

การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

Extraction of Active Ingredients from *Andrographis Paniculata*

Using Ethyl Alcohol

คำนำ

ฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพรที่ใช้กันอย่างกว้างขวางและรู้จักกันมานาน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Andrographis Paniculata* มีชื่อพื้นเมืองอื่นๆว่า ฟ้าทะลาย ขากันงู น้ำลายพังพอน มีสรรพคุณคือแก้ การติดเชื้อ ระบายการอักเสบ แก้ไข้หวัด แก้ร้อนใน แก้เจ็บคอ ด้านไวรัส และเป็นยาเจริญอาหาร ปัจจุบันสมุนไพรฟ้าทะลายโจรถูกรับรองไว้ในบัญชีหลักแห่งชาติ (คณะกรรมการพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติ, 2542) และเนื่องจากผลิตภัณฑ์ฟ้าทะลายโจรเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่ใช้ในงาน สาธารณะสุขมูลฐาน โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข มีการแก้ไข พระราชบัญญัติยาโดยอนุญาตขึ้นทะเบียนตำรับยาแผนโบราณมาตรา 79 และการแก้ไขรายการใน ทะเบียนตำรับยาตามมาตรา 81 เฉพาะสมุนไพรเดี่ยว ได้แก่ ขมิ้นชัน ฟ้าทะลายโจร มะระจีนก จิง และชุมเห็ดเทศ ทำให้ในปัจจุบันมีการผลิตฟ้าทะลายโจรทั้งในลักษณะอัดเม็ดและลักษณะผงบรรจุ แคปซูล โดยผู้ผลิตมีทั้งโรงพยาบาลที่ผลิตยาจากสมุนไพรขึ้นใช้เองภายในโรงพยาบาล รวมทั้งเพื่อ การจำหน่ายด้วย และกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรในจังหวัดต่างๆ

ผลิตภัณฑ์ฟ้าทะลายส่วนใหญ่อยู่ในรูปของผงบดแห้ง ซึ่งได้จากการนำส่วนลำต้นเหนือดิน ที่ทำให้แห้งแล้วนำมาบดให้เป็นผง บรรจุในแคปซูล และรับประทานครั้งละประมาณ 4 แคปซูล แคปซูลละประมาณ 250 - 350 มิลลิกรัม) การรับประทานยาในปริมาณมาก เป็นข้อด้อยในเชิงการ ตลาดนอกจากนี้ฟ้าทะลายโจรจากแหล่งปลูกที่ต่างกัน ระยะเวลาหรือฤดูกาลเก็บเกี่ยวที่ต่างกันย่อมมี ปริมาณสารสำคัญที่ต่างกันด้วย (Jain et al., 2000) การกำหนดขนาดรับประทานจึงทำได้ยากการ สกัดสารสำคัญจาก ฟ้าทะลายโจร เพื่อให้มีตัวยาเข้มข้นขึ้น และมีปริมาณยาที่แน่นอน จึงเป็นทาง ออกของปัญหานี้

ตัวยาหรือสารสำคัญในฟ้าทะลายโจรซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในการรักษา มีอยู่ทั้งในใบ ลำต้น และก้าน เป็นสารประเภทแลคโตน (lactone) มีรสขม ได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide)

ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ (deoxyandrographolide) และนีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (neoandrographolide) เป็นต้น การทดลองในระดับห้องปฏิบัติการแสดงว่า สารสำคัญสามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลาย โดยใช้ฟ้าทะลายโจร (ส่วนลำต้นเหนือดิน) บดแห้งและตัวทำละลายเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (พรพินธุ์ และคณะ, 2540; วันวิสาข์ และศิริรัตน์, 2542) สารละลายที่ได้สามารถถูกทำให้มีความเข้มข้นมากขึ้นโดยการระเหยตัวทำละลายออก และอบสารละลายเข้มข้นจนได้เป็นผลิตภัณฑ์สารสกัดแห้ง

การทดลองสกัดในถังกวนขนาด 1 ลิตร โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 60, 70 และ 80% และน้ำเป็นตัวทำละลาย วัตถุดิบฟ้าทะลายโจรที่ใช้มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 0.1-0.8 มิลลิเมตร และทำการทดลองสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงว่าการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80% ให้ความเข้มข้นของแอนโดรกราโฟไลด์สูงสุด และขนาดอนุภาคของวัตถุดิบในช่วง 0.1-0.8 มิลลิเมตร ไม่มีผลต่อความเร็วในการสกัดหรือปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ที่ถูกสกัดได้ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดพบว่าความเข้มข้นของแอนโดรกราโฟไลด์ที่ถูกสกัดได้เพิ่มขึ้น (Wongkittipong et al., 2004)

การศึกษาการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในระดับก่อนโรงงานต้นแบบที่ใช้ถังกวนขนาด 50 ลิตร ซึ่งมีใบกวนแบบพิชต์เบลตเทอร์ไบน์เข้าด้านข้างถัง โดยมีมุมใบเอียง 45 องศา (PBT45) และมุมเพลของใบกวนเท่ากับ 15 องศา ซึ่งทดสอบแล้วให้การกระจายตัวของอนุภาคของแข็งในของเหลวอย่างสม่ำเสมอโดยวัดการกระจายตัวของเม็ดพลาสติกในถังกวน วัตถุดิบที่ใช้เป็นฟ้าทะลายโจรบดแห้งมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 0.093 มิลลิเมตร การทดลองสกัดที่อัตราส่วนฟ้าทะลายโจรต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 95% เท่ากับ 1:10 และ 1:7.5 และกวนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ด้วยความเร็วรอบของใบกวนอยู่ในช่วง 560 - 1,120 รอบต่อนาที ผลการทดลองแสดงว่าการสกัดถือว่าสมมูลเมื่อใช้เวลาปฏิบัติการ 5 ชั่วโมง (ยรรยง, 2547)

โครงการวิจัยนี้เป็นการทดลองสกัดในระดับห้องปฏิบัติการและการทดลองผลิตในระดับการผลิตที่สูงขึ้นคือระดับก่อนโรงงานต้นแบบโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 85% ซึ่งเป็นความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์ที่ถูกกำหนดให้ใช้ในวิธีการหาปริมาณแอลโคโนรวมในฟ้าทะลายโจรดิบ (Thai Herbal Pharmacopoeia, 1995) และเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีขายในเชิงการค้า

