การศึกษาวิธีการสกัดและปริมาณของสารสำคัญในสมุนไพรหญ้าเขาแพะ

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์[1] ปณิชา ชุติชัยจรัส[2] วิโรจน์ บุญอำนวยวิทยา[3*]
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี แขวงบางมด เขตทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140
สินธพ โฉมยา[4]
มหาวิทยาลัยศิลปากร ถ.ราชมรรคาใน ต.พระปฐมเจดีย์ อ.เมือง จ.นครปฐม 73000
และ วินิต อัศวกิจวิรี[5]
สำนักงานอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข ถ.ติวานนท์ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการสกัดสารสำคัญ Icariin จากหญ้าเขาแพะอบแห้งที่บดและไม่บดด้วยวิธีการสกัด 3 วิธี วิธีที่หนึ่ง คือ สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลอย่างเดียว วิธีที่สองสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงและวิธีที่สาม สกัดแบบ Soxhlet ผลการทดลองพบว่าวิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงให้ผลได้ที่สูงที่สุดประมาณ 40-45%w/w โดยใช้เวลา 60 นาที ทั้งนี้เนื่องจากคลื่นเสียงความถี่สูงทำให้ตัวทำละลายมีการสั่นสะเทือนที่ความถี่สูง ช่วยให้โมเลกุลของตัวทำละลายเคลื่อนตัวได้เร็วขึ้นและแทรกซึมได้ลึกมากขึ้น ทำให้สกัด Icariin ออกมาได้มากและใช้เวลาสั้นกว่าวิธีสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลและแช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงแต่เพียงอย่างเดียว การบดไม่มีส่วนทำให้ผลได้ของการสกัดสาร Icariin เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งในส่วนที่เป็นใบและส่วนหัว

คำสำคัญ : หญ้าเขาแพะ / สมุนไพร / Icariin / เอทานอล / คลื่นเสียงความถี่สูง / Soxhlet

* *Corresponding Author : piyabutr.wan@kmutt.ac.th*
1 *รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์*
2 *นักวิจัย ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์*
3 *ศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์*
4 *รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์*
5 *ผู้ทรงคุณวุฒิด้านมาตรฐานผลิตภัณฑ์ด้านสาธารณสุข*

Extraction and Quantitative Studies of Essential Compounds in Horny Goat Weed (Epimedium)

Piyabutr Wanichpongpan[1], Panicha Chutichaijarus[2], Virote Boonamnuayvitaya[3*]
King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Thungkru, Bangkok 10140
Sinthop Chomya[4]
Silpakorn University, RajamankhaNai Road, PhraPathom Chedi, Muang, Nakorn Pathom 73000
and Vinit Usavakidviree[5]
Thai Food and Drug Administration, Ministry of Public Health, Thanon Tiwanond Muang, Nonthaburi 11000

Abstract

In this study, extraction of essential compound icariin from dried ground and non-ground epimedium was studied by three methods. In the first method, only ethanol was used as the solvent. In the second method, ethanol along with ultrasonication was attempted. In the third method, Soxhlet extraction with ethanol as the solvent was conducted. The results showed that the yield of icariin was highest at around 40-45% when epimedium was extracted with ethanol along with ultrasonication for 60 min. The high yield was attributed to the enhancement of high frequency movement of the solvent by ultrasonication, so that the molecules of solvent can move faster and diffuse moredeeply into the matrix of epidemium.The extraction time was shorter than the sole solvent extraction, which required 12 h. Grinding had almost no significant effect on the yield of icariin when using either the leaves or roots of the plant.

Keywords : Epimedium / Herb/ Icariin / Ethanol / Ultransonic / Soxhlet

* *Corresponding Author : piyabutr.wan@kmutt.ac.th*
1 *Associate Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering.*
2 *Researcher, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering.*
3 *Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering.*
4 *Associate Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy.*
5 *Advisory in Standard of Health Products.*

1. บทนำ

พืชสมุนไพร เป็นผลผลิตจากธรรมชาติ ที่มนุษย์รู้จักนำมาใช้เป็นประโยชน์ เพื่อการรักษาโรคภัยไข้เจ็บตั้งแต่โบราณมาแล้ว ในเอเชียก็มีหลักฐานแสดงว่ามนุษย์รู้จักใช้พืชสมุนไพรมากกว่า 6,000 ปี บางชนิดก็ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาแผนปัจจุบัน สมุนไพรหลายชนิด ถูกนำมาใช้ในรูปของยากลางบ้าน ยาแผนโบราณ ต่อมาความรู้ด้านวิทยาศาสตร์มีการพัฒนาเจริญก้าวหน้ามากขึ้น มีการสังเคราะห์ และผลิตยาจากสารเคมี ในรูปที่ใช้ประโยชน์ได้ง่าย สะดวกสบายในการใช้มากกว่าสมุนไพร ทำให้ความนิยมใช้ยาสมุนไพรลดลงมาเป็นอันมากเป็นเหตุให้ความรู้วิทยาการด้านสมุนไพรขาดการพัฒนาไม่เจริญก้าวหน้าเท่าที่ควร อย่างไรก็ดีในปัจจุบันทั่วโลกก็ให้การยอมรับว่า ผลที่ได้จากการใช้ยาที่สกัดจากสมุนไพรธรรมชาติให้คุณประโยชน์ดีกว่ายาที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี และยังสามารถนำสมุนไพร มาพัฒนาเป็นเครื่องสำอาง อาหารเสริม ผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์ และผลิตภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย [1]

ยาจากสมุนไพร (ยาแผนโบราณ) เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ส่งผลให้ธุรกิจยาจากสมุนไพรขยายตัวอย่างรวดเร็วครอบคลุมไปถึงตัวยาสารสกัดสมุนไพรต่างๆ พิจารณาจากมูลค่าการผลิตและการนำเข้ายาแผนโบราณจากการรวบรวมของกองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา พบว่าในช่วงแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 6 (พ.ศ.2530-2534) มีการขยายตัวร้อยละ 5 ต่อปี และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 7 ต่อปี ในช่วงแผนพัฒนาฯ ฉบับที่ 7 (พ.ศ.2535-2539) จากการที่ผู้บริโภคบางส่วนปรับเปลี่ยนพฤติกรรมจากการบริโภคยาแผนปัจจุบัน ซึ่งมีราคาจำหน่ายค่อนข้างสูง และผู้บริโภคเชื่อว่าน่าจะมีผลข้างเคียงจากพิษของสารเคมีจากการใช้ยาแผนปัจจุบันค่อนข้างสูง จึงหันมาบริโภคยาแผนโบราณที่มีราคาจำหน่ายต่ำกว่าและเชื่อว่ามีอันตรายจากการบริโภคน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกัน มูลค่าการผลิตและการนำเข้ายาแผนโบราณในปี พ.ศ.2556 อยู่ที่ 4,722.776,690.490 ล้านบาทตามลำดับ [2] และพบว่าการรณรงค์ให้ใช้ยาจากสมุนไพรทดแทนยาแผนปัจจุบันของภาครัฐ กอปรกับยาจากสมุนไพรมีราคาจำหน่ายต่ำกว่าและให้โทษต่อร่างกายน้อยกว่า ทำให้ยาจากสมุนไพรเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคเพิ่มขึ้น โดยปริมาณจำหน่ายในช่วงครึ่งแรกปี พ.ศ.2556 ขยายตัวจากช่วงเดียวกับปีก่อนถึงกว่าร้อยละ 20 ส่วนแนวโน้มตลาดยาสมุนไพรในปี พ.ศ.2558 คาดว่าจะขยายตัวต่อเนื่องจากปีก่อนๆ ทั้งจากความพยายามคิดค้นผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรของผู้ประกอบการให้มีความหลากหลาย และการที่ผู้บริโภคหันมายอมรับการใช้ยาจากสมุนไพรรักษาโรคกันมากขึ้น

หญ้าเขาแพะ (Horny Goat Weed หรือ อิมเอี้ยงคัก) ตามองค์ความรู้ศาสตร์การแพทย์แผนจีนเป็นพืชสมุนไพรที่มีประสบการณ์การใช้ที่โดดเด่น ในการใช้บำรุงร่างกาย โดยเฉพาะการบำรุงระบบการทำงานของไต ซึ่งตามศาสตร์การแพทย์แผนจีน ไตเป็นหน่วยของร่างกายที่สำคัญในการกรองของเสียที่เป็นของเหลวและกำจัดออกจากร่างกาย ทำให้ระบบการไหลเวียนโลหิตทำงานได้เป็นปกติ ส่งผลทำให้สุขภาพร่างกายโดยองค์รวมมีความแข็งแรงดี จึงใช้หญ้าเขาแพะมาใช้เป็นยาบำรุงร่างกายได้ตามเอกสารที่มีการศึกษาหาสารสำคัญในพืชดังกล่าวมีสาร Icariin เท่าที่ได้มีการสืบค้นเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาวิธีการสกัดและปริมาณของสารสำคัญ Icariin ในหญ้าเขาแพะตลอดจนปริมาณสารสำคัญ Icariin ในยาแผนโบราณและแผนปัจจุบัน พบว่ามีงานวิจัยที่เผยแพร่ในวารสารวิชาการต่างประเทศมากพอสมควร [3-6] ส่วนเอกสารวิชาการที่เผยแพร่ในประเทศไทยยังไม่ปรากฏชัดเจน

การสกัดสารจากวัสดุธรรมชาติ มีหลายกระบวนการด้วยกัน โดยทั่วไปเป็นการใช้สารทำละลายอินทรีย์เอทานอลร่วมกับวิธีการต่างๆ เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของสารอาทิ การให้ความร้อน การกวน การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง [7] นอกจากนั้นยังมีปัจจัยของสมบัติทางกายภาพ ขนาดของตัวอย่าง รวมทั้งแหล่งผลิตของวัสดุธรรมชาติ

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยจึงมุ่งเน้นศึกษาวิธีการสกัดและปริมาณของสารสำคัญ Icariin ในหญ้าเขาแพะ โดยมีตัวแปรเป็นแหล่งผลิตของหญ้าเขาแพะ สมบัติทางกายภาพ หรือขนาดของสารสกัด ที่อบแห้งและบดหรือไม่บด และวิธีการสกัด 3 วิธี วิธีที่หนึ่งคือสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลอย่างเดียว วิธีที่สองสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงและวิธีที่สามสกัดแบบ Soxhlet เพื่อหาวิธีการสกัดที่เหมาะสม

2. วัตถุดิบและวิธีการทดลอง

2.1 วัตดุดิบ

หญ้าเขาแพะจัดเป็นพืชล้มลุกชนิดหนึ่งในอาณาจักรพืช (Plantae) เป็นพืชในวงศ์ Ranunculales เป็นพืชในตระกูล Berberidaceae เป็นพืชในจีนัส Epimedium ในงานวิจัยนี้ใช้หญ้าเขาแพะนำเข้าจากประเทศจีน 2 แหล่งใช้ชื่อย่อ EP1 และ EP2 หญ้าเขาแพะ EP1 ใช้ส่วนใบ (EP1L) และส่วนหัว (EP1R) ส่วนหญ้าเขาแพะ EP2 ใช้ส่วนใบ

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบตัวอย่างหญ้าเขาแพะจากแหล่งผลิต 2 แห่ง

ตัวอย่างวิจัย		
ประเภทตัวอย่างวิจัย	ตัวอย่างหญ้าเขาแพะชนิดที่ 1 (EP1) ด้านซ้ายเป็นส่วนใบ ด้านขวาเป็นส่วนหัว	ตัวอย่างหญ้าเขาแพะชนิดที่ 2 (EP2)
สภาพที่ได้มา	ใบแห้งสีน้ำตาล มีกลิ่นเฉพาะตัวแรง	ใบแห้งสีเขียวน้ำตาล มีกลิ่นเฉพาะตัวแรง
แหล่งที่มา	สั่งซื้อจากร้านคุนหมิงเทียนเต้า เทรดดิ้ง คอมพานี นครคุนหมิง มณฑลยูนนาน ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน	สั่งซื้อจากร้านขายยาแผนจีน โรงพยาบาลหัวเฉียว กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
แหล่งที่ปลูก	อำเภอเทียนชัน จังหวัดฮุ่ยโจว ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน	อำเภอหลงหู จังหวัดซานโถว ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
รูปพรรณ	หญ้าเขาแพะชนิดใบใหญ่มนกว้างมีขนสั้น	หญ้าเขาแพะชนิดใบเรียวแหลมมีขนยาว
จีนัส	Epimedium	Epimedium
สีดอก	ขาวเกสรตัวผู้และตัวเมียมีสีเหลือง	ชมพูอ่อนเกสรตัวผู้และตัวเมียมีสีแดง

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างก่อนสกัด

นำตัวอย่างหญ้าเขาแพะ EP1 ที่มีส่วนใบ (EP1L) และส่วนหัว (EP1R) และ หญ้าเขาแพะ EP2 ที่มีส่วนใบอย่างเดียว (EP2L) อบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส แยกตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกเป็นแบบไม่บด ส่วนชุดที่สองแบบบดตัวอย่างให้ได้ขนาดที่ต้องการ 425 ไมโครเมตร

2.2.2 วิธีการสกัด

นำสารตัวอย่างที่เตรียมไว้ทั้ง 2 ชุดผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 30%โดยปริมาตร ที่อัตราส่วนมวลสารตัวอย่างต่อเอทานอล 0.5 กรัม : 50 มิลลิลิตร แล้วทำการสกัดด้วยวิธีการสกัด 3 แบบ

วิธีที่ 1 สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลอย่างเดียว เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

วิธีที่ 2 สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (Ney, Ultrasonik cleaner Model 208H) ที่ความถี่ 44-48 KHz เป็นเวลา 60 นาที

วิธีที่ 3 สกัดแบบ Soxhlet เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

สารที่สกัดได้นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman filter paper No.1 และกรองด้วย syringe filter 0.45 ไมโครลิตร แล้วนำไปฉีดวิเคราะห์หาปริมาณสาร Icariin เทียบกับสารมาตรฐาน Icariin โดยใช้เทคนิค HPLC

2.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Icariin

นำสารมาตรฐาน Icariin (Yunnan Enva Biotechnology Co., Ltd., China) มาชั่ง 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 กรัมละลายใน เมทานอล (HPLC grade, ACI Labscan) 25 มิลลิลิตรนำไปวางในเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (NEY ULTRAsonik, Model Isothemp 208 H, Germany) เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นหลังจากนั้นเติม Ammonium acetate (AJAX Finechem Pty. Ltd., Netherland) ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตรปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางในเครื่องคลื่นความถี่สูงอีก 10 นาที จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1000, 2000, 3000 และ 4000 ppm นำสารละลายมาตรฐานกรองด้วย syringe filter 0.45 µm ในหลอดทดลองและนำไปฉีดตัวอย่างด้วยเครื่อง HPLC (Waters/Aliance, Model E2695, USA) ใช้คอลัมน์ Kromster TMC18 HPLC column, 4.6 x 250 มิลลิเมตร ดีเทคเตอร์ 254 นาโนเมตรด้วยอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที ปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าเครื่อง 10 ไมโครลิตร รันไทม์ 25 นาที

สำหรับการเตรียม Mobile phase ใช้อัตราส่วน 35:65 ผสมระหว่าง Mobile phase A ของ Ammonium acetate ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร และ Mobile phase B ของ Methanol (HPLC grade) ด้วย Isocratic elution

Mobile Phase A: Ammonium acetate 0.01 mol/L ละลาย Ammonium acetate 0.77 กรัม ด้วยน้ำ deionized และปรับปริมาตรทั้งหมดให้เป็น 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำ deionized นำสารละลายไปกรองด้วย เยื่อสังเคราะห์เซลลูโลสขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

Mobile Phase B: เมทานอล (HPLC grade) นำสารละลายไปกรองด้วยเยื่อสังเคราะห์เซลลูโลสขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

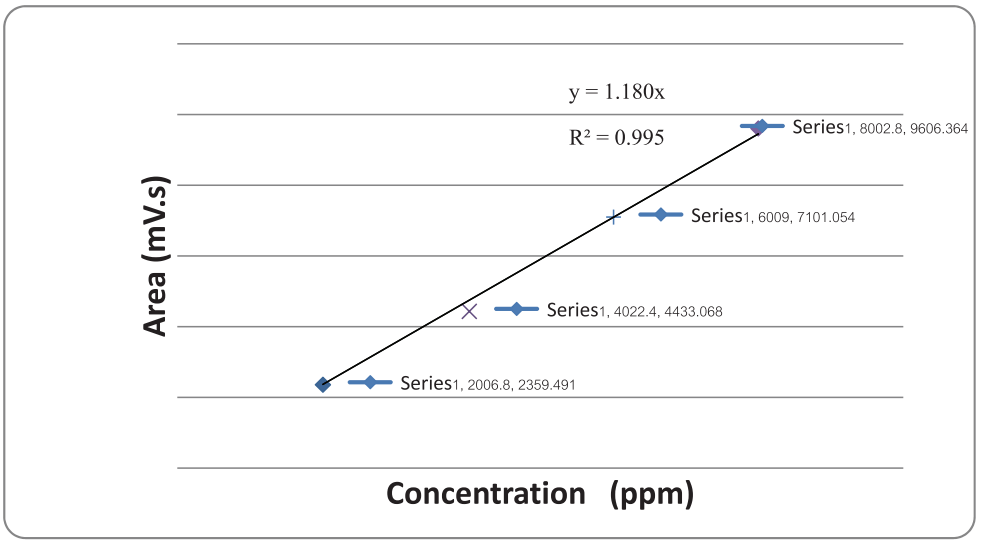
3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Icariin

