# การแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.)

วีระพันธ์ ใจแท้

รายงานการวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชาโครงงานวิจัยทางเคมี
สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช
ปีการศึกษา 2546

**ชื่อโครงงานวิจัย การแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.)**

**ชื่อผู้ทำวิจัย วีระพันธ์ ใจแท้**

**ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตร**
**ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต**
**โปรแกรมวิชาเคมี**

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(นางปิยนันท์ สังขไพฑูรย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(นางสาวแน่งน้อย แสงเสน่ห์)

..... กรรมการ
(นางสาวปวีณา หนูคง)

..... กรรมการ
(นางสาวแน่งน้อย แสงเสน่ห์)

..... ประธานโปรแกรม
(นายวรวุฒิ บุญอารี)

| | |
|---|---|
| **ชื่อโครงงานวิจัย** | การแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) |
| **ชื่อผู้ทำวิจัย** | นายวีระพันธ์ ใจแท้ |
| **โปรแกรมวิชา** | เคมี |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | นางปิยนันท์ สังขไพฑูรย์ |
| | นางสาวแน่งน้อย แสงเสน่ห์ |
| **ปีการศึกษา** | 2546 |

## บทคัดย่อ


ผลจากการนำใบกระบือเจ็ดตัวมาศึกษา พบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นในพืชสมุนไพรชนิดใบกระบือเจ็ดตัวเท่ากับ 24.64% เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวเท่ากับ 1.06% และพบว่าสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว มีลักษณะเป็นของหนืด สีน้ำตาลเจือดำ มีองค์ประกอบเป็นสารที่มีขั้วต่ำและขั้วปานกลาง เนื่องจากสามารถละลายได้ดีใน Hexane, Dichloromethane, Chloroform, Ethyl acetate และ Acetone และไม่ละลายใน น้ำ และ Ethanol นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นด่าง เนื่องจากละลายได้ดีใน 10% NaOH และไม่ละลายใน 10% HCl

สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว คือ ที่สภาวะ Hexane : Acetone อัตรส่วน 5 : 1

ผลจากการนำสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวไปแยกด้วย Column chromatography พบว่าใน fraction ที่ EX1–1 ได้สารที่มีความบริสุทธิ์มากที่สุด เนื่องจากเมื่อนำไปตรวจสอบด้วย Thin – layer chromatography พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลักเพียง 1 จุด และไม่มีแถบของสารอื่นปะปน

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยเรื่องการแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สำเร็จลงได้เพราะผู้ทำวิจัยได้รับความกรุณาจากบุคคลหลายฝ่ายที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งคณะอาจารย์ และเจ้าหน้าที่โปรแกรมวิชาเคมี รวมถึงเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงาน ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช ได้ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัย และขอขอบคุณสำนักวิทยบริการที่เอื้อเฟื้อในการค้นคว้าหาข้อมูลในการทำวิจัย

ผู้ทำวิจัยขอขอบพระคุณ อาจารย์ปิยนันท์ สังขไพฑูรย์ และอาจารย์แน่งน้อย แสงเสน่ห์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัย ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุน และสละเวลาในการให้ข้อเสนอแนะต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัย

ประโยชน์ของรายงานฉบับนี้ ขอมอบแก่บุคคลทั่วไปที่ให้ความสนใจ และขอมอบเป็นกตัญญูตาแก่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

วีระพันธ์ ใจแท้

มีนาคม 2547

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | (ข) |
| กิตติกรรมประกาศ | (ค) |
| สารบัญตาราง | (จ) |
| สารบัญรูป | (ฉ) |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 5 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย | 17 |
| บทที่ 4 ผลการวิจัย | 23 |
| บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ | 33 |
| บรรณานุกรม | 36 |
| ภาคผนวก | |

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | หน้า |
|---|---|
| 2.1 แสดงลำดับความเป็นขั้วของหมู่ฟังก์ชันนัลและความเป็นขั้วของตัวทำละลาย | 13 |
| 3.1 แสดงชนิดและอัตราส่วนของ Mobile phaseที่ใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในเทคนิค TLC | 20 |
| 4.1 แสดงสภาพการละลายของสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว | 24 |
| 4.2 แสดงค่า Rf จากการแยกสารสกัดด้วยเทคนิค TLC | 25 |
| 4.3 แสดงลักษณะและน้ำหนักของสารจาก EX1 – 1 ถึง EX1-8 | 28 |

# สารบัญรูป


| รูปที่ | หน้า |
|---|---|
| 2.1 แสดงลักษณะของต้นกระบือเจ็ดตัว | 6 |
| 2.2 แสดงการแบ่งระบบโครมาโตกราฟี | 10 |
| 4.1 แสดงลักษณะโครมาโทแกรมของ แผ่น TLC ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 27 |
| 4.2 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-1 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 29 |
| 4.3 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-2 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 29 |
| 4.4 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-3 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 30 |
| 4.5 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-4 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 30 |
| 4.6 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-5 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 31 |
| 4.7 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-6 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 31 |
| 4.8 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-7 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 32 |
| 4.9 แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-8 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm | 32 |
| 5.1 แสดงลักษณะของใบกระบือเจ็ดตัว | 38 |
| 5.2 แสดงลักษณะใบกระบือเจ็ดตัวอบแห้ง | 38 |
| 5.3 แสดงลักษณะใบกระบือเจ็ดตัวแห้ง และปั่นละเอียด | 39 |
| 5.4 แสดงลักษณะของเครื่อง Spectronic instrument | 39 |
| 5.5 แสดงลักษณะเครื่อง Rotary Evaporator | 40 |
| 5.6 แสดงลักษณะของ Tank | 40 |

# สารบัญรูป(ต่อ)


| รูปที่ | หน้า |
|---|---|
| 5.7 แสดงลักษณะสารตัวอย่างที่เก็บจาก Column | 41 |
| 5.8 แสดงลักษณะของ Column | 41 |
| 5.9 แสดงลักษณะสารตัวอย่างที่ผ่านการ Evaporated | 42 |
| 5.10 แสดงสารตัวอย่างที่ได้หลังจากรวม Fraction | 42 |

# บทที่ 1
# บทนำ

## ที่มาและความสำคัญของการวิจัย

การใช้ยาสมุนไพรนั้นมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในทุกครัวเรือนมาเป็นเวลานานแล้ว จนถึงปัจจุบันสมุนไพรก็ยังเป็นพืชที่มีคุณค่าทั้งทางยาและทางเศรษฐกิจที่ประชาชนชาวไทยยังให้ความนิยมอยู่ และใช้ในการปรุงยาแผนโบราณอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งชุมชนที่อยู่ในชนบท หรือที่ห่างไกลและทุรกันดาร ทั้งที่ยาสมุนไพรมีการเตรียมที่ยุ่งยาก ผู้เตรียมต้องมีความรู้ทางพฤกศาสตร์เป็นอย่างดี และรู้สรรพคุณของพืชชนิดนั้นๆ การรักษาไม่มีหลักสูตรหรือวิธีปฏิบัติที่แน่นอน อีกทั้งการรักษามักจะใช้พืชหลายชนิดมาประกอบกันเพื่อให้ได้ตัวยารักษาโรค จึงต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ และสันทัดกรณี จึงจะบังเกิดผลดี อนึ่ง ปัจจุบันความนิยมของยาสมุนไพรได้ลดน้อยถอยลงไปบ้าง เนื่องจากการแพทย์แผนปัจจุบันได้ให้ผลการรักษาเป็นที่น่าพึงพอใจ การเก็บรักษายาง่าย และรูปแบบของยาสะดวกต่อการใช้

อย่างไรก็ดี ปัจจุบันสมุนไพรกำลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ ซึ่งตลาดต่างประเทศกำลังมีความต้องการสูงมาก ทั้งในอเมริกาและยุโรป หรือแม้แต่ในเอเชีย อีกทั้งคนส่วนใหญ่นิยมใช้สมุนไพรกันมากในลักษณะของการผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ใช้สมุนไพรเป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการสกัดสารเคมีต่างๆ เพื่อใช้เ การผลิตยาแผนปัจจุบันต่อไป

สำหรับในประเทศไทยนั้น การผลิตสมุนไพรส่วนใหญ่ใช้วิธีการเก็บหามาจากป่าธรรมชาติมากกว่าจะทำการเพาะปลูกเป็นการค้าแต่ก็มีบางชนิดที่เพาะปลูกกันมากและเป็นที่รู้จักกันดีในทางการค้า ขณะที่พืชบางชนิดมีการเพาะปลูกกันในประเทศไทยเป็นเวลานานแล้วจนสามารถเจริญเติบโตได้ดี แต่ยังมีปริมาณไม่มากนัก และยังไม่เป็นที่แพร่หลายทางการค้า ดังนั้นปริมาณการผลิตและการควบคุมคุณภาพจึงทำได้ยาก ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการขยายตลาด อย่างไรก็ดี แนวโน้มความต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศมีสูงขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่มักใช้ในลักษณะของการทำอาหารเสริม และทำเครื่องสำอางมากขึ้น แต่การจะส่งเสริมให้พืชสมุนไพรมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นนั้นจะต้องใช้เวลานานอีกพอสมควร เพื่อให้มีข้อมูลเพียงพอทั้งด้านวิทยาศาสตร์ พฤกษศาสตร์ สารเคมีในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ตลอดจนสรรพคุณทางด้านเภสัชวิทยา

กระบือเจ็ดตัวเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง ซึ่งแม้ว่าปัจจุบันจะไม่มีการใช้ในการรักษาโรคกันอย่างแพร่หลาย แต่ในอดีตเคยเป็นสมุนไพรที่มีความสำคัญและได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่ง โดยหมอแผนโบราณจะใช้รักษาโรคในสตรี (วุฒิ, 2540)

กระบือเจ็ดตัว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Excoecaria cochinchinesis* Lour. อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE พบมากแถบอินโดจีน ส่วนในประเทศไทยพบได้ทั่วทุกภาค โดยเฉพาะบริเวณที่มีดินร่วน ออกดอกตลอดปี ลักษณะลำต้นจะเป็นไม้พุ่มสูง 0.75 – 1.50 เมตร ใบรูปหอก กว้าง 1.5 – 4.5 เซนติเมตร ยาว 4 -13 เซนติเมตร ปลายแหลมเรียว ขอบจักละเอียด ด้านบนสีเขียว ด้านล่างสีแดงเจือม่วง ใบอ่อนผิวเป็นมัน ออกดอกสีเหลืองเจือเขียวขนาดเล็ก ออกเป็นช่อสั้นตามซอกใบ ผลมีรูปทรงค่อนข้างกลม แบ่งเป็น 3 พู เมื่อผลแก่จัดจะแตกออกเป็น 3 ส่วน ขยายพันธุ์โดยการปักชำกิ่งหรือตอนกิ่ง (พรรนิภา, 2546; สุธี, 2546; รุ่งระวี, 2536; นันทวัน และ อรนุช, 2543)

**ประโยชน์**

**ข้อมูลจากเอกสาร** : ใช้ปลูกเป็นไม้ประดับ ใช้ทำดอกไม้ประดิษฐ์

**ข้อมูลจากภูมิปัญญาไทย** : ใบและราก ใช้ทำยาได้ ยาง ใช้เบื่อปลา ใบสด เป็นสมุนไพรใช้ตำผสมเหล้าโรงดื่มขับน้ำคาวปลาหลังคลอด แก้ประจำเดือนไม่ปรกติ แก้สันนิบาตหน้าเพลิง แก้อักเสบบริเวณปากมดลูก

(เพ็ญนภา, 2542 ; http://www.pramanda.ac.th/botany/infor.html#001 ;
http://dev.riu.ac.th/botany/detail.php?botany_id=7-53000-001-0020 ;
http://www.skn.ac.th/skl/tree/t157p1.htm)

**สรรพคุณทางยา**

**ใบ** ใช้เป็นยาแก้ประจำเดือนมาไม่ปกติ แก้ระดูตกมาก บำรุงโลหิต ขับน้ำคาวปลา แก้เลือดเป็นพิษในสตรีหลังคลอดบุตรใหม่ ทำให้เลือดดีขึ้น แก้บาดทะยักปากมดลูก หรือที่หมอแผนโบราณเรียกว่า “สันนิบาตหน้าเพลิง” แก้บวม ฟกช้ำ ดำเขียว ดับพิษร้อนถอนพิษไข้

**กระพี้** ถอนพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ร้อนภายใน

**เนื้อไม้** ถอนพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ร้อนภายใน

**ยาง** ใช้เบื่อปลา

(สุธี, 2546; รุ่งระวี, 2536; วิพุธ และ สุวัตร์,2540 ; นันทวัน และ อรนุช, 2543;
http://www.pramanda.ac.th/botany/infor.html#001)

**สารเคมี**

daphnane triterpene , ellagic acid และ gallic acid (นันทวัน และ อรนุช, 2543)

**ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา**

มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ลดความดันโลหิต การบีบตัวของกล้ามเนื้ออ่อนลง คลายกล้ามเนื้อเรียบ กล้ามเนื้อมดลูกบีบตัว ระคายเคือง ต้านเชื้อแบคทีเรีย acid (นันทวัน และ อรนุช, 2543)

จากข้อมูลดังกล่าวทำให้เกิดความสนใจที่จะศึกษาสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัวในสถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่างิ้ว อ. เมือง จ.นครศรีธรรมราช ในช่วงเดือน ตุลาคม - เดือนพฤศจิกายน 2546 โดยใช้เทคนิค Thin-layer และ Column Chromatography