วัตถุประสงค์

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในระดับห้องปฏิบัติการ และการสกัดโดยใช้ถังกวนขนาดก่อนโรงงานต้นแบบ เพื่อหาสภาวะการปฏิบัติการที่เหมาะสมในการสกัด ได้แก่ ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ ความเร็วรอบของใบกวน เวลาปฏิบัติการที่เหมาะสมเมื่อระบบเข้าสู่สมดุล และรวบรวมข้อมูลเชิงวิศวกรรมเพื่อประโยชน์ในการขยายขนาดสู่ระดับโรงงานต้นแบบ

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 85 และ 95 % ได้แบ่งการทดลองออกเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งเป็นการทดลองการสกัดในระดับห้องปฏิบัติการ โดยจะทำการทดลองสกัดฟ้าทะลายโจรแบบหนึ่งขั้นตอน(single stage)ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ เท่ากับ 1:16, 1:10 และ 1:5 ตามลำดับ และการสกัดแบบสองขั้นตอน(multi stage) ที่อัตราส่วนเท่ากับ 1:5 หากที่ได้จากการสกัดที่อัตราส่วน 1:5 จะถูกสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีการทดลองเดียวกันกับครั้งแรก โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ในปริมาณที่เท่ากับการสกัดครั้งแรก ทำให้ปริมาตรรวมของแอลกอฮอล์ที่ใช้สกัดสองขั้นตอนเท่ากับปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อแอลกอฮอล์เท่ากับ 1:10 ส่วนที่สองเป็นการทดลองสกัดในระดับก่อนโรงงานต้นแบบในถังกวนขนาด 50 ลิตร ซึ่งมีใบกวนแบบพิกซ์เบลคเทอร์ไบน์เข้าด้านข้างถัง และมุมเพลลาของใบกวนเท่ากับ 15 องศา ซึ่งทดสอบแล้วว่าให้การกระจายตัวของฟ้าทะลายโจรในตัวทำละลายได้ดี (ยรรยง, 2547) โดยทำการทดลองสกัดที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ เท่ากับ 1:10 และ 1:5 ด้วยความเร็วของใบกวนเท่ากับ 560 และ 1,120 รอบต่อนาที

การตรวจเอกสาร

1. ข้อมูลเกี่ยวกับฟ้าทะลายโจร

ก. ชื่อพฤกษศาสตร์ และชื่อเรียกอื่นๆ

ฟ้าทะลายโจร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Wall. ex Nees อยู่ในวงศ์ Acanthaceae พบทั่วไปในทวีปเอเชีย มีชื่อเรียกแตกต่างกันตามท้องถิ่น ได้แก่ ฟ้าทะลายน้ำลายพังพอน (กรุงเทพฯ) หญ้าก้านงู (สงขลา) ฟ้าสาบ (พม่า) เขตตายยายคลุม (โพธาราม) สามสิบดี (ร้อยเอ็ด) เมฆทะลาย (ยะลา) ฟ้าสะท้าน (พัทลุง) Kalmegh (อินเดีย) Chaun Xin Lian (จีน) และ Hempudu Bumi (มาเลเซีย) ทุกส่วนของฟ้าทะลายโจร มีรสขมจัดจนเรียกพืชชนิดนี้ว่าจ้าวแห่งความขม “King of the Bitterness”

ข. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ฟ้าทะลายโจรพบทั่วไปในทวีปเอเชียโดยทุกส่วนของฟ้าทะลายโจร มีรสขมจัดจนเรียกพืชชนิดนี้ว่าจ้าวแห่งความขม ฟ้าทะลายโจรเป็นไม้ล้มลุกขึ้นได้ทั่วไปในดินทุกชนิด พบอยู่ตามป่าดงดิบ ป่าสน ป่าก่อ ป่าเต็งรัง เป็นพืชตระกูลเดียวกับด้อยดังและทองพันชั่ง สูงประมาณ 40-70 เซนติเมตร ลำต้นตรง ส่วนปลายกิ่งเป็นสี่เหลี่ยมกิ่งใบสีเขียวแก่ แตกกิ่งออกด้านข้าง ใบจะออกตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ ก้านใบสั้นมากหรือไม่มีก้านใบ แผ่นใบรูปยาวรี ปลายเรียวแหลม โคนแหลม ขอบใบเรียบเป็นรอยหยักน้อยๆ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะลำต้นและใบของฟ้าทะลายโจร

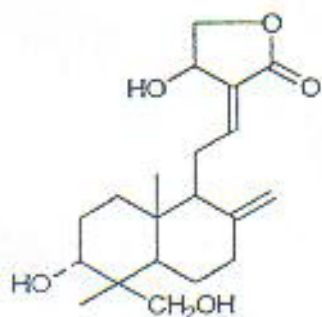
ค. การใช้ประโยชน์ทางยา

ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชสมุนไพรที่ชาวอินเดียและจีนนำมาใช้ประโยชน์ทางยาแต่โบราณ โดยอินเดียใช้สมุนไพรนี้ในการผสมยาอย่างน้อย 26 สูตร และมักใช้เป็นยาชมเจริญอาหาร แก้ท้องร่วง แก้ไข้ และขับพยาธิในท้อง ส่วนชาวจีนก็ใช้กันมานานมาก การแพทย์จีนจัดฟ้าทะลายโจรไว้ในตำเนียบยาคำราหลวง โดยใช้เป็นยาเดี่ยว รักษาได้หลายโรค ปรากฏในเภสัชตำรับของประเทศจีนในชื่อ ชวนซินเหลียน ส่วนที่ใช้คือต้นแห้ง (ไม่มีราก) เก็บในช่วงต้นฤดูใบไม้ร่วง นำมาล้างให้สะอาด หั่น ตากแห้ง ซึ่งในเภสัชตำรับได้กำหนดไว้ว่าต้องมีใบไม่ต่ำกว่า 30% และได้มีการสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมาใช้เป็นยาแผนปัจจุบันหลายรูปแบบ เช่น ยาเม็ด ยาฉีด เป็นต้น ตัวอย่างยาเม็ดของจีน ได้แก่ Kang Yan Tablets, Chuanxinlian Tablets และ Chuanxinlian Antiphlogistic Pill สำหรับยาฉีด มีชื่อว่า Yamdepieng และ Chuanxinlian Ruangas Injection (พะเยาว์, 2529) สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ใช้เป็นยาแผนปัจจุบันเหล่านี้ ใช้ในการรักษาอาการทางคลินิก เช่น ไข้หวัดใหญ่ การติดเชื้อของทางเดินหายใจส่วนต้น เจ็บคอ ทอลซิลอักเสบ ซึ่งมีผลต่อการรักษาค่อนข้างดี ส่วนประเทศในกลุ่มสแกนดิเนเวียก็มีรายงานถึงการใช้สมุนไพรนี้ในการป้องกันและรักษาโรคหวัด

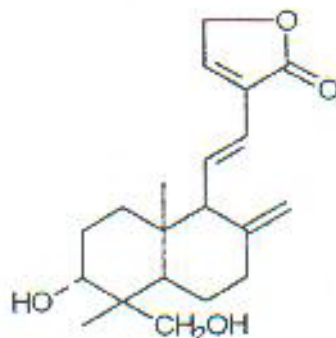
ประเทศไทยมีการใช้ประโยชน์ทางยาจากฟ้าทะลายโจรโดยใช้ทั้งต้นหรือเฉพาะใบ การเก็บเกี่ยวมาใช้จะเก็บก่อนที่ฟ้าทะลายโจรมีดอก วิธีการใช้ฟ้าทะลายโจรของไทยในทางยามีหลายรูปแบบ เช่น ยาต้ม ยาพอก ยาสูดดม ตำรายากลางบ้านนำมาใช้เป็นยาแก้ฝีหนอง โดยใช้ในรูปใบสดค่อนข้างแก่ประมาณ 1 กำมือ เอาเกลือ 3 เม็ด ใส่ผสมตำรวมกันพอละเอียดดี เอาสุราครึ่งถ้วยชา น้ำครึ่งช้อนชา ใส่รวมลงไป คนให้เข้ากัน เทน้ำกินก่อนด้วยชา กากที่เหลือพอกแผลฝีแล้วเอาผ้าสะอาดพันไว้ พอกใหม่ๆจะรู้สึกปวดหน้อยๆ ในปัจจุบันมีการผลิตเป็นยาแคปซูลโดยใส่ผงของใบฟ้าทะลายโจรบดแห้งขนาด 250 มิลลิกรัม ยาเม็ดฟ้าทะลายโจรขนาด 250 มิลลิกรัมโดยโรงงานเภสัชกรรมทหาร กรมการอุตสาหกรรมทหาร กระทรวงกลาโหม สรรพคุณในตำรับยาไทยมีหลายประการ เช่น ใช้ทั้งต้นขับเสมหะภายหลังผ่าตัดทอนซิลอักเสบ ส่วนของใบใช้แก้ไข้ แก้บิด แก้ท้องเสีย ท้องเดินเนื่องจากเชื้อ Staphylococcus เป็นยาบำรุง แก้เจ็บคอ แก้ฝี แก้แผลบวมอักเสบ แก้งูสวัดและเริม เป็นต้น รายงานทางคลินิกพบว่าสารออกฤทธิ์ของฟ้าทะลายโจรมีประสิทธิภาพในการต่อต้านการอักเสบ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial) กระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการเพิ่มประสิทธิภาพของเม็ดเลือดขาวในการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ยับยั้งเชื้อไวรัส ยับยั้งและทำลายเซลล์มะเร็ง ทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น ลดไข้ นอกจากนี้ยังมีผลต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อ

ง. ส่วนประกอบทางเคมี

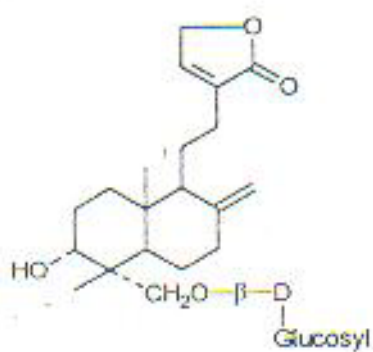
ในวงการแพทย์จีนและอินเดีย ได้ทำการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญมาเป็นเวลานานและอย่างต่อเนื่อง พบว่าทุกส่วนของฟ้าทะลายโจรมีสารออกฤทธิ์ โดยในส่วนใบของฟ้าทะลายโจรมีสารออกฤทธิ์ในปริมาณมากที่สุด คือ สารประกอบในกลุ่มแลคโตน (lactone) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญ ได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide) ไดออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ (deoxyandrographolide) นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (neoandrographolide) 14-ไดออกซี-11, 12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ (14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide) และพานิโคไลด์ (panicolide) (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ อีกดังแสดงในตารางที่ 1



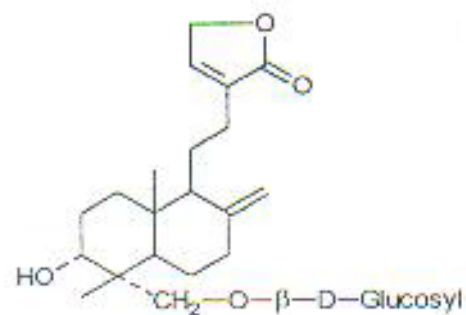
(1) Andrographolide



(2) 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide



(3) Neoandrographolide

(4) Deoxyandrographolide-19 β -Glucoside

ภาพที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญประเภทแอลคาลอยในฟ้าทะลายโจร

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีที่ปรากฏในสมุนไพรฟ้าทะลายโจร

ชนิดขององค์ประกอบ	องค์ประกอบ	ส่วนของพืช
แอลคาลอยด์	แอนโดรกราโฟไลด์	ใบ, ราก, whole plant, ลำต้น
	นีโอแอนโดรกราโฟไลด์	ใบ, whole plant
	Deoxyandrographolide-19 β -D-Glucoside	ใบ
	14-Deoxy-11, 12-didehydroandrographolide	
	14-Deoxyandrographolide	Whole plant
	Andrographiside	ใบ, Whole plant
	Andrographoside	ลำต้น
	14-Deoxyandrographoside	ลำต้น
	14-Deoxy-12-methoxyandrographolide	ลำต้น
	Andrograpanin	ใบ
	Homoandrographolide	ใบ
	Panicolide	ใบ
	14-Deoxy-11-oxoandrographolide	ใบ
	Paniculide A	Whole plant
	Paniculide B	ใบ, tissue culture
	Paniculide C	ใบ, tissue culture
	3, 14-dideoxyandrographolide	ใบ, tissue culture
ฟีนอล	Andrographin	ลำต้น
	Panicolin	ราก
	Mono-O-methywrightin	ราก
	Apigenin-4, 7-di-o-dimethyl ether	ราก
	5-Hydroxy-2, 3, 7, 8 – tetramethoxy flavone	ราก

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของ องค์ประกอบ	องค์ประกอบ	ส่วนของพืช
สารอื่น ๆ	5-Hydroxy-7,8-dimethoxy flavone	ราก
	(dl)-5-Hydroxy-7,8-dimethoxy flavone	ใบ
	Andrographan	ใบ
	Andrographon	ใบ
	Andrographosterin	ทุกส่วน
	2-cis-6-trans farnesol	ทุกส่วน
	2-trans-6-trans farnesol	ทุกส่วน
	Caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid)	ใบ
	Chlorogenic acid	ใบ
	3, 5-Dicaffeoyl- <i>d</i> -quinic acid	ใบ
	KH ₂ PO ₄	ทุกส่วน
	KCl	ทุกส่วน
	NaCl	ทุกส่วน

ที่มา: ขรรยง (2547)

จ. ข้อมูลทั่วไปของสารแอนโดรกราโฟไลด์

แอนโดรกราโฟไลด์เป็นสารประกอบประเภทแลคโตน ผลึกเป็นรูปเหลี่ยมยาว ไม่มีสี สามารถละลายได้ดีในเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ อะซิโตน และละลายได้เล็กน้อยในน้ำ และคลอโรฟอร์ม แต่ไม่ละลายในอีเทอร์ มีสูตรเคมีคือ C₂₀H₃₀O₅ มีน้ำหนักโมเลกุล 350.4 มีจุดหลอมเหลว 228-230 องศาเซลเซียส แอนโดรกราโฟไลด์เป็นสารที่พบมากที่สุดโดยพบในฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในประเทศไทยถึง 1.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ปริมาณสารสำคัญในใบฟ้าทะลายโจรขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวและสถานที่ที่ใช้ปลูก จากการศึกษาปริมาณของสารประกอบไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตนในใบของสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่เก็บเกี่ยวในแต่ละเดือน พบว่ามีดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์สูงสุดในเดือนเมษายน ต่ำสุดในเดือนธันวาคม แอนโดรกราโฟไลด์

มีปริมาณสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน ต่ำสุดเดือนกุมภาพันธ์ นีโอแอนโดรกราโฟไลด์มีปริมาณสูงสุดในเดือนธันวาคมต่ำสุดในเดือนเมษายนและพฤษภาคม ส่วน deoxyandrographolide - 19 β -Glucoside มีปริมาณสูงสุดในเดือนมีนาคม ต่ำสุดจนไม่สามารถตรวจวัดได้ในเดือนตุลาคมและพฤศจิกายน (ตารางที่ 2) (ขรรยง, 2547)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสำคัญประเภทไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตนในใบของฟ้าทะลายโจรที่เก็บเกี่ยวในแต่ละเดือน

เดือนที่ เก็บเกี่ยว	เปอร์เซ็นต์ของสารสำคัญประเภทไดเทอร์ปีนอยด์แลคโตน			
	C-2	C-3	C-4	C-5
มกราคม	3.97	1.17	1.95	2.03
กุมภาพันธ์	4.18	0.82	1.51	3.22
มีนาคม	5.14	1.01	1.64	3.81
เมษายน	7.30	1.99	0.67	1.19
พฤษภาคม	4.43	3.01	0.66	0.71
มิถุนายน	5.52	3.13	0.93	1.06
กรกฎาคม	5.66	3.43	0.94	0.88
สิงหาคม	3.58	4.27	1.27	0.81
กันยายน	1.45	4.86	1.34	0.54
ตุลาคม	0.69	5.58	1.41	0.00
พฤศจิกายน	0.84	6.02	0.95	0.00
ธันวาคม	0.61	4.43	2.02	1.11

C-2 = 14-Deoxy-11, 12-didehydroandrographolide

C-3 = Andrographolide

C-4 = Neoandrographolide

C-5 = Deoxyandrographolide-19 β -Glucoside

ที่มา: ขรรยง (2547)

นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาผลของการเก็บเกี่ยวและสถานที่ที่ใช้ในการปลูกต่อปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนในฟ้าทะลายโจรพบว่า ปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนในต้นฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ มีมากกว่าต้นฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในจังหวัดนครปฐม ปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนมีสูงสุดในส่วนของใบ โดยจะมีสูงสุดในระยะออกดอก ต่ำสุดในระยะติดฝักแก่ ส่วนของลำต้นมีปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนต่ำที่สุดโดยจะมีสูงสุดในระยะติดฝักแก่ (ตารางที่ 3) (นาถฤดี, 2532)

ตารางที่ 3 แสดงผลของการเก็บเกี่ยวและสถานที่ที่ใช้ในการปลูกต่อปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตนในฟ้าทะลายโจร

แปลงทดลอง	การเก็บเกี่ยว	ปริมาณสารสำคัญประเภทแลคโตน (%)		
		ทั้งต้น	ใบ	ลำต้น
นครปฐม	ก่อนออกดอก	6.09	6.80	2.28
	ออกดอก	7.31	9.81	2.06
	ติดฝักอ่อน	5.29	6.79	9.93
	ติดฝักแก่	4.80	6.44	4.67
ประจวบคีรีขันธ์	ก่อนออกดอก	7.05	9.54	3.02
	ออกดอก	9.79	12.52	5.81
	ติดฝักอ่อน	6.72	7.25	6.25
	ติดฝักแก่	5.54	6.63	6.89

ที่มา:นาถฤดี (2532)

จากการศึกษาคุณภาพทางเคมีของฟ้าทะลายโจรจำนวน 15 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บจากแหล่งปลูกต่างๆ ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน โดยศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างฟ้าทะลายโจรของจีน ตามข้อกำหนดคุณภาพมาตรฐานของฟ้าทะลายโจรในประเทศจีน ปริมาณสารแลคโตนซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ไม่ควรน้อยกว่า 6 % พบว่าในจำนวน 15 ตัวอย่าง มี 2 ตัวอย่างที่มีปริมาณสารประเภทแลคโตนต่ำกว่า 6% (เรณู, 2531)

การศึกษาผลกระทบของตัวแปรในการทดลองที่มีต่อกระบวนการสกัดฟ้าทะลายโจรในระดับห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย และขนาดอนุภาคฟ้าทะลายโจร ตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองนี้คือ เอทิลแอลกอฮอล์ 60%, 70%, 80% และน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส โดยมีขนาดเฉลี่ยของอนุภาคฟ้าทะลายโจรอยู่ในช่วงระหว่าง 0.1-0.8 มิลลิเมตร ผลการทดลองแสดงว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดสูงที่สุดเมื่อสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80 % ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความแตกต่างของขนาดอนุภาคฟ้าทะลายโจรในช่วงระหว่าง 0.1-0.8 มิลลิเมตร ถือได้ว่าไม่มีผลต่อการสกัด (Wongkittipong et al, 2004)

การศึกษาการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในระดับก่อนโรงงานต้นแบบที่ใช้ถึงขนาด 50 ลิตร ซึ่งมีใบกวนแบบพิชต์เบลคเตอร์ไบน์เข้าด้านข้างถึง โดยมีมุมใบเอียง 45 องศา (PBT45) และมุมเพลของใบกวนเท่ากับ 15 องศา ซึ่งทดสอบแล้วให้การกระจายตัวของอนุภาคของแข็งในของเหลวอย่างสม่ำเสมอโดยวัดการกระจายตัวของเม็ดพลาสติกในถังกวน วัสดุคิที่ใช้เป็นฟ้าทะลายโจรบดแห้งมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 0.093 มิลลิเมตร การทดลองสกัดที่อัตราส่วนฟ้าทะลายโจรต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 95% เท่ากับ 1:10 และ 1:7.5 และกวนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ด้วยความเร็วรอบของใบกวนอยู่ในช่วง 560 - 1,120 รอบต่อนาที ผลการทดลองแสดงว่าการสกัดถือว่าสมมูลเมื่อใช้เวลาปฏิบัติการ 5 ชั่วโมง (ยรรยง, 2547)

นอกจากนี้จากการศึกษากระบวนการสกัดฟ้าทะลายโจรในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าการอบแห้งสารสกัดฟ้าทะลายโจรควรอบแห้งที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า 55 องศาเซลเซียส เพื่อไม่ให้ตัวยาเสื่อมคุณภาพ (วันวิสาข์ และคณะ, 2542)

โครงการวิจัยนี้เป็นการทดลองสกัดในระดับห้องปฏิบัติการและการทดลองผลิตในระดับการผลิตที่สูงขึ้นคือระดับก่อนโรงงานต้นแบบโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 85 % ซึ่งเป็นความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์ที่ถูกกำหนดให้ใช้ในวิธีการหาปริมาณแอลโคทรอมในฟ้าทะลายโจรคิ (Ethanol-soluble extractive) ซึ่งระบุใน Thai Herbal Pharmacopoeia, 1995 และเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีขายในเชิงการค้า

2. การสกัด

ก. การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-Liquid Extraction)

การสกัดในระบบของแข็ง-ของเหลว หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าการล้างออก (Leaching) เป็นการแยกเอาสารที่ต้องการออกจากวัตถุที่เป็นของแข็งโดยใช้ของเหลวเป็นตัวพา โดยอาศัยหลักการถ่ายเทมวลจากของแข็งไปยังตัวทำละลายของเหลว และความสามารถในการละลาย กระบวนการนี้ใช้กันอย่างแพร่หลายทางเคมีวิศวกรรม โดยเฉพาะการสกัดสารจากธรรมชาติ เช่น การสกัดสารจากเมล็ดกาแฟ การสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืช เป็นต้น โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมไม่ว่าจะเป็นน้ำ หรือตัวทำละลายอินทรีย์ การสกัดในระบบของแข็ง-ของเหลว เมื่อนำมาใช้ในการสกัดสมุนไพร จึงเป็นกระบวนการที่สกัดเอาตัวยาที่มีฤทธิ์ในการรักษาออกจากสมุนไพร โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม

โดยทั่วไปการสกัดในระบบของแข็งของ-ของเหลว จะประกอบด้วยกระบวนการสำคัญ 3 กระบวนการ ได้แก่

1. การเปลี่ยนสถานะของตัวถูกละลาย ขณะที่ละลายในตัวทำละลาย
2. การแพร่ของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย (ภายในอนุภาคของแข็ง)
3. การถ่ายเทมวลของตัวถูกละลายภายในอนุภาคของแข็ง ไปสู่สารละลายทั้งหมด

ข. กลไกของการสกัด

ขั้นที่ 1 การแพร่ของตัวทำละลายเข้าสู่ของแข็ง และการละลายของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย (ภายในอนุภาคของแข็ง) ขั้นนี้ตัวทำละลายจะแพร่เข้ามาภายในของแข็งเพื่อจับตัวถูกละลาย การเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของแข็งและตัวทำละลายของเหลว โดยการบดให้มีขนาดเล็กลงเพื่อลดระยะทางที่ตัวถูกละลายต้องผ่านให้สั้นลง ช่วยเพิ่มความเร็วในการสกัดได้

ขั้นที่ 2 สารละลายที่ได้จากขั้นที่ 1 แพร่ออกมาที่ผิวของของแข็ง (ถือว่าเป็นสารละลายอิ่มตัว)

ขั้นที่ 3 การถ่ายเทมวลของตัวถูกละลายจากผิวของของแข็ง ไปสู่สารละลายทั้งหมด การกวนขณะทำการสกัดจะช่วยให้การถ่ายเทมวลสารเกิดเร็วขึ้น

ค. วิธีการสกัด

โดยทั่วไปการสกัดอาจแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ แบบหนึ่งขั้นตอน (single stage) และการสกัดแบบสองขั้นตอน (multiple stages) โดยที่ stages คือ หน่วยของเครื่องสกัดตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไป ที่ใช้ในการสกัดช่วงเวลาหนึ่ง โรงงานขนาดใหญ่ที่ใช้การผลิตแบบต่อเนื่องจะมีหลักการสำหรับการสกัดดังนี้

1) การสกัดแบบหนึ่งขั้นตอน (Single stage extraction)

- ก. การสัมผัสกันระหว่างของแข็งและของเหลว ทำให้ได้กากและสารสกัด
- ข. ถ้าเวลาที่ใช้ในการสกัดเพียงพอจะเกิดสมดุลขึ้น
- ค. ไม่สามารถสกัดสารที่ต้องการได้อย่างสมบูรณ์
- ง. ปริมาณสารที่ถูกสกัดเพิ่มขึ้นได้โดยการเพิ่มอัตราการไหลของตัวทำละลาย (เป็นการลดความเข้มข้นของสารละลายด้วย) แต่เมื่อเอาตัวทำละลายออกจากตัวถูกละลาย ทำให้ได้ปริมาณสารที่ต้องการมากขึ้น

2) การสกัดแบบสองขั้นตอน (Multiple stages extraction)

การสกัดแบบสองขั้นตอน คือการนำกากที่ได้จากการสกัดในขั้นตอนแรกมาสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีทดลองเดียวกันกับครั้งแรก โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ในปริมาณที่เท่ากับการสกัดในครั้งแรก

ง. การเลือกตัวทำละลาย

การสกัดเอาตัวยาออกจากสมุนไพร เพื่อให้ได้สารเคมีที่มีฤทธิ์ทางการรักษาเพียงสารเดียวจะช่วยให้ตัวยานั้นมีความคงตัวมากขึ้น และสามารถจำกัดความแรงของตัวยาที่ได้ให้มีขนาดที่ถูกต้องในการรักษามากขึ้น ยารักษาโรคในปัจจุบันมักได้จากการนำสารที่ได้จากสมุนไพรมาทำ

การสกัดจนได้สารที่มีฤทธิ์ทางการรักษาที่บริสุทธิ์มากขึ้น หรืออาจได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมา หรืออาจได้จากทั้งการสังเคราะห์และการสกัดพร้อมกัน การสกัดด้วยยาออกจากสมุนไพรนั้นควรจะ ต้องพยายามสกัดให้ได้เฉพาะสารที่ต้องการและกำจัดสารที่ไม่มีฤทธิ์ทางการรักษาออกให้ได้มากที่สุด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด การเลือกตัวทำละลายต้องคำนึงถึงปัจจัยที่สำคัญต่างๆ ต่อไปนี้ (กนกวรรณ และคณะ, 2543)

1. ความสามารถในการละลายสารที่ต้องการสกัด
2. อัตราเร็วของการแทรกซึมสู่ตัวถูกละลาย
3. สามารถแยกออกจากสารที่ถูกสกัดได้โดยง่ายและนำกลับมาใช้ใหม่ได้
4. ความสะดวกในการแปรรูปสารละลายที่สกัดได้ให้เป็นไปตามที่ต้องการ
5. มีความคงตัว
6. มีความปลอดภัย ต้องไม่เป็นพิษ ไม่ติดไฟและไม่ระเบิดง่าย
7. ไม่ทำปฏิกิริยากับเครื่องมือที่ใช้
8. ราคาถูก

นอกจากนี้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญ จำพวกแอลคาลอยด์ซึ่งได้ระบุไว้ใน Thai Herbal Pharmacopia, V1, 1995 แสดงว่าแอนโดรกราโฟไลด์ สามารถละลายได้ในอะซิโตน อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเมทิลแอลกอฮอล์ แต่ละลายได้น้อยในน้ำ และเนื่องจากเมทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์มีความเป็นขั้วใกล้เคียงกัน (ตารางภาคผนวกที่ 1) แต่เมทิลแอลกอฮอล์เป็นสารมีพิษ ในขณะที่เอทิลแอลกอฮอล์ไม่เป็นพิษ จึงใช้เอทิลแอลกอฮอล์ แทนเมทิลแอลกอฮอล์ (นาฏยา และคณะ, 2541)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ถังกวนขนาด 50 ลิตร ทำจากเหล็กไร้สนิม ที่มีใบกวนแบบพิกซ์เบลคเทอร์ไบน์ 45 องศา ติดตั้งเข้าด้านข้างของถังห่างผนังเข้ามา 5 เซนติเมตร สูงจากก้นถัง 17.5 เซนติเมตร และมุมเพลลาของใบกวนเท่ากับ 15 องศา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใบกวน (D) เท่ากับ 9.5 เซนติเมตร ความกว้างของแผ่นใบกวน (W) เท่ากับ 1.9 เซนติเมตร (ภาพที่ 3)

2. มอเตอร์กันระเบิด จากบริษัท ทรานสมิสชั่นเทค จำกัด (Flameproof Ac motor EEXDIIBT5 Size ½ HP, 4 pole, 220 V/ 380 V / 3 PH / 50 Hz , B5 flang mounted as brand ISGEV , Italy) (ภาพที่ 4)

3. ชุดควบคุมความเร็วรอบของมอเตอร์ที่สามารถควบคุมค่าความถี่กระแสไฟฟ้า 0-50 Hz จากบริษัท ทรานสมิสชั่นเทค จำกัด (Inverter size 1 HP , as T-vertor) (ภาพที่ 4)

4. เครื่อง Ultrasonic bath (Crest Ultrasonics (Malaysia) SDN.BHD.)

5. ตู้อบแห้ง (WTC binder)

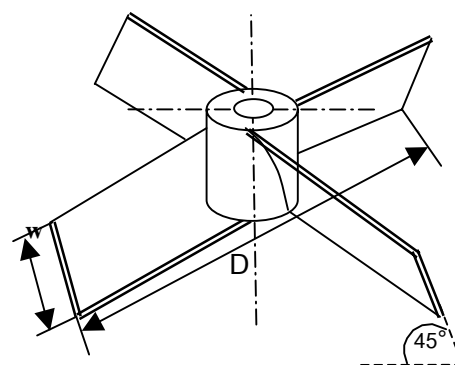
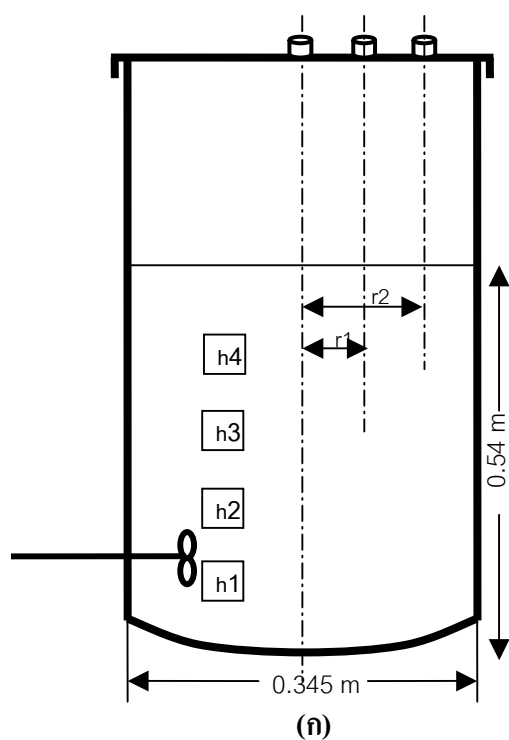
6. เครื่อง water bath

7. แอลกอฮอล์มีเตอร์

8. เอทิลแอลกอฮอล์ (ความบริสุทธิ์ 95% จากองค์การสุรา กรมสรรพสามิต)

9. ผงฟ้ายาละลายโบริบดแห้งจากส่วนของกิ่งก้าน และใบ

10. สารแอนโดรกราโฟไลด์มาตรฐาน (ความบริสุทธิ์ 98% จาก บริษัท Aldrich)



ภาพที่ 3 (ก) ถังกวนขนาด 50 ลิตร (ข) ใบกวนแบบพิกซ์เบลด์เทอร์ไบน์ 45 องศา
ที่มา : ขรรยง (2547)



ภาพที่ 4 ถังกวนพร้อมมอเตอร์และชุดควบคุมความเร็วรอบ
ที่มา : ขรรยง (2547)

เครื่องมือวิเคราะห์

ตารางที่ 4 เครื่องมือ และอุปกรณ์ ที่ใช้ในการการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโดรแกรโฟไลด์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	บริษัท, เมือง, ประเทศ
1. High Performance Liquid Chromatographic System, Spectra System Isocratic Pump, P-1000 uv/vis Detectors	Thermo Separation Co., Ltd., CA, USA
2. Column Inertsil ODS-3 (5 μ m, 4.6 mm ID.x15 cm)	GL Sciences Inc., Japan
3. Electronic Analytical Balance "Mettler" AE-240	Mettler-Toledo AG, Greifense, Switzerland
4. Automatic Micropipette Calibra microsyringe MS-R 100	Brand GmbH & C., Wertheim, Germany
5. Cellulose acetate membrane filter 0.45 μ	Sartorius, AG, Goettinger, Germany

ตารางที่ 5 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณแอนโดรแกรโฟไลด์ ด้วย HPLC

สารเคมีที่ใช้	GRADE	บริษัท,เมือง,ประเทศ
1. Standard Andrographolide	Analytica Grade (AR)	Sigma, St. Louis, Mo USA
2. Methanol	Analytical(AR)	Merck, Darmstadt, Germany
3. Lead dioxide	Analytical(AR)	Merck
4. Lead diacetate	Analytical(AR)	Carlo EK BA
5. Absolute ethanol	Analytical(AR)	Merck
6. Sodium sulphate	Analytical(AR)	Merck
7. Decolorizing charcoal	Analytical(AR)	Merck
8. Sodium hydroxide	Analytical(AR)	Merck

วิธีการ

1. วิธีการหาปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ ด้วย HPLC (พรรณทิพา และณัฐพล, 2544)

1. การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ในฟ้าทะลายโจร โดยใช้ reversed-phase HPLC Chromatography

1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐานแอนโดรกราโฟไลด์ให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม / 100 มิลลิลิตร โดยใช้ เมทิลแอลกอฮอล์ / น้ำ (50:50 ,v/v) เป็นตัวทำละลาย

1.2 การทำ calibration graph

ปีเปตสารละลายมาตรฐานแอนโดรกราโฟไลด์ในข้อ 1.1 ปริมาตร 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มิลลิลิตร เทใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 10 มิลลิลิตร แยกกันละลายและปรับปริมาตรด้วย เมทิลแอลกอฮอล์ / น้ำ (50:50 ,v/v) แล้วฉีดปริมาตร 20 μ l

1.3 การเตรียมตัวอย่างฟ้าทะลายโจร

ชั่งตัวอย่างฟ้าทะลายโจรที่เป็นวัตถุดิบ 100 มิลลิกรัม, สารสกัด 1 กรัม และ กาก 1 กรัม แยกกันใส่ลงในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วเติมเมทิลแอลกอฮอล์/น้ำ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร (50:50 ,v/v) และนำไปทำให้ละลาย(sonicate)ในเครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ / น้ำ (50:50 ,v/v) ผสมให้เข้ากัน กรองผ่าน กระดาษกรองขนาด 0.45 μ m ก่อนฉีดปริมาตร 20 μ l ทำการวิเคราะห์แบบ triplicate

1.4 Chromatographic conditions :

Column	:	Inertsil ODS-3 (5 μ m, 4.6 mm I.D. $\times$ 15 cm)
Mobile phase	:	methanol / water (60:40, v/v)
Flow – rate	:	1 ml / min
Detector	:	254 nm
Injection volume	:	20 μ l

1.5 ปริมาณของแอนโดรกราโฟไลด์และแลคโตนรวมคำนวณจากพื้นที่ของพีคในโครมาโทแกรม

2. วิธีการหาปริมาณแลคโตนรวม(Ethanol-soluble Extractive) (Thai Herbal Pharmacopoeia , V.1, 1995)

1. นำภาชนะสำหรับใส่สารสกัดมาอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นใน Desiccators
2. นำภาชนะที่เย็นแล้วมาชั่งน้ำหนักภาชนะเปล่า บันทึกค่า
3. เทตัวอย่างสารละลายสกัดลงในภาชนะ แล้วนำไปชั่งน้ำหนักอย่างรวดเร็ว บันทึกค่าน้ำหนักสารสกัด
4. นำสารสกัดไประเหยแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียสด้วย water bath จนแห้งเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ แล้วจึงบันทึกค่าน้ำหนัก
5. คำนวณร้อยละของแข็งจากข้อมูลน้ำหนักที่ได้บันทึกไว้

3. วิธีการทดลองสกัดสารแอนโดรกราโฟไลด์ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

การสกัดสารสำคัญจากวัตถุดิบฟ้าทะลายโจรแห้งที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 0.09 มิลลิเมตร ได้แบ่งเป็นการทดลองออกเป็น 2 ส่วน คือ การทดลองสกัดในระดับห้องปฏิบัติการ และการทดลองสกัดในระดับก่อนโรงงานต้นแบบ

3.1 การทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ

3.1.1 การทดลองเปรียบเทียบร้อยละผลได้ (% yield) ของการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 85 % และ 95% ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ เท่ากับ 1:16

นำวัตถุดิบ 5 กรัม (โดยน้ำหนักแห้ง) และเอทิลแอลกอฮอล์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คิดเป็นอัตราส่วนเท่ากับ 1:16 โดยน้ำหนัก ใส่ในขวดรูปชมพู่ กวนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างสาร

สกัดที่ได้จากการกรองไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแอนโดรกราโฟไลด์ในสารละลายด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีที่ได้ผ่านการตรวจสอบความเที่ยงตรงแล้ว (พรรณทิพา และณัฐพล, 2544) ปริมาณ สารสกัด วัตถุดิบ และเวลาที่ใช้ในแต่ละขั้นตอนของการทดลองได้ปฏิบัติตามวิธีการหาปริมาณ แอลกอฮอล์ละลาย (Ethanol-soluble Extractive) ที่ระบุใน Thai Herbal Pharmacopoeia , V.1, 1995

ร้อยละผลได้ หรือร้อยละการสกัด ซึ่งเป็นค่าที่สำคัญในกระบวนการผลิต จะถูกรายงาน ค่าร้อยละผลได้ในงานวิจัยนี้คือ ปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ที่สกัดออกมาได้หารด้วย ปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ในวัตถุดิบ คูณด้วยร้อยละ ร้อย ความน่าเชื่อถือของข้อมูลถูกตรวจสอบโดย คุณมวลของแอนโดรกราโฟไลด์ โดยการเปรียบเทียบปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ในวัตถุดิบว่าใกล้เคียงกับผลรวมของปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ในสารสกัดและในกากเพียงใด

3.1.2 การทดลองเปรียบเทียบร้อยละผลได้ของการสกัดที่ใช้อัตราส่วนวัตถุดิบต่อ เอทิลแอลกอฮอล์ 85 % เป็น 1:5 และ 1:10

ขั้นตอนการดำเนินการทดลองจะปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลอง 1.1 แต่ต่างกันที่ ปริมาณของวัตถุดิบและตัวทำละลายที่ใช้ ในกรณีนี้ใช้วัตถุดิบ 8.44 กรัมโดยน้ำหนักแห้ง ต่อ เอทิลแอลกอฮอล์ 84.35 กรัม ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 85 % เท่ากับ 1:10 และเตรียม ฟัฟละลายโครบดแห้ง 16.87 กรัมโดยน้ำหนักแห้งต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 84.35 กรัม ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 85 % เท่ากับ 1:5

กากที่ได้จากการสกัดที่อัตราส่วน 1:5 ถูกสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีทดลองเดียวกัน กับครั้งแรก โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 85 % ในปริมาณที่เท่ากับการสกัดครั้งแรก ทำให้ปริมาตรรวม ของแอลกอฮอล์ที่ใช้สกัดสองขั้นตอนเท่ากับปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อ แอลกอฮอล์เท่ากับ 1:10

3.2 การสกัดในระดับก่อนโรงงานต้นแบบ

การทดลองสกัดทำในถังกวนขนาด 50 ลิตร ที่มีใบกวนแบบพิชต์เบลด์เทอร์ไบน์ 45 องศา โดยติดตั้งเข้าด้านข้างของถัง (ภาพที่ 3 และ 4) ห่างผนังเข้ามา 5 เซนติเมตร สูงจากก้นถัง 17.5 เซนติเมตร และมุมเพลลาของใบกวนเท่ากับ 15 องศา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใบกวน (D) เท่ากับ 9.5

เซนติเมตร ความกว้างของแผ่นใบกวน (W) เท่ากับ 1.9 เซนติเมตร ใช้มอเตอร์กันระเบิดขนาด 0.5 แรงม้า ถึงกวนนี้ได้ผ่านการตรวจสอบการกระจายตัวของอนุภาคโดยการวัดปริมาณเม็ดพลาสติกต่อหน่วยปริมาตรของสารแขวนลอย (suspension) ที่ตำแหน่งต่างๆ ในถังกวน ซึ่งทดสอบแล้วว่าให้การกระจายตัวของฟ้ายะลาโยโรในตัวทำละลายได้ดี (ยรรยง , 2547)

3.2.1 การทดลองการสกัดด้วยอัตราส่วนวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 85 % เป็น 1:5 และ 1:10 ที่อัตราเร็วของใบกวนเท่ากับ 1,120 และ 560 รอบต่อนาที เพื่อหาระยะเวลาปฏิบัติการที่เหมาะสมเมื่อระบบเข้าสู่สมดุล

การทดลองสกัดใช้วัตถุดิบ 3.7 กิโลกรัมโดยน้ำหนักแห้ง ต่อ 37 กิโลกรัม ของเอทิลแอลกอฮอล์ 85 % ที่อัตราส่วน 1:10 และใช้วัตถุดิบ 7 กิโลกรัม โดยน้ำหนักแห้ง ต่อ 35 กิโลกรัม ของเอทิลแอลกอฮอล์ 85 % ที่อัตราส่วนเท่ากับ 1:5 ทำการสกัดที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 560 และ 1,120 รอบต่อนาที โดยการสกัดในแต่ละงวดใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 8 ชั่วโมง มีการเก็บตัวอย่างโดยเปิดวาล์วด้านข้างถึงที่เวลา 0, 0.33, 0.67, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6 และ 8 ชั่วโมง แล้วกรองแยกสารสกัดออกจากกากฟ้ายะลาโยโรในทันที นำสารสกัดมาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญแอนโดรกราโฟไลด์ด้วยเครื่อง HPLC นอกจากนี้ผู้ทำการทดลองยังได้ทำการแช่ทิ้งไว้และกวนเป็นครั้งคราว (คราวละหลายชั่วโมง) เป็นเวลาอีก 4 วัน หลังจากการกวนครบ 8 ชั่วโมง เพื่อดูแนวโน้มความเข้มข้นของสารแอนโดรกราโฟไลด์ที่สกัดได้

นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองแช่วัตถุดิบในเอทิลแอลกอฮอล์ 85% เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนเริ่มขั้นตอนการกวน เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาหรือพลังงานที่ใช้สำหรับการกวน เมื่อแช่จนครบ 24 ชั่วโมง ทำการกวนเป็นเวลา 10 วินาที เพื่อให้ความเข้มข้นของสารละลายสม่ำเสมอ แล้วจึงเก็บตัวอย่างสารสกัด จากนั้นจึงเริ่มกวนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ด้วยอัตราความเร็วของใบกวนเท่ากับ 560 รอบต่อนาที ที่อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 85% เท่ากับ 1:5 และ 1:10 การเก็บตัวอย่างสารสกัดปฏิบัติตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น