคราวได้จัดงานฌาปณกิจศพพระภิกษุ/สามเณร ชาวบ้านจะช่วยกันเหลาไม้ หรือนำไม้แก่นปอ แล้วใช้ขมิ้นทาให้มีสีเหลืองอร่าม ความยาวประมาณ ๕๐ – ๖๐ ซม. แล้วนำดอกไม้พื้นบ้าน เช่น ดอกบานไม่รู้โรย ดอกพุด ดอกดาวเรือง มามัดรวมกับธูปเทียน เพื่อให้ญาติโยมได้บูชา กราบไหว้คารวะศพพระภิกษุ/สามเณร และอีกนัยหนึ่งไม้ชนิดนี้ใช้เป็นเชื้อเพลิงเสมือนฟืนสำหรับเผาศพพระด้วย ชาวบ้านบางรายจะนำขมิ้นต้นซึ่งทำเองมาจากบ้านและทำมาหลาย ๆ อัน เพื่อมาร่วมทำบุญประชุมเพลิง/ฌาปณกิจศพพระคุณเจ้าในวาระสุดท้ายนี้ด้วย เชื่อว่าจะได้อานิสงส์ได้กุศลผลบุญมาก[22]

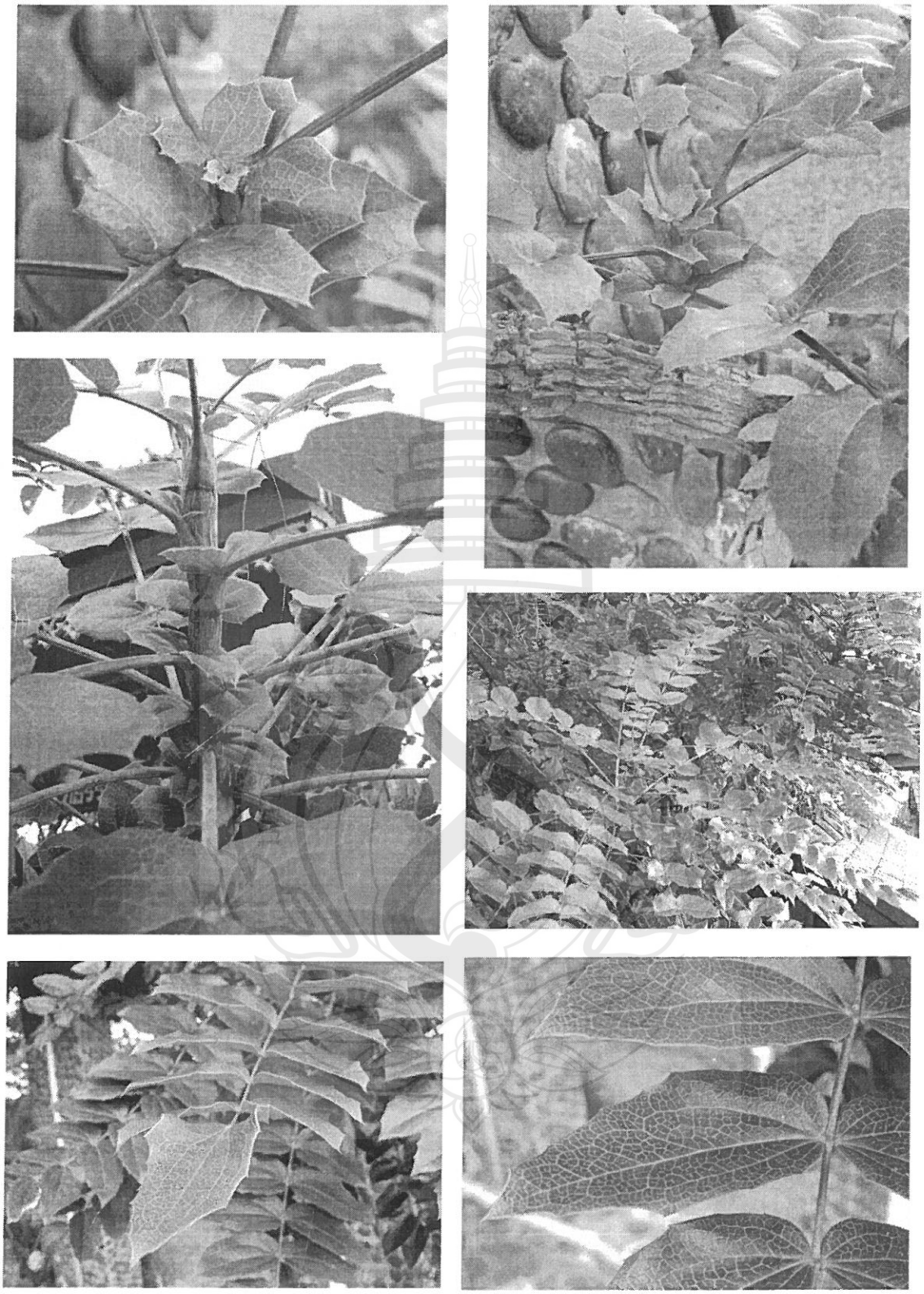
แหล่งของการเก็บตัวอย่าง พื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เนื่องจากเป็นพื้นประจำถิ่น จำกัดบริเวณไม่ได้ขึ้นกระจายทั้งประเทศไทยจึงเก็บได้เฉพาะถิ่น ได้แก่ อำเภอเมืองเชียงใหม่ 6 แหล่ง อำเภอแม่แตง 2 แหล่ง อำเภอจอมทอง 3 แหล่ง และ อำเภอเชียงดาว 1 แหล่ง มากไปกว่านั้น เนื่องจากต้องอาศัยองค์ความรู้พื้นถิ่นและจำเพาะเจาะจง ผู้วิจัยจึงรวบรวมพืชตัวอย่างจากกลุ่มหมอพื้นบ้าน(หมอเมือง)ที่มีความเชี่ยวชาญในพื้นที่ในการเก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างมายืนยันเปรียบเทียบกับชนิดของตัวอย่างจากตัวอย่างพันธุ์ไม้อ้างอิง (Herbarium) เลขที่ QBG No. 29669: Scientific name Mahonia siamensis Takeda ex Craib. Family name: BERBERIDACEAE, Collector C. Glamwaewwong 1403, Chiang mai/Thailand จากสำนักงานหอพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ร่วมกับยืนยันชนิดของต้นไม้ (Authentic specification) โดย ศาสตราภิชาน ดร. ภก. นิจศิริ เรืองรังษี วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตัวอย่างพืชสมุนไพร ถูกเก็บไว้ ณ ห้องปฏิบัติการพืชสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนที่เก็บ ส่วนเหนือดิน ได้แก่ ลำต้น กิ่ง ก้าน ใบ

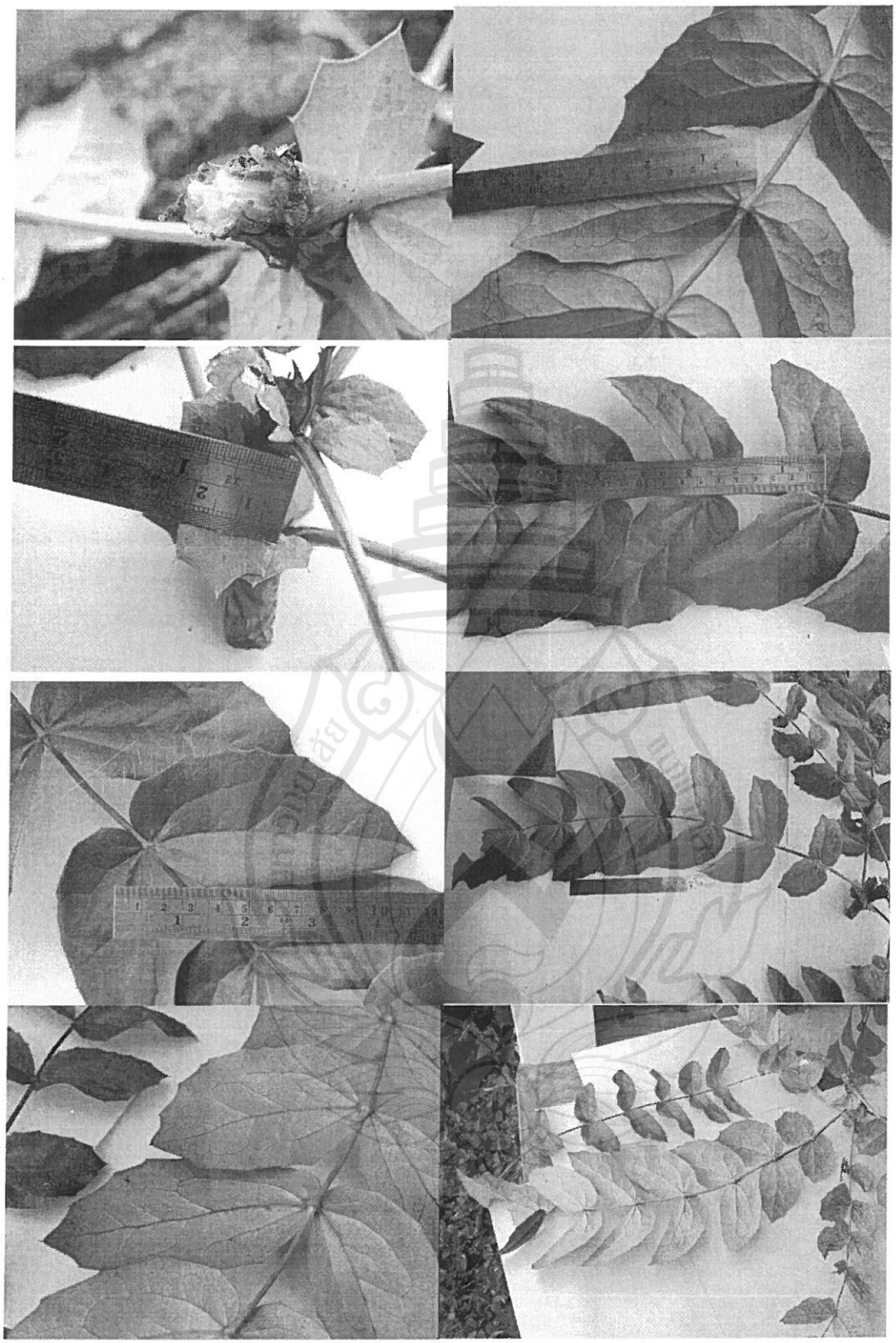
ระยะเวลาที่เก็บ พฤศจิกายน– พฤษภาคม

การศึกษาทางลักษณะมหทรรศน์ (Macroscopic description)