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารจากใบพืชสมุนไพรโดยใช้ Hexane
2. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารที่สกัดได้จากใบกระบือเจ็ดตัว โดยใช้เทคนิค Thin-layer Chromatography (TLC)
3. เพื่อศึกษาการแยกสารสกัดที่สกัดได้ โดยใช้เทคนิค Column Chromatography

## ขอบเขตของการวิจัย

ผู้ทำวิจัยได้กำหนดขอบเขตของการทดลองไว้ ดังนี้

1. การทดลองครั้งนี้เป็นการสกัดสารจากใบสมุนไพรกระบือเจ็ดตัว เพื่อหาปริมาณน้ำหนักของ Crude ที่ได้ต่อน้ำหนักแห้งของใบพืช โดยใช้ Hexane เป็นสารสกัด
2. ต้องการสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว โดยใช้เทคนิค Thin-layer Chromatography และ Column Chromatography

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทราบสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดโดยใช้เทคนิค Chromatography
2. ผลการวิจัย เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาเกี่ยวกับกระบือเจ็ดตัว ในขั้นสูงต่อไป

**นิยามศัพท์เฉพาะ**

**พืชสมุนไพร (Herb)** หมายถึงพืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา ซึ่งหาได้ตามพื้นเมือง

**ยาสมุนไพร** หมายถึง ยาที่ได้จากพฤกษชาติ สัตว์ หรือแร่ ซึ่งยังมิได้ผสม ปรุง หรือแปรสภาพ (รุ่งรัตน์, 2535)

**การสกัด (Extraction)** เป็นเทคนิคที่สำคัญอย่างหนึ่งทางเคมีอินทรีย์โดยการใช้สารละลายที่เหมาะสมละลายแยกเอาสารที่ผสมกันออกจากกัน สารผสมนั้นอาจเป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมี หรือเป็นสารที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural product) หรือแม้กระทั่งการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารต่างๆ จากพืชหรือสัตว์ออกมาเพื่อศึกษา

**พืชตัวอย่าง** หมายถึง ใบของต้นกระบือเจ็ดตัวที่เก็บในสถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่างิ้ว อ. เมือง จ.นครศรีธรรมราช ในช่วงเดือนตุลาคม - เดือนพฤศจิกายน 2546

**การกลั่น (Distillation)** หมายถึงกระบวนการที่แยกตัวทำละลายออกจากสารละลาย หรือของผสม เมื่อให้ความร้อนกับสารละลายตัวทำละลายก็จะระเหยกลายเป็นไอ ไอดังกล่าวจะถูกดึงออกมาจากหม้อต้มเพื่อต่อเข้าไปยัง Condenser ทำให้ควบแน่นกลายเป็นของเหลว

**ตัวทำละลาย (Solvent)** ในการสกัดสารละลายนั้นตัวถูกละลายจะแตกตัวกันเป็นอนุภาคเล็กๆ ซึ่งอาจเป็นไอออน หรือโมเลกุลและแทรกตัวอยู่ในอนุภาคของตัวทำละลาย สารละลายอาจอยู่ในสถานะของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซก็ได้เช่นกัน (กิ่งมณี และคณะ, 2544)

# บทที่ 2
# เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศึกษาเกี่ยวกับการแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) ด้วย Hexane ซึ่งศึกษาเฉพาะส่วนใบของต้นกระบือเจ็ดตัว โดยใช้เทคนิค Thin-layer Chromatography และ Column Chromatography

## 1. พืชสมุนไพรที่นำมาศึกษา

**ชื่อพื้นเมือง** กระเบือ (ราชบุรี), ลิ้นกระบือ กำลังกระบือ (ภาคกลาง), บัวลา (ภาคเหนือ), กระทู้-เจ็ดแบก ใบท้องแดง(โคราช) (วุฒิ, 2540)

**ชื่อวิทยาศาสตร์** *Excoecaria cochinchinensis* Lour.

**ชื่อวงศ์** EUPHORBIACEAE

กระบือเจ็ดตัวเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง ซึ่งแม้ว่าปัจจุบันจะไม่มีการใช้ในการรักษาโรคกันอย่างแพร่หลาย แต่ในอดีตเคยเป็นสมุนไพรที่มีความสำคัญและได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่ง โดยหมอแผนโบราณจะใช้รักษาโรคในสตรี

กระบือเจ็ดตัว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Excoecaria cochinchinesis* Lour. อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE พบมากแถบอินโดจีน ส่วนในประเทศไทยพบได้ทั่วทุกภาค โดยเฉพาะบริเวณที่มีดินร่วน ลักษณะลำต้นจะเป็นไม้พุ่มสูง 0.75 – 1.50 เมตร ใบรูปหอกกว้าง 1.5 – 4.5 เซนติเมตร ยาว 4-13 เซนติเมตร ปลายแหลมเรียว ขอบจักละเอียด ด้านบนสีเขียว ด้านล่างสีแดงอมม่วง ใบอ่อนผิวเป็นมัน ออกดอกตลอดปี สีเหลืองเจือเขียว ขนาดเล็กออกเป็นช่อสั้นตามซอกใบ ผลมีรูปทรงค่อนข้างกลม แบ่งเป็น 3 พู เมื่อผลแก่จัดจะแตกออกเป็น 3 ส่วน ขยายพันธุ์โดยการปักชำกิ่งหรือตอนกิ่ง (พรรนิภา, 2546 ; รุ่งระวี, 2536 ; สุธี, 2546)

**สรรพคุณทางยา**

**ใบ** ใช้เป็นยาแก้ประจำเดือนมาไม่ปกติ แก้ระดูตกมาก บำรุงโลหิต ขับน้ำคาวปลา แก้เลือดเป็นพิษในสตรีหลังคลอดบุตรใหม่ ทำให้เลือดดีขึ้น แก้บาดทะยักปากมดลูก หรือที่หมอแผนโบราณเรียกว่า "สันนิบาตหน้าเพลิง" แก้บวม ฟกช้ำ ดำเขียว ดับพิษร้อน ถอนพิษไข้

**กระพี้** ถอนพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ร้อนภายใน

**เนื้อไม้** ถอนพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ร้อนภายใน

**ยาง** ใช้เบื่อปลา

(สุธี, 2546 ; สุวัตร์, 2540 ; รุ่งระวี, 2536 ; นันทวัน และ อรนุช, 2543)

**รูปที่ 2.1** กระบือเจ็ดตัว (*Excoecaria cochinchinesis* Lour)( นันทวัน และ อรนุช, 2543 ; http://dev.riu.ac.th/botany/detail.php?botany_id=7-53000-001-0020(2).jpg)

**สารเคมี**

daphnane triterpene , ellagic acid และ gallic acid (นันทวัน และ อรนุช, 2543)

**ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา**

มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ลดความดันโลหิต กดการเต้นของหัวใจ การบีบตัวของกล้ามเนื้ออ่อนลง คลายกล้ามเนื้อเรียบ กล้ามเนื้อมดลูกบีบตัว ระคายเคือง ต้านเชื้อแบคทีเรีย acid (รุ่งระวี, 2536 ; นันทวัน และ อรนุช, 2543)

## 2. การสกัดแยก และพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญจากสมุนไพร (Isolation, Separation and Identification of Active Principles from Medicinal Plants)

(วีณา, 2534)

ในปัจจุบันนี้ได้มีการนำเอาพืชมาใช้เป็นยาในรูปแบบต่าง ๆ คือ

1. พืชสด
2. พืชแห้ง

3. Acellular Product เช่น Resin และ balsams

4. Galenical Preparation

5. สารบริสุทธิ์ (Pure Compound) เช่น alkaloid, atropine, reserpine, morphine เป็นต้น

ในการนำสารบริสุทธิ์มาใช้เป็นยาจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนต่าง ๆ คือ

5.1 การเตรียมตัวอย่างพืช (Plant material preparation)

5.2 การสกัด (Extraction)

5.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (Concentration)

5.4 การแยกส่วนประกอบ (Separation)

5.5 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)

**2.1 การแตกย่อยเนื้อเยื่อ**

เป็นขบวนการแตกย่อยเนื้อเยื่อของพืชให้มีขนาดเล็กลงเพื่อทำให้สกัดสำคัญจากพืชได้ผลดี อาจทำได้หลายวิธีคือ

2.1.1 Mechanical method เป็นวิธีซึ่งอาศัยหลักการบดด้วยโกร่ง

2.1.2 Enzymatic disintegration เป็นวิธี ย่อยเนื้อเยื่อโดยใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆ

2.1.3 Chemical disintegration เป็นวิธีการย่อยเนื้อเยื่อโดยใช้สารเคมี

**2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช**

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ วิธีเหล่านี้ ได้แก่ Marceration, Percolation, Soxhlet Extractor, Liquid – liquid Extractor, Extraction of volatile Oil, การสกัดน้ำมันพืช , Extraction by Thermomicrodistillation

**2.3 การเลือกใช้ตัวทำละลาย**

ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ อยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติ

1. เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดได้พอดี
2. ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป
3. ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด
4. ไม่เป็นพิษ
5. ราคาพอสมควร

6. โดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายที่มีขั้วเหมาะกับสารที่มีขั้ว และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเหมาะกับตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว การผสมระหว่างตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้วอาจทำให้การละลายดีขึ้น เช่น กรดสามารถละลายได้ทั้งใน เอธานอล อะซิโตน

ตัวทำละลายอาจจะจัดเรียงตามความมีขั้วน้อยไปมากได้ดังนี้ cyclohexane, carbontetrachloride, benzene, ether, chloroform, acetone, ethyl acetate, ethanol, methanol, water, acids and bases

**ตัวทำละลายที่ใช้มากๆ ได้แก่**

1. chloroform เป็นตัวทำละลายที่ดี แต่มี selectivity น้อย เกิด emulsion ง่าย
2. ether มีอำนาจในการละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่มี selectivity ดีกว่า
3. hexane เหมาะสำหรับพวกสารที่ไม่มีขั้ว
4. alcohol ที่ใช้มากคือ เมธานอล และเอธานอล

**2.4 การทำสารสกัดให้เข้มข้น**

ทำได้หลายวิธีคือ

**2.4.1 Free Evaporation** คือการระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath)หรือ hot plate

**2.4.2 Distillation in vacuum** เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator

**2.4.3 การแช่แข็ง (Freezing)** ถ้าเป็นสารสกัดด้วยน้ำใช้ lyophilizer แต่ถ้าเป็นตัวทำละลายอื่นเฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็ง ซึ่งเราแยกจาก concentrated extract โดย centrifuge

**2.4.4 Ultrafiltration** เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้ membrane ใช้กับสารที่มี molecular weight สูงกว่า 5,000

**2.5 การแยกส่วนผสม**

ในพืชแต่ละชนิดจะมีสารเคมีหลายชนิด ดังนั้นสารสกัดที่ได้เบื้องต้นจึงเป็นส่วนผสมของสารเคมีเพื่อให้ได้สารสำคัญที่บริสุทธิ์จึงจำเป็นต้องอาศัยวิธีการแยกโดยใช้เทคนิคและอุปกรณ์ต่างๆ ซึ่งการแยกอาจทำได้โดย

**2.5.1 Chemical means** โดยอาศัยคุณสมบัติและลักษณะทางเคมี

**2.5.2 Physical means** เป็นการแยกสารออกจากกันโดยอาศัยคุณสมบัติทางฟิสิกส์ อาจใช้วิธีต่างๆ คือ distillation, steam distillation, sublimation, solvent separation, solvent /

solvent precipitation, chromatography, fractional crystallization, dialysis, electrophoresis และ centrifugation

## 3. การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมี (Chemical identification)

เป็นการตรวจหาสารสำคัญในสมุนไพร เพื่อให้ทราบว่าสมุนไพรที่นำมาใช้นั้นมีสารสำคัญอยู่จริง สมุนไพรต่างๆ มีสารสำคัญอยู่หลายประเภท เช่น

**3.1 แอลคาลอยด์ (Alkaloids)** เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น Quinine, Atropin, Strychnine และ Morphine เป็นต้น สารจำพวก แอลคาลอยด์มักจะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

**3.2 ไกลโคไซน์ (Glycosides)** เป็นสารประกอบที่มี 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล (Glycones) และส่วนที่ไม่เป็นน้ำตาล (Aglycones) ไกลโคไซด์มีหลายชนิด เช่น Digitoxin, Digitalin และAnthraquinone glycoside เป็นต้น

**3.3 น้ำมันหอมระเหย (Volatile)** เป็นของเหลวที่มีกลิ่นหอม ประกอบด้วยสารประเภท Monoterpenes, Sesquiterpenes และ Oxygenated derivatives น้ำมันหอมระเหยมีหลายชนิด เช่น น้ำมันการพลู น้ำมันสะระแหน่ และน้ำมันยูคาลิปตัส

**3.4 แทนนิน (Tannins)** มีอยู่ในพืชที่มีรสฝาด บรรเทาอาการท้องร่วงได้

**3.5 เฟลโวนอยด์ (Flavonoids)** เป็นสารที่มักจะมีสี เช่น แดง เหลือง ม่วง หรือน้ำเงิน และมักจะพบอยู่ในรูปของไกลโคไซน์ ตัวอย่างเช่น Rutin หรือ Quercetrin ซึ่งมีฤทธิ์ในการลดอาการเส้นโลหิตเปราะ

**3.6 สเตียรอยด์ (Steroids)** เป็นสารที่มีสูตรโครสร้างเช่นเดียวกับฮอร์โมน และยาต้านอักเสบ สารในกลุ่มนี้บางชนิดเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาต้านอาการอักเสบ

**3.7 เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids)** เป็นสารประกอบกลุ่มที่พบมากในพืช แบ่งออกเป็น Hemiterpenoids, Monopertenoids, Sesquiterpenoids, Diterpenoids และ Triterpenoids

**3.8 กัม (Gums)** เป็นของเหนียวที่พบในพืช เกิดขึ้นเมื่อเรากรีดหรือทำให้พืชเป็นแผล บางชนิดนำมาใช้เป็นยา

## 4. วิธีแยกสาร

### 4.1 คำจำกัดความของโครมาโตกราฟี

โครมาโตกราฟีเป็นวิธีที่ใช้การแยกสารในตัวอย่าง โดยที่สารดังกล่าวจะกระจายอยู่ระหว่างสองเฟส (phase) เฟสหนึ่งอยู่กับที่ และอีกเฟสหนึ่งเคลื่อนที่ เฟสที่อยู่กับที่(stationary

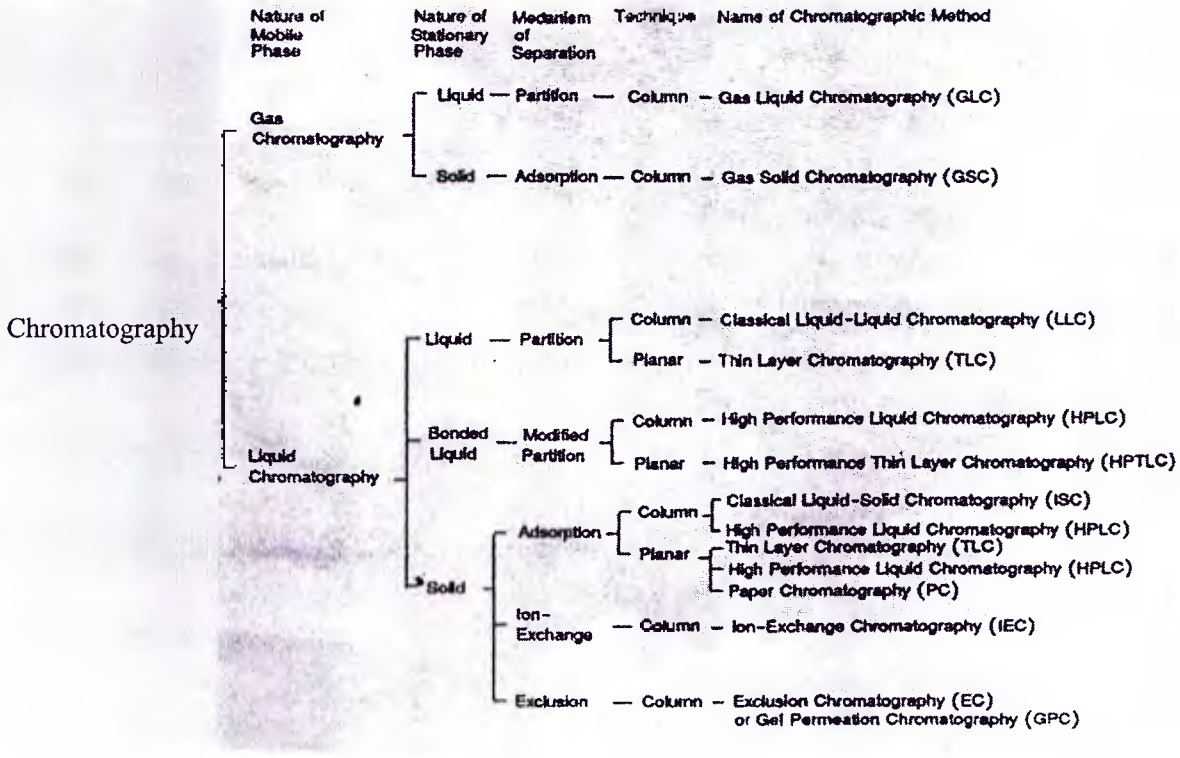
phase) อาจเป็นของแข็ง หรือของเหลวที่มีของแข็งค้ำจุนอยู่ หรือเป็นเจล เฟสที่อยู่กับที่อาจบรรจุในคอลัมน์ หรือแผ่เป็นชั้น หรือกระจายตัวเป็นฟิล์มเคลือบอยู่ภายในคอลัมน์ เฟสที่เคลื่อนที่ (mobile phase) อาจเป็นแก๊ส หรือของเหลว (ภาคภูมิ, 2542)

**4.2 ชนิดของเทคนิคโครมาโตกราฟี**

การแบ่งชนิดของเทคนิคโครมาโตกราฟีสามารถแบ่งตามลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- แบ่งตามสถานะของ stationary phase
- การแบ่งตามเทคนิค
- แบ่งตามวิธี development
- การแบ่งตาม mode of separation

เมื่อนำวิธีการต่าง ๆ ในการแบ่งชนิดการแยกสารโดยโครมาโตกราฟีมาผนวกกัน จะได้เทคนิคโครมาโตกราฟีชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 2.2.




**รูปที่ 2.2** การแบ่งระบบโครมาโตกราฟี (ภาคภูมิ, 2542)

**4.3 ส่วนประกอบของโครมโตกราฟี**

โดยทั่วไปโครมาโตกราฟีจะประกอบด้วยสำคัญสองประการ ได้แก่ (ภาคภูมิ, 2542)

**4.3.1 Absorbent (stationary phase)**

การเลือกชนิดของ Adsorbent ให้เหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการแยกเป็นสิ่งที่จะต้องพิจารณา เพื่อให้การแยกสารโดยโครมาโตกราฟีมีประสิทธิภาพดี adsorbent ที่ใช้กันในการแยกสารจากสมุนไพร มีอยู่ 4 ชนิด ได้แก่

4.3.1.1 Silica gel มีคุณสมบัติเป็นกรด (pH 4 – 5) เหมาะสำหรับใช้แยกสารที่มีคุณสมบัติเป็นกรด และกลาง

4.3.1.2 Alumina มีคุณสมบัติเป็นด่าง จึงเหมาะสำหรับแยกสารที่เป็นด่าง นอกจากนี้ยังเหมาะสำหรับนำมาใช้ในการแยกสารพวก hydrophilic

4.3.1.3 Cellulose เป็นสารที่มี Polarity สูง เหมาะสำหรับใช้แยกสารที่ละลายน้ำได้ นอกจากนี้ยังอาจมีการนำมาทำเป็นอนุพันธ์ ของ cellulose ด้วย

4.3.1.4 C – Reverse phase material ที่นิยมใช้กันได้แก่ $C_{18}$-, $C_8$ – column ใช้ใน bonded phase chromatography

**4.3.2 Eluent (mobile phase)**

Eluent เป็นตัวทำลายที่ใช้สำหรับชะสารออกจาก absorbent การที่สารจะแยกออกจากกันได้ดีหรือไม่ ขึ้นอยู่กับการเลือกใช้ eluent ที่เหมาะสมด้วย ตัวทำละลายที่นำมาใช้เป็น eluent ควรมี สมบัติดังนี้ คือ มีความบริสุทธิ์สูงเหมาะสมกับราคา, ไม่เกิดปฏิกิริยากับสารที่ต้องการแยก และadsorbent, มีจุดเดือดต่ำ, สามารถละลายเข้ากันได้ กรณีที่ต้องใช้ตัวทำละลายหลายชนิด, ไม่ติดไฟ และมีความเป็นพิษน้อย

**4.4 หลักการเลือกใช้ solvent**

กรณีของ adsorption mode เช่น silica gel column chromatography จะเลือกใช้ eluent โดยพิจารณาจาก polarity ของตัวทำละลาย ที่นำมาใช้เหมาะสมกับสารที่ต้องการแยกโดย อาจใช้ตัวทำละลายเดี่ยวหรือตัวละลายผสมก็ได้ โดยมากหากทำการแยก crude extract มักจะเริ่มจาก eluent ที่มี polarity ต่ำ ๆ ก่อนแช่ chloroform แล้วค่อย ๆ เพิ่ม polarity ของ eluent ขึ้นเรื่อย ๆ แบบ stepwise elution โดยอาจเพิ่ม polarity ต่อไปเป็น 25% ethyl acetate in chlorform, 50% ethyl acetate in chloroform, 5% methanol in chloroform, 10% methanol in chloroform , 20% methanol in chloroform ตามลำดับ

## 5. การประยุกต์ใช้ TLC ในการศึกษาสารเคมีจากสมุนไพร (ภาคภูมิ, 2542)

- ใช้วิเคราะห์หาสารเบื้องต้นว่ามีกี่ชนิด และบางครั้งอาจบอกได้ว่าเป็นสารประเภทใด
- ใช้เป็นวิธีวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อหา solvent system สำหรับ column chromatography

- ใช้ตรวจสอบ fraction ที่ได้จาก column chromatography เพื่อรวม fraction ที่ เหมือนกัน
- แยกสารบางชนิดที่มีปริมาณน้อย
- ใช้แยกสารปริมาณมาก ซึ่งแยกโดยวิธี column chromatography ไม่ได้ผล
- ใช้หาปริมาณสารในสารผสม (quantitative analysis)

**5.1 การใช้ Thin – layer Chromatography ในการศึกษาสารจากสมุนไพร**

เป็นการแยกสารโดยใช้ Stationary phase ซึ่งแผ่เคลือบบนแผ่นวัสดุซึ่งทำหน้าที่เป็นตัว support โดยวัสดุที่ใช้อาจเป็นแก้ว อลูมิเนียม หรือ polyethylene เมื่อหยด (spot) สารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC แล้วเป่าให้หยดสารแห้งแล้วจึงนำแผ่น TLC ที่ใช้ไปใส่ใน Tank ซึ่งบรรจุและอิ่มตัวด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมซึ่งทำหน้าที่เป็น mobile phase เมื่อตัวทำละลายเคลื่อนที่ผ่านไป stationary phase จะเกิดการแยกจากกันของสารตามวิธีการแยก (mode of separation) ถ้า stationary phase เป็น silica gel วิธีการแยกจะมีทั้ง adsorption และ partition โดยวิธีการใดเด่นกว่า ขึ้นอยู่กับว่าแผ่น TLC ที่เตรียมขึ้นนั้นถูกนำไป activate หรือไม่เพราะการ activate แผ่น TLC ซึ่งกระทำโดยการอบแผ่น TLC ที่ 110 $^{0}$C เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง จะทำให้น้ำระเหยออกไปจาก silica gel ทำให้วิธีการแยกเป็น adsorption มากกว่า partition แต่ถ้า ไม่ได้นำแผ่น TCL ไป activate น้ำในอากาศที่มาจับอยู่กับ silica gel จะทำหน้าที่เป็น liquid stationary phase จะทำให้มีการแยกโดยวิธี partition มากขึ้นกว่าเดิม

**Thin – layer chromatography แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ**

1. Analytical Thin – layer chromatography เป็นแผ่น TLC ที่ใช้ทั่วไป และมีขายสำเร็จรูป (precoated TLC) โดยมีขนาด 5 x 20, 10 x 20 และ 20 × 20 ซม. และมีความหนาของ adsorbent 0.25 มม. ใช้เมื่อต้องการแยกเชิงคุณภาพ (qualitative) และเชิงประมาณ (quantitative)

2. Preparative Thin – layer chromatography เป็น TLC ที่มี Adsorbent หนาขึ้นตั้งแต่ 0.5 - 2.0 มม. ใช้เมื่อต้องการแยกสารปริมาณมากขึ้น โดยมากใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการแยกสารออกมาให้ได้สารบริสุทธิ์

**การเลือกระบบตัวทำละลาย**

ในการเลือกระบบตัวทำละลายจะต้องศึกษาจากเอกสารอ้างอิงต่างๆ และ/หรือใช้วิธีทดลองทำ TLC ถ้าระบบไม่ดีก็เปลี่ยนระบบใหม่ สิ่งที่ต้องคำนึงถึงก็คือ ความเป็นขั้วของสารที่จะแยก โดยทั่วไปความเป็นขั้วของสารอินทรีย์จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีหมู่ฟังก์ชันนัลมากขึ้น และความเป็นขั้วจะลดลงเมื่อโมเลกุลมีขนาดใหญ่ขึ้น สารที่มีความเป็นขั้วสูงกว่าจะต้องใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมากกว่า ดังแสดงในตารางที่ 2.1

**ตารางที่ 2. 1** ลำดับความเป็นขั้วของหมู่ฟังก์ชันนัล และความเป็นขั้วของตัวทำละลาย (เอกสารประกอบการสอน มหาวิทยาลัยมหิดล)

| หมู่ฟังก์ชันนัล | | ตัวทำละลาย |
|---|---|---|
| - Cl | ความเป็นขั้วต่ำ | petroleum ether |
| - H | | cyclohexane |
| - OMe | | $CCl_4$ |
| - $NO_2$ | | $C_6H_6$ |
| - $Nme_2$ | | $Et_2O$ |
| - COMe | | $CHC_{l3}$ |
| - OCOMe | | EtOAc |
| - $NH_2$ | | Pyridine |
| - NHCOMe | | i - PrOH |
| - OH | | Acetone |
| - $CONH_2$ | | Methanol |
| - $CO_2H$ | ความเป็นขั้วสูง | Acetonitrile |
| | | Water |

**5.2 การใช้ column chromatography ในการศึกษาสารจากสมุนไพร**

เป็นวิธีการแยกสารโดยให้สารเคลื่อนที่ไปบน stationary phase ซึ่งบรรจุในหลอดแก้ว adsorbent ที่ใช้ก็เช่นเดียวกับ adsorbent ของ TLC แต่มี Particle size ใหญ่กว่าที่ใช้เทคนิค TLC อัตราส่วนของ adsorbent ที่ใช้ และปริมาณสารที่จะแยกขึ้นอยู่กับกระบวนการแยก ถ้าเป็น adsorption chromatography จะใช้อัตราส่วนของสารที่จะแยกต่อ adsorbent 1 : 30 ถึง 1 : 50 ถ้าเป็น partition chromatography ใช้อัตราส่วน 1 : 50 หรือ 1 : 200 ในกรณีที่สารมีคุณสมบัติที่คล้ายกันมาก

**5.2.1 การบรรจุ adsorbent (Packing)**

สำหรับ adsorption chromatography การบรรจุทำได้ 2 แบบ คือ

- Dry packing
- Wet packing

**5.2.2 การเตรียมตัวอย่างสารที่จะแยก และวิธีการใส่สารลงในคอลัมน์**

- ละลายตัวอย่างที่จะแยกลงในตัวทำละลายที่จะใช้ develop โดยพยายามใช้ตัวทำละลายจำนวนน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ แล้วค่อย ๆ ใส่สารละลายที่จะแยกลงบนคอลัมน์ทีละน้อย รอจนสารถูกดูดซับไปบนคอลัมน์หมด จึงค่อยเติมสารละลายที่เหลือลงไปอีก เพื่อที่จะให้ได้ band เล็กที่สุดเท่าที่จะทำได้การแยกจึงได้ผลดี

- สารบางชนิดเหนียวและละลายยากอาจต้องละลายได้ตัวทำละลายที่เหมาะสม แล้วเติมใน adsorbent ซึ่ง inert เช่น Kieselguhr , celite หรืออาจใช้ silica gel ปริมาณที่ใช้ก็ให้ใช้น้อยที่สุด แล้วนำไประเหยเอาตัวทำละลายอื่นออกจนแห้ง สารจะไปเคลือบอยู่บน adsorbent อย่างสม่ำเสมอ แล้วจึงบรรจุลงเหนือคอลัมน์ที่จะ develop อีกครั้งหนึ่ง

## 6. การใช้โครมาโตกราฟีในการวิเคราะห์สมุนไพร (ภาคภูมิ, 2542)

เทคนิคโครมาโตกราฟีสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สมุนไพรได้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ

### 6.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

โครมาโตกราฟีสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาว่ามีหรือไม่มีสารชนิดใดชนิดหนึ่งในตัวอย่างวิเคราะห์ เช่น การวิเคราะห์การปนเปื้อน ของ Steroids ในยาลูกกลอน หรืออาจใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของตัวอย่างวิเคราะห์ เช่น การนำ finger – print ของสารสกัดสมุนไพร เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่าเป็นสมุนไพรชนิดนั้น ๆ

6.1.1 การวิเคราะห์โดย TLC หรือ PC

parameter ที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยเทคนิค TLC ได้แก่

$R_f$ เป็นค่าที่คำนวณได้จาก ระยะทางที่ตัวอย่างเคลื่อนที่หารด้วยระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (solvent front)

ในการวิเคราะห์ถึงแม้ว่า ค่า $R_f$ ของสารที่คำนวณได้จะเท่ากับค่า $R_f$ ที่คำนวณได้จากสารมาตรฐาน ก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าสารนั้นเป็นสารตัวเดียวกับสารมาตรฐานนั้นเสมอไป เนื่องจากมีสารหลายชนิดที่อาจมีค่า $R_f$ เท่ากัน แต่ถ้าค่า $R_f$ ของสารที่ได้ ไม่เท่ากับค่า $R_f$ ของสารมาตรฐาน สามารถสรุปได้ว่าไม่ใช่สารตัวเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ในบางกรณีอาจต้องใช้เทคนิคอื่น ๆ เช่น UV หรือ spraying reagent ช่วยในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วย หรือกรณีที่ให้เกิดความมั่นใจในผลการวิเคราะห์ ควรทำ TLC ในหลาย ๆ สภาวะ เช่น เปลี่ยนแปลงชนิดของ mobile phase หรือ .stationary phase เพื่อยืนยันผล

ดังนั้น TLC สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการพิสูจน์เอกลักษณ์สาร โดยการเปรียบเทียบค่า

$R_f$ ที่ได้จากการทำการวิเคราะห์ในหลาย ๆ สภาวะที่แตกต่างกัน แต่ในการสรุปผลที่สมบูรณ์ควรใช้เทคนิคอื่นร่วมด้วย

6.1.2 การวิเคราะห์โดยใช้ column chromatography

ในปัจจุบันเทคนิค column chromatography เช่น gas chromatography หรือ liquid chromatography เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพมากกว่าเทคนิค TLC เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่ายต่อการทำแบบอัตโนมัติและง่ายต่อการทำการเปลี่ยนแปลงสภาวะที่ใช้ในการทดลองเช่น อุณหภูมิ อัตราเร็วในการไหลของตัวทำสารละลาย หรือแม้แต่การเปลี่ยน stationary phase

parameter ที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดย column chromatography ได้แก่

- $t_R$ (retention time) คือเวลาที่ใช้ตั้งแต่การฉีดสารตัวอย่างจนสารถูกชะออกมาที่ความเข้มข้นสูงสุด

- $V_R$ (retention volume) คือ Retention time x flow rate

การพิสูจน์เอกลักษณ์สารว่าเป็นสารชนิดเดียวกัน หรือไม่ สามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบค่า $t_R$ ของสาร unknown กับมาตรฐาน โดยต้องทำการวิเคราะห์ในสภาวะเดียวกัน อย่างไรก็ตาม reproducibility ในการฉีดสารตัวอย่างแต่ละครั้งไม่ดีเสมอไป ซึ่งในบางครั้งอาจทำให้เกิดความผิดพลาดในการสรุปผลได้เช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิค TLC ในด้านการวิเคราะห์เชิงประมาณ พบว่า TLC มีข้อดีกว่าเพราะสามารถวิเคราะห์ได้หลายตัวอย่างในการทำการวิเคราะห์ครั้งหนึ่ง ๆ ซึ่ง column chromatography ไม่สามารถทำได้ เนื่องจากต้องฉีดสารครั้งละหนึ่งตัวอย่างเท่านั้น อย่างไรก็ตามวิธีการแก้ปัญหาดังกล่าวอาจทำได้โดยหลังจากที่ฉีดสารตัวอย่างและสารมาตรฐานเสร็จเรียบร้อยแล้ว ให้ทำการฉีดสารตัวอย่างอีกครั้งโดยการเติมสารมาตรฐานปริมาณหนึ่งลงในสารตัวอย่าง ก่อนที่จะฉีดและสังเกตดูความสูงของ peak ที่เพิ่ม ขึ้นวิธีนี้เรียกว่า "spiking" อย่างไรก็ตามเทคนิค spiking ไม่สามารถใช้กับสารตัวอย่างที่ไม่ทราบส่วนประกอบเลย ในกรณีนี้ต้องใช้เทคนิคอื่น ช่วยในการวิเคราะห์ผลด้วย

**6.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ**

โครมาโตกราฟีสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณสารที่ส่วนประกอบในตัวอย่างวิเคราะห์ได้ เทคนิคโครมาโตกราฟีดังกล่าวได้แก่ HPLC, GC และ TLC - densitometry (TLC-scanner) เป็นต้น

สิ่งที่สำคัญพื้นฐานในการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีได้แก่

1. จะต้องทราบว่าสารที่ต้องการวิเคราะห์คืออะไร

2. ต้องสามารถหาสภาวะของโครมาโตกราฟีที่เหมาะสมในการแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากสารอื่นๆ ได้
3. การแยกของสารต้องมี reproducible
4. ต้องมีสารมาตรฐานที่ทราบความบริสุทธิ์ (purity) ที่แน่นอน

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. รูปแบบการวิจัย
2. กลุ่มตัวอย่าง
3. อุปกรณ์ – เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย
4. วิธีการวิจัย
   - 4.1 การเก็บตัวอย่างใบพืช
   - 4.2 วิธีการสกัดสาร
   - 4.3 การหาระบบที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวด้วยเทคนิค Thin-Layer chromatography
   - 4.4 การแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวด้วยเทคนิค Column chromatography

## 1. รูปแบบการวิจัย

- เป็นการวิจัยเชิงทดลอง

## 2. กลุ่มตัวอย่าง

- กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ได้แก่ ส่วนใบของต้นกระบือเจ็ดตัว ซึ่งเก็บในช่วงเดือนตุลาคม - พฤศจิกายน 2546 จากสถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช ม.4 ต.ท่างิ้ว อ. เมือง จ.นครศรีธรรมราช

## 3. อุปกรณ์ – เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

### 3.1 อุปกรณ์ – เครื่องมือ

1. Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 mL.
2. TLC plate ขนาด 2.5 x 7.5 cm.
3. Tank

4. Capillary tube
5. Beaker ขนาด 25 , 50 , 250 , 500 และ1,000 mL
6. Test tube ขนาดกลาง
7. Rack
8. Spactula
9. Graduated cylinder ขนาด 50 และ 100 mL
10. Stirrer
11. Filter funnel
12. Stand - Bosshead and clamp
13. Mortar and pastle
14. Midicine dropper
15. ตะเกียงแอลกอฮอล์
16. ขวดเก็บสารตัวอย่าง
17. สำลี
18. กระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman เบอร์ 1
19. ผ้าขาวบาง
20. เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ mettler รุ่น PB 1502
21. เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ sartorius รุ่น PB –210S
22. ตู้อบสาร (Hot Air Oven) ยี่ห้อ MEMERT รุ่น UM 500
23. เครื่องปั่นสาร ยี่ห้อ Thomas Scientrific USA
24. เครื่องกลั่นลดความดัน ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-124
25. คอลัมน์ ขนาด 4 x 50 cm
26. เครื่อง UV light ยี่ห้อ Spectronic instruments รุ่น 20 genesy

**3.2 สารเคมี**

1. Silica gel 60 $GF_{254}$ (For thin-layer chromatography)
2. Silica gel 60 (0.2 – 0.5 mm For column chromatography)
3. Hexane
4. Acetone
5. Chloroform

6. Dichloromethane
7. Ethyl acetate
8. Acetone
9. Ethanol

## 4. วิธีการวิจัย

### 4.1. การเก็บตัวอย่างใบพืช

เก็บตัวอย่างใบกระบือเจ็ดตัว จากสถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช ม.4 ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช ในช่วงเดือนตุลาคม - พฤศจิกายน 2546

**4.2 วิธีการสกัดสารจากพืชสมุนไพร** (ดัดแปลงวิธีจาก นงค์เยาว์, 2542)

4.2.1 นำใบกระบือเจ็ดตัวที่เก็บได้มาล้างทำความสะอาด และผึ่งให้แห้งในที่ร่ม

4.2.2 นำใบพืชเข้าตู้อบ โดยอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 3 วัน หรือจนกว่าจะแห้งได้น้ำหนักคงที่

4.2.3 นำใบพืชที่แห้งแล้วมาปั่นให้ละเอียด ชั่งน้ำหนัก

4.2.4 สกัดด้วย Hexane โดยใช้ใบพืชน้ำหนักแห้ง 500 กรัม : Hexane 1,200 mL หมักลงใน Flask เป็นเวลา 1 สัปดาห์ (คนวันละ 1 ครั้ง)

4.2.5 นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง

- ส่วนที่เป็นกากนำไปหมักซ้ำด้วย Hexane อีก 1 ซ้ำ
- ส่วนที่เป็นของเหลวนำมากรอง ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

4.2.6 นำของเหลวที่ได้มากลั่นด้วยเครื่องกลั่นลดความดัน ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-124 จนได้สารสกัดหยาบ (Crude)

4.2.7 นำสารสกัดหยาบที่ได้เก็บใส่ขวดตัวอย่าง และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ 4 ตำแหน่ง

**4.3 การหาระบบที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดด้วยเทคนิค Thin-Layer chromatography** (ดัดแปลงวิธีจาก เอกสารประกอบการสอนมหาวิทยาลัยมหิดล)

4.3.1 วิธีการเคลือบแผ่น TLC

- ใช้สำลีชุบ Acetone และเช็ดให้ทั่วแผ่นกระจก
- ผสม Silica gel กับน้ำอัตราส่วน 1:2 (ใช้ Silica gel 30 g : น้ำ 60 mL)
- คนจน Silica gel และน้ำผสมเข้ากันดี และไม่มีฟองอากาศ
- ทำการเคลือบโดยการจุ่มแผ่น TLC ลงใน Silica gel

- วางทิ้งไว้ให้แห้ง และนำไปอบที่ 110 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

4.3.2 Application of Sample

- ละลาย Crude ด้วย Hexane ให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.1- 1%
- ใช้ Capillary tube Spot เป็นจุดเล็ก ๆ ลงบนแผ่น TLC วางทิ้งไว้ให้แห้ง

4.3.3 Development

- นำ Plate ที่ Spot แล้วไป Develop ใน Tank ที่มี Solvent เป็นของผสมระหว่าง Mobile phase ชนิดต่างๆ และอัตราส่วนต่างๆ กัน

**ตารางที่ 3.1** แสดงชนิด และอัตราส่วนของ Mobile phase ที่ใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในเทคนิค TLC

| ชนิดของ Mobile phase | อัตราส่วน |
|---|---|
| Hexane | - |
| Chloroform | - |
| Dichloromethane | - |
| Ethyl acetate | - |
| Hexane : Chloroform | 1 : 1 |
| | 2 : 1 |
| | 4 : 1 |
| Hexane : Dichloromethane | 1 : 1 |
| | 2 : 1 |
| | 4 : 1 |
| Hexane : Ethyl acetate | 1 : 1 |
| | 2 : 1 |
| | 4 : 1 |
| | 5 : 1 |
| | 6 : 1 |
| | 7 : 1 |
| Hexane : Methanol | 1 : 1 |
| | 1 : 2 |

**ตารางที่ 3.1 (ต่อ)** แสดงชนิด และอัตราส่วนของ Mobile phase ที่ใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในเทคนิค TLC

| ชนิดของ Mobile phase | อัตราส่วน |
|---|---|
| Hexane : Acetone | 5 : 1 |
| | 7 : 1 |
| Hexane : Chloroform : Methanol | 2 : 1 : 1 |
| | 4 : 1 : 1 |
| | 6 : 1 : 1 |
| | 8 : 1 : 1 |
| | 10 : 1 : 1 |
| Hexane : Ethyl acetate : Ethanol | 6 : 1 : 1 |
| | 8 : 1 : 1 |
| | 10 : 1 :1 |
| | 8 : 2 : 1 |
| | 10 : 2 :1 |
| | 12 : 1 :1 |
| Hexane : Dichloromethane : Ethanol | 4 : 1 : 1 |
| | 6 : 1 : 1 |
| | 8 : 1 : 1 |
| | 10 : 1 :1 |
| Hexane : Acetone : Ethanol | 8 : 1 : 1 |
| | 10 : 1 :1 |
| | 10 : 2 :1 |
| | 12 : 1 :1 |
| | 12 : 2 :1 |
| | 14 : 2 :1 |
| Hexane : Chloroform : Ethanol | 10 : 1 :1 |
| | 10 : 2 :1 |

4.3.4 การตรวจหาตำแหน่ง

- นำ TLC Plate ที่ได้จากการ Develop ไปส่องด้วย UV light ที่ความยาวคลื่น 254 nm
- คำนวณหาค่า $R_f$ (Rate of Flow)

**หมายเหตุ**

$R_f$ เป็นค่าที่คำนวณได้จาก ระยะทางที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่ หารด้วยระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (solvent front)

**4.4 การแยกสารสกัดด้วยเทคนิค Column chromatography**

(ดัดแปลงวิธีจาก เอกสารประกอบการสอนมหาวิทยาลัยมหิดล)

4.4.1 การ pack column

ในงานวิจัยครั้งนี้ทำการ Pack column แบบ Wet packing โดยปฏิบัติดังนี้

- ชั่ง Silica gel 60 (0.2 – 0.5 mm For column chromatography) มา 90 กรัม (ใช้อัตราส่วนสารตัวอย่างต่อ Silica gel เป็น1: 30) ใช้ Hexane เป็นตัวทำละลาย ทำเป็น Slurry และคนจนหมดฟองอากาศ
- เท Silica gel ที่เป็น Slurry ลงใน Column ขนาด 4 x 50 cm ใช้สายยางเคาะด้านข้างเพื่อให้การ pack แน่น ทิ้งไว้ 1 คืน ควร Pack ให้ผิวหน้าเรียบไม่ให้มีรอยแยก และไม่มีฟองอากาศ

4.4.2 การ Apply extract หรือ Fraction ลงบน Column

- ชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างที่ต้องการ Apply และเติม Silica gel ลงไปเล็กน้อย (น้อยที่สุด) บดด้วยโกร่งบด จนสารตัวอย่างเข้ากับ Silica gel ได้ดี และแห้งเป็นผง
- นำสารตัวอย่างที่บดจนแห้งดีแล้วเทใส่ Column โดยผ่านทางกรวยแก้ว (ก่อนใส่สารตัวอย่างลงใน Column ควรเปิดก๊อกให้ Hexane อยู่เหนือ Silica gel เพียงเล็กน้อย)
- ค่อยๆเติม Mobile phase ลงใน Column โดยให้ Mobile phase อยู่สูงจากสารตัวอย่างเพียงเล็กน้อย ค่อย ๆ เติมจน Mobile phaseใสแล้วจึงเติมให้เต็ม Column
- ไขก๊อกให้ Mobile phase ไหลออกช้า ๆ ที่ flow rate ประมาณ 15 mL /min เมื่อสังเกตเห็นสารตัวอย่างไหลลงมาด้านล่างใกล้จะถึงก๊อกจึงค่อยเก็บสารใส่หลอดเก็บสาร
- นำสารที่เก็บได้ในหลอดเก็บสารไประเหยโดยวิธีการ Evaporating และเก็บสารที่ได้ใส่ในขวดเก็บสารขนาดเล็ก ปิดฝา และปิดฉลากหมายเลข ชั่งน้ำหนัก

4.4.3 ตรวจสอบสารจาก Column โดยทำ TLC เพื่อรวม Fractions ที่เหมือนกันเข้าไว้ด้วยกัน ส่วน Fractions ที่ยังคงมีสารหลายชนิดต้องนำมาทำ column chromatography ซ้ำ และทำ TLC เพื่อรวม Fractions ที่เหมือนกันเข้าไว้ด้วยกันอีกครั้ง

4.4.4 เก็บสารที่ได้จากการรวม Fractions ใส่ขวดปิดฝา เก็บที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อทำการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

# บทที่ 4
# ผลการวิจัย

**1. เปอร์เซ็นต์ความชื้นในพืชสมุนไพร**

จากใบกระบือเจ็ดตัวน้ำหนักสด 3,000 กรัม เมื่อนำไปอบชั่งน้ำหนักแห้งได้ 536 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความชื้นได้ 82 %

**2. เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบ (Crude) จาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว**

ใช้ใบกระบือเจ็ดตัวน้ำหนักแห้ง 500 กรัม สกัดด้วย hexane ได้สารสกัด 5.28 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สารสกัด ได้ 1.06 %

สารสกัดหยาบจาก hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.) มีลักษณะเป็นของหนืด สีน้ำตาลเจือดำ

**3. การหาสภาพการละลายของสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว**

**ตารางที่ 4.1** แสดงสภาพการละลายของสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว

| ตัวทำละลาย | | สภาพการละลาย |
|---|---|---|
| Hexane | +++ | สารละลายใส สีเขียวอมเหลือง |
| Dichloromethane | +++ | สารละลายใส สีน้ำตาลอมเหลือง |
| Chloroform | +++ | สารละลายใส สีน้ำตาลเข้มอมเหลือง |
| Ethyl acetate | +++ | สารละลายใส สีเขียวอมเหลือง |
| Acetone | +++ | สารละลายใส สีเขียวอมเหลือง |
| Ethanol | | ไม่ละลาย |
| Water | | ไม่ละลาย |
| 10% HCl | | ไม่ละลาย |
| 10% NaOH | +++ | สารละลายใส สีเขียวอมเหลือง |

หมายเหตุ

- ไม่ละลาย
+ ละลายได้เล็กน้อย
++ ละลายได้ปานกลาง
+++ ละลายได้ดี

จากตารางแสดงสภาพการละลาย แสดงว่าสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวนี้มีองค์ประกอบเป็นสารที่มีขั้วต่ำและขั้วปานกลาง เนื่องจากละลายได้ดีใน Hexane, Dichloromethane , Chloroform , Ethyl acetate และ Acetone และไม่ละลายใน Water และ Ethanol นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นด่าง เนื่องจากละลายได้ดีใน 10% NaOH และไม่ละลายใน 10% HCl

**4. สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว ด้วยเทคนิค Thin – layer chromatography**

สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว ด้วยเทคนิค Thin – layer chromatography โดยเลือกใช้ Mobile phase ชนิดต่างๆ ที่อัตราส่วนต่างๆ กัน ผลการวิจัย แสดงเป็นค่า $R_f$ ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ **4.2** แสดงค่า $R_f$ จากการแยกสารสกัดด้วยเทคนิค Thin – layer chromatography

| ชนิดของ Mobile phase | อัตราส่วน | ค่า $R_{f1}$ | ค่า $R_{f2}$ |
|---|---|---|---|
| Hexane | - | 0.05, 0.12, 0.22 | 0.05, 0.12, 0.4 |
| Chloroform | - | 0.08, 0.22, 0.5, 0.7, 0.78, 0.93 | 0.08, 0.22, 0.5, 0.7, 0.78, 0.93 |
| Dichloromethane | - | 0.17, 0.27, 0.35, 0.57, 0.87, 0.95 | 0.13, 0.27, 0.35, 0.53, 0.78, 0.90 |
| Ethyl acetate | - | 0.08, 0.67, 0.75,0.90 | 0.04, 0.68, 0.87 |
| Hexane : Chloroform | 1 : 1 | 0.07, 0.22, 0.35, 0.58, 0.78, 0.90 | ไม่สามารถอ่านผลได้ |
| | 2 : 1 | 0.07, 0.10, 0.28,0.95 | 0.07, 0.10, 0.28, 0.95 |

**ตารางที่ 4.2 (ต่อ)** แสดงค่า $R_f$ จากการแยกสารสกัดด้วยเทคนิค Thin – layer chromatography

| ชนิดของ Mobile phase | อัตราส่วน | ค่า $R_{f1}$ | ค่า $R_{f2}$ |
|---|---|---|---|
| | 4 : 1 | 0.1, 0.22, 0.93 | 0.1, 0.22, 0.93 |
| Hexane : Dichloromethane | 1 : 1 | 0.15, 0.27, 0.48, 0.73, 0.92 | 0.15, 0.27, 0.42, 0.48, 0.58, 0.92 |
| | 2 : 1 | 0.03, 0.01, 0.13, 0.65, 0.95 | 0.03, 0.01, 0.13, 0.65, 0.95 |
| | 4 : 1 | 0.03, 0.16, 0.33,0.75 | 0.04, 0.16, 0.35, 0.74 |
| Hexane : Ethyl acetate | 1 : 1 | 0.15,0.38,0.52,0.62, 0.80 | 0.15,0.38,0.52,0.62, 0.80,0.90 |
| | 2 : 1 | 0.22, 0.38, 0.52, 0.67, 0.78, 0.92 | 0.22, 0.38, 0.52, 0.67 |
| | 4 : 1 | 0.08, 0.18, 0.27, 0.38, 0.50, 0.62, 0.75, 0.88 | 0.08, 0.18, 0.27, 0.38, 0.55, 0.70, 0.85, 0.88 |
| | 5 : 1 | 0.05, 0.12, 0.18, 0.28, 0.47, 0.65 | 0.05, 0.12, 0.18, 0.28, 0.47, 0.65 |
| | 6 : 1 | 0.05, 0.08, 0.18, 0.27, 0.42, 0.46, 0.50, 0.67 | 0.05, 0.08, 0.18, 0.33, 0.42, 0.55, 0.67 |
| | 7 : 1 | 0.03, 0.08, 0.12, 0.22, 0.28, 0.50 | 0.03, 0.08, 0.12, 0.20, 0.28 ,0.40, 0.53 |
| Hexane : Methanol | 1 : 1 | 0.16, 0.58, 0.97 | 0.16, 0.58 |
| | 1 : 2 | 0.10, 0.40, 0.62, 0.73, 0.88 | 0.73, 0.88 |
| | 4 : 1 | 0.86, 0.99,0.43, 0.62, 0.70,0.99 | 0.83, 0.99, 0.74, 0.99 |

**ตารางที่ 4.2 (ต่อ)** แสดงค่า $R_f$ จากการแยกสารสกัดด้วยเทคนิค Thin – layer chromatography

| ชนิดของ Mobile phase | อัตราส่วน | ค่า $R_{f1}$ | ค่า $R_{f2}$ |
|---|---|---|---|
| | 7 : 1 | 0.1, 0.25, 0.33, 0.43, 0.55, 0.65, 0.77,0.92 | 0.1, 0.25, 0.30, 0.42, 0.68, 0.78, 0.90 |
| Hexane :Chloroform : Methanol | 2 : 1 : 1 | 0.68, 0.83, 0.99 | 0.68, 0.83, 0.99 |
| | 4 : 1 : 1 | 0.10, 0.38, 0.82,1.00 | 0.10, 0.63, 0.82, 1.00 |
| | 6 : 1 : 1 | 0.17, 0.38, 0.67,0.97 | 0.08, 0.38, 0.83, 0.98 |
| | 8 : 1 : 1 | 0.17, 0.98 | 0.17, 0 18, 0.25, 0.46, 0.70, 0.99 |
| | 10 : 1 : 1 | 0.98 | 0.98 |
| Hexane : Ethyl acetate : Ethanol | 6 : 1 : 1 | 0.78 | 0.75 |
| | 8 : 1 : 1 | 0.45, 0.83 | 0.45, 0.83 |
| | 10 : 1 :1 | 0.17, 0.55 | 0.08, 0.18, 0.27, 0.60 |
| | 8 : 2 : 1 | 0.77 | 0.78 |
| | 10 : 2 :1 | 0.50, 0.60, 0.75, 0.98 | 0.75 |
| | 12 : 1 :1 | 0.57 | 0.54 |
| Hexane:Dichloromethane: Ethanol | 4 : 1 : 1 | 0.45, 0.58, 0.70, 0.97 | 0.58, 0.70, 0.97 |
| | 8 : 1 : 1 | 0.33, 0.38, 0.50,0.98 | 0.38, 0.98 |
| Hexane : Acetone : Ethanol | 10 : 1 :1 | 0.03, 0.06, 0.15, 0.23, 0.38, 0.43, 0.53, 0.60, 0.75, 0.78, 0.95 | 0.03, 0.06, 0.15, 0.23, 0.38, 0.43, 0.53, 0.60, 0.65, 0.83, 0.95 |
| | 10 : 2 :1 | 0.08, 0.25,0.42,0.45, 0.58,0.63, 0.75, 0.98 | 0.25, 0.42, 0.45, 0.58, 0.63, 0.83, 0.98 |
| | 12 : 1 :1 | 0.45, 0.53, 0.73, 0.98 | 0.33, 0.40, 0.50, 0.67, 0.98 |

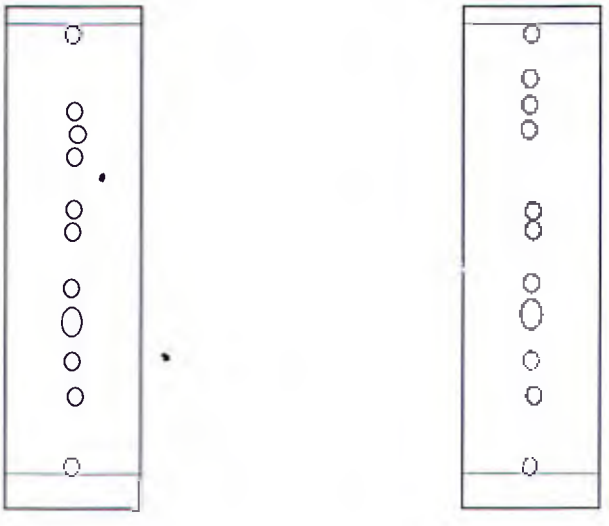
**ตารางที่ 4.2 (ต่อ)** แสดงค่า $R_f$ จากการแยกสารสกัดด้วยเทคนิค Thin – layer chromatography

| ชนิดของ Mobile phase | อัตราส่วน | ค่า $R_{f1}$ | ค่า $R_{f2}$ |
|---|---|---|---|
| | 12 : 2 :1 | 0.42, 0.48, 0.65,0.98 | 0.45, 0.55, 0.67, 0.98 |
| | 14 : 2 :1 | 0.08, 0.20, 0.28,0.47 | 0.09, 0.20, 0.26, 0.45 |
| Hexane : Chloroform : Ethanol | 8 : 1 : 1 | 0.07, 0.17, 0.22, 0.3, 0.43, 0.75 | 0.15, 0.33, 0.45, 0.75, 0.95 |
| | 10 : 1 :1 | 0.12, 0.32 | 0.15, 0.33, 0.92 |
| | 10 : 2 :1 | 0.17, 0.38, 0.55, 0.97 | 0.17, 0.33, 0.38, 0.55 |

**หมายเหตุ**

$R_{f1}$ คือ ผลการ develop โครมาโทแกรมครั้งที่ 1

$R_{f2}$ คือ ผลการ develop โครมาโทแกรมซ้ำที่ 2



$R_{f1}$ $R_{f2}$

**รูปที่ 4.1** แสดงลักษณะโครมาโทแกรมของ TLC ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1)

UV light λ 254 nm

จากตารางที่ 4.2 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว คือที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) ซึ่งสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 10 จุด โดยคำนวณค่า $R_{f1}$ ได้เท่ากับ 0.07, 0.12, 0.18, 0.21, 0.35, 0.38, 0.43, 0.62, 0.70 และ 0.99 ตามลำดับ และค่า $R_{f2}$ ได้เท่ากับ 0.07, 0.13, 0.20, 0.28, 0.36, 0.39, 0.43, 0.65, 0.74 และ 0.99 ตามลำดับ

**5. การแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวด้วยเทคนิค Column Chromatography**

ผลจากการนำสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวไปแยกด้วย Column chromatography ขนาด 4 x 50 ซ.ม. Pack ด้วย silica gel 60 (0.2-0.5 mm for Column chromatography) สูง 20 ซม. ที่ flow rate เท่ากับ 15 mL /1 min ใช้สารตัวอย่าง 1.50 กรัม เก็บสารได้ทั้งหมด 240 fraction

นำ fraction ต่างๆ ไปตรวจสอบด้วย TLC แล้วรวม fraction ที่มีลักษณะโครมาโทแกรมคล้ายกัน ได้ทั้งหมด 8 fractions โดยให้ชื่อเป็น fractions ที่ EX1–1 ถึง EX1-8 ดังแสดงในตารางที่ 4.3

**ตารางที่ 4.3** แสดงลักษณะและน้ำหนักของสารจาก EX1 – 1 ถึง EX1-8

| Fraction | ตัวทำละลาย | ลักษณะของสาร | น้ำหนัก (g) | % |
|---|---|---|---|---|
| EX 1-1 | 100% Hexane | ของหนืด สีเหลือง | 0.0552 | 3.68 |
| EX 1-2 | 70% Hexane / Chloroform | ของหนืด สีเหลืองอ่อน | 0.0208 | 1.39 |
| EX 1-3 | 60% Hexane / Chloroform | ของหนืด สีเหลืองเจือส้ม | 0.0255 | 1.70 |
| EX 1-4 | 50% Hexane / Chloroform | ของหนืด สีส้ม | 0.1452 | 9.68 |
| EX 1-5 | 40% Hexane / Chloroform | ของหนืดสีน้ำตาลดำเจือเขียว | 0.5819 | 38.79 |
| EX 1-6 | 40% Hexane / Chloroform | ของหนืดสีน้ำตาลเข้มเจือเขียว | 0.0713 | 4.75 |
| EX 1-7 | 30% Hexane / Chloroform | ของหนืดสีน้ำตาลเข้มเจือดำ | 0.0878 | 5.85 |
| EX 1-8 | 20% Hexane / Chloroform | ของหนืดสีเขียวเข้ม | 0.0510 | 3.40 |

**หมายเหตุ**

EX 1-1 คือ fractions ที่ได้จากการรวม fractions ต่างๆ ที่มีลักษณะโครมาโทแกรมคล้ายกันเข้าไว้ด้วยกันเป็นชุด ๆ โดยใช้อักษรสองตัวหน้าของ *Excoecaria cochinchinensis* Lour. เป็นชื่อของ fractions ต่างๆ

นำ fraction EX 1-1 ไปตรวจสอบด้วย TLC ภายใต้ UV light λ 254 nm เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 1 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.96 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารสีเหลือง ยังไม่ทำการศึกษาต่อ

**รูปที่ 4.2** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-1 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

นำ fraction EX 1-2 ไปตรวจสอบด้วย TLC เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 1 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.78 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารไม่มีสี ยังไม่ทำการศึกษาต่อ

**รูปที่ 4.3** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-2 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

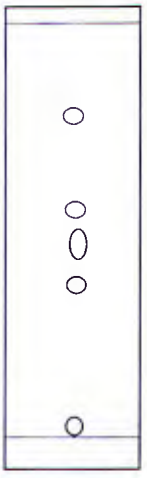
นำ fraction EX 1-3 ไปตรวจสอบด้วย TLC เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 2 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.71 และ 0.89 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารสีเหลืองอ่อน 1จุด และไม่มีสี 1 จุด ยังไม่ทำการศึกษาต่อ

**รูปที่ 4.4** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-3 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

นำ fraction EX 1-4 ไปตรวจสอบด้วย TLC เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 2 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.75 และ 0.84 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารสีเหลืองอมเขียว 1 จุด และสีเขียวอ่อน 1 จุด ยังไม่ทำการศึกษาต่อ

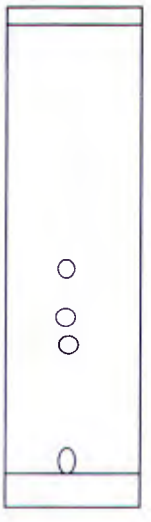
**รูปที่ 4.5** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-4 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

นำ fraction EX 1-5 ไปตรวจสอบด้วย TLC เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 4 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.38, 0.49, 0.67 และ 0.84 ตามลำดับ เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารสีน้ำตาลอมเขียว สีเขียวเข้ม สีเขียวอมเหลือง และสีเหลืองอ่อนตามลำดับ ยังไม่ทำการศึกษาต่อ



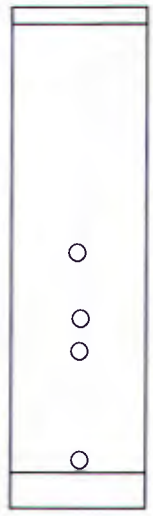
**รูปที่ 4.6** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-5 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

นำ fraction EX 1-6 ไปตรวจสอบด้วย TLC เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 3 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.38, 0.44 และ 0.51 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารสีน้ำตาลอมเขียว สีเขียวเข้ม และสีเขียวอมเหลืองตามลำดับ ยังไม่ทำการศึกษาต่อ



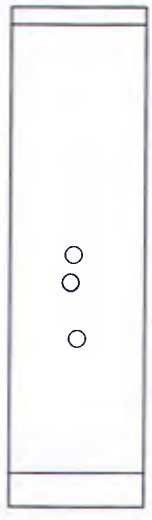
**รูปที่ 4.7** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-6 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

นำ fraction EX 1-7 ไปตรวจสอบด้วย TLC เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 2 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.25 และ 0.53 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารสีน้ำตาลและสีเขียว ยังไม่ทำการศึกษาต่อ



**รูปที่ 4.8** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-7 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

นำ fraction EX 1-8 ไปตรวจสอบด้วย TLC เพื่อตรวจสอบลักษณะโครมาโทแกรมของสารที่ได้จากการรวม fractions พบว่า ได้สารที่เป็น spot หลัก 3 จุด โดยคำนวณค่า $R_f$ ได้เท่ากับ 0.25, 0.38 และ 0.42 เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่ามีลักษณะเป็นสารสีน้ำตาล สีน้ำตาลอมเหลือง และสีเขียว ตามลำดับ ยังไม่ทำการศึกษาต่อ



**รูปที่ 4.9** แสดงลักษณะโครมาโทแกรม TLC ของสารใน Fraction ที่ EX1-8 ที่สภาวะ Hexane : Acetone (5 : 1) UV light λ 254 nm

# บทที่ 5
# สรุปผล วิจารณ์ผล และข้อเสนอแนะ

1. เปอร์เซ็นต์ความชื้นในพืชสมุนไพร ในการนำพืชสมุนไพรชนิดใบกระบือเจ็ดตัวที่เก็บในสถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่างิ้ว อ. เมือง จ.นครศรีธรรมราช ในช่วงเดือนตุลาคม - เดือนพฤศจิกายน 2546 มาสกัดด้วย Hexane และแยกสารโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี พบว่าสามารถหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในพืชสมุนไพรชนิดใบกระบือเจ็ดตัวได้เท่ากับ 82 %

2. เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบจาก hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว ได้เท่ากับ 1.06 % ซึ่งใกล้เคียงกับ เผด็จ และคณะ, 2545 สกัดได้เท่ากับ 0.9840 %

3. สารสกัดหยาบจาก hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว มีลักษณะเป็นของหนืด สีน้ำตาลเจือดำ มีองค์ประกอบเป็นสารที่มีขั้วต่ำและขั้วปานกลาง เนื่องจากละลายได้ดีใน Hexane, Dichloromethane, Chloroform, Ethyl acetate และ Acetone และไม่ละลายในน้ำและ Ethanol นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นด่าง เนื่องจากละลายได้ดีใน 10% NaOH และไม่ละลายใน 10% HCl

4. สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว คือที่สภาวะ Hexane : Acetone อัตราส่วน 5 : 1 ซึ่งสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 10 จุด โดยที่สภาวะอื่นๆ บางสภาวะก็สามารถแยกสารได้ดีเช่นกัน แต่ที่สภาวะ Hexane : Acetone อัตราส่วน 5 : 1 นี้เมื่อนำมาคำนวณค่า $R_f$ พบว่าค่าต่าง ๆ แยกจากกันอย่างชัดเจน ซึ่งคิดว่าเมื่อนำสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว มาทำการแยกด้วยเทคนิค Column chromatography สารสกัดหยาบน่าจะแยกออกจากกันได้ดีที่สุด

จากการนำสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวไปแยกด้วย Column chromatography และนำ fractions ต่างๆ ไปตรวจสอบด้วย TLC แล้วรวม fraction ที่มีลักษณะโครมาโทแกรมคล้ายกัน ได้ทั้งหมด 8 fractions พบว่าใน fractionที่ EX1 – 1 ได้สารที่มีความบริสุทธิ์มากที่สุด เนื่องจากเมื่อนำไปตรวจสอบด้วย TLC พบว่าได้สารที่เป็น spot หลักเพียง 1 จุด และไม่มีแถบของสารอื่นปะปน แต่ยังไม่ได้ทำการศึกษาต่อว่าเป็นสารชนิดใด เนื่องจากต้องใช้เทคนิคขั้นสูงในการตรวจสอบ เช่น Infrared spectroscopy (IR), Nuclear magnetic spectroscopy (NMR), Gas chromatography (GC), High-performance liquid chromatography (HPLC) และ Mass spectroscopy (MS) เป็นต้น

ดังนั้นในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัวจึงควรทำการแยกที่สภาวะ Hexane : Acetone อัตราส่วน 5 : 1 เพราะให้ผลการแยกดี และนำมาแยกสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค Column chromatography ได้

**ข้อเสนอแนะสำหรับการทำการศึกษาครั้งต่อไป**

จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบจาก Hexane ของใบกระบือเจ็ดตัว คือที่สภาวะ Hexane : Acetone อัตราส่วน 5 : 1 ในอนาคตควรมีการศึกษาสารสำคัญ เพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์แล้วนำมาทดสอบต่อ โดยควรศึกษาให้ลึกซึ้งถึงพฤกษเคมี เภสัชเคมี และพิษวิทยา ของสารสำคัญชนิดต่าง ๆ แต่ทั้งนี้ก็ต้องศึกษาความเป็นไปได้ของแต่ละขั้นตอนด้วย

# บรรณานุกรม


กิ่งมณี ทองยัง และคณะ 2544. **การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผลจันทร์เทศ และการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์.** โครงงานวิจัยทางเคมีปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาเคมี สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช.

โครงการวิจัยปลูกและรวบรวมพันธ์พืชสมุนไพร 2546. **สวนนานาพฤกษสมุนไพร.** พรรนิภา ชุมศรี บรรณาธิการ.

นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร 2543. (เล่ม 3) **สมุนไพรพื้นบ้าน.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

เผด็จ สังขไพฑูรย์ และคณะ 2545. **สมุนไพรไทย โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมผลิตสัตว์**. แสงเทียนการพิมพ์ กรุงเทพฯ.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ 2542. **การแพทย์แผนไทย สายใยแห่งชีวิตและวัฒนธรรม** . โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

ภาคภูมิ พานิชยูปการนันท์ 2542. **โครมาโทกราฟีในทางเภสัชเวช.** ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล 2536. **สมุนไพรรักษาโรคเรื้อรังบางชนิด.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

วิพุธ โยคะรัตนรังสี และสุวัตร์ ตั้งจิตรเจริญ 2540. **เพชรน้ำเอก กรุยอดตำรำสมุนไพร.** สุวีริยาสาส์น กรุงเทพฯ.

วีณา จิรัจฉริยากูล 2534. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช 2537. **ร่วมอนุรักษ์มรดกไทย เภสัชกรรมไทย รวมสมุนไพรฉบับปรับปรุงใหม่** โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้า กรุงเทพฯ.

สุธี วรคีรีนิมิตร 2546. **สรรพคุณพืชสมุนไพร ยาไทยบรรเทาโรค.** พิมพ์ทอง นนทบุรี.

โสภา คำมี 2544. **ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของพืชสมุนไพรบางชนิดต่อ Shigella spp.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

http://www.pramanda.ac.th/botany/infor.html#00;

http://dev.riu.ac.th/botany/detail.php?botany_id=7-53000-001-0020

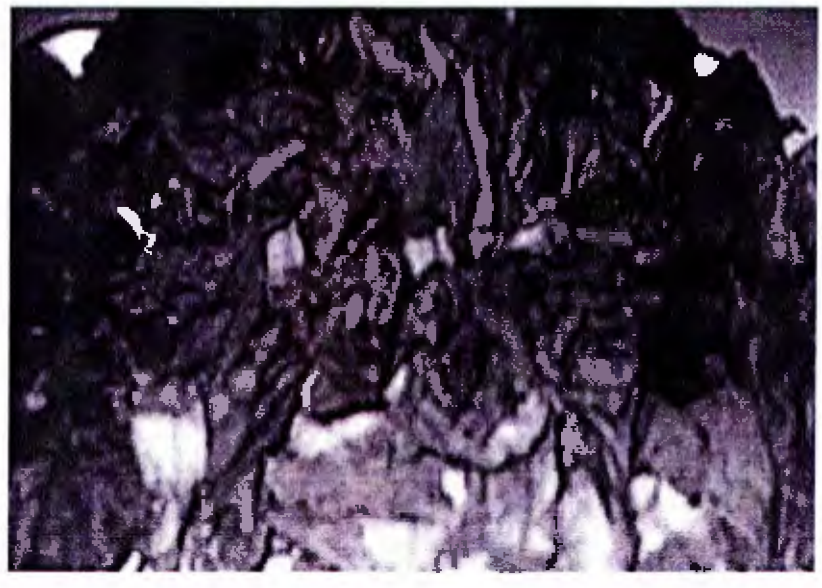
http://www.skn.ac.th/skl/tree/t157p1.htm

http://www.pramanda.ac.th/botany/infor.html#001

http://dev.riu.ac.th/botany/detail.php?botany_id=7-53000-001-0020

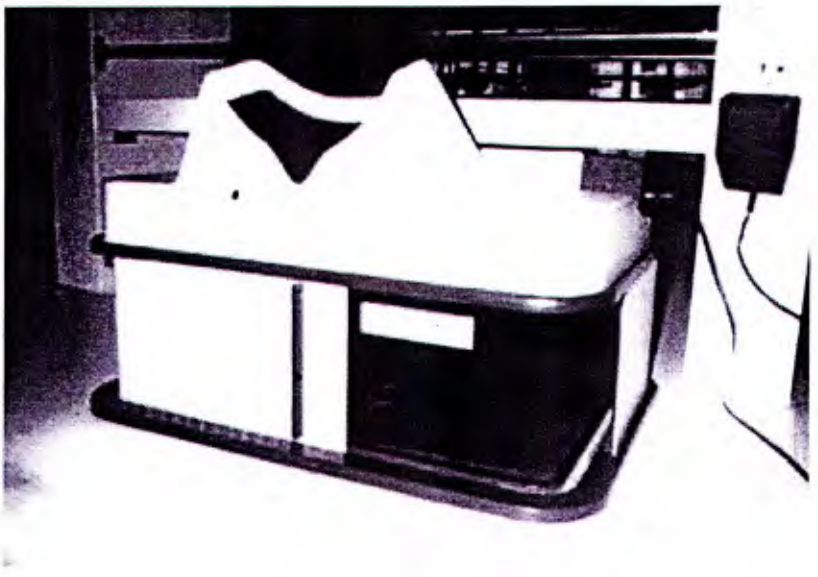
# ภาคผนวก

**รูปที่ 5.1** แสดงลักษณะของใบกระบือเจ็ดตัว

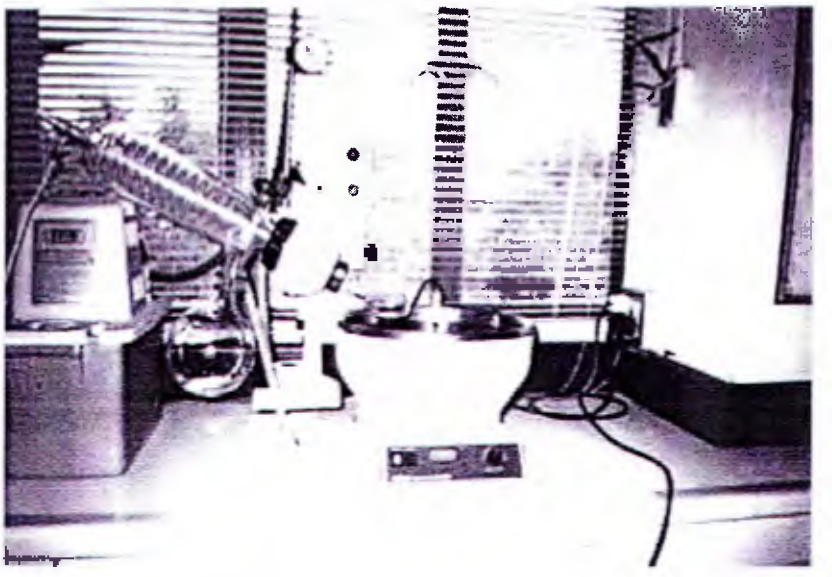


**รูปที่ 5.2** แสดงลักษณะใบกระบือเจ็ดตัวอบแห้ง

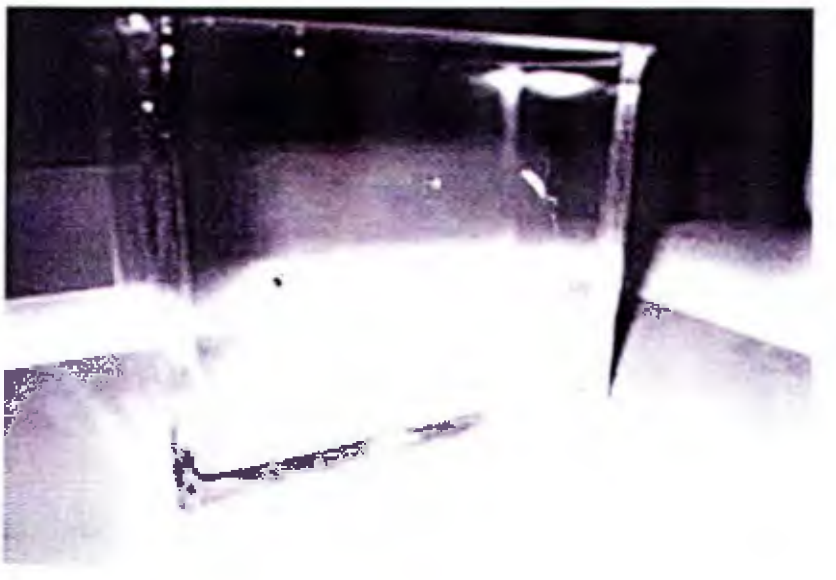
**รูปที่ 5.3** แสดงลักษณะใบกระบือเจ็ดตัวแห้ง และปั่นละเอียด



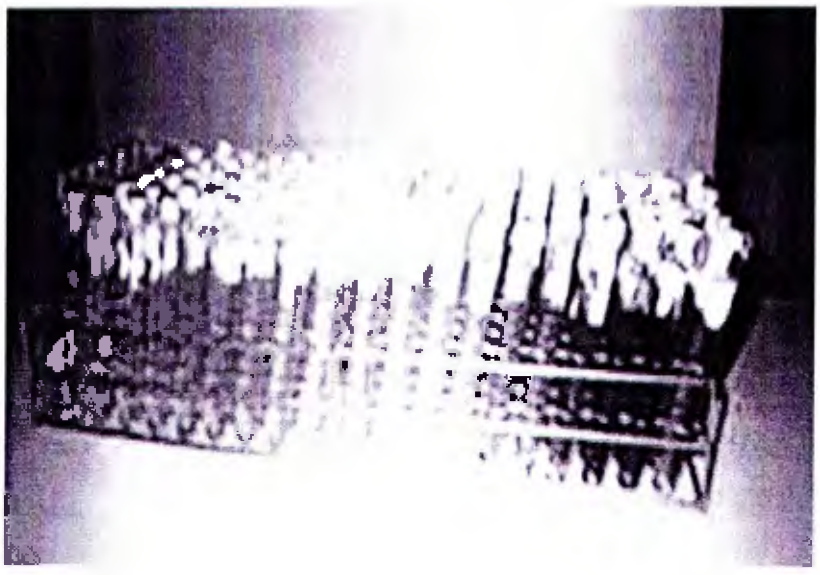
**รูปที่ 5.4** แสดงลักษณะของเครื่อง Spectronic instrument (UV light)



รูปที่ 5.5 แสดงลักษณะเครื่อง Rotary Evaporator

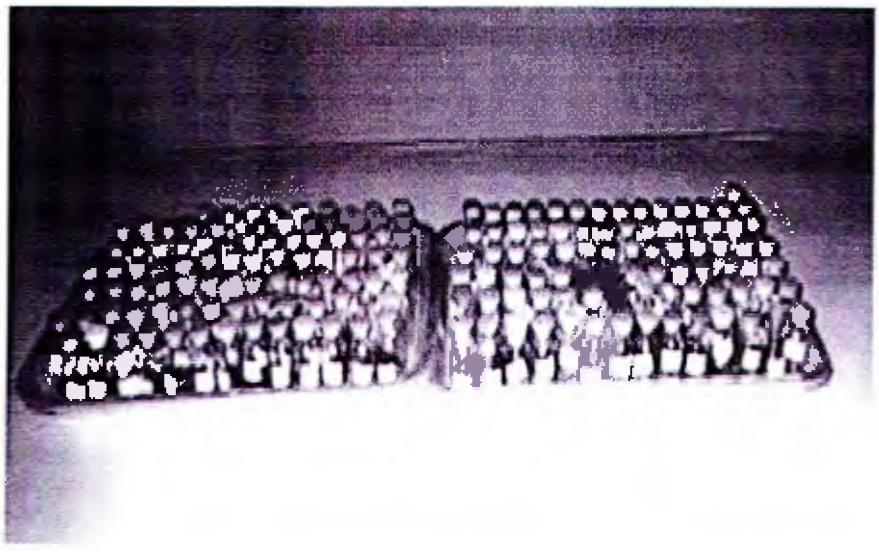


รูปที่ 5.6 แสดงลักษณะของ Tank

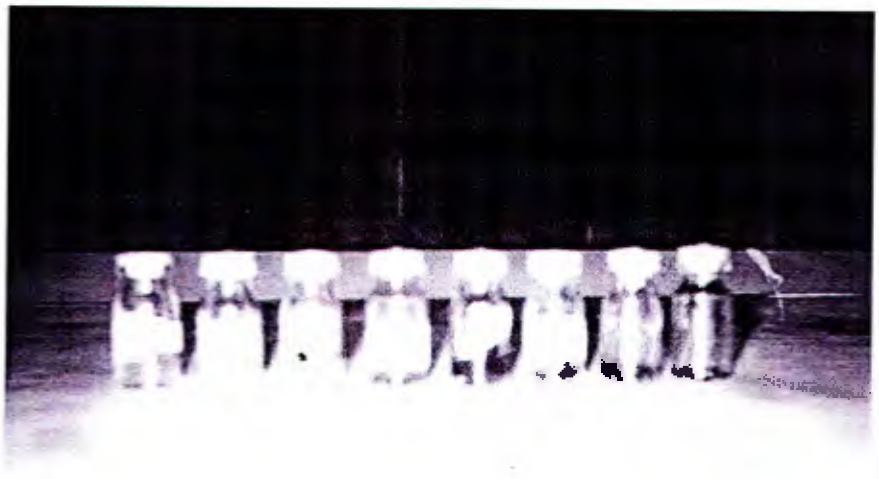


**รูปที่ 5.7** แสดงลักษณะสารตัวอย่างที่เก็บจาก Column

**รูปที่ 5.8** แสดงลักษณะของ Column



**รูปที่ 5.9** แสดงลักษณะสารตัวอย่างที่ผ่านการ Evap



**รูปที่ 5.10** แสดงลักษณะสารตัวอย่างที่ได้หลังจากรวม Fraction

# เค้าโครงงานวิจัย

**ชื่อโครงเรื่อง** การแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว(*Excoecaria cochinchinensis* Lour.)

**ชื่อผู้ทำวิจัย** นายวีระพันธ์ ใจแท้

**อาจารย์ที่ปรึกษา** อาจารย์ปิยนันท์ สังขไพฑูรย์

อาจารย์แน่งน้อย แสงเสน่ห์

**ที่มาและความสำคัญของการวิจัย**

การใช้ยาสมุนไพรนั้นมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในทุกครัวเรือนมาเป็นเวลานานแล้ว จนถึงปัจจุบันสมุนไพรก็ยังเป็นพืชที่มีคุณค่าทั้งทางยาและทางเศรษฐกิจที่ประชาชนชาวไทยยังให้ความนิยมอยู่ และใช้ในการปรุงยาแผนโบราณอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งชุมชนที่อยู่ในชนบท หรือที่ห่างไกลและทุรกันดาร ทั้งที่ยาสมุนไพรมีการเตรียมที่ยุ่งยาก ผู้เตรียมต้องมีความรู้ทางพฤกศาสตร์เป็นอย่างดี และรู้สรรพคุณของพืชชนิดนั้นๆ การรักษาไม่มีหลักสูตรหรือวิธีปฏิบัติที่แน่นอน อีกทั้งการรักษามักจะใช้พืชหลายชนิดมาประกอบกันเพื่อให้ได้ตัวยารักษาโรค จึงต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ และสันทัดกรณี จึงจะบังเกิดผลดี อนึ่ง ปัจจุบันความนิยมของยาสมุนไพรได้ลดน้อยถอยลงไปบ้าง เนื่องจากการแพทย์แผนปัจจุบันได้ให้ผลการรักษาเป็นที่น่าพึงพอใจ การเก็บรักษายาง่าย และรูปแบบของยาสะดวกต่อการใช้

อย่างไรก็ดี ปัจจุบันสมุนไพรกำลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศ ซึ่งตลาดต่างประเทศกำลังมีความต้องการสูงมาก ทั้งในอเมริกาและยุโรป หรือแม้แต่ในเอเชีย อีกทั้งคนส่วนใหญ่นิยมใช้สมุนไพรกันมากในลักษณะของการผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ใช้สมุนไพรเป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการสกัดสารเคมีต่างๆ เพื่อใช้ในการผลิตยาแผนปัจจุบันต่อไป

สำหรับในประเทศไทยนั้น การผลิตสมุนไพรส่วนใหญ่ใช้วิธีการเก็บหามาจากป่าธรรมชาติมากกว่าจะทำการเพาะปลูกเป็นการค้าแต่ก็มีบางชนิดที่เพาะปลูกกันมากและเป็นที่รู้จักกันดีในทางการค้า ขณะที่พืชบางชนิดมีการเพาะปลูกกันในประเทศไทยเป็นเวลานานแล้วจนสามารถเจริญเติบโตได้ดี แต่ยังมีปริมาณไม่มากนัก และยังไม่เป็นที่แพร่หลายทางการค้า ดังนั้นปริมาณการผลิตและการควบคุมคุณภาพจึงทำได้ยาก ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการขยายตลาด อย่างไรก็ดี แนวโน้มความต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศมีสูงขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่มักใช้ในลักษณะของการทำอาหารเสริม และทำเครื่องสำอางมากขึ้น แต่การจะส่งเสริมให้พืชสมุนไพรมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นนั้นจะต้องใช้เวลานานอีกพอสมควร เพื่อให้มีข้อมูลเพียงพอทั้งทางด้าน

วิทยาศาสตร์ พฤกษศาสตร์ สารเคมีในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ตลอดจนสรรพคุณทางด้านเภสัชวิทยา

กระบือเจ็ดตัวเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง ซึ่งแม้ว่าปัจจุบันจะไม่มีการใช้ในการรักษาโรคกันอย่างแพร่หลาย แต่ในอดีตเคยเป็นสมุนไพรที่มีความสำคัญและได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่ง โดยหมอแผนโบราณจะใช้รักษาโรคในสตรี

กระบือเจ็ดตัว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Excoecaria cochinchinesis* Lour. อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE พบมากแถบอินโดจีน ส่วนในประเทศไทยพบได้ทั่วทุกภาค โดยเฉพาะบริเวณที่มีดินร่วน ออกดอกตลอดปี ลักษณะลำต้นจะเป็นไม้พุ่มสูง 0.75 – 1.50 เมตร ใบรูปหอก กว้าง 1.5 – 4.5 เซนติเมตร ยาว 4 -13 เซนติเมตร ปลายแหลมเรียว ขอบจักละเอียด ด้านบนสีเขียว ด้านล่างสีแดงเจือม่วง ใบอ่อนผิวเป็นมัน ออกดอกสีเหลืองเจือเขียวขนาดเล็ก ออกเป็นช่อสั้นตามซอกใบ ผลมีรูปทรงค่อนข้างกลม แบ่งเป็น 3 พู เมื่อผลแก่จัดจะแตกออกเป็น 3 ส่วน ขยายพันธุ์โดยการปักชำกิ่งหรือตอนกิ่ง

**ประโยชน์**

**ข้อมูลจากเอกสาร** : ใช้ปลูกเป็นไม้ประดับ ใช้ทำดอกไม้ประดิษฐ์

**ข้อมูลจากภูมิปัญญาไทย** : ใบและราก ใช้ทำยาได้ ยาง ใช้เบื่อปลา ใบสด เป็นสมุนไพรใช้ตำผสมเหล้าโรงดื่มขับน้ำคาวปลาหลังคลอด แก้ประจำเดือนไม่ปรกติ แก้สันนิบาตหน้าเพลิง แก้อักเสบบริเวณปากมดลูก

**สรรพคุณทางยา**

**ใบ** ใช้เป็นยาแก้ประจำเดือนมาไม่ปกติ แก้ระดูตกมาก บำรุงโลหิต ขับน้ำคาวปลา แก้เลือดเป็นพิษในสตรีหลังคลอดบุตรใหม่ ทำให้เลือดดีขึ้น แก้บาดทะยักปากมดลูก หรือหมอแผนโบราณเรียกว่า “สันนิบาตหน้าเพลิง” แก้บวม ฟกช้ำ ดำเขียว ดับพิษร้อน ถอนพิษไข้

**กระพี้** ถอนพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ร้อนภายใน

**เนื้อไม้** ถอนพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง แก้ร้อนภายใน

ยาง ใช้เบื่อปลา

**สารเคมี**

daphnane triterpene , ellagic acid และ gallic acid

**ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา**

มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ลดความดันโลหิต การบีบตัวของกล้ามเนื้ออ่อนลง คลายกล้ามเนื้อเรียบ กล้ามเนื้อมดลูกบีบตัว ระคายเคือง ต้านเชื้อแบคทีเรีย acid

จากข้อมูลดังกล่าวทำให้เกิดความสนใจที่จะศึกษาสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว ที่เก็บมาจาก สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่างิ้ว อ. เมือง จ.นครศรีธรรมราช ในช่วงเดือนตุลาคม - เดือนพฤศจิกายน 2546 โดยใช้เทคนิค Thin-layer และ Column Chromatography

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารจากใบพืชสมุนไพรโดยใช้ Hexane
2. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารที่สกัดได้จากใบกระบือเจ็ดตัว โดยใช้เทคนิค Thin-layer Chromatography
3. เพื่อศึกษาการแยกสารสกัด โดยใช้เทคนิค Column Chromatography

**ขอบเขตของการวิจัย**

ผู้ทำวิจัยได้กำหนดขอบเขตของการทดลองไว้ ดังนี้

1. การทดลองครั้งนี้เป็นการสกัดสารจากใบสมุนไพรกระบือเจ็ดตัว เพื่อหาปริมาณน้ำหนักของ Crude ที่ได้ต่อน้ำหนักแห้งของใบพืช โดยใช้ Hexane เป็นสารสกัด
2. ต้องการสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดจากใบกระบือเจ็ดตัว โดยใช้เทคนิค Thin-layer Chromatography และ Column Chromatography

**งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และเอกสารอ้างอิง**

กิ่งมณี ทองยัง และคณะ 2544. **การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผลจันทร์เทศ และการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์.** โครงงานวิจัยทางเคมีปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาเคมี สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช.

นันทวัน บุณยะประภัศร และอรนุช โชคชัยเจริญพร 2543. (เล่ม 3) **สมุนไพรพื้นบ้าน.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ 2542. **การแพทย์แผนไทย สายใยแห่งชีวิตและวัฒนธรรม** . โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล 2536. **สมุนไพรรักษาโรคเรื้อรังบางชนิด.** คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช 2537. **ร่วมอนุรักษ์มรดกไทย เภสัชกรรมไทย รวมสมุนไพรฉบับปรับปรุงใหม่** โอ เอส พริ้นติ้งเฮ้า กรุงเทพฯ.

**แผนดำเนินงาน**

| ขั้นตอนการดำเนินงาน | 2546 | | | 2547 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. |
| 1. เตรียมงานค้นคว้าเอกสาร | ←→ | | | | | | |
| 2. เสนอหัวข้อวิจัย | ←→ | | | | | | |
| 3. เสนอโครงการวิจัย | ←→ | | | | | | |
| 4. เตรียมค้นคว้าเอกสารเพื่อ เขียนรายงาน | ←→ | → | | | | | |
| 5. เตรียมอุปกรณ์การวิจัย | ←→ | → | | | | | |
| 6. ดำเนินการวิจัยและเก็บข้อมูล | ← | | | | → | | |
| 7. วิเคราะห์ข้อมูล | | ← | | | | → | |
| 8. จัดทำรายงาน | | | | ← | | → | |
| 9. เสนอผลงาน | | | | | | | ←→ |

**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. การวิจัยครั้งนี้ สามารถทราบถึงชนิดของสารสกัดที่ได้จากกระบือเจ็ดตัว ซึ่งใช้สภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารสกัดโดยใช้เทคนิคทาง Chromatography
2. ผลการวิจัย เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาเกี่ยวกับกระบือเจ็ดตัว ในขั้นสูงต่อไป

**สถานที่จำวิจัย**

ห้อง 13315 ศูนย์วิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช

ลงชื่อ .....ผู้ทำวิจัย

(นายวีระพันธ์ ใจแท้)

ความเห็นของอาจารย์ที่ปรึกษา

.....

.....

.....

ลงชื่อ.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(นางปิยนันท์ สังขไพฑูรย์)

ความเห็นของอาจารย์ที่ปรึกษา

.....

.....

.....

ลงชื่อ.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(นางสาวแน่งน้อย แสงเสน่ห์)

# ประวัติผู้ทำโครงงานวิจัย

**ชื่อ** นายวีระพันธ์ ใจแท้

**วัน เดือน ปีเกิด** 26 กรกฎาคม 2524

**รหัสประจำตัว** 431415018

**โปรแกรมวิชา** เคมี

**ประวัติการศึกษา**

- จบชั้นประถมศึกษา จากโรงเรียนบ้านวัดใน ต.ขนอม อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช
- จบชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนขนอมพิทยา ต.ขนอม อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช
- จบชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาภาคใต้ ต.นาพรุ อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช
- ปัจจุบันกำลังศึกษาระดับปริญญาตรี โปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏนครศรีธรรมราช