การหาปริมาณสารฟีนอลิกของว่านตะขอทอง

Total phenolic content of wlantakhaotong

จตุพร แพงจักร, ญาดา วาพิไล, นักรบ เจริญสุข, กนกอร สมบัติ และ ปภาดา หอมจันทร์
Jatuporn Pangjak, Yada Wapilai, Nukrob Charoensuk, Kanokorn Sombat and Paparda Homchan

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาปริมาณสารฟีนอลิกของว่านตะขอทอง ด้วยการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 % โดยการหมัก ด้วยวิธี Folin Ciocalteu Colorimetric ซึ่งใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดว่านตะขอทอง 0.0200 g มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 1.12 mg (คิดเป็นร้อยละ 1.12)

คำสำคัญ: สารฟีนอลิก

ABSTRACT

This study aimed to study total phenolic of content of wlantachaotong were determine by using Folin-Ciocalteu. Extract with 95 % ethanol by maceration method for 6 days. using gallic acid as standardizing agent. The results found that total phenolic content 1.12 mg (1.12 percentage)

KEYWORDS: total phenolic

บทนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยมีการส่งเสริมให้ประชาชนใช้สมุนไพรในการสร้างเสริมสุขภาพ และมีการนำสมุนไพรไปบรรจุไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติ สำหรับสมุนไพรมีการใช้ 2 รูปแบบ แบบยาเดี่ยว คือการใช้สมุนไพรเดี่ยว ๆ และยาตำรับคือการใช้สมุนไพรตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป สมุนไพรส่วนมากมักได้มาจากพืช ซึ่งพืชสมุนไพรในประเทศไทยมีมากมาย ถูกนำมาพัฒนาผลิตเป็นยาสมุนไพรหลากหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นแคปซูล สารสกัด ยาน้ำ เม็ด เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการวิจัยสารสำคัญในตัวยาสมุนไพรเพื่อเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แต่ยังมีสมุนไพรอีกมากมายที่ยังไม่มีงานวิจัยรองรับเกี่ยวกับข้อมูลฤทธิ์ของสารสำคัญ นอกจากงานวิจัย สำหรับประเทศไทยมีการจัดทำโดยการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรนั้นต้องเริ่มต้นจากการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ซึ่งจะทำการวิเคราะห์ตามข้อกำหนดมาตรฐานของวัตถุดิบสมุนไพรที่ระบุไว้ใน Thai Herbal Pharmacopoeia (THP) โดยจะทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ของเครื่องยา วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นปัจจัยสำคัญต่อการควบคุมคุณภาพสมุนไพรเพื่อให้ได้วัตถุดิบที่ดีมีคุณภาพมาตรฐาน แต่สมุนไพรที่มีการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานใน THP มีเพียง 70 โมโนกราฟ ซึ่งขัดแย้งกับใช้สมุนไพรในการสร้างเสริมสุขภาพตามความเป็นจริง และยังมีสมุนไพรอีกมากมาที่มีการใช้มาเป็นเวลายาวนาน แต่ไม่มีข้อมูลอ้างอิงจากการวิจัย

สำหรับว่านตะขอทองเป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์เดียวกันกับขมิ้น มีลักษณะภายนอกทางกายภาพคล้าย ๆ กับขมิ้น ว่านตะขอทอง หรืออาจจะเรียกว่า ว่านร่อนทอง ว่านขอทอง เป็นพืชล้มลุก เหง้าใต้ดินมีลักษณะที่แตกออกคล้าย ๆ ลักษณะตะขอเป็นข้อ ๆ เนื้อในสีเหลือง สรรพคุณทางยาใช้ในการแก้พิษต่าง ๆ มักนิยมนำมาใช้ในทางเมตตามหานิยม สำหรับว่านตะขอทองยังไม่แน่ชัดว่าชื่อทางวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง หรือชื่อที่เรียกทั่วไปคืออะไร ซึ่งไม่สามารถอธิบายลักษณะที่เด่นชัดของว่าตะของทองได้ ผู้วิจัยจึงได้ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อมาศึกษาวิจัยเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลของว่านตะขอทอง
2. เพื่อหาปริมาณฟีนอลิกของว่านตะขอทอง

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาหาปริมาณสารฟีนอลิก (total phenolic) ที่สกัดด้วยเอทานอล (ethanol) ในว่านตะขอทอง

วิธีดำเนินการวิจัย

<u>วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี</u>

1. ว่านตะขอทอง
2. มีด
3. เขียง
4. บีกเกอร์ (Breaker)
5. เครื่องชั่ง
6. ถาดแสตนเลส
7. ขวดลูกชมพู่ (Erlenmeyer flask)
8. ตู้อบ
9. 95 % Ethanol 100 ml
10. Funnel
11. สำลี
12. ช้อนแสตนเลส
13. Evaporating flask
14. Rotary evaporation

วิธีการสกัดว่านตะขอทอง

<u>ขั้นตอนในการทำ</u>

1. นำว่านตะขอทองมาล้างทำความสะอาด
2. นำมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปชั่งก่อนเข้าอบ (12.93 กรัม)
3. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศา เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 30 นาที หลังอบ (3.74 กรัม)
4. นำไปหมักด้วย 95 % Ethanol 100 ml เป็นเวลา 6 วัน
5. นำสารสกัดมากรอง
6. นำมาระเหยแห้งเอา ethanol ออก ในเครื่อง Rotary evaporation

วิธีการทดลอง

การเตรียม standard curve ของสารมาตรฐาน gallic acid

1. ชั่ง gallic acid 0.0050 g ละลายด้วยน้ำ 5 ml เป็น stock solution
2. เอาจาก stock solution มาเจือจางเป็น 7 ความเข้มข้น (500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.8125)
3. จากนั้นดูดสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้น 20 µl ลง 96 well plate ความเข้มข้นละ 3 หลุม เติมสารละลาย Folin – Ciocalteau reagent 100 µl และ 7 % sodium carbonates 80 µl ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้องและป้องกันแสง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 690 nm (Blank= น้ำกลั่น 20 µl + Folin – Ciocalteau reagent 100 µl และ 7 % sodium carbonates 80 µl)
4. เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงนำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ (แกน x) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) แล้วหาสมการเส้นตรง

เตรียมสารสกัดว่านตะขอทอง

1.เจือจางสารสกัดว่านตะขอทองเป็น 7 ความเข้มข้น (1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000, 1/10000000)

2. ดูดสารสกัดแต่ละความเข้มข้น 20 µl ลง 96 well plate ความเข้มข้นละ 3 หลุม เติมสารละลาย Folin – Ciocalteau reagent 100 µl และ 7 % sodium carbonates 80 µl ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้องและป้องกันแสง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 690 nm (Blank= น้ำกลั่น 20 µl + Folin – Ciocalteau reagent 100 µl และ 7 % sodium carbonates 80 µl)

3. หาค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดว่านตะขอทอง โดยเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นว่าช่วงใดอยู่ในช่วงค่าการดูดกลืนแสงมาตรฐาน gallic acid ที่วัดได้ แล้วคำนวณค่าปริมาณฟีนอลิกในหน่วยมิลลิกรัมของ ๆ GAE (gallic acid equivalents)

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดว่านตะขอทอง

ตารางแสดงผลการทดลอง ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดว่านตะขอทองที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี serial dilution

		Serial dilution µg/ml						
	Blank	1/10	1/100	1/1000	1/10000	1/100000	1/1000000	1/10000000
A1	0.041	0.233	0.065	0.045	0.046	0.043	0.046	0.044
A2	0.042	0.244	0.063	0.043	0.04	0.04	0.05	0.043
A3	0.042	0.227	0.065	0.043	0.044	0.041	0.045	0.046
A เฉลี่ย	0.042	0.235	0.064	0.044	0.043	0.041	0.047	0.044
A เฉลี่ย- A Blank	0.000	0.193	0.022	0.002	0.001	0.001	0.005	0.002

การคำนวณปริมาณสารฟีนอลิกในสารสกัดว่านตะขอทองในรูป gallic acid equivalents

ผลการวิจัย

จากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดว่านตะขอทองโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric ซึ่งใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐานพบว่าสารสกัดว่านตะขอทอง 0.0200 g มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 1.12 mg คิดเป็นร้อยละ 1.12