
การศึกษาคุณภาพของหัวดองดึง

ทัศนีย์ ปานผดุง สายใจ ปริยะวาที สายัน ชุนนุช และนฤมล บุญราศรี

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 สงขลา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง สงขลา 90000

บทคัดย่อ ดองดึง (Dong-Dueng) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gloriosa superba* Linn. อยู่ในวงศ์ Liliaceae ตำรายาไทยใช้หัวเป็นยาแก้ปวดข้อ ซึ่งมีรายงานพบสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ คือ โคลชิซิน แต่ยังไม่มีการบรรจุข้อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพรชนิดนี้เข้าในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีและกายภาพ โดยเก็บตัวอย่างหัวดองดึงจากแหล่งธรรมชาติและซื้อจากร้านขายยาแผนโบราณในประเทศไทยจำนวน 15 ตัวอย่าง ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของตัวอย่าง ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด มีค่าเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละ 20.92 ± 2.41 , 2.70 ± 0.93 , 8.75 ± 0.82 , 4.57 ± 1.22 และ 1.10 ± 1.03 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ รวมทั้งได้มีการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดผิวบาง ผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพและใช้เป็นข้อมูลสำหรับจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของดองดึงต่อไป



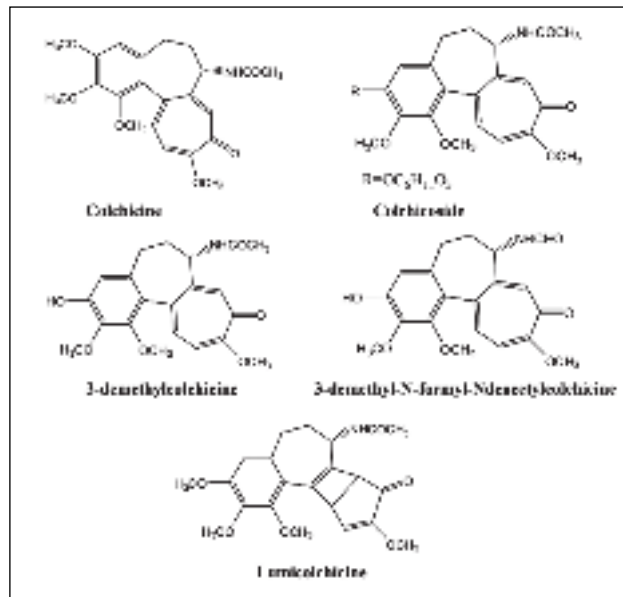
บทนำ

ตองดึง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gloriosa superba* Linn. อยู่ในวงศ์ Liliaceae มีชื่ออื่น เช่น ก้ามปู (ชัยนาท) คมขวาน บ้องขวาน หัวขวาน (ชลบุรี) ดาวดึงส์ ก้ามปู (ภาคกลาง) พันมหา (นครราชสีมา) มะขาไก่ (ภาคเหนือ) หมอยหิยา (อุดรธานี) เป็นไม้ล้มลุกเลื้อยเกาะพันต้นไม้อื่น ยาวได้ถึง 5 เมตร ลำต้นเป็นหัวหรือเหง้าขนาดเล็กอยู่ใต้ดิน รูปร่างกลมเรียวยาว มีเหง้าเหมือนขานใบเดี่ยวเรียงสลับ หรือเรียงเป็นวงรอบข้อ 1-3 ใบรูปขอบขนานแกมรูปใบหอก ยาว 5-15 เซนติเมตร ไร้ก้าน ปลายใบแหลมยืดยาวออกทำหน้าที่เป็นมือเกาะ โคนใบมน เส้นใบขนานกันไปสิ้นสุดที่ปลายใบ หลังใบ และท้องใบเรียบ ขอบใบเรียบ ดอกเดี่ยวขนาดใหญ่ ออกที่ซอกใบ ใกล้ปลายเถา สีเหลือง ปลายกลีบสีแดง โคนกลีบเมื่อบานใหม่ๆ มีสีเหลือง เมื่อดอกบานเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ทั้งดอกมีกลีบ 6 กลีบ สีเขียวอ่อน และจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและแดง กลีบรูปแถบ เรียวยาว 5-7.5 เซนติเมตร โค้งกลับไปทางก้านดอก ขอบกลีบหยักเป็นคลื่น เกสรเพศผู้มี 6 อัน ชี้ออกเป็นรัศมีตามแนวนอน ก้านยาว 3-5 เซนติเมตร อับเรณูยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ก้านเกสรเพศเมียยาว 0.3-0.7 เซนติเมตร แยกเป็น 3 แฉก ก้านดอกยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ผลเป็นฝัก แห้งแตกได้ รูปกระสวย ปลายผลแหลม ขนาดกว้าง 2.5-3 เซนติเมตร ยาว 6-8 เซนติเมตร ผิวเรียบ มักมีสันตื้นๆ มี 3 พู เมล็ดกลมสีส้มแกมน้ำตาลจำนวนมาก พบตามป่าดงดิบเขาชื้น ที่รกร้างว่างเปล่าที่มีความชุ่มชื้นสูง⁽¹⁾ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ส่วนของหัวหรือเหง้า ใบ ดอก และผลของตองดึง

สารเคมีที่พบได้ในตองดึงประกอบด้วย 1, 2-ไดดีเมธิลโคลชิซิน (1, 2-didemethylcolchicines) 2, 3-ไดดีเมธิลโคลชิซิน (2, 3-didemethylcolchicine) เอ็น-ดีอะซีทิล โคลชิซิน (N-deacetylcolchicines) โคลชิโคไซด์ (Colchicoside) โกลริโอซิน (Gloriosine) ซูเพอบิน (Superbine) ลูมิโคลชิซิน (Lumicolchicine) 3-ดีเมธิล-เอ็น-ดีเมธิล-เอ็น-ดีฟอมิล-เอ็น-ดีอะซีทิลโคลชิซิน (3-demethyl-N-deformyl-N-deacetylcolchicine) 3-ดีเมธิลโคลชิซิน (3-demethylcolchicine) เอ็น-ฟอมิล-ดีอะซีทิลโคลชิซิน (N-formyl-deacetylcolchicine) แทนนิน (Tannins) กรดเบนโซอิก (Benzoic acid) กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid) สเตอรอล (Sterols)⁽²⁾ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 สารสำคัญที่พบในสมุนไพรทองตั้ง

โคลชิซีน (Colchicine) เป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์มีคุณสมบัติละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ ในทางการแพทย์นำมาใช้รักษาโรคเกาต์ไขข้ออักเสบ ความเป็นพิษของโคลชิซีน มีรายงานขนาดความเป็นพิษ 7-60 มิลลิกรัม โดยพบมีรอยไหม้ที่ปากและคอ อาเจียน ระคายเคือง เป็นไข้ อาการปวด และไตวาย การทำงานที่ผิดปกติของอวัยวะหลายระบบเกิดขึ้นภายใน 24 - 72 ชั่วโมง จนทำให้ถึงแก่ชีวิตได้ ยังไม่มียาด้านฤทธิ์โคลชิซีนโดยตรง แต่เป็นการดูแลแบบประคับประคอง การรักษาภาวะสมดุลของเกลือแร่ที่ผิดปกติและการให้สารน้ำทดแทนอย่างเพียงพอ⁽³⁾

จากคัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ หัวทองตั้งมีรสร้อนเมา ใช้แก้โรคปวดข้อ โรคเรื้อน ลมจุกเสียด ขับผายลม ปวดกล้ามเนื้อ แก้โลหิตและลม โดยมีการนำไปใช้ในตำรับยาหลายตำรับ เช่น ยาประสะการบูร ยาแก้ระดูขัด ยาขับโลหิต ยาแสงพระอาทิตย์ ยาวาโยไชย ยาเขียวทรพิษ ยาอำมะฤคควาที่ ยาแก้ริดสีดวงจมูก^(4,5) แต่เนื่องจากยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานของทองตั้งในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย จึงได้ทำการศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมีและคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของหัวทองตั้งเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐาน สำหรับการควบคุมคุณภาพของหัวทองตั้งแห้งในประเทศไทย

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างสมุนไพร

สมุนไพรทองตั้งที่ใช้ในการศึกษานี้คือส่วนที่เป็นหัวจากแหล่งธรรมชาติผ่านการตรวจสอบชนิดพืชที่ถูกต้องตามหลักพฤกษอนุกรมวิธานโดยนักพฤกษศาสตร์ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gloriosa superba* Linn. วงศ์ Liliaceae จำนวน 3 ตัวอย่าง และซื้อจากร้านขายยาแผนโบราณในแต่ละภาคของประเทศไทยในช่วงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2556 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2557 จำนวน 12 ตัวอย่าง นำตัวอย่างที่ได้มาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดให้ละเอียดและผ่านร่อนเบอร์ 80

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น BT 224S ของบริษัท Sartorius

เตาเผาอุณหภูมิสูง รุ่น 6000 ของบริษัท Thermolyne

เครื่องเขย่า รุ่น SA-31 ของบริษัท YAMATO

ตู้อบร้อน รุ่น ULE600 ของบริษัท Memmert
 เตาบุนวม รุ่น LG 2/ER ของบริษัท Isopad™
 เตาไฟฟ้า รุ่น C-MAG HS10 ของบริษัท IKA
 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ รุ่น W 350T ของบริษัท Memmert
 อ่างน้ำความถี่สูง รุ่น Transonic ของบริษัท ELMA
 แผ่นแก้วเคลือบซิลิกาเจล (Silica Gel 60 F₂₅₄) ขนาด 20 × 20 มิลลิเมตร ความหนา 0.25 มิลลิเมตร
 ของบริษัท Merck
 ตู้ตรวจวัดแสงอัลตราไวโอเล็ต ของบริษัท Camag

สารมาตรฐานและสารเคมี

- 1) สารเคมีเป็นชนิดที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ (analytical grade)
- 2) สารละลาย 5% วานิลีนในกรดกำมะถัน

วัสดุและวิธีการ

วิธีการ

1. การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดผิวบาง (Thin layer chromatography)

1.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

นำผงสมุนไพรหัวตองดึงแห้ง 5 กรัม เติมน้ำเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 20 มิลลิลิตร สก๊ตในอ่างน้ำความถี่สูงเป็นเวลา 10 นาที นำมาเขย่าเป็นเวลา 30 นาที และกรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman No.4) นำสารละลายที่กรองได้ 10 มิลลิลิตร ไประเหยบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิจนแห้ง ละลายกลับด้วยเอทานอล 1 มิลลิลิตร

1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

นำโคลชิซิน 10 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล 10 มิลลิลิตร

1.3 การเตรียมน้ำยาแยก (developing solvent)

ชนิดที่ 1 ผสม benzene: ethyl-acetate: diethylamine: methanol อัตราส่วน 50:40:10:8 ให้เข้ากัน นำสารละลายมาใส่ในถังทำโครมาโทกราฟี แล้วทิ้งไว้ให้อิ่มตัวอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ก่อนใช้

ชนิดที่ 2 ผสม ethyl-acetate: methanol: ammonium solution อัตราส่วน 85:10:5 ให้เข้ากัน นำสารละลายมาใส่ในถังทำโครมาโทกราฟี แล้วทิ้งไว้ให้อิ่มตัวอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ก่อนใช้งาน

1.4 วิธีการ

นำสารละลายสารมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบชนิดละ 3 และ 5 ไมโครลิตร ตามลำดับ มาแต้มบนแผ่นกระดาษเคลือบด้วยซิลิกาเจล (Silica Gel 60 F₂₅₄) ในแนวระดับเดียวกัน โดยให้ห่างจากขอบล่างประมาณ 2.5 เซนติเมตร และให้มีระยะห่างระหว่างสารละลายแต่ละจุดไม่น้อยกว่า 1.0 เซนติเมตร ผึ่งให้แห้งนำไปตั้งในถังทำโครมาโทกราฟีที่มีน้ำยาแยกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง รอให้น้ำยาแยกซึมขึ้นไปตามผิวสูง 12 เซนติเมตร นำแผ่นโครมาโทแกรมชนิดผิวบางออกจากถัง ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ดูดควัน แล้วนำไปตรวจสอบ

1.5 การตรวจสอบ

1) ตรวจสอบสเปกตรัมด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร สังเกตตำแหน่งและสีของแถบสารที่ทึบแสง

2) ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร สังเกตตำแหน่งและสีของแถบสารที่เรืองแสง

3) ตรวจสอบโดยพ่นด้วยสารละลาย 5% วานิลีนในกรดกำมะถัน ทิ้งไว้ให้แห้ง ให้ความร้อนบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที สังเกตตำแหน่งและสีของแถบสารภายใต้แสงธรรมชาติ

2. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

2.1 วิธีการหาปริมาณความชื้น

ตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย⁽⁶⁾ โดยชั่งผงหัวตอดึงที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 5 กรัม ลงในขวดซึ่งที่ทราบน้ำหนักคงที่ (อบภาชนะที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น บันทึกน้ำหนัก) นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ นำไปอบซ้ำอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักที่ได้จากการชั่งน้ำหนัก 2 ครั้ง มีค่าต่างกันไม่เกิน 12.5 มิลลิกรัม) บันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณความชื้น

2.2 การหาปริมาณเถ้ารวม

ตามวิธีการที่ระบุไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย⁽⁷⁾ โดยชั่งผงหัวตอดึงที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 2 กรัม ลงในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนักคงที่ (เผาภาชนะที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น บันทึกน้ำหนัก) นำไปเผาที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง ได้เถ้าที่ปราศจากสีดำ ทิ้งให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้ารวม

2.3 การหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

ตามวิธีการที่ระบุไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย⁽⁷⁾ โดยนำเถ้ารวมในถ้วยกระเบื้องมาเติมกรดเกลือเจือจาง (10% w/v) 25 มิลลิลิตร และนำไปต้มบนเตาไฟฟ้า 5 นาที เริ่มจับเวลาเมื่อเถ้าในถ้วยกระเบื้องเริ่มหมุนวน กรองด้วยกระดาษกรองชนิดที่ปราศจากเถ้า (Whatman No. 41) ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน จนน้ำล้างตะกอนเปลี่ยนจากกรดเป็นกลาง นำเถ้าที่กรองได้และกระดาษกรองใส่ลงในถ้วยกระเบื้องใบเดิม ทำให้แห้งบนเตาไฟฟ้า และนำไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูงที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส ทิ้งให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

2.4 การหาปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ

ตามวิธีการที่ระบุไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย⁽⁷⁾ โดยหั่นผงหัวตอดึง 5 กรัม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนด้วยน้ำที่อิมัลชันด้วยคลอโรฟอร์ม จำนวน 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วมีฝาปิด (glass-stopper conical flask) เขย่าด้วยเครื่องเขย่า 6 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้ 18 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ลงใน evaporating dish ที่ทราบน้ำหนักคงที่ (อบภาชนะที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น บันทึกน้ำหนัก) แล้วนำไประเหยบนอ่างอังไอน้ำจนแห้ง นำ dish ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ นำไปอบซ้ำอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักที่ได้จากการชั่งน้ำหนัก 2 ครั้ง มีค่าต่างกันไม่เกิน 2.5 มิลลิกรัม) บันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยน้ำที่ได้

2.5 การหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล

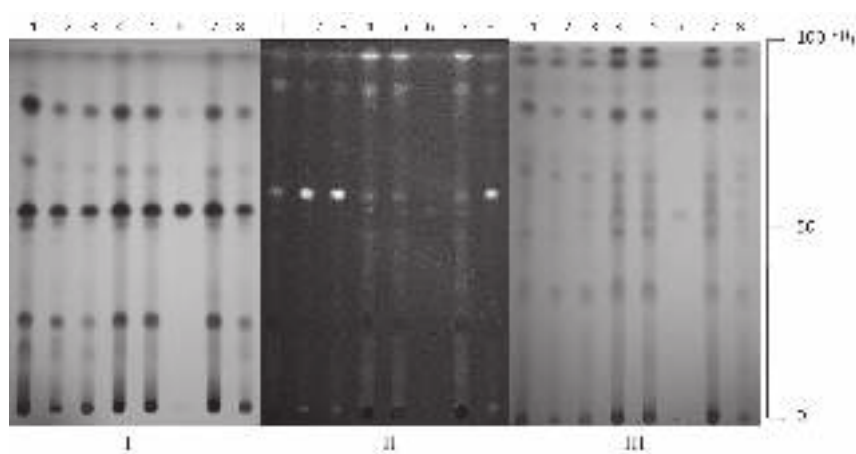
ทำตามวิธีที่ระบุไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย แต่เปลี่ยนใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 และคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลที่ได้⁽⁷⁾

ผล

1. การศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดผิบบาง

การตรวจสอบสารสำคัญ คือโคลชิซินโดยวิธีโครมาโทกราฟีชนิดผิบบาง สามารถตรวจพบโดยให้ผลทึบแสงเมื่อส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ให้ผลเรืองแสงสีเหลืองเมื่อนำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร และให้แถบสีเหลือง เมื่อพ่นด้วยสารละลาย 5% วานิลลินในกรดกำมะถัน แล้วนำไปให้ความร้อน (ภาพที่ 3)

การตรวจสอบสารสกัดเอทานอลของตองดึงทั้ง 15 ตัวอย่าง ในน้ำยาแยกชนิดที่ 1 benzene: ethyl-acetate: diethylamine: methanol ในอัตราส่วน 50:40:10:8 พบว่า แสดงแถบของสารที่ตำแหน่งเดียวกัน 11 แถบ มีค่า R_f ในช่วง 16-20, 23-25, 30-35, 48-50, 51-55, 60-61, 65-67, 81-83, 86-89, 93-95 และ 96-98 เมื่อเทียบกับสารสำคัญ คือ โคลชิซิน มีค่า R_f ในช่วง 51-55 (ตารางที่ 1) โดยให้ผลทึบแสง เมื่อส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ให้ผลเรืองแสงสีเหลืองเมื่อนำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร และให้แถบสีเหลือง เมื่อพ่นด้วยสารละลาย 5% วานิลลินในกรดกำมะถัน แล้วนำไปให้ความร้อน (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 โครมาโทแกรมของสารสกัดจากหัวตองดึงแห้ง โดยใช้ยาแยก ชนิดที่ 1 ส่วนผสมของ benzene: ethyl-acetate: diethylamine: methanol ในอัตราส่วน 50 : 40 : 10 : 8

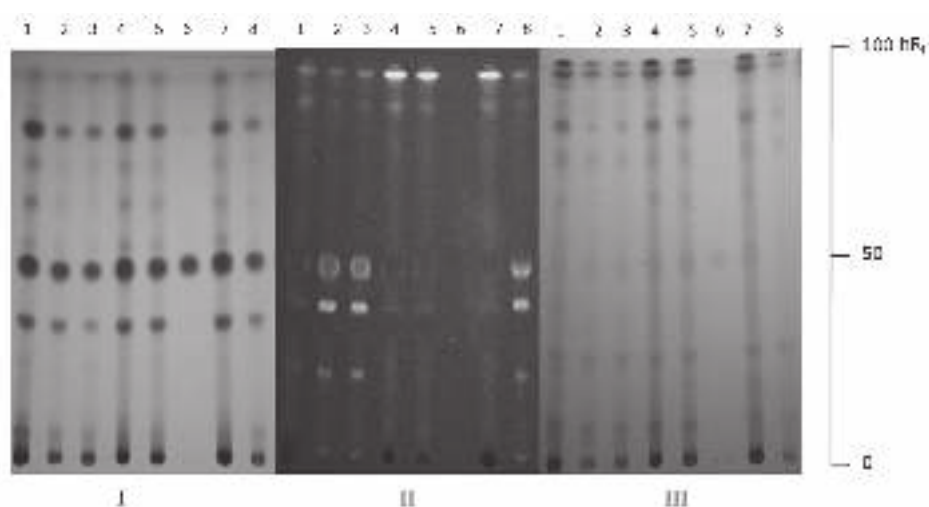
- 1 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC01 (authentic)
- 2 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC02 (authentic)
- 3 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC03 (authentic)
- 4 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC04
- 5 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC05
- 6 = สารมาตรฐานโคลชิซิน
- 7 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC06
- 8 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC07
- I = ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
- II = ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร
- III = ตรวจสอบด้วยน้ำยาพ่น 5% วานิลลินในกรดกำมะถันและให้ความร้อน 105 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 ค่า hR_f ของสารสกัดจากหัวตองตึงแห้ง โดยใช้น้ำยาแยก ชนิดที่ 1 ส่วนผสมของ benzene: ethyl-acetate: diethylamine: methanol ในอัตราส่วน 50:40:10:8

จุด	ค่า hR_f	การตรวจสอบ		
		แสงอัลตราไวโอเล็ต 254 นาโนเมตร	แสงอัลตราไวโอเล็ต 366 นาโนเมตร	น้ำยาพ่น 5% วานิลลินในกรดกำมะถัน
1	16 - 20	-	-	ชมพู
2	23 - 25	ทึบแสง	-	เหลือง
3	30 - 33	-	-	ม่วง
4	48 - 50	ทึบแสง	ฟ้า	ม่วง
5*	51 - 55	ทึบแสง	เหลือง	เหลือง
6	60 - 61	-	ฟ้า	ชมพู
7	65 - 67	-	-	เทา
8	81 - 83	ทึบแสง	-	เขียว
9	86 - 89	-	ฟ้า	ชมพู
10	93 - 95	-	-	ม่วง
11	96 - 98	ทึบแสง	ฟ้า	ม่วง

*Colchicine

เมื่อนำสารสกัดตองตึงในเอทานอลไปทดสอบในน้ำยาแยก ชนิดที่ 2 ethyl-acetate: methanol: ammonium solution อัตราส่วน 85:10:5 แสดงแถบของสารที่ตำแหน่งเดียวกัน 16 แถบ มีค่า hR_f ในช่วง 6-8, 9-10, 11-12, 18-20, 21-23, 25-28, 30-35, 36-38, 45-50, 60-65, 70-75, 79-82, 83-85, 90-92, 93-94 และ 95-96 เมื่อเทียบกับสารสำคัญ คือ โคลชิซิน มีค่า hR_f ในช่วง 45-50 (ตารางที่ 2) ซึ่งตำแหน่งดังกล่าวจะให้ผลทึบแสง เมื่อส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร เมื่อนำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร ตัวอย่าง PMC01 (Authentic) จะเห็นการเรืองแสงสีฟ้าเล็กน้อย ส่วนตัวอย่าง PMC02 และ PMC03 (Authentic) ให้ผลเรืองแสงสีฟ้าชัดเจน และเมื่อพ่นด้วยสารละลาย 5% วานิลลินในกรดกำมะถัน แล้วนำไปให้ความร้อนจะให้แถบสีเหลือง (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 โครมาโทแกรมของสารสกัดจากหัวตองตึงแห้ง โดยน้ำยาแยก ชนิดที่ 2 ส่วนผสมของ ethyl-acetate: methanol: ammonium solution อัตราส่วน 85:10:5

- 1 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC01 (authentic)
- 2 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC02 (authentic)
- 3 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC03 (authentic)
- 4 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC04
- 5 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC05
- 6 = สารมาตรฐานโคลชิซิน
- 7 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC06
- 8 = ตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งหมายเลข PMC07
- I = ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
- II = ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร
- III = ตรวจสอบด้วยน้ำยาฟ้น 5% วานิลลินในกรดกำมะถันและให้ความร้อน 105 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2 แสดงค่า hR_f ของสารสกัดจากหัวตองดึงแห้งโดยน้ำยาแยก ชนิดที่ 2 ส่วนผสมของ ethyl-acetate: methanol: ammonium solution อัตราส่วน 85 : 10 : 5

จุด	ค่า hR_f	การตรวจสอบ		
		แสงอัลตราไวโอเล็ต 254 นาโนเมตร	แสงอัลตราไวโอเล็ต 366 นาโนเมตร	น้ำยาฟ้น 5% วานิลลินในกรดกำมะถัน
1	6 - 8	-	-	ชมพู
2	8 - 10	ทึบแสง	-	ม่วง
3	10 - 12	-	-	ชมพู
4	18 - 20	-	-	เทา
5	21 - 23	-	ฟ้า	ชมพู
6	25 - 28	ทึบแสง	-	ม่วง
7	30 - 35	ทึบแสง	-	เหลือง
8	36 - 38	-	ฟ้า	-
9*	45 - 50	ทึบแสง	ฟ้า	เหลือง
10	60 - 65	ทึบแสง	-	เทา
11	70 - 75	ทึบแสง	-	เทา
12	79 - 82	ทึบแสง	-	เขียว
13	83 - 85	ทึบแสง	-	ชมพู
14	90 - 92	-	ฟ้า	ชมพู
15	92 - 94	-	-	ม่วง
16	95 - 96	ทึบแสง	ฟ้า	ม่วง

*Colchicine

2. ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

จากการทดสอบหาปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลของตัวอย่างผงหัวตองดึงแห้งทั้ง 15 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดสอบ 2 ซ้ำ ผลการทดสอบคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของหัวตองตึงแห้ง

ตัวอย่าง	ปริมาณความชื้น ความชื้น (% w/w)	ปริมาณ เถ้ารวม (% w/w)	ปริมาณเถ้า ที่ไม่ละลายในกรด (% w/w)	ปริมาณ สารสกัดด้วยน้ำ (% w/w)	ปริมาณ สารสกัด ด้วยเอทานอล (% w/w)
PMC 01 (นักพฤกษศาสตร์)	7.7798	3.6350	0.3897	26.4287	4.0991
PMC 02 (นักพฤกษศาสตร์)	7.7686	3.3228	0.1374	23.0428	0.8150
PMC 03 (นักพฤกษศาสตร์)	7.6555	2.7955	0.1399	22.8561	1.4199
PMC 04 ร้านค้าจากกรุงเทพฯ	8.9988	5.4134	1.7645	21.8535	2.7702
PMC 05 ร้านค้าจากนครสวรรค์	9.1608	8.5306 ^a	5.0989 ^a	19.9146	2.3049
PMC 06 ร้านค้าจากนครสวรรค์	9.1067	4.6536	1.0997	22.7634	4.2500
PMC 07 ร้านค้าจากอุทัยธานี	9.0576	3.4358	0.1049	19.9290	0.5100 ^a
PMC 08 ร้านค้าจากเชียงใหม่	8.6024	6.5475	2.5815	19.1790	4.0496
PMC 09 ร้านค้าจากเชียงใหม่	9.1922	4.0045	0.5949	18.8841	2.7996
PMC 10 ร้านค้าจากสงขลา	8.8839	4.8043	1.1142	21.5752	3.5245
PMC 11 ร้านค้าจากสุราษฎร์ธานี	8.9308	5.0591	1.3948	21.3246	3.0697
PMC 12 ร้านค้าจากนครราชสีมา	9.1447	4.2259	1.0796	22.0484	2.1449
PMC 13 ร้านค้าจากบุรีรัมย์	7.1204	3.3801	0.1324	16.9550	2.7749
PMC 14 ร้านค้าจากสระแก้ว	10.1523	7.1273	3.5187	18.9702	2.8148
PMC 15 ร้านค้าจากนครราชสีมา	9.6995	3.7368	0.3099	18.0650	2.5349
ค่าเฉลี่ย	8.7502	4.5651 ^b	1.0967 ^b	20.9193	2.7017 ^b
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.8238	1.2154	1.0305	2.4139	0.9270

^aค่า outlier จากการคำนวณด้วยวิธี boxplot^bค่าเฉลี่ยคำนวณจาก 10% Trimmed mean

จากข้อมูลนำไปกำหนดเกณฑ์มาตรฐานตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ปริมาณที่ระบุไว้ว่า “ไม่มากกว่า” จะนำค่าเฉลี่ยที่ได้บวกด้วยค่าเบี่ยงเบนเฉลี่ย ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้ารวม และเถ้าไม่ละลายในกรด ส่วนปริมาณที่ระบุไว้ว่า “ไม่น้อยกว่า” จะนำค่าเฉลี่ยที่ได้ลบด้วยค่าเบี่ยงเบนเฉลี่ย ได้แก่ ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ และสารสกัดด้วยเอทานอล (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการประเมินข้อกำหนดทางเคมีและกายภาพของผงหัวตองตึงแห้ง

ประเภทของการทดสอบ (หน่วย)	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบน เฉลี่ย ($\bar{x} \pm SD$)	เกณฑ์กำหนด ค่าบน ($\bar{x} + SD$)	เกณฑ์กำหนด ค่าล่าง ($\bar{x} - SD$)
ปริมาณความชื้น (%w/w)	8.75 $\pm$ 0.82 a	9.57	-
ปริมาณเถ้ารวม (%w/w)	4.57 $\pm$ 1.22 b	5.79	-
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (%w/w)	1.10 $\pm$ 1.03 b	2.13	-
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (%w/w)	20.92 $\pm$ 2.41 a	-	18.51
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล (%w/w)	2.70 $\pm$ 0.93 b	-	1.77

^an = 15^bn = 13 คำนวณจาก 10% Trimmed mean

ตารางที่ 5 ข้อสรุปคุณภาพทางเคมีและกายภาพของผงหัวตองตึง (โดยน้ำหนัก)

ประเภทของการทดสอบ (หน่วย)	ไม่มากกว่า	ไม่น้อยกว่า
ปริมาณความชื้น (%w/w)	10	–
ปริมาณเถ้ารวม (%w/w)	6	–
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (%w/w)	2	–
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (%w/w)	–	19
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล (%w/w)	–	2

วิจารณ์

การศึกษาคุณภาพหัวตองตึงแห้งรวมทั้งสิ้น 15 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างจำนวน 12 ตัวอย่าง ซื้อมาจากร้านขายยาแผนโบราณทุกภูมิภาคของประเทศไทย และตัวอย่างหัวตองตึงหัวจากแหล่งธรรมชาติผ่านการตรวจสอบชนิดพืชที่ถูกต้องตามหลักพฤกษศาสตร์โดยนักพฤกษศาสตร์ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gloriosa superba* Linn. วงศ์ Liliaceae ใช้เป็นตัวอย่างแท้จริง (authentic) เพื่อใช้เปรียบเทียบผล จำนวน 3 ตัวอย่าง

การทดสอบเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดผิวบาง เป็นข้อมูลของทั้ง 15 ตัวอย่าง แต่แสดงให้เห็นเพียง 7 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่าง Authentic 3 ตัวอย่าง (PMC 01 – PMC 03) ตัวอย่างจากร้านขายยาแผนโบราณ 4 ตัวอย่าง (PMC 04 – PMC 07) เพื่อให้สามารถเห็นแถบสารได้ชัดเจน การศึกษาโดยใช้ยาแยกชนิดที่ 1 benzene: ethyl-acetate: diethylamine: methanol ในอัตราส่วน 50:40:10:8 สามารถแยกแถบสารโคลชิซินออกจากสารอื่นได้ดีกว่า ชนิดที่ 2 ส่วนผสมของ ethyl-acetate: methanol: ammonium solution อัตราส่วน 85:10:5 ซึ่งจะเห็นได้จากโครมาโทแกรมตำแหน่งโคลชิซินค่า R_F ในช่วง 45–50 เมื่อส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร ของสารสกัด PMC 02 และ PMC 03 ควรเรืองแสงสีเหลืองกลับมีการเรืองแสงสีฟ้าเมื่อพ่นด้วยสารละลาย 5% วานิลีนในกรดกำมะถัน แล้วนำไปให้ความร้อน ก็จะให้แถบสีเหลือง เหมือนกับโคลชิซิน จึงเป็นไปได้ว่ามีสารสองชนิดอยู่ที่ตำแหน่งเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ลักษณะโครมาโทแกรมที่ได้ยังคงสามารถใช้ตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีของสารสกัดตองตึงได้

การตรวจคุณภาพทางเคมีและกายภาพ โดยการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล การตรวจปริมาณความชื้นในสมุนไพรมีความสำคัญต่อการเก็บและคุณภาพสมุนไพร เนื่องจากความชื้นจะทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อราได้ง่าย เป็นเหตุให้สมุนไพรไม่ได้คุณภาพและเก็บได้ไม่นาน ซึ่งเป็นปัญหาของประเทศร้อนชื้นที่ต้องมีการกำหนดค่าความชื้นไว้สำหรับการตรวจปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรดเป็นค่าที่บอกถึงการปนเปื้อนจากส่วนพืชที่ไม่ต้องการหรือทราย ซึ่งจะมีผลทำให้คุณภาพทางกายภาพและเคมีของสมุนไพรต่ำลง จึงได้มีการกำหนดค่าสูงสุดที่ยอมให้ตรวจพบได้ กำหนดเกณฑ์เป็นค่า “ไม่มากกว่า” ส่วนปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เป็นการบ่งชี้คุณภาพของสารสำคัญในผงสมุนไพรโดยเฉพาะเมื่อผงสมุนไพรนั้นยังไม่มีวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ จึงได้มีการกำหนดค่าต่ำสุดที่ยอมให้ตรวจพบได้ กำหนดเกณฑ์เป็นค่า “ไม่น้อยกว่า” ซึ่งผลของข้อกำหนดค่าทางเคมีและกายภาพที่ได้จากการทดสอบ (ตารางที่ 5) จะเห็นปริมาณเถ้ารวม และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ซึ่งมีเกณฑ์กำหนดไม่มากกว่าร้อยละ 6 และ 2 โดยน้ำหนักนั้นใกล้เคียงกับค่าที่กำหนดไว้ในเภสัชตำรับมาตรฐานยาสมุนไพรของประเทศอินเดีย⁽⁸⁾ (ตารางที่ 6) ส่วนปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ และสารสกัดด้วยเอทานอลไม่น้อยกว่าร้อยละ 19 และ 2 โดยน้ำหนักค่อนข้างแตกต่างจากเกณฑ์ของเภสัชตำรับมาตรฐานยาสมุนไพรของประเทศอินเดีย ทั้งนี้เนื่องจากในขั้นตอนการนำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยแห้งใช้ในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ เภสัชตำรับมาตรฐานยาสมุนไพรของประเทศอินเดียให้ใช้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ส่วนการวิจัยนี้ใช้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ตารางที่ 6 ข้อกำหนดทางเคมีของหัวตองตึงแห้งในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรของประเทศอินเดีย

ประเภทของการทดสอบ (หน่วย)	ไม่มากกว่า	ไม่น้อยกว่า
ปริมาณความชื้น (% w/w)	-	-
ปริมาณเถ้ารวม (% w/w)	6	-
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (% w/w)	1	-
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (% w/w)	-	15
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล (% w/w)	-	5

ผลจากการศึกษาวิจัยนี้ทำให้สามารถจัดทำข้อกำหนดคุณภาพเบื้องต้นของสมุนไพรหัวตองตึง และมีความจำเป็นอย่างมากในการควบคุมคุณภาพในเรื่องปริมาณสารในสมุนไพรเนื่องจากสารสำคัญโคลชิซินที่พบมีสรรพคุณในการรักษาโรค แต่ก็มีรายงานความเป็นพิษด้วย⁽³⁾ ดังนั้น จึงเห็นควรดำเนินการศึกษาวิจัยเพื่อในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญโคลชิซินในสมุนไพรตองตึงเพื่อใช้ในการกำหนดค่ามาตรฐานต่อไป

สรุป

ตัวอย่างหัวตองตึงแห้งที่นำมาศึกษาทั้ง 15 ตัวอย่าง จากการตรวจเอกลักษณ์ด้วยน้ำยาแยก สามารถตรวจพบสารสำคัญโคลชิซินในทุกตัวอย่าง และจากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ สรุปได้ว่าหัวตองตึงแห้งควรมีค่ามาตรฐานทางเคมีและกายภาพ ดังนี้

ปริมาณความชื้น ไม่มากกว่า	10.0%	โดยน้ำหนัก
ปริมาณเถ้ารวมไม่มากกว่า	6.0%	โดยน้ำหนัก
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดไม่มากกว่า	2.0%	โดยน้ำหนัก
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำไม่น้อยกว่า	19.0%	โดยน้ำหนัก
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ไม่น้อยกว่า	2.0%	โดยน้ำหนัก

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักจัดการความรู้และเทคโนโลยีวิทยาศาสตร์การแพทย์ การฝึกอบรมเทคนิคการทดสอบตามข้อกำหนดมาตรฐานในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยจากสถาบันวิจัยสมุนไพร มหาวิทยาลัยการแพทย์ และขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ เกษัชกรหญิงปราณี ขวลิตรำรง หัวหน้าโครงการ รวมทั้งเครือข่ายนักวิจัยภายใต้โครงการพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่นทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำและร่วมกันแก้ไขปัญหา ช่วยให้งานวิจัยสำเร็จตามวัตถุประสงค์

กิตติกรรมประกาศ

1. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. ตองตึง. [ออนไลน์]. [สืบค้น 29 กรกฎาคม 2558]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=43>
2. Jana S, Shekhawat GS. Critical review on medicinally potent plant species: *Gloriosa superba*. *Fito-terapia* 2011; 82(3): 293-301.

3. McEvoy GK, edited. AHFS drug information. Bethesda, MD.: American Society of Health-System Pharmacists; 1999. p.3234-3236
4. ชุนโสภิต บรรณลักษณ์. คัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ เล่ม 2. [ออนไลน์]. 2558. [สืบค้น 29 กรกฎาคม 2558]. เข้าถึงได้จาก : <https://be7herb.wordpress.com>
5. ชุนโสภิต บรรณลักษณ์. คัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ เล่ม 3. [ออนไลน์]. 2558. [สืบค้น 29 กรกฎาคม 2558]. เข้าถึงได้จาก : URL: <https://be7herb.wordpress.com/คัมภีร์แพทย์-ตำรายา/คัมภีร์แพทย์/คัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ/>
6. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia Vol. I. 2nd ed. Appendices 4.15 Loss on drying. Bangkok: Prachachon; 1998. p. 123-4.
7. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia Vol. II. 2nd ed. Appendices 7.6 Acid-insoluble Ash, 7.7 Total Ash and 7.12 Extractives. Bangkok: Prachachon; 2000. p. 108, 141.
8. Government of India Ministry of Health and Family Welfare Department of ISM & H. The Ayurvedic Pharmacopoeia of India Part I, Volume III. Page 106-107. [Cited 2015 July 29]. Available from: URL: <http://www.ayurveda.hu/api/API-Vol-3.pdf>

Quality Study of Dried Dong-Dueng Tuber (*Gloriosa superba* Linn.)

Tassanee Panphadung Saijai Pariyawatee Sayan Koonnoot
and Narumon Boonrasri

Regional Medical Sciences Center 12th Songkhla, Department of Medical Sciences, Amphoe Muang,
Songkhla 90000 Thailand.

ABSTRACT *Gloriosa superba* Linn. or as called Dong-Dueng, belongs to Family Liliaceae. This herb has been used as analgesic for acute inflammatory disease of joints in Thai traditional medicine. Colchicine is reported as the active ingredient of Dong-Dueng. There is no standard specification of Dong-Dueng in Thai Herbal Pharmacopoeia yet. The main objective of this study is to provide scientific information to establish the standard requirements for chemical characteristics. Fifteen samples of crude drug were collected from natural sources and purchased from traditional drugstore in Thailand. It was found that the contents of water-soluble extractive, ethanol-soluble extractive, moisture content, total ash content and acid-insoluble ash content were 20.92 ± 2.41 , 2.70 ± 0.93 , 8.75 ± 0.82 , 4.57 ± 1.22 และ $1.10 \pm 1.03\%$ w/w, respectively. Chemical identification of these crude drug by thin-layer chromatography was also reported. The results of these study will be useful for the quality control of Dong-Dueng and preparation of Thai Herbal Pharmacopoeia.

Key words: *Gloriosa superba* Linn., Physico-chemical quality