

บทที่ 3

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

3.1 การเปรียบเทียบลายแบบโครมาโทกราฟี (chromatographic fingerprint) ของสมุนไพรกับตัวอย่างยาจากสมุนไพร

ในการเปรียบเทียบลายแบบโครมาโทกราฟี (chromatographic fingerprint) ได้เปรียบเทียบในส่วนที่เป็นใบแก่และใบอ่อนของพืชสมุนไพร ได้แก่

1. ขี้เหล็ก
2. ฟ้ายะลวย
3. รวงจืด

และผลแก่กับผลอ่อนของมะแว้งเครือ จะพบว่าลายแบบโครมาโทกราฟี (chromatographic fingerprint) จะมีลักษณะเหมือนกันเพียงแต่ตำแหน่งของ peak ที่เด่นๆ นั้น อาจปรากฏในตำแหน่งที่เคลื่อนไปบ้าง นั่นอาจมีสาเหตุหลายประการ เช่น ความสม่ำเสมอ ของ silica gel บนแผ่นโครมาโทกราฟีผิวบาง (TLC plate) หรือ ปริมาณสารที่ spot ไม่สม่ำเสมอหรือมีขนาด spot ที่มากน้อยแตกต่างกันมาก แต่เมื่อพิจารณาถึงลายแบบโครมาโทกราฟี (chromatographic fingerprint) ของพืชสมุนไพรที่มีจำหน่ายในท้องตลาดหรือร้านขายยาโดยทั่วไป พบว่าในตัวอย่างยาจากสมุนไพรทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองจะมีส่วนประกอบอื่นๆ ที่ไม่ใช่ส่วนประกอบหลักในพืชเท่านั้น ซึ่งสังเกตได้ชัดจาก chromatogram ทั้งนี้ อาจจะเป็นเพราะพืชสมุนไพรที่ใช้เป็นพืชสด ส่วนพืชที่ใช้ในการทำยาเป็นพืชที่ทำให้แห้งแล้ว ในการทดลองนั้นไม่ได้ศึกษาจากมะแว้งเครือ โดยศึกษาเพียงแต่ลายแบบโครมาโทกราฟี (chromatographic fingerprint) ของผลแก่และผลอ่อนเท่านั้น เนื่องด้วยในยาจากมะแว้งเครือซึ่งจะอยู่ในรูปแบบของยาอมแก้เจ็บคอ จะมีส่วนประกอบของสมุนไพรอีกหลายชนิดนอกจากผลมะแว้งเครือ เช่น ใบกะเพราแดง, ใบตาลหม่อน, ใบสวาดและขมิ้นอ้อยผสมอยู่ในสัดส่วนที่แตกต่างกันไป ซึ่งทำให้แปลความหมายของลายแบบโครมาโทกราฟี (chromatographic fingerprint) ผิดพลาดไปได้

จากการหาค่า R_f ของส่วนประกอบต่างๆ เมื่อส่องดูภายใต้ UV - light สมุนไพรและตัวอย่างยาจากสมุนไพร จะพบว่าเป็นการสนับสนุนการสรุปผลที่ว่า ส่วนประกอบบางชนิดที่พบในสมุนไพรจะไม่พบหรือไม่ปรากฏ ในยาจากสมุนไพรชนิดนั้นๆ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า ส่วนประกอบที่อยู่ในพืชนั้น อาจมีการสลายตัวไปในขบวนการผลิตยาสมุนไพรชนิดนั้นๆ

3.2 การตรวจหาสารสำคัญในใบอ่อนขี้เหล็กและตัวอย่างยาจากขี้เหล็ก โดยวิธี UV - VIS spectrometry จากเอกสารอ้างอิง²²

จากเอกสารอ้างอิง²² ได้รายงานไว้ว่า สารสำคัญที่พบในส่วนใบของขี้เหล็ก คือ barakol ซึ่งสารนี้จะออกฤทธิ์ในการสงบประสาทไม่ใช่ยานอนหลับ แต่สามารถเสริมฤทธิ์ยานอนหลับบาร์บิทูเรตได้ ซึ่งจะพบมากในใบอ่อน barakol จะพบในรูปผลึก สีเหลืองมะนาวจาง มีจุดหลอมเหลว 165 °C โดยจะละลายใน เมทานอล , เอทานอล , น้ำ barakol จะคงตัวหรือเสถียรใน hydroxylic solvent เมื่อ barakol เกิดปฏิกิริยา dehydration จะทำให้ได้ amorphous compound ที่มีสีเขียวเข้มไม่ค่อยคงตัว ชื่อว่า anhydrobarakol (ดังรูป 1.4) แต่ anhydrobarakol ก็สามารถเปลี่ยนกลับมาเป็น barakol ได้เมื่ออยู่ใน aqueous methanol (ดังรูป 1.5) barakol สามารถแตกตัวอย่างรวดเร็วใน base ได้

จากเอกสารอ้างอิง²² λ_{max} ของ barakol จะมีค่า (major absorption) 241 , 247 , 271, 333 , 390 nm และจากการทดลอง พบว่า เมื่อ scan ที่ความยาวคลื่น 190 - 500 nm