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Icariin สรุปได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Icariin

น้ำหนัก (กรัม)	Retention (นาที)	Area (mV.s)	AV. Area (mV.s)	Concentration (ppm)
0.10034	14.95	2505.588	2359.491	2000.00
	14.94	2316.960		
	15.09	2255.924		
0.20112	14.76	4437.099	4433.068	4000.00
	14.76	4456.795		
	14.9	4405.309		
0.30045	14.92	7142.201	7101.054	6000.00
	14.61	7025.993		
	14.61	7134.967		
0.40014	14.64	9684.222	9606.364	8000.00
	14.60	9314.397		
	14.64	9820.474		

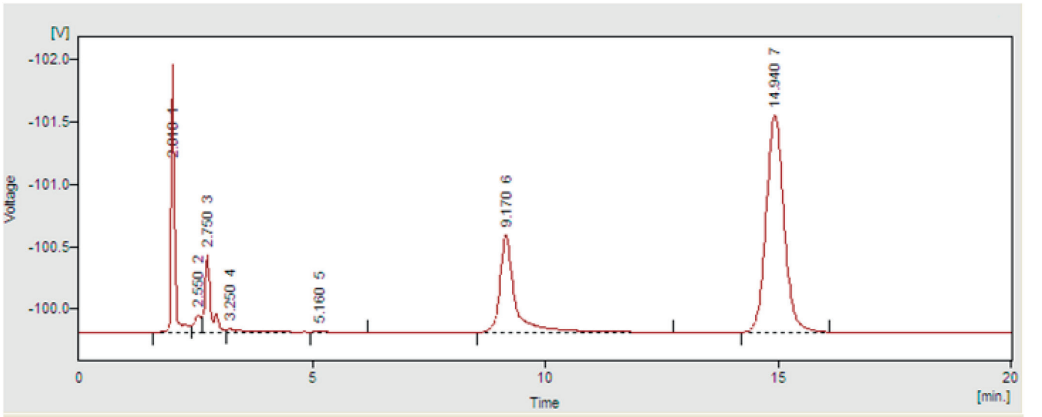
ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ในหน่วย mV.s และความเข้มข้นของสารสำคัญ Icariin ในช่วง 2000-8000ppm ที่แสดงในตารางที่ 2 สามารถนำไปสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายมาตรฐาน Icariin ได้ตามรูปที่1



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานสำหรับสารละลายมาตรฐาน Icariin

3.2 การศึกษาการวิเคราะห์สารสำคัญ Icariin ด้วย HPLC

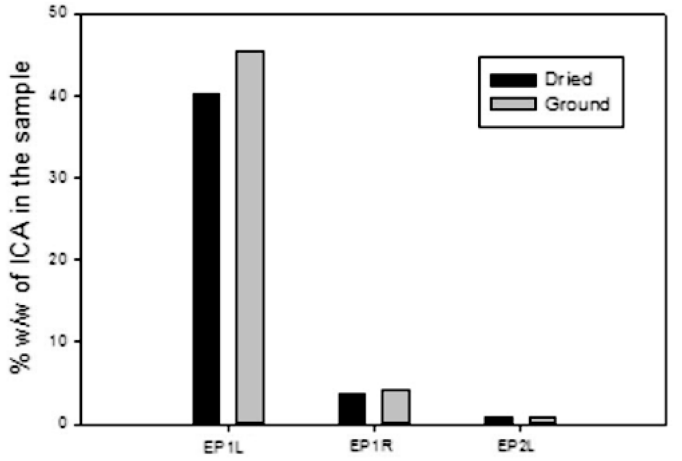
การศึกษาการวิเคราะห์สารสำคัญ Icariin ด้วยเครื่อง HPLC แสดงได้ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดง HPLC Spectra ของสารสำคัญ Icariin ซึ่งปรากฏพีคหลัก 4 พีค ที่ช่วงเวลา 2.01±0.03, 2.75±0.03, 9.17±0.03 และ 14.94±0.03 นาที ตามลำดับ HPLC Spectra ของสารมาตรฐาน Icariin มีความคมชัดและมีสัญญาณรบกวนน้อยกว่าของสารตัวอย่างหญ้าเขาแพะ