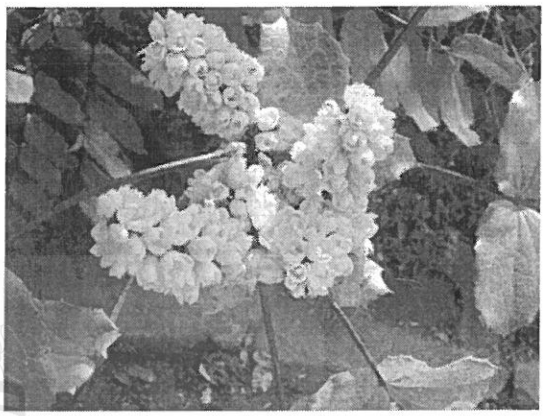
ภาพที่ 4-1 ภาพ Whole plant ของขมิ้นต้น



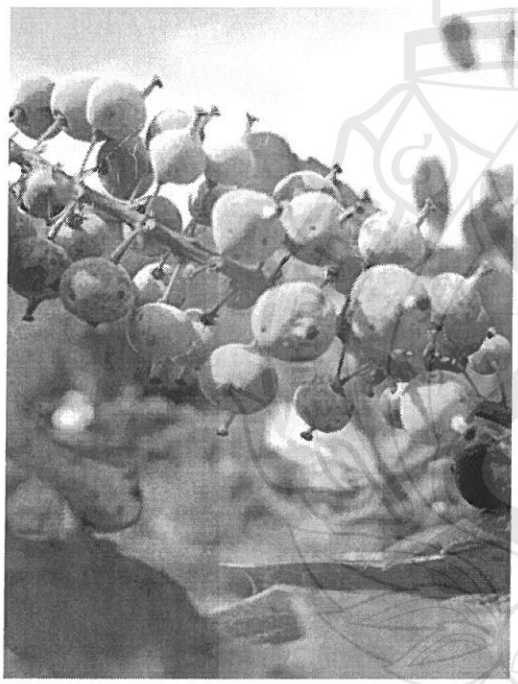
ภาพที่ 4-2 ลักษณะใบของขมิ้นต้น

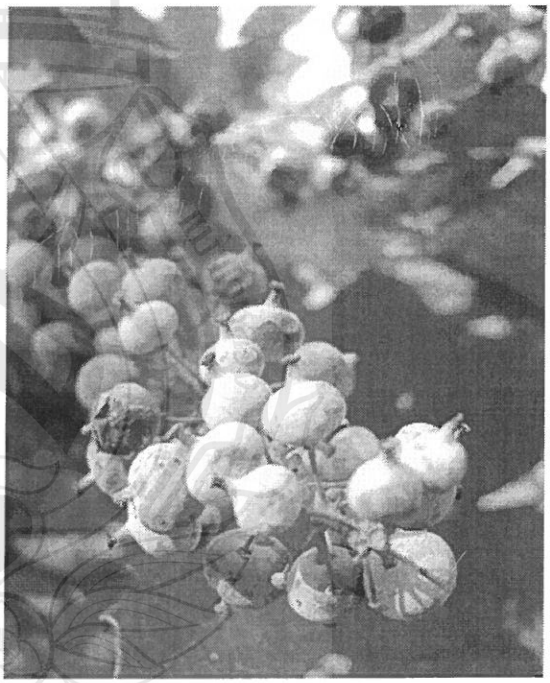


ภาพที่ 4-3 ลักษณะและขนาดใบขมิ้นต้น

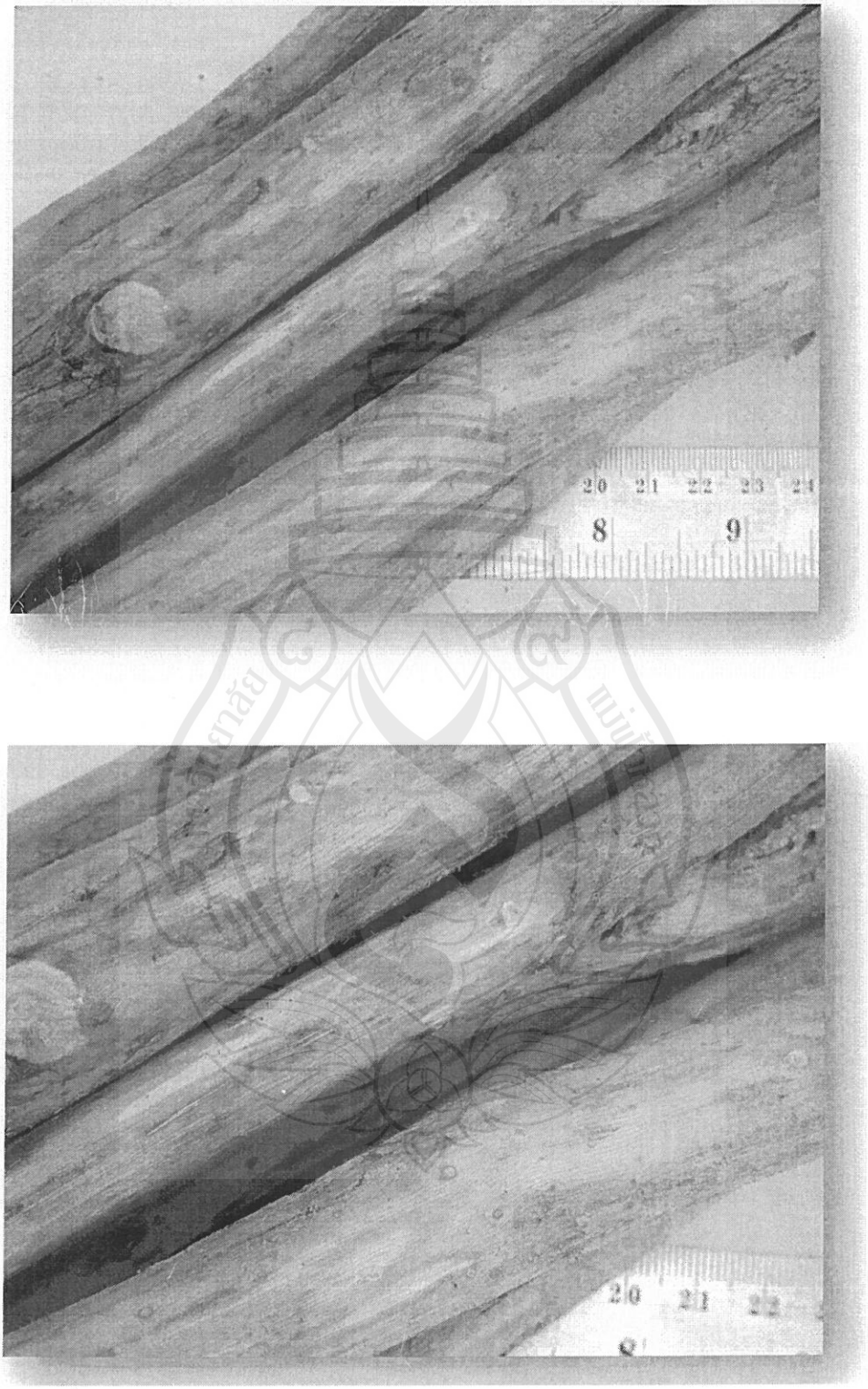


ภาพที่ 4-4 ดอกขมิ้นต้น 1 ดอกขมิ้นต้น 2

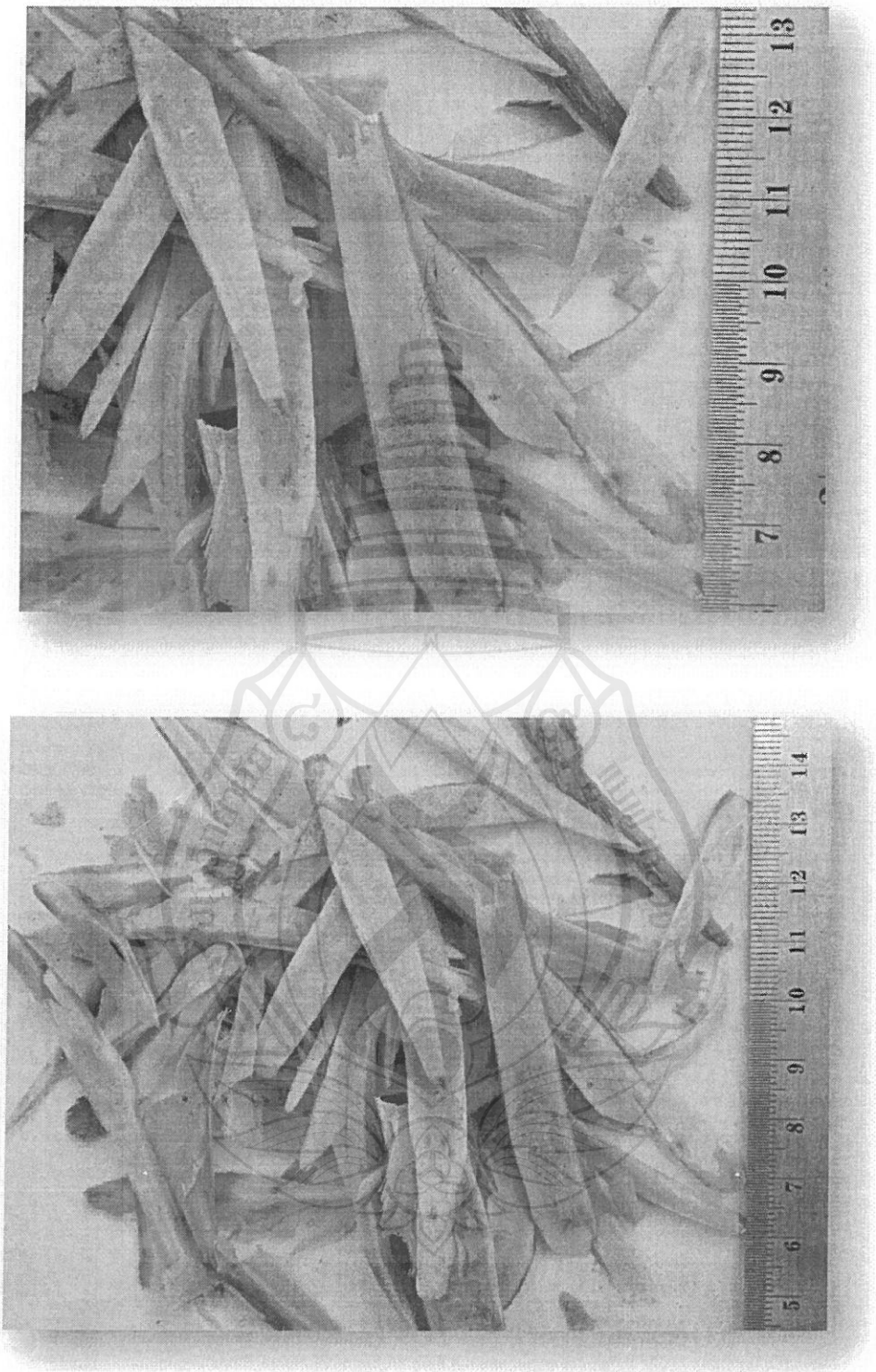




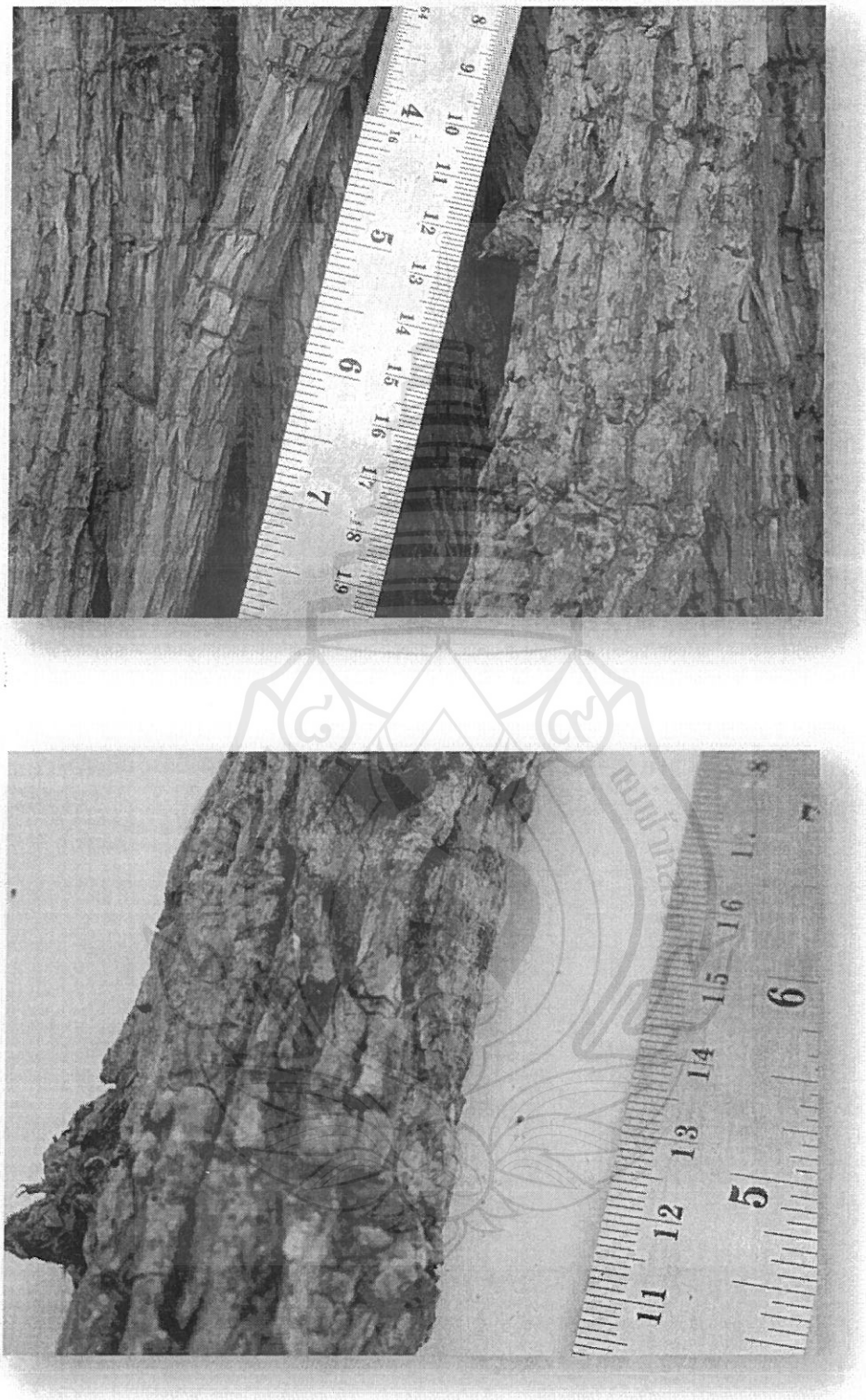
ภาพที่ 4-5 ผลขมิ้นต้น



ภาพที่ 4-6 ลักษณะทางมหทรรศน์ (Macroscopic description) เปลือกใน



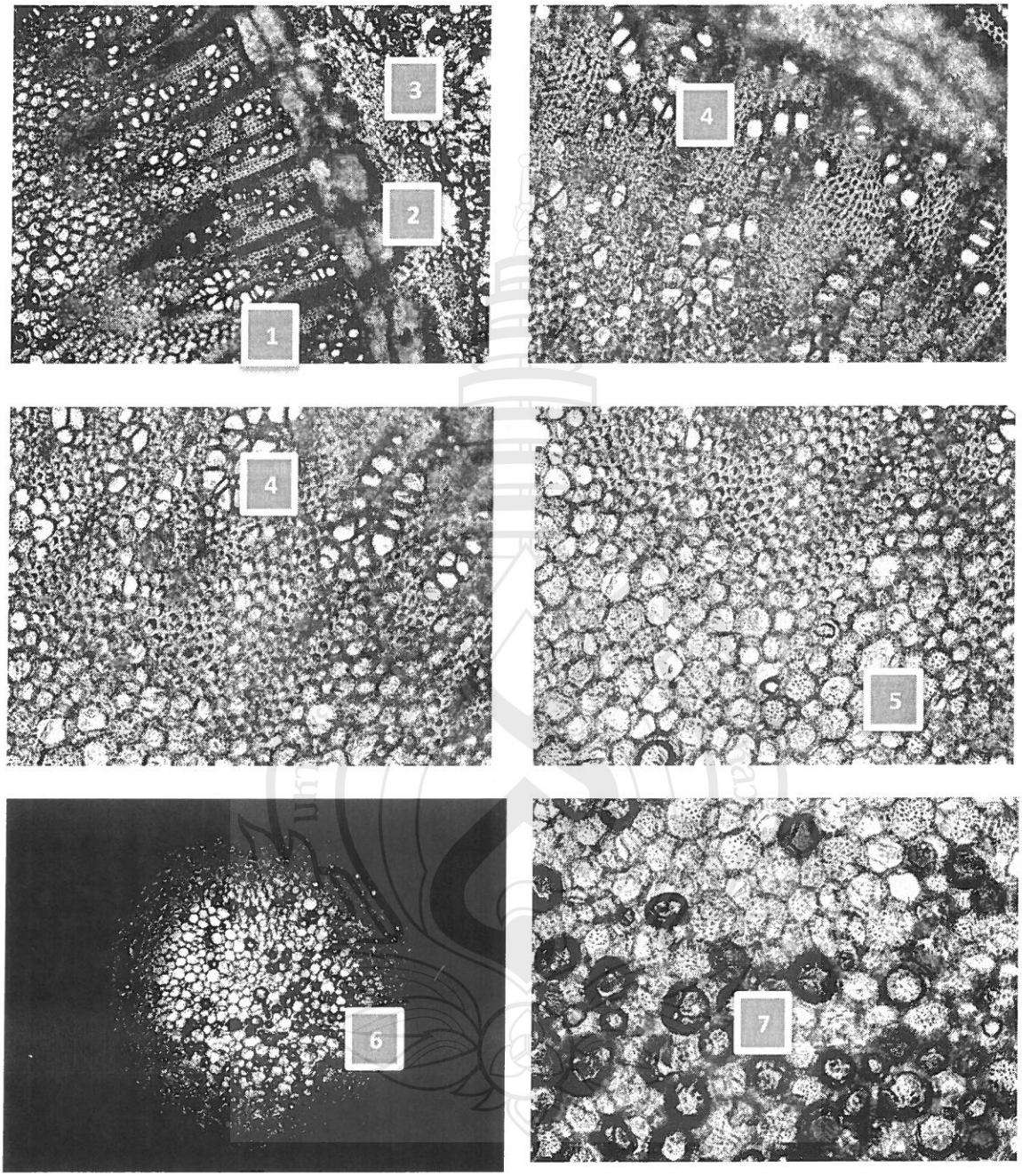
ภาพที่ 4-7 ลักษณะทางมหทรรศน์ (Macroscopic description) เปลือกใน



ภาพที่ 4-8 ลักษณะทางมหทรรศน์ (Macroscopic description) เปลือกนอก

ภาพที่ 4-8 ลักษณะทางมหทรรศน์ (Macroscopic description) เปลือกนอก

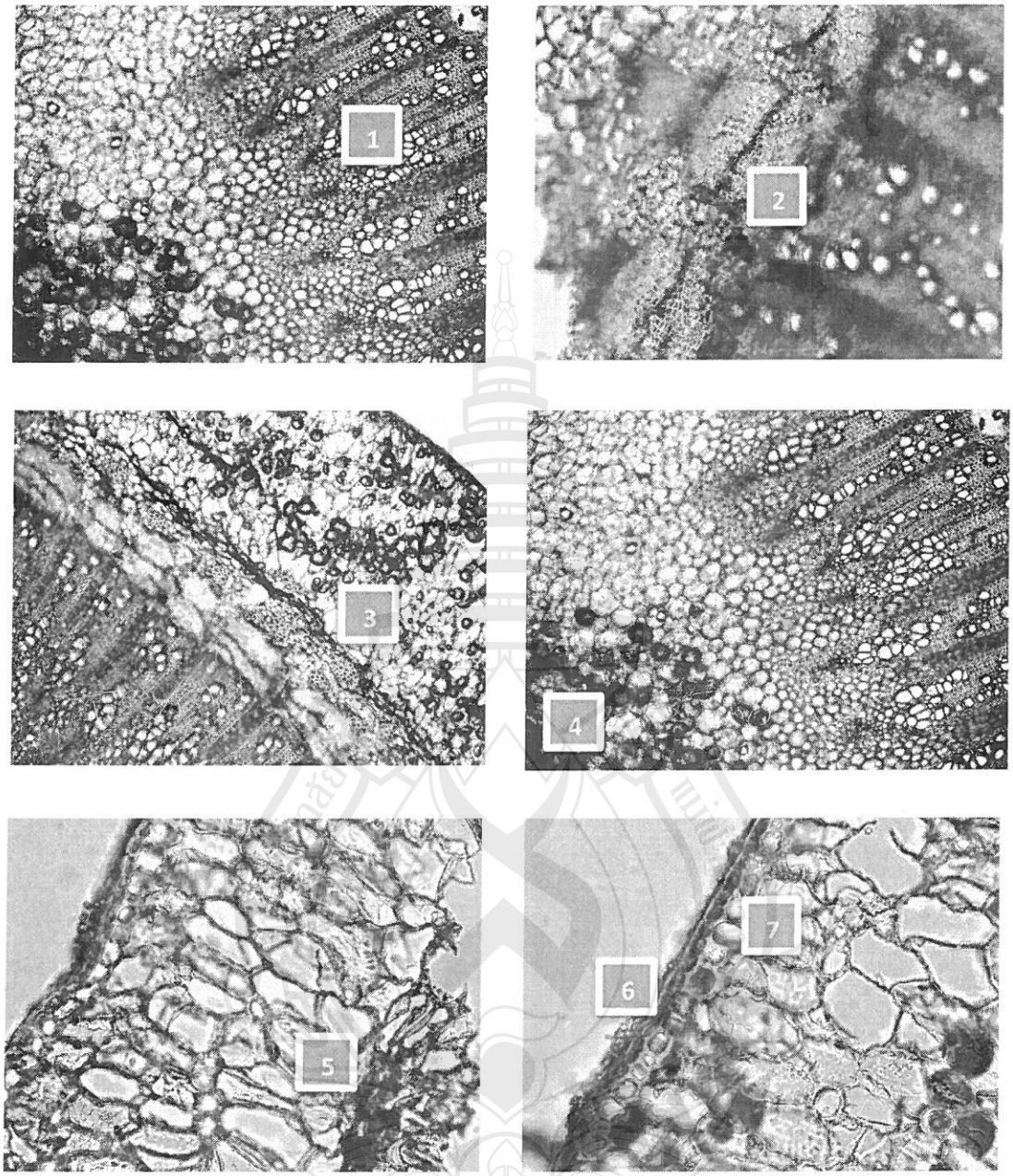
ลักษณะทางกายภิภาคศาสตร์ (Anatomical characteristcs)



ภาพที่ 4-10 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ (Anatomical characteristics)

1: Xylem ray 2: Cortical Fiber 3: Phloem 4: Xylem vessel

5:Parenchyma of pith 6: Pith 7: Prism crystal of calcium oxalate

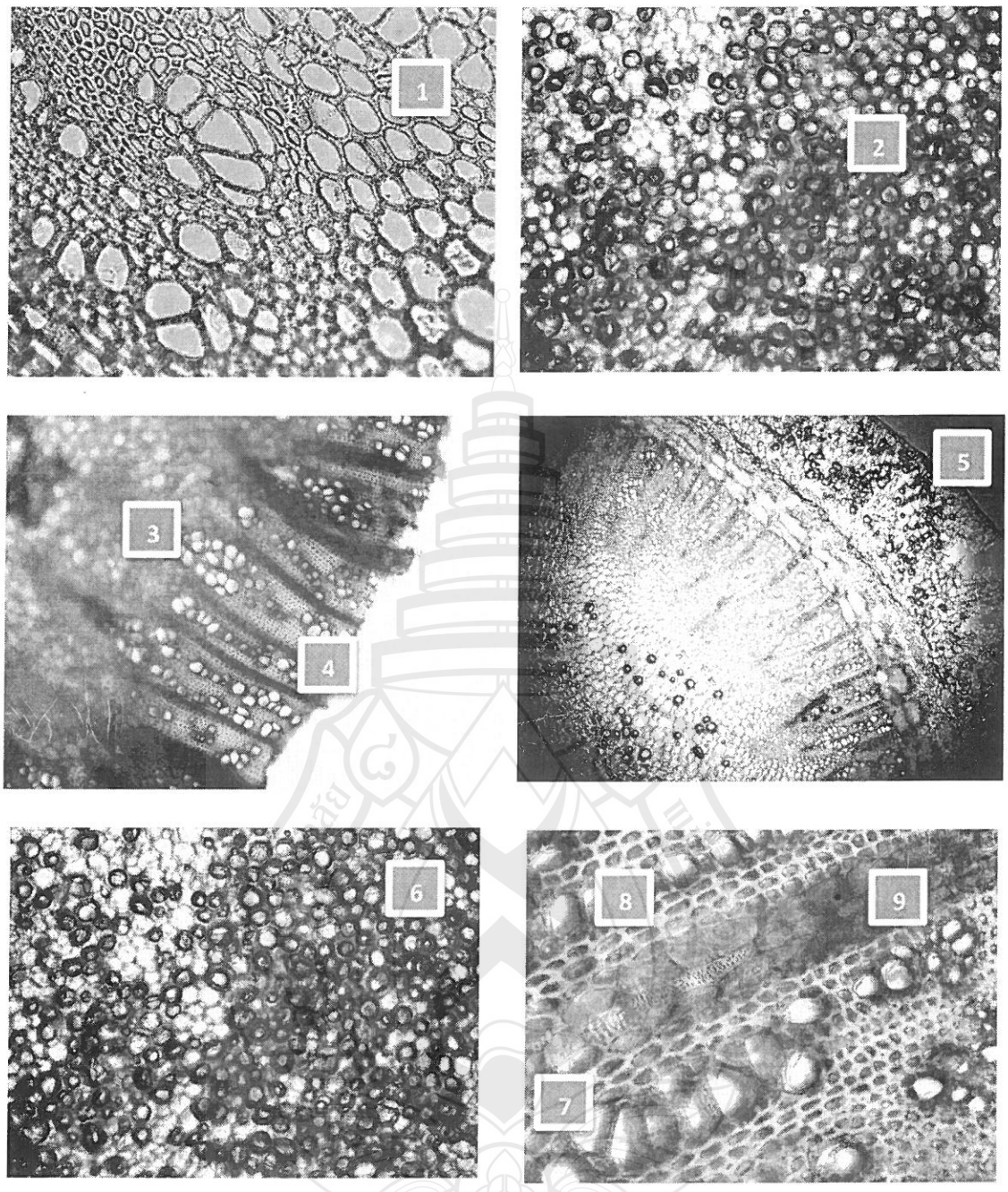


ภาพที่ 4-11 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ (Anatomical characteristics)

1: Xylem fiber 2: Cortical Fiber 3: Parenchyma containing prism crystal

4: Pith containing prism crystal 5:Parenchyma of cortex 6: Epiderm

7: Periderm

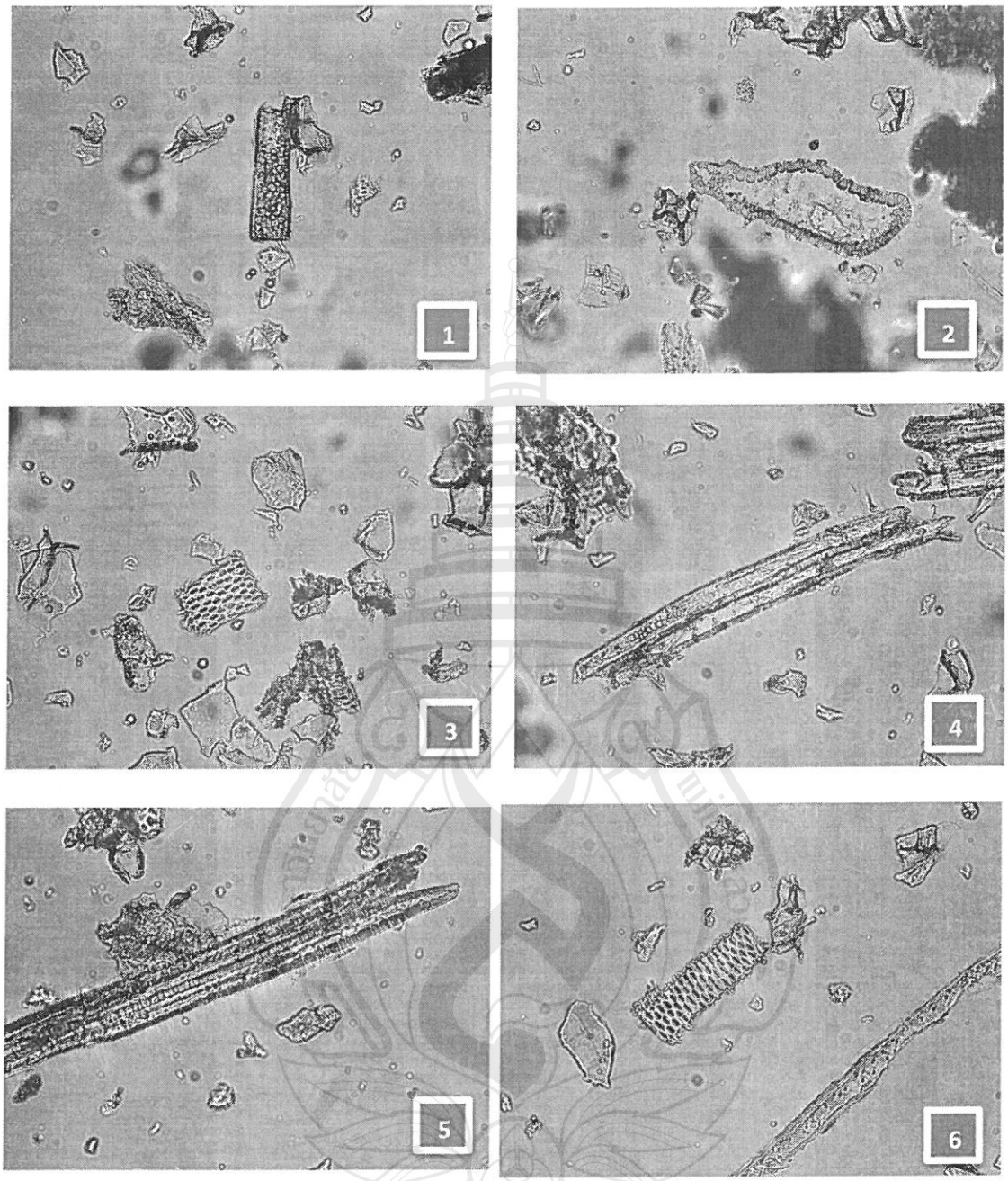


ภาพที่ 4-12 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ (Anatomical characteristics)

1: Parenchyma 2: Pith containing prism crystal 3:Xylem vessel

4.: Xylem fiber 5:Histology of plant 6: Pith containing prism crystal

7: Xylem vessel 8:Xylem fiber 9: Xylem ray

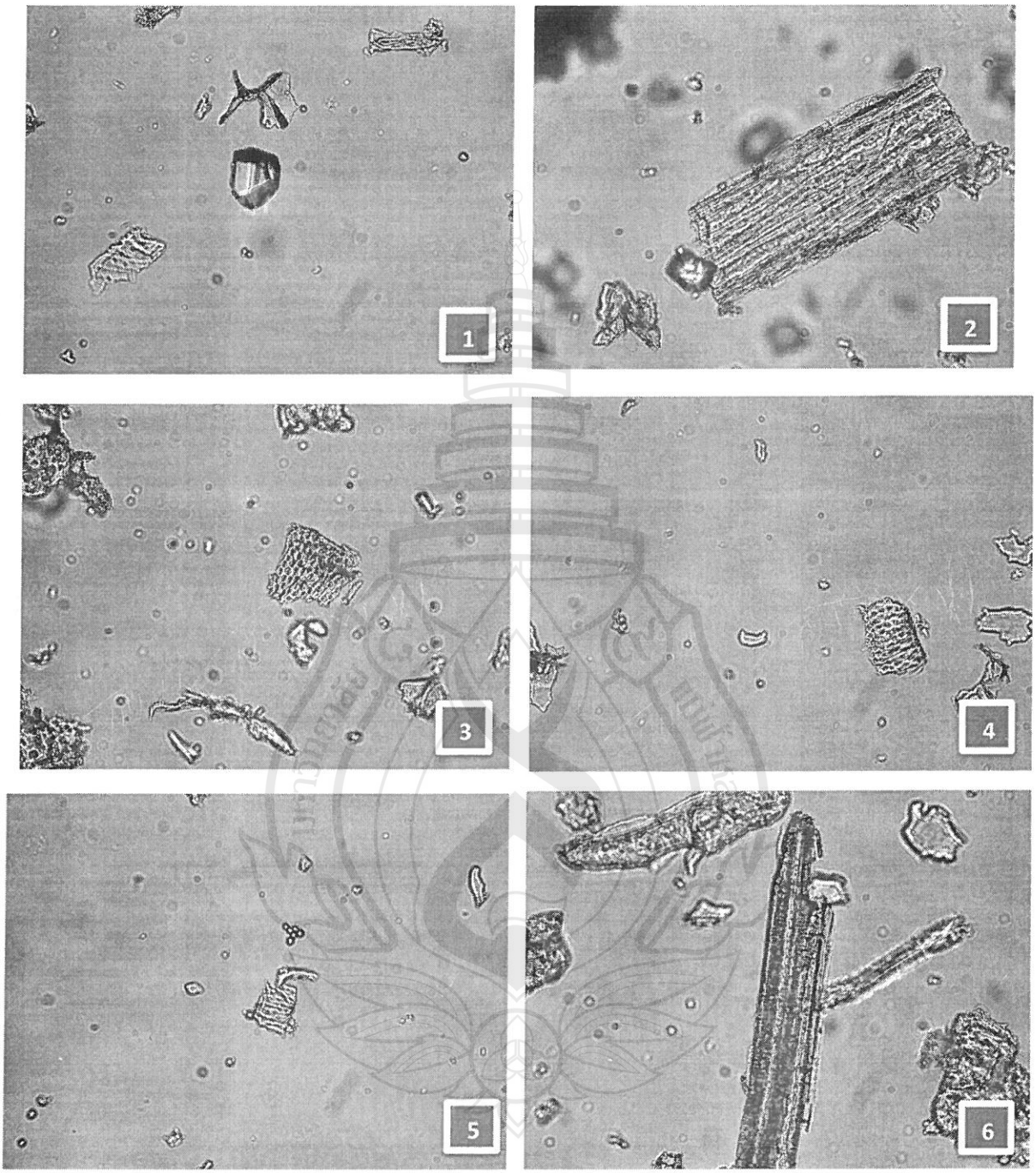


ภาพที่ 4-13 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา (Histological characteristics)

1.Fragment of parenchyma 2. Parenchyma in sectional view

3.Fragment of parenchyma and pitted vessel 4.Fiber

5. Fiber 6. Fragment of bordered pitted vessel



ภาพที่ 4-14 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา (Histological characteristics)

1.Prism crystal of calcium oxalate

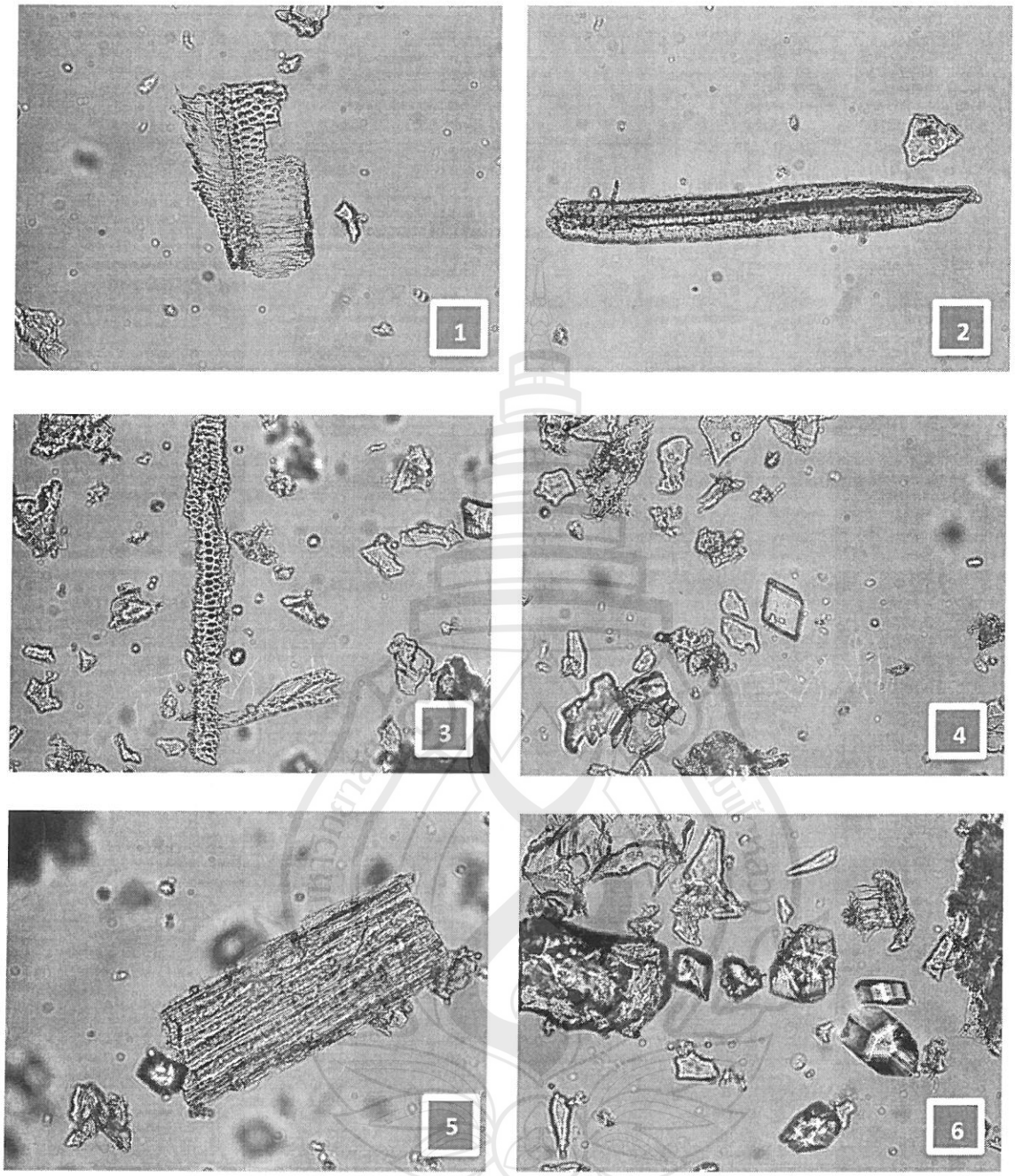
2. Fragment of Fiber

3.Fragment of pitted vessel

4.Fragement of parenchyma

5. Fragment of parenchyma

6. Fragment of fiber



ภาพที่ 4-15 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา (Histological characteristics)

1.Fragment of bored pitted vessel

2. Fragment of Fiber

3.Fragment of bored pitted vessel

4.Prism crystal of calcium oxalate

5. Fragment of fiber

6. Prism crystal of calcium oxalate

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ ภาคตัดขวาง (Anatomical characteristics of Cross-sectional)

ลักษณะภาคตัดขวางของขมิ้นต้น มีการเรียงตัวของเซลล์แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ประกอบด้วย Xylem มีความกว้างเป็น 2 เท่าของ ส่วน Phloem และในส่วยของ Xylem จะมีการเรียงตัวกันของ Xylem ray เป็นรูปกระสวย วนเป็นวงกลมตามลักษณะของvascular cambium โดยส่วนปลายของ Xylem ray จะประกอบด้วยส่วนของ Cortical fiber เรียงอัดเป็น 2 ชั้น ส่วนXylem vessel จะมีลักษณะใหญ่กระจายตัวอยู่โดยทั่วไปในชั้น Xylem และ บริเวณ Pith จะประกอบด้วยส่วนของ Prism crystal of calcium oxalate กระจายอยู่โดยรอบ ในส่วนของ Phloem แระกอบด้วย Parenchyma ที่มีขนาดใหญ่ที่ภายในบรรจุไว้ด้วย prism crystal กระจายอยู่ทั่วไป ภายนอกสุดเป็นชั้น Epidermis และ Peridermis เรียงตัว 3 ชั้นภายนอก (ภาพที่ 4-10 ถึง 4-12)

ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา (Histological Characteristics)

ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของขมิ้นต้น สิ่งที่พบส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วย Fragment of parenchyma, Fiber ที่มีลักษะเป็นแท่งเดียว และ รวมตัวกันเป็นกลุ่ม และมี Fragment of pitted vessel กระจายอยู่ทั่วไป สิ่งสำคัญที่พบค่อนข้างมากในผงขาของขมิ้นต้น คือ Prism crystal of calcium oxalate ที่มีขนาดต่างๆ ไม่จำเพาะเจาะจง และมีลักษณะรูปร่างที่หลากหลาย (ภาพที่ 4-13 ถึง 4-15)

ตารางที่ 4-1 แสดงสรุปค่าคงที่ทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น(Specification)

Content(% by weight)	Mean	SD	Range (min – max)	Range (Mean±3SD)
Foreign matter	0	0	0	0
Loss on drying	0.2496	0.0072	0.2367 – 0.2632	0.2280 – 0.2712
Total ash	2.9343	0.0196	0.8678 – 0.9953	2.8755 – 2.9931
Acid-insoluble ash	0.0477	0.1307	0.0077 – 0.7784	0.3447 - 0.4398
Ethanol-soluble extractive	0.0648	0.0073	0.0481 – 0.0829	0.0429 – 0.0867
Water-soluble extractive	0.1140	0.0142	0.0788 – 0.1352	0.0714 - 0.1566
Volatile oil	0	0	0	0
Moisture Content	2.2806	0.3823	1.5000 – 3.0000	1.1343 – 3.4269

N=12 และ ต่อ 1 ตัวอย่างทำ 3 ซ้ำ

ค่าคงที่ของขมิ้นต้น 12 แหล่ง

การศึกษาค่าคงที่ทางเภสัชเวทของขมิ้นต้น ในประเทศพบ ตามคู่มือการจัดทำมาตรฐานพืชสมุนไพรขององค์การอนามัยโลก โดยการสุ่มตัวอย่างมาอย่างน้อย 12 แหล่ง และดำเนินการจัดทำแต่ละ ค่าคงที่ อย่างน้อย 3 ซ้ำ/แหล่ง พบว่า การตรวจหาปริมาณสิ่งแปลกปลอม foreign matter ไม่สามารถหาได้เนื่องจากการเก็บตัวอย่างเป็นการเก็บแบบเฉพาะเจาะจง ไม่ได้เลือกสุ่มมาจากตลาดการซื้อขาย จึงไม่มีสิ่งแปลกปลอมในพืชสมุนไพร สำหรับ ค่าน้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง Loss on drying ปริมาณเถ้า Ash content และ ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด Acid-insoluble ash ควรมีค่าไม่เกิน 0.2496±0.0072, 2.9343±0.196 และ 0.0477±0.1307 ตามลำดับ ในส่วนของค่า ปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย Solvent extractive values ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณสารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ethanol soluble extractives ควรมีสารสกัดไม่ต่ำกว่า 0.0647±0.0073 และ ปริมาณสารสกัดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย Water soluble extractives ควรมีสารสกัดไม่ต่ำกว่า 0.1140±0.0142 และ ปริมาณความชื้น Moisture content ควรมีไม่มากไปกว่า 2.2806±0.3823 แต่สำหรับ น้ำมันหอมระเหย volatile oil content ไม่สามารถหาได้เนื่องจากเป็นพืชที่ไม่มีน้ำมันหอยระเหยเป็นส่วนประกอบหลัก

ตารางที่4-2 แสดงปริมาณความชื้นในตัวยา (Loss on drying)

Loss on dying เท่ากับ 0.2496 ± 0.0072			
ลำดับ	ตัวอย่าง	Loss on drying	(Mean ± SD)
เมืองเชียงใหม่ 1	1.1	0.2385	0.2375±0.0009
เมืองเชียงใหม่ 1	1.2	0.2367	
เมืองเชียงใหม่ 1	1.3	0.2372	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.1	0.2467	0.2446±0.0031
เมืองเชียงใหม่ 2	2.2	0.2410	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.3	0.2460	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.1	0.2530	0.2574±0.0045
เมืองเชียงใหม่ 3	3.2	0.2571	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.3	0.2620	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.1	0.2497	0.2501±0.0006
เมืองเชียงใหม่ 4	4.2	0.2498	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.3	0.2508	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.1	0.2520	0.2501±0.0017
เมืองเชียงใหม่ 5	5.2	0.2494	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.3	0.2489	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.1	0.2489	0.2518±0.0029
เมืองเชียงใหม่ 6	6.2	0.2546	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.3	0.2520	
แม่แตง 1	7.1	0.2483	0.2516±0.0037
แม่แตง 1	7.2	0.2509	
แม่แตง 1	7.3	0.2556	
แม่แตง 2	8.1	0.2523	0.2465±0.0054
แม่แตง 2	8.2	0.2417	
แม่แตง 2	8.3	0.2454	
จอมทอง 1	9.1	0.2632	0.2619±0.0012
จอมทอง 1	9.2	0.2609	
จอมทอง 1	9.3	0.2617	
จอมทอง 2	10.1	0.2482	0.2501±0.0026
จอมทอง 2	10.2	0.2530	
จอมทอง 2	10.3	0.2491	
จอมทอง 3	11.1	0.2438	0.2397±0.0035
จอมทอง 3	11.2	0.2380	
จอมทอง 3	11.3	0.2374	
เชียงดาว	12.1	0.2543	0.2538±0.0042
เชียงดาว	12.2	0.2578	
เชียงดาว	12.3	0.2494	

ตารางที่ 4-3 แสดงปริมาณเถ้าในตัวยา (Total Ash)

Total Ash เท่ากับ 2.9343 ± 0.0196			
ลำดับ	ตัวอย่าง	Total Ash	(Mean ± SD)
เมืองเชียงใหม่ 1	1.1	2.9400	2.9241±0.0141
เมืองเชียงใหม่ 1	1.2	2.9190	
เมืองเชียงใหม่ 1	1.3	2.9133	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.1	2.9147	2.9261±0.0171
เมืองเชียงใหม่ 2	2.2	2.9457	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.3	2.9178	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.1	2.9546	2.9566±0.0377
เมืองเชียงใหม่ 3	3.2	2.9199	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.3	2.9953	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.1	2.9543	2.9352±0.0185
เมืองเชียงใหม่ 4	4.2	2.9173	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.3	2.9340	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.1	2.9299	2.9439±0.0122
เมืองเชียงใหม่ 5	5.2	2.9522	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.3	2.9496	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.1	2.9416	2.9350±0.0121
เมืองเชียงใหม่ 6	6.2	2.9211	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.3	2.9424	
แม่แตง 1	7.1	2.9295	2.9258±0.0041
แม่แตง 1	7.2	2.9265	
แม่แตง 1	7.3	2.9214	
แม่แตง 2	8.1	2.9412	2.9379±0.0032
แม่แตง 2	8.2	2.9377	
แม่แตง 2	8.3	2.9348	
จอมทอง 1	9.1	2.9283	2.9371±0.0087
จอมทอง 1	9.2	2.9373	
จอมทอง 1	9.3	2.9456	
จอมทอง 2	10.1	2.9272	2.9380±0.0186
จอมทอง 2	10.2	2.9594	
จอมทอง 2	10.3	2.9273	
จอมทอง 3	11.1	2.9339	2.9423±0.0073
จอมทอง 3	11.2	2.9474	
จอมทอง 3	11.3	2.9456	
เชียงดาว	12.1	2.9374	2.9092±0.0366
เชียงดาว	12.2	2.9225	
เชียงดาว	12.3	2.8678	

ตารางที่ 4-4 แสดงปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid-insoluble ash)

Acid-insoluble ash เท่ากับ 0477 ± 0.1307			
ลำดับ	ตัวอย่าง	Acid-insoluble Ash	(Mean ± SD)
เมืองเชียงใหม่ 1	1.1	0.0090	0.0098 ± 0.0008
เมืองเชียงใหม่ 1	1.2	0.0105	
เมืองเชียงใหม่ 1	1.3	0.0099	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.1	0.0150	0.0115 ± 0.0032
เมืองเชียงใหม่ 2	2.2	0.0088	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.3	0.0108	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.1	0.0103	0.0101 ± 0.0018
เมืองเชียงใหม่ 3	3.2	0.0117	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.3	0.0082	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.1	1.0662	0.0358 ± 0.0287
เมืองเชียงใหม่ 4	4.2	0.3921	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.3	0.0092	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.1	0.0113	0.0093 ± 0.0018
เมืองเชียงใหม่ 5	5.2	0.0077	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.3	0.0089	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.1	0.0096	0.0308 ± 0.0372
เมืองเชียงใหม่ 6	6.2	0.0738	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.3	0.0090	
แม่แตง 1	7.1	0.0103	0.0125 ± 0.0039
แม่แตง 1	7.2	0.0170	
แม่แตง 1	7.3	0.0103	
แม่แตง 2	8.1	0.0124	0.2668 ± 0.4430
แม่แตง 2	8.2	0.7784	
แม่แตง 2	8.3	0.0097	
จอมทอง 1	9.1	0.1672	0.1255 ± 0.0364
จอมทอง 1	9.2	0.1002	
จอมทอง 1	9.3	0.1090	
จอมทอง 2	10.1	0.0143	0.0108 ± 0.0031
จอมทอง 2	10.2	0.0085	
จอมทอง 2	10.3	0.0095	
จอมทอง 3	11.1	0.0098	0.0094 ± 0.0004
จอมทอง 3	11.2	0.0091	
จอมทอง 3	11.3	0.0094	
เชียงดาว	12.1	0.0078	0.0399 ± 0.0534
เชียงดาว	12.2	0.0104	
เชียงดาว	12.3	0.1015	

ตารางที่ 4-5 แสดงปริมาณสารสกัดเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย(Ethanol-soluble Extraction)

Ethanol-soluble Extraction เท่ากับ 0.0648 ± 0.0073			
ลำดับ	ตัวอย่าง	Ethanol-soluble Extraction	(Mean ± SD)
เมืองเชียงใหม่ 1	1.1	0.0589	0.0625 ± 0.0035
เมืองเชียงใหม่ 1	1.2	0.0628	
เมืองเชียงใหม่ 1	1.3	0.0658	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.1	0.0625	0.0603 ± 0.0051
เมืองเชียงใหม่ 2	2.2	0.0545	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.3	0.0639	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.1	0.0593	0.0600 ± 0.0043
เมืองเชียงใหม่ 3	3.2	0.0646	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.3	0.0560	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.1	0.0610	0.0617 ± 0.0057
เมืองเชียงใหม่ 4	4.2	0.0677	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.3	0.0564	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.1	0.0677	0.0663 ± 0.0035
เมืองเชียงใหม่ 5	5.2	0.0623	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.3	0.0688	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.1	0.0634	0.0678 ± 0.0044
เมืองเชียงใหม่ 6	6.2	0.0721	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.3	0.0679	
แม่แตง 1	7.1	0.0596	0.0592 ± 0.0058
แม่แตง 1	7.2	0.0647	
แม่แตง 1	7.3	0.0532	
แม่แตง 2	8.1	0.0797	0.0769 ± 0.0077
แม่แตง 2	8.2	0.0682	
แม่แตง 2	8.3	0.0829	
จอมทอง 1	9.1	0.0598	0.0670 ± 0.0077
จอมทอง 1	9.2	0.0752	
จอมทอง 1	9.3	0.0660	
จอมทอง 2	10.1	0.0766	0.0633 ± 0.0143
จอมทอง 2	10.2	0.0652	
จอมทอง 2	10.3	0.0481	
จอมทอง 3	11.1	0.0710	0.0682 ± 0.0052
จอมทอง 3	11.2	0.0714	
จอมทอง 3	11.3	0.0622	
เชียงดาว	12.1	0.0667	0.0650 ± 0.0061
เชียงดาว	12.2	0.0700	
เชียงดาว	12.3	0.0582	

ตารางที่ 4-6 แสดงปริมาณสารสกัดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (Water-soluble Extraction)

Water-soluble Extraction เท่ากับ 0.1140 ± 0.0142			
ลำดับ	ตัวอย่าง	Water-soluble Extraction	(Mean ± SD)
เมืองเชียงใหม่ 1	1.1	0.0994	0.1008 ± 0.0054
เมืองเชียงใหม่ 1	1.2	0.1068	
เมืองเชียงใหม่ 1	1.3	0.0963	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.1	0.0996	0.0981 ± 0.0103
เมืองเชียงใหม่ 2	2.2	0.1076	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.3	0.0871	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.1	0.0788	0.0881 ± 0.0090
เมืองเชียงใหม่ 3	3.2	0.0887	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.3	0.0967	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.1	0.1188	0.1104 ± 0.0074
เมืองเชียงใหม่ 4	4.2	0.1075	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.3	0.1048	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.1	0.1329	0.1338 ± 0.0012
เมืองเชียงใหม่ 5	5.2	0.1333	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.3	0.1352	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.1	0.1108	0.1170 ± 0.0117
เมืองเชียงใหม่ 6	6.2	0.1305	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.3	0.1098	
แม่แตง 1	7.1	0.1229	0.1212 ± 0.0019
แม่แตง 1	7.2	0.1214	
แม่แตง 1	7.3	0.1192	
แม่แตง 2	8.1	0.1302	0.1231 ± 0.0092
แม่แตง 2	8.2	0.1265	
แม่แตง 2	8.3	0.1127	
จอมทอง 1	9.1	0.122	0.1217 ± 0.0032
จอมทอง 1	9.2	0.1183	
จอมทอง 1	9.3	0.1247	
จอมทอง 2	10.1	0.1012	0.1101 ± 0.0082
จอมทอง 2	10.2	0.1119	
จอมทอง 2	10.3	0.1172	
จอมทอง 3	11.1	0.1152	0.1162 ± 0.0087
จอมทอง 3	11.2	0.1080	
จอมทอง 3	11.3	0.1254	
เชียงดาว	12.1	0.1231	0.1279 ± 0.0043
เชียงดาว	12.2	0.1294	
เชียงดาว	12.3	0.1312	

ตารางที่ 4-7 แสดงปริมาณความชื้น (Moisture Content)

Moisture Content เท่ากับ 2.2806 ± 0.3823			
ลำดับ	ตัวอย่าง	Moisture Content	(Mean ± SD)
เมืองเชียงใหม่ 1	1.1	1.5	1.7000 ± 0.3464
เมืองเชียงใหม่ 1	1.2	1.5	
เมืองเชียงใหม่ 1	1.3	2.1	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.1	2.5	2.2667 ± 0.2517
เมืองเชียงใหม่ 2	2.2	2.0	
เมืองเชียงใหม่ 2	2.3	2.3	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.1	2.5	2.2667 ± 0.2517
เมืองเชียงใหม่ 3	3.2	2.0	
เมืองเชียงใหม่ 3	3.3	2.3	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.1	1.8	1.9000 ± 0.1000
เมืองเชียงใหม่ 4	4.2	2.0	
เมืองเชียงใหม่ 4	4.3	1.9	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.1	2.3	2.2667 ± 0.2517
เมืองเชียงใหม่ 5	5.2	2.5	
เมืองเชียงใหม่ 5	5.3	2.0	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.1	2.4	2.5667 ± 0.3786
เมืองเชียงใหม่ 6	6.2	3.0	
เมืองเชียงใหม่ 6	6.3	2.3	
แม่แตง 1	7.1	2.9	2.7000 ± 0.3464
แม่แตง 1	7.2	2.3	
แม่แตง 1	7.3	2.9	
แม่แตง 2	8.1	3.0	2.8000 ± 0.2646
แม่แตง 2	8.2	2.5	
แม่แตง 2	8.3	2.9	
จอมทอง 1	9.1	2.2	2.4000 ± 0.3464
จอมทอง 1	9.2	2.2	
จอมทอง 1	9.3	2.8	
จอมทอง 2	10.1	2.0	2.1667 ± 0.2887
จอมทอง 2	10.2	2.5	
จอมทอง 2	10.3	2.0	
จอมทอง 3	11.1	2.5	2.1667 ± 0.2887
จอมทอง 3	11.2	2.0	
จอมทอง 3	11.3	2.0	
เชียงดาว	12.1	2.3	2.1667 ± 0.1528
เชียงดาว	12.2	2.0	
เชียงดาว	12.3	2.2	

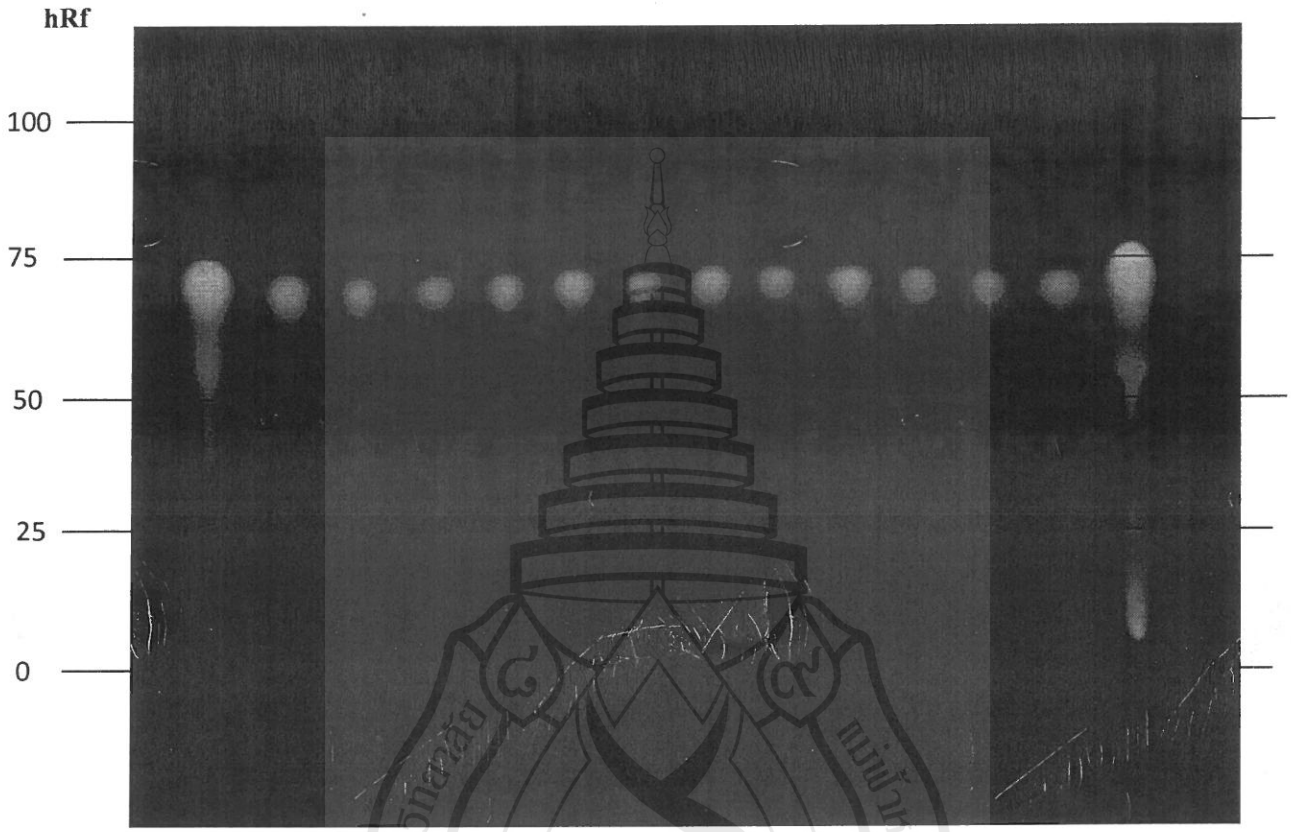
รงคเลขผิวบาง Thin-layer Chromatography(TLC)

นำผงยาจำนวน 3 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิด Methanol โดยวิธี Maceration แล้วกรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง และนำไประเหยให้แห้ง ละลายสารสกัดใน methanol จำนวน 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายปริมาณ 10 ไมโครลิตร หยดลงบน TLC ซึ่งฉาบด้วย ซิลิกาเจล 60F 254 (หนา 0.25 มิลลิเมตร ขนาด 20x20) Develop แผ่น TLC ใน chamber ที่ทำให้อิ่มตัวด้วยตัวทำละลายไว้แล้ว เมื่อ TLC plate ผ่านการ develop เรียบร้อย นำออกมาตากให้แห้งในอุณหภูมิห้อง และสังเกตการพัฒนาของจุดสารเคมีที่ได้ และนำไปสังเกตภายใต้ความยาวคลื่นแสงที่แตกต่างกันทั้งความยาวคลื่นสั้น 254 นาโนเมตร และ คลื่นยาวที่ 366 นาโนเมตร

ลำดับของแต่ละ finger print ประกอบด้วย แถวแรกแลสุดท้ายคือสารมาตรฐาน Berberine ลำดับที่ 1 -6 สารสกัดจากอำเภอเมืองเชียงใหม่ ลำดับที่ 7-8 อำเภอแม่แตง ลำดับที่ 9-11 อำเภอจอมทอง และ ลำดับที่ 12 คือ อำเภอเชียงดาว

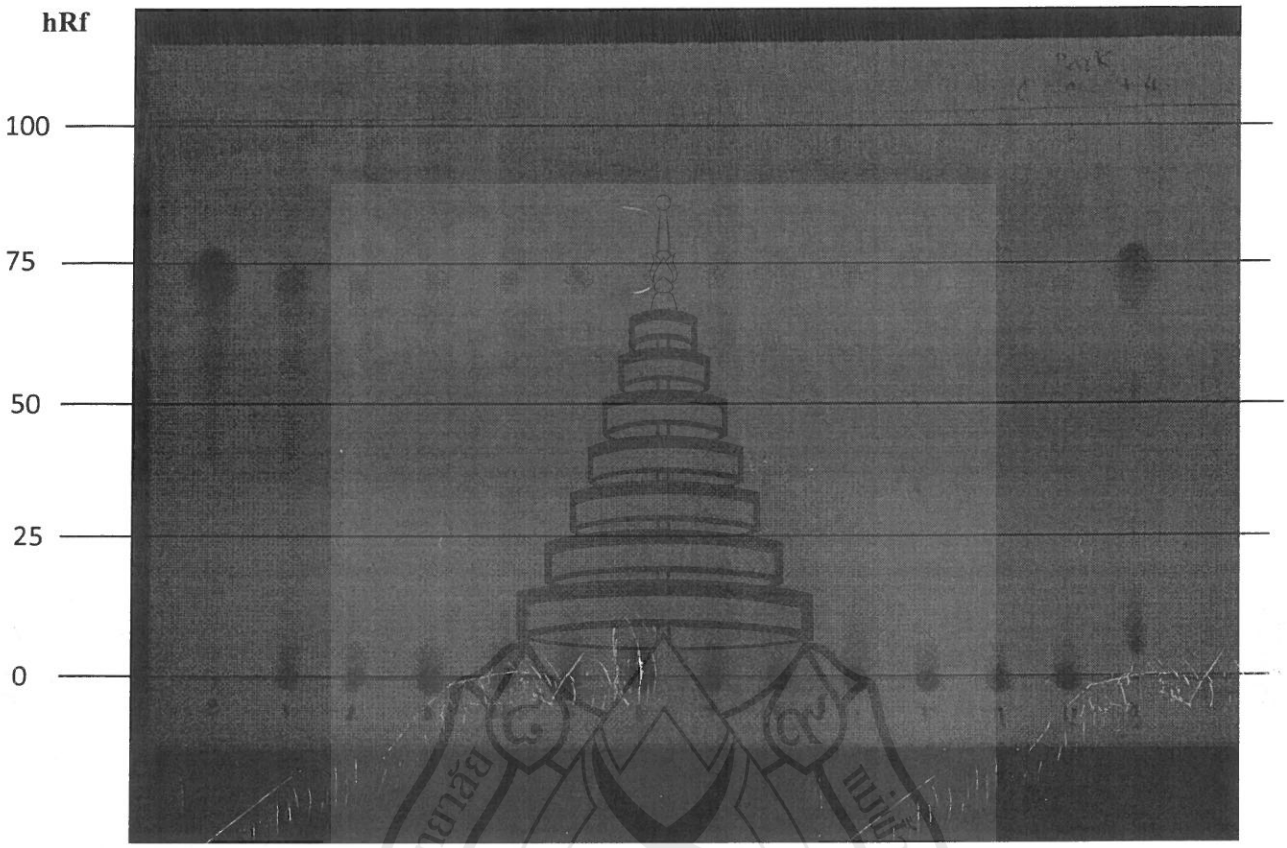
ภาพที่ 4-16 รงคเลขผิวบางส่วนเปลือกไม้ (Bark)

Solvent system	Chloroform : Methanol 60:40
Standard Compound	Berberine
Plant part	Bark



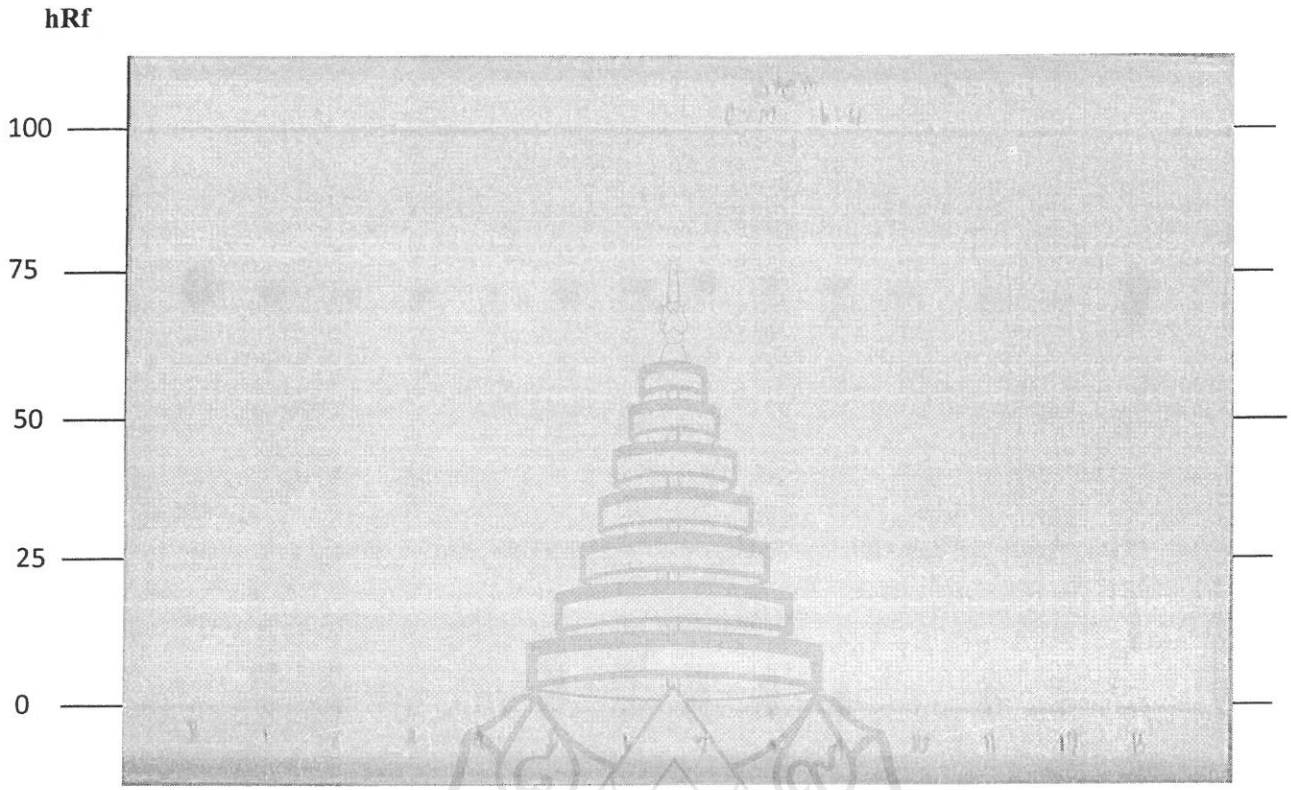
ภาพที่ 4-17 รงคเลขผิวบางส่วนเปลือกไม้ (Bark) ภายใต้ UV 366 nm

Solvent system	Chloroform : Methanol 60:40
Standard Compound	Berberine
Plant part	Bark
Detection	Detection under UV light 366 nm



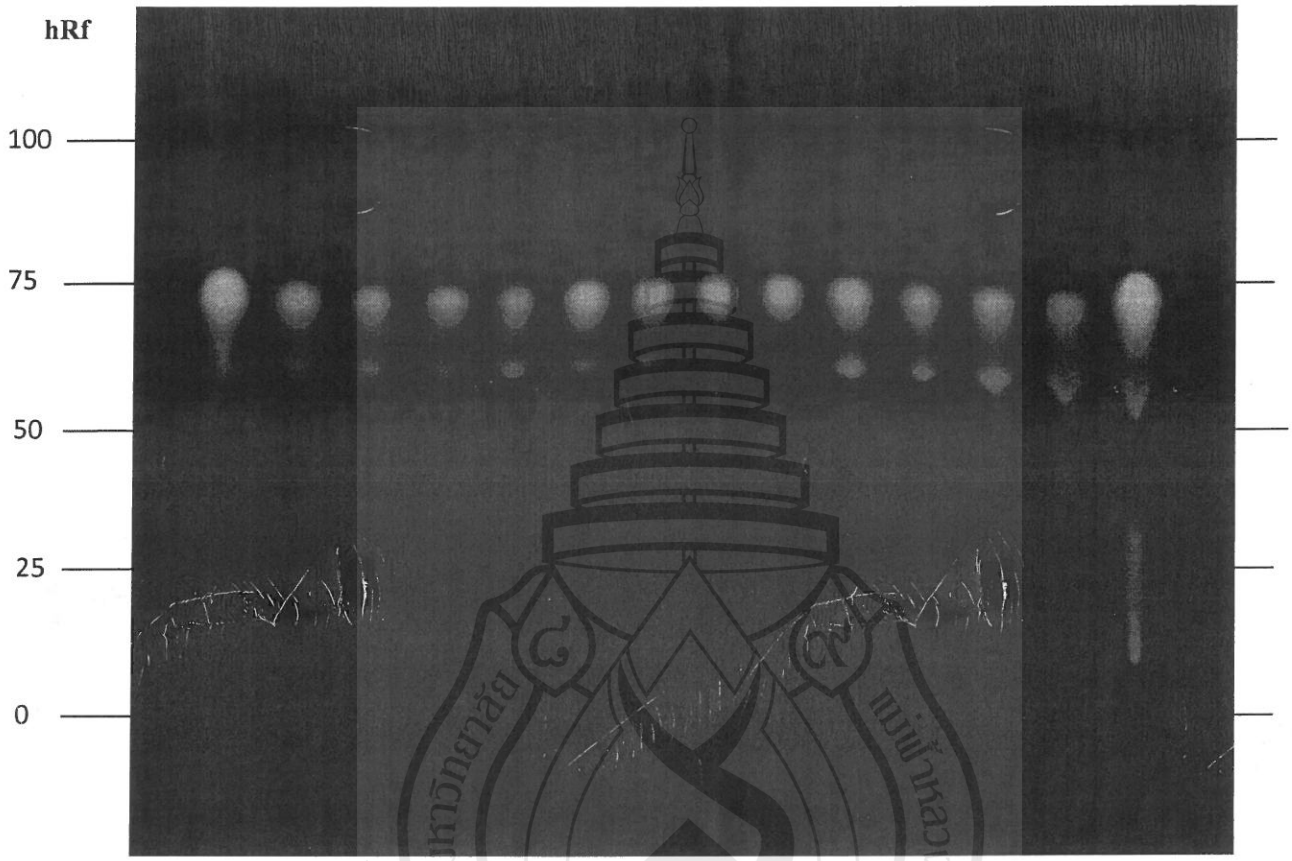
ภาพที่ 4-18 รงคเลขผิวบางส่วนเปลือกไม้ (Bark) ภายใต้ UV 254 nm

Solvent system	Chloroform : Methanol 60:40
Standard Compound	Berberine
Detection	Detection under UV light 254 nm
Plant part	Bark



ภาพที่ 4-19 รงคเลขผิวบางส่วนเนื้อไม้ (Sstem)

Solvent system	Chloroform : Methanol 60:40
Standard Compound	Berberine
Plant part	Stem



ภาพที่ 4-20 รงคเลขผิวบางส่วนเนื้อไม้ (Sstem) ภายใต้ UV 366 nm

Solvent system	Chloroform : Methanol 60:40
Standard Compound	Berberine
Plant part	Stem
Detection	Detection under UV light 366 nm

ภาพที่ 4-21 รงคเลขผิวบางส่วนเนื้อไม้ (Sstem) ภายใต้ UV 254 nm

Solvent system	Chloroform: Methanol 60:40
Standard Compound	Berberine
Detection	Detection under UV light 254 nm
Plant part	Stem

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ด้วยสภาวการณ์ในปัจจุบัน ที่สมุนไพรได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง บนฐานความเชื่อโดยทั่วไปว่าเป็นยาที่มาจากธรรมชาติและมีผลข้างเคียงต่อสุขภาพน้อยกว่ายาสังเคราะห์ จึงมีผลทำให้สมุนไพรต่างๆ ถูกนำมาใช้ในท้องตลาดมากขึ้น มากไปกว่านั้นยังมีการส่งเสริมให้ผลิต ใช้สมุนไพรในยาสำเร็จรูปทั้งแผนปัจจุบันและแผนไทย ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อวัตถุดิบสมุนไพรบางชนิดทำให้มีราคาแพง และขาดแคลน จึงมีผลทำให้เกิดการปนปลอมและปนเปื้อนขึ้นในท้องตลาด โดยทั่วไปราคาของสมุนไพรส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับคุณภาพของยาสมุนไพรนั้น ซึ่งจะรวมถึงลักษณะภายนอก ขนาด สี กลิ่น ของสมุนไพรนั้นๆ ดังนั้นจึงมีการประเมินคุณภาพของสมุนไพร และวิเคราะห์หาปริมาณสาระสำคัญต่างๆ ในสมุนไพร ทั้งนี้โดยกำหนดมาตรฐาน (Standard) ของสมุนไพรบางชนิดขึ้น เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ(Reference) โดยเขียนไว้ในเภสัชตำรับ(Pharmacopoeia) ของประเทศต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง อาทิ เภสัชตำรับของประเทศอังกฤษ (The British Pharmacopoeia, B.P.) เภสัชตำรับของประเทศสหรัฐอเมริกา (The United States Pharmacopoeia, U.S.P.) และเภสัชตำรับของกลุ่มประเทศยุโรป (The European Pharmacopoeia, E.P.) [20]

ด้วยในปัจจุบันการให้ความสนใจในสมุนไพรทั้งภาครัฐและเอกชนมีมากขึ้น การพัฒนาคุณภาพยาสมุนไพรให้มีคุณภาพเป็นที่น่าเชื่อถือแก่ผู้บริโภคนั้นจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งรวมถึงการมีข้อกำหนดทางเภสัชเวทไว้อ้างอิง โดยเขียนไว้ในเภสัชตำรับ(Pharmacopoeia) ทั้งที่เป็นวัตถุดิบสมุนไพรเดียว หรือ ตำรับ จึงมีความจำเป็นๆอย่างยิ่ง

ข้อกำหนดทางเภสัชเวทเป็นเครื่องมือที่สำคัญต่อการกำหนดค่าอ้างอิงของพืชสมุนไพร โดยการกำหนดให้มี การตรวจสอบเอกลักษณ์ ลักษณะภายนอกที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (Microscopic of morphology) การตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์(Microscpopic of histology) รวมไปถึงการตรวจสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้ปฏิกิริยาสีและรงคเลขผิวบาง(TLC) มากไปกว่านั้น ยังรวมไปถึงการตรวจสอบความบริสุทธิ์ (Pharmacognostical parameters) ได้แก่ การตรวจหาปริมาณเถ้า (Total Ash) การตรวนหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid-insoluble ash)

การตรวจหาสารสกัดในตัวทำละลายที่กำหนด(Solvent extractive value) การตรวจหาน้ำหนักที่หายไปจากการทำให้แห้ง (Loss on drying) การตรวจหาปริมาณน้ำหรือความชื้น(Moisture content)

ลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า ขมิ้นต้น เป็นไม้พุ่มที่เป็นกิ่งกระโดง เปลือกต้นสีน้ำตาลหนา แตกเป็นร่องตามยาว เปลือกในมีสีเหลืองคล้ายขมิ้น เรือนยอดเป็นกลุ่มใบดกหนา ใบมีลักษณะเป็นแบบขนนกปลายคี่ เรียงแบบเวียนสลับ รูปไข่หรือหอก ขอบใบจักเป็นหนาม ใบเหนียว แข็ง หูใบใหญ่ ดอกออกเป็นช่อกระจุก ตามซอกใบบริเวณปลายยอด มีดอกย่อยเล็กๆจำนวนมาก มีกลีบดอกมีสีเหลืองห่อเข้าหากัน ปลายมนหยักเว้า มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ช่วงเวลากลางวันและหอมแรงตอนพลบค่ำ ผลรูปทรงกลมแบนฉ่ำน้ำ ผลอ่อนมีสีเขียวเทา ผลแก่มีสีม่วงหรือน้ำเงิน มีนวล ในมีเมล็ด 1 เมล็ด

ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ พบว่า การเรียงตัวของ ทำลำเลียงน้ำ (Xylem fiber)เป็นรูปทรงกรวยโดยรอบของ Vascular cambium โดยมีผลึกคริสตัล Prism crystal กระจายอยู่บริเวณเปลือกไม้ (cortex) และกระพี้ไม้(pith) และลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่า ส่วนใหญ่มีเศษหักของไฟเบอร์กระจายอยู่ทั่วไป พร้อมกับคริสตัล (Prism crystal of calcium oxalate) สาระสำคัญที่พบในแต่ละส่วนของพืชจากการทำรงคเลขผิวบาง(TLC) มีค่า hRf ใกล้เคียงกับ Berrine ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ นิจศิริ เรืองรังษี และคณะ ที่ศึกษาสารสำคัญของขมิ้นต้นในปี พ.ศ. 2527[15]

จากการศึกษาข้อกำหนดทางเภสัชเวทของขมิ้นต้นข้างต้น สามารถกำหนดเป็นมาตรฐานทางเภสัชเวท (Reference) ของประเทศไทยได้ เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและศึกษาถึงคุณภาพของวัตถุดิบสมุนไพรได้ในอนาคต รวมถึงสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาต่อเนื่องในอนาคตเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ การศึกษาทางเภสัชวิทยา รวมถึงการศึกษาความเป็นพิษของยาสมุนไพรในอนาคตได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข. 2549. ระบบยาของประเทศไทย: ยาแผนโบราณและยาจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: 243-323.
2. คณะกรรมการแห่งชาติด้านยาบัญชียาหลักแห่งชาติ.บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. 2549 กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.2549 ISBN 92 4 244 217 7.
3. Smitinand T. 2001. THAI PLANT NAMES. The Forest Herbarium Royal Forest Department. Bangkok. ISBN 974 88385 0 1.
4. ไซมอน การ์ดเนอร์, พินดา สิทธิสุนทร, และ วิไลวรรณ อนุสารสุนทร. 2549. ต้นไม้เมืองเหนือ: คู่มือศึกษาพรรณไม้ยืนต้น ในป่าภาคเหนือ ประเทศไทย. โครงการจัดพิมพ์คบไฟ. กรุงเทพฯ: 560.
5. ศึกษาธิการ,กระทรวง,กรมวิชาการ,สถาบันภาษาไทย. 2542.แพทยศาสตร์สงเคราะห์. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์คุรุสภาพ.
6. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. โอ เอสพริ้นติ้ง เฮ้า.
7. Pennapa Subcharoen. 2007. History, Evaluation and Application of Thai Traditional Medicine. ISBN 987 974 9530 06 1. Samcharoenpanich Publisher (Bangkok), Ltd.
8. Salguero CP. 2003. A Thai Herbal: Traditional Recipes for Health and Harmony. Silkworm Books (Chaing mai).
9. Ruangungsi N. 2004. Unit 6. In Related Sciences in Thai Traditional Medicine. Textbook of School of Health Science, Sukhothai Thammathirat Open University. No. 53302. Pp 1-70.
10. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials (1998) ISBN 92 4 1545100 (NIM Classification: QV 766).
11. Institute of Thai Traditional Medicine Ministry of Public Health, Institute of Health research Chulalongkorn University. Pharmacognostic specification of Thai crude drugs. Bankok. The war Veterans Organization of Thailand under Royal Patronge of His Majesty the King; 2007.

12. Pulok K. Mukherjee. 2007. Quality control of herbal drugs: an approach to evaluation of botanicals. Second Reprint, Business horizons, New Delhi, India.

13. Trisonthi C and Trisonthi P. 2009. Ethnobotanical study in Thailand, a case study in Khun Yuam District Maehongson Province. THAI JOURNAL BOTANY 1(1):1-23.

14. Makarabhirom P. Traditional forest management in ban Chard community, northeastern Thailand. Regional Community Forestry Training Center(RECOFTC),Kasetsart University, Bangkok: 209-219.

15. Ruangrungsi N., De-Eknamkul W. and Lange GL. 1984. Constituents of Mahonia siamensis. Planta Med. 50(5):432-3.

16. Birdsall TC, Kelly GS. 1997. Berberine: Therapeutic potential of an alkaloid found in several medicinal plants. Alternative Medicine Reviews 2 (2): 94–103.

17. Peter J. Gibbs and Kenneth R. Seddon. 2000. Berberine: Alternative Medicine Review (London: British Library) 5 (2): 175–7. ISBN 0-7123-0649-8.

18. Li Y., Zuo G.-Y.2010. 'Advances in studies on antimicrobial activities of alkaloids" Chinese Traditional and Herbal Drugs. 41:6 (1006-1014)

19. Plant Resources of South East Asia. Avirable in http:// proceanet.org/prosea/index.php. Cited May 10th, 2012.

20. วันดี กฤษณพันธ์ 2534 การประเมินคุณภาพยาสมุนไพร: ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ, ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนศรีอยุธยา กรุงเทพ 10400. 499 หน้า

21. ศูนย์ข้อมูลกลางทางวัฒนธรรม สืบค้นเมื่อวันที่ 10 พฤษภาคม 2557 http://www.m-culture.in.th/moc_new/album/138860/ดอกขมิ้นต้นขี้มิ้นต้น

22. **Ahrendt, L. W. A.** (1961). Berberis and Mahonia a taxonomic revision. Journal of the Linnean Society. Botany. London Vol. 57:322.

อ้างอิงภาพ

1. รูปดอกขมิ้นต้น 1 ค้นวันที่ 10 พฤษภาคม 2557 จากเวิลด์ไวด์เว็บ http://www.weekendhobby.com/board/photo/shtml/24926.shtml
2. รูปดอกขมิ้นต้น 2 ค้นวันที่ 10 พฤษภาคม 2557 จากเวิลด์ไวด์เว็บ http://www.magnoliathailand.com/webboard/index.php?topic=10648.0
3. รูปผลขมิ้นต้น ค้นวันที่ 10 พฤษภาคม 2557 จากเวิลด์ไวด์เว็บ https://www.gotoknow.org/posts/359186 เขียนโดย ปภังกร วงศ์ชิดวรรณ

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ - สกุล	**ดร. จตุพงศ์ สิงหราไชย**
	Chatubhong Singharachai, Ph.D.
2. รหัสประจำตัวนักวิจัยแห่งชาติ	00904175
3. ตำแหน่งปัจจุบัน	อาจารย์
หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
	333 หมู่ 1 ตำบลท่าสุด อำเภอเมือง เชียงราย 57100
หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร	0 5391 6904, 08 9852 2444 โทรสาร 0 5391 6821
E mail address	chatubhong.sing@mfu.ac.th

4. ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี	สาธารณสุขศาสตร์บัณฑิต(เกียรตินิยม) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ 2544
	ปริญญาเอก	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต(วิจัยเพื่อการพัฒนาสุขภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2553
5. ประวัติการทำงาน	นักวิชาการสาธารสุข	พ.ศ. 2537 - 2549

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- Pharmacongnosy
- Multivariate analysis in Herbal sciences
- Qualitative study in Health Sciences
- Community Health

7. ประวัติการนำเสนอผลงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โปรดระบุชื่อเรื่องของผลงาน ชื่อการประชุม สถานที่ วัน เวลา ตามระบบสากล

1. **Singharachai C**, Palanuvej C, Vipanngeun N, Ruangrungsi N. "Microscopic Characters of Five Roots Species in Ben-Cha-Lo-Ka-Wi-Chian Remedy" 5th Annual Conference in Thai

Traditional medicine & Alternative medicine,September 3-5, 2008, Ministry of Public Health, Thailand.

2. **Singharachai C**, Palanuvej C, Ruangrungsi N. "Bioactivity Screening of Ben-Cha-Lo-Ka-Wi-Chian Remedy Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay" The 25th Annual Research Conference in Pharmaceutical Sciences December 2, 2008, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
3. **Singharachai C**, Bunrathep S, Ruangrungsi N. "Preliminary Screening Test for Free Radical Scavenging Activity in Ben–Cha–Lo–Ka–Wi–Chian Remedy" The Joint Seminar of JSPS-NRCT Core University Exchange System on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences, February 3-4 ,2009, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
4. **Singharachai C,** Ruangrungsi N., "Safety, Efficacy, and Quality assessment of Ben-Cha-Lo-Ka-Wi-Chian Remedy", Commission on Higher Education Congress II: University Staff Development Consortium CHE-USDC Congress II, August 27-29,2009.
5. **Singharachai C,** Wongwattanasathien O and Ruangrungsi N., "Mutagenicity and Anti-mutagenicity of Ben-Cha-Lo-Ka-Wi-Chian Remedy Using Ames test", 6th Annual Conference in Thai Traditional medicine & Alternative medicine, Ministry of Public Health, Thailand, September 2-6, 2009.
6. Jongchanapong A, **Singharachai C**, Palanuvej C, Ruangrungsi N and Towiwat P. Antipyretic and antinociceptic effects of BEN CHA LO KA WI CHIAN REMEDY. Proceeings of the 9th NRCT-JSPS Joint Seminar "Natural Medicine Research for the Nest Decade: New Challenges and Future Collaboration", pp. 9-12. Bangkok, Thiland, December 8-9, 2010.

8. ประวัติการเผยแพร่ผลงานวิจัย ทั้งภายในและภายนอกประเทศ โปรดระบุชื่อเรื่องผลงาน ชื่อวารสาร ตามระบบสากล

1. Jongchanapong A, **Singharachai C**, Palanuvej C, Ruangrungsi N and Towiwat P. Antipyretic and antinociceptic effects of BEN CHA LO KA WI CHIAN REMEDY. J Health Res 2010 24(1): 15-22.
2. Chomchuen S, **Singharachai C**, Ruangrungsi N and Towiwat P. Antipyretic effect of the ethanolic extract of *Ficus racemosa* root in rat. J Health Res 2010 24(1): 23-28.
3. **Singharachai C**, Palanuvej C, Kiyohara H, Yamada H and Ruangrungsi. Pharmacognostic specification of five root species in Thai traditional medicine remedy: Ben Cha Lo Ka Wi Chian. Phocog J. 2010 21(3): DOI: 10.5530/pj.2011.21.1.
4. **Singharachai C**, Palanuvej C, Kiyohara H, Yamada H and Ruangrungsi. Safety evaluation of Thai traditional medicine remedy: Ben Cha Lo Ka Wi Chian. J Health Res 2011 25(2): 83-90.
5. Phachasupap A, **Singharachai C**, Palanuvej C, Ruangrungsi N. Phototoxic activity of selected thai rutaceous and umbelliferous plant extracts. J Health Res 2012:26 no 1: 15-20.

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - สกุล	**ดร. เด่นพงษ์ วงศ์วิจิตร**
	Denpong Wongwichit, Ph.D.
2. รหัสประจำตัวนักวิจัยแห่งชาติ	-
3. ตำแหน่งปัจจุบัน	อาจารย์
หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
	333 หมู่ 1 ตำบลท่าสุด อำเภอเมือง เชียงราย 57100
หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร	0 5391 6905, 08 5710 1981 โทรสาร 0 5391 6821
E mail address	denpong.wongwichit@gmail.com

4. ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี	สาธารณสุขศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยสุขโขทัยธรรมาธิราช พ.ศ 2541
	ปริญญาโท	สาธารณสุขศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2543
	ปริญญาเอก	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2554
5. ประวัติการทำงาน	นักวิชาการสาธารสุข	พ.ศ. 2536 - 2555

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- Environmental Health, Health Economic
- Multivariate analysis
- Qualitative study in Health Sciences
- Community Health

7.ประวัติการนำเสนอผลงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โปรดระบุชื่อเรื่องของผลงาน ชื่อการประชุม สถานที่ วัน เวลา ตามระบบสากล

1. **2 October 2009** Poster presentation Entitled " **Herbicide Exposure to Maize Farmers in Northern, Thailand: Knowledge, attitude, and Pratices**" in the 9th Annual Conference of Public Health Sciences "public Health Sciences in Economic Downturn"
2. **1-2 March 2010** Oral presentation Entitled "**Herbicide Exposure to Maize Farmers in Northern, Thailand: Knowledge, attitude, and Pratices**" in the 1st International Conference on Environmental Pollution, Restoration, and Management. Ho Chi Minh City, Vietnam.
3. **4-7 November 2010** Poster presentation Entitled "**Herbicide Exposure to Maize Farmers in Northern, Thailand: Knowledge, attitude, and Pratices**" in the 6th International Conference on Environmental Geochemistry in Tropics—Urban Issues. Xiamen, Chaina.