สารสกัดจากใบอ่อนขี้เหล็ก จะพบ λ_{max} ที่ 240.4 , 301.2 , 331.0 nm

สารสกัดจากยา barakol จะพบ λ_{max} ที่ 219.4 , 241.0 , 267.6 , 305.0 , 331.2 nm

สารสกัดจากยาเม็ดขี้เหล็ก จะพบ λ_{max} ที่ 219.8 , 261.4 , 281.4 nm

จะพบว่ายาเม็ดขี้เหล็ก จากชุมชนปฐมอโศก อ.เมือง จ.นครปฐม จะไม่พบค่า λ_{max} ที่เหมือนกับสารสกัดจากใบอ่อนขี้เหล็ก และจะไม่พบ λ_{max} ของ barakol เลย ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดของใบอ่อนขี้เหล็ก แสดงว่าในยาเม็ดขี้เหล็กนี้ จะไม่พบ barakol เลยหรืออาจมีในปริมาณที่น้อยมากๆจนไม่สามารถตรวจวัดได้ แต่ในยา barakol จากองค์การเภสัชกรรม น่าจะมี barakol อยู่ เนื่องจากมีค่า λ_{max} ที่ใกล้เคียงกันกับสารสกัดจากใบอ่อนขี้เหล็ก

เนื่องจาก barakol สลายตัวได้ง่ายที่อุณหภูมิ 165 °C ดังนั้นในกระบวนการผลิตยา ซึ่งจะต้องมีการนำวัตถุดิบมาผ่านกระบวนการต่างๆ อาจทำให้ barakol เกิดการสลายตัวไปได้ หรือถ้า barakol ยังหลงเหลืออยู่ในเม็ดยา ก็น่าจะมีปริมาณที่น้อยมากกว่าที่ได้มีการระบุไว้ในเอกสารกำกับยา

ในการตรวจหา barakol ที่อยู่ในใบขี้เหล็กและยาจากขี้เหล็ก โดยการใช้วิธี UV - VIS spectrometry เพียงอย่างเดียว ยังไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่า barakol จะมีมากน้อยเพียงใด หรือยังคงมีอยู่หรือไม่ เพราะยังไม่มี barakol มาตรฐาน (standard barakol) ในการทดลอง จึงได้นำ UV spectrum ของสารสกัดจากใบขี้เหล็กสด กับยาจากขี้เหล็กมาเปรียบเทียบกัน

3.3 การหาปริมาณคาเฟอีนในชาและกาแฟโดยวิธี UV - VIS spectrometry และโดยใช้ densitometer

จากเอกสารอ้างอิง² กาแฟและชาจัดเป็นพืชที่ให้ปริมาณคาเฟอีนสูงสุดโดย ในชามีปริมาณคาเฟอีนประมาณร้อยละ 3.5 และกาแฟมีประมาณร้อยละ 1.1 - 2.2 โดยน้ำหนักของใบชาแห้งและเมล็ดกาแฟแห้ง ตามลำดับ

จากการทดลองตัวอย่างชาที่ใช้จะเป็นชนิดใบชาแห้งบรรจุกล่องสำเร็จรูป 1 ชนิด และชาของชนิดผงพร้อมดื่ม (ชาลิปตัน) 1 ชนิด สำหรับกาแฟจะเป็นกาแฟที่ทำจากเมล็ดแห้งคั่วบดและกาแฟที่สกัดเอาคาเฟอีนออกแล้ว(decaffeine coffee) เมื่อหาปริมาณคาเฟอีน โดยใช้วิธี UV - VIS spectrometry และวิธีที่ใช้ densitometer ได้ผล ดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณคาเฟอีน (กรัม / 100 กรัมของชาและกาแฟ)
โดยวิธี UV - VIS spectrometry และวิธีที่ใช้ densitometer

ตัวอย่างชาและกาแฟ	วิธี UV - VIS spectrometry		วิธีที่ใช้ densitometer		ปริมาณคาเฟอีน ในชาและกาแฟ (g/100g ของใบชาแห้งและเมล็ด กาแฟแห้ง)	
	ปริมาณคาเฟอีน (g/100 gของชาและ กาแฟ)	เปอร์เซ็นต์ recovery	ปริมาณคาเฟอีน (g/100 gของชา และกาแฟ)	เปอร์เซ็นต์ recovery	ใบชา	กาแฟ
1. ชาตราสามม้า	3.4433		3.5478			
2. ชาลิปตัน	3.0533		3.4822			
3. กาแฟอิมบูญ	1.5736		1.7683			
4. กาแฟที่สกัดเอา คาเฟอีนออก ตรา เทสเตอร์ชอย	0.2674	98.33	0.3827	98.63	3.5	1.1-2.2

พบว่า ปริมาณคาเฟอีนที่ได้จากทั้ง 2 วิธีนั้นไม่แตกต่างกันมากนัก วิธีที่ใช้ densitometer จะมีปริมาณคาเฟอีนต่อ 100 กรัมของชาหรือกาแฟมากกว่าวิธี UV - VIS spectrometry โดยมีค่าที่ใกล้เคียงกับปริมาณคาเฟอีนในใบชาแห้งและเมล็ดกาแฟแห้ง จากเอกสารอ้างอิง² และยังมีเปอร์เซ็นต์ recovery มากกว่าอีกด้วย โดยวิธี densitometer ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธี UV - VIS spectrometry ดังนั้นวิธี densitometer จึงเหมาะสมสำหรับการหาปริมาณคาเฟอีนในชาและกาแฟมากกว่าวิธี UV - VIS spectrometry

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ rotenone ในตัวอย่าง

พบว่า rotenone จะดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ 294 nm และจากตัวอย่างจำนวน 2 ชนิดเมื่อ scan ในช่วงความยาวคลื่น 190 – 450 nm พบว่ามีการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 294 nm แสดงว่าในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด มี rotenone อยู่ซึ่ง BIOCIN 1/2 มี rotenone 0.1942 mg/ml. และ BIOCIN 1/3 มี rotenone 0.0688 mg/ml โดยได้เปอร์เซ็นต์ recovery 86.15 %