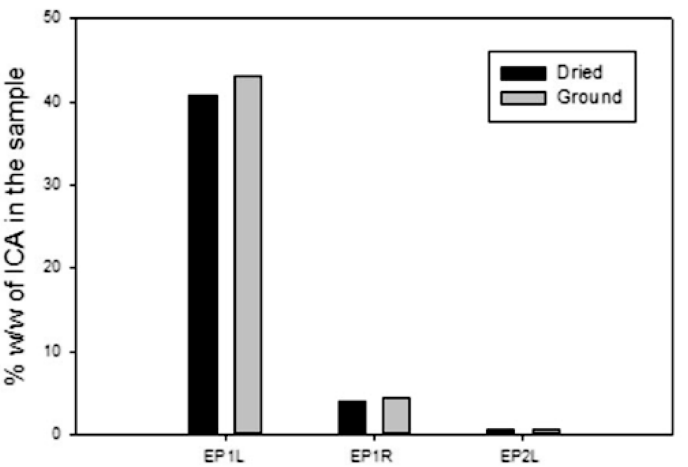
3.3 การศึกษาวิธีการสกัดต่อผลได้ (Yield) ของสารIcariin

ผลได้ (Yield) ของสาร Icariin โดยวิธีการสกัดทั้ง 3 แบบ แสดงในรูปที่ 3-5 ซึ่งพบว่าการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงให้ผลได้ที่สูงที่สุด (รูปที่ 3) ทั้งนี้เนื่องจากคลื่นความถี่สูงทำให้เกิดฟองขนาดเล็กในสารทำละลาย ฟองขนาดเล็กนี้ดูดซับพลังงานจากคลื่นเสียง เพื่อมีความดันหรือ อุณหภูมิสูง ฟองจะแตกและปลดปล่อยพลังงานสู่สารทำละลาย หรือเรียกว่า acoustic cavitation [8] ช่วยให้สารทำละลายเคลื่อนตัวได้เร็วขึ้นและแทรกซึมได้ดีมากขึ้น [3] Toma และคณะ [7] รายงานว่าแรงสั่นสะเทือนที่เกิดจาก acoustic cavitation ทำให้เนื้อเยื่อของวัสดุเกิดการหลุดแยกชั้นออกมา



รูปที่ 3 ผลได้ (Yield) ของสาร Icariin จากตัวอย่างหญ้าเขาแพะที่มีการบด (Ground) และไม่บด (Dried) ตัวอย่างหญ้าเขาแพะ ในการสกัดด้วยเอทานอล 30%vol ร่วมกับเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นเวลา 60 นาที

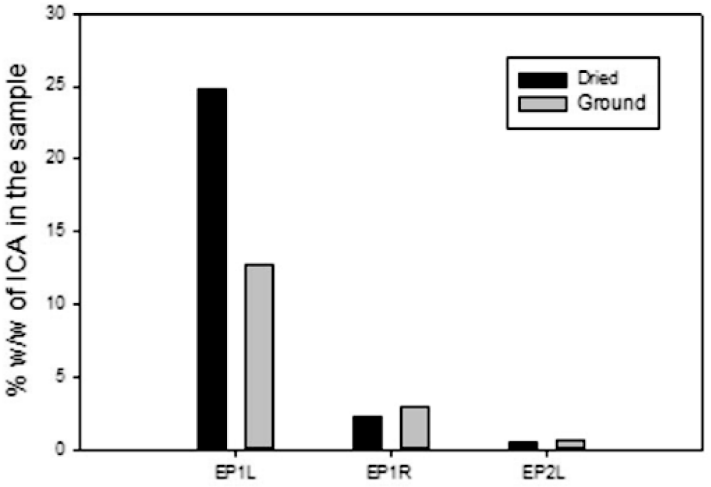
การบดมีส่วนทำให้การสกัดได้เร็วขึ้น รูปที่ 4 แสดงให้เห็นว่าส่วนที่เป็นใบของหญ้าเขาแพะเมื่อถูกบดเป็นอนุภาคเล็กๆสามารถสกัด Icariin ออกมาได้มากประมาณ 40-45 %w/w ในช่วงระยะเวลาเพียง 60 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่แช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลได้สูงใกล้เคียงกันที่ 40-43 %w/w (รูปที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่ผิวของหญ้าเขาแพะที่เพิ่มมากขึ้น สอดคล้อง



รูปที่ 4 ผลได้ (Yield) ของสาร Icariin จากตัวอย่างหญ้าเขาแพะที่มีการบด (Ground) และไม่บด (Dried) ตัวอย่างหญ้าเขาแพะ ในการสกัดด้วยเอทานอลอย่างเดียว 30%vol เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

กับผลการทดลองของ Zhang และ คณะ [4]

อย่างไรก็ตาม การใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงระดับอุตสาหกรรมอาจมีปัญหาในเรื่องการลงทุนเนื่องจากราคาสูง วิธีการแช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงจึงเป็นทางเลือกวิธีหนึ่งสำหรับการสกัดโดยวิธี Soxhlet นั้น (รูปที่ 5) ได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากเวลาในการสกัดที่สั้นกว่า ในขณะที่อุณหภูมิที่สูง



รูปที่ 5 ผลได้ (Yield) ของสาร Icariin จากตัวอย่างหญ้าเขาแพะที่มีการบด (Ground) และไม่บด (Dried) ตัวอย่างหญ้าเขาแพะ ในการสกัดด้วยเอทานอล 30%vol แบบ Soxhlet เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ขึ้นก็ดูเหมือนว่าไม่มีผลต่อการสกัด Zhang และคณะ [4] ซึ่งพบว่าการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงนี้ ให้ผลได้ที่ดีกว่าการสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วย Soxhlet เช่นกัน จากการสังเกตด้วยภาพถ่าย SEM พบว่าสารสกัดในส่วนที่เป็นใบหญ้าเขาแพะไม่ถูกย่อยสลายให้เล็กลงเหมือนในกรณีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงอย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับ สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activities) ของโพลิแซคคาไลด์ในหญ้าเขาแพะที่สกัดโดยการต้มด้วยน้ำร้อนจะทำให้ได้ค่าความต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า [5] นอกจากวิธีต่าง ๆ ดังได้กล่าวมานี้ ยังมีการประยุกต์ใช้ไมโครเวฟช่วยในสกัดอีกด้วย [6]

3.4 การบดต่อผลได้ (Yield) ของสาร Icariin

จากรูปที่ 3-5 พบว่า การบดไม่มีส่วนทำให้ผลได้ของการสกัดสาร Icariin เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ทั้งในส่วนที่เป็นใบและส่วนหัว ทั้งนี้อาจเนื่องสาร Icariin ละลายได้ง่ายในเอทานอล และเคลื่อนตัวได้เร็วจนอิทธิพลของการแพร่ไม่มีผลต่อการสกัดด้วยวิธีการแช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง และวิธีแบบคลื่นเสียงความถี่สูงอย่างไรก็ตาม การบดส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการสกัดด้วยวิธี Soxhlet ในตัวอย่าง EP1L เนื่องจากความร้อนทำให้การแพร่เกิดขึ้นได้เร็วขึ้น ในส่วนที่เป็นใบ แต่ในส่วนที่เป็นหัว (EP1R) ก็ได้ผลที่ไม่ดีมากนัก

3.5 ชนิดของสารตัวอย่างต่อผลได้ (yield) ของสาร Icariin

จากรูปที่ 3-5 พบว่า สารตัวอย่างหญ้าเขาแพะ EP1 โดยเฉพาะส่วนที่เป็นใบ EP1L ให้ผลได้ที่สูงที่สุด 40-45 %w/w ส่วนที่เป็นหัว EP1R มีเพียง 10%w/w ของส่วนที่เป็นใบ สำหรับหญ้าเขาแพะ EP2L ที่เป็นใบนั้น ให้ผลได้ที่ต่ำมากประมาณ 1-1.5%w/w เท่านั้นเมื่อเทียบกับ EP1L

Takeuchi และคณะ [9] ได้ทดลองศึกษาการสกัดสาร Icariin ในหญ้าเขาแพะที่เพาะปลูกในประเทศญี่ปุ่นโดยใช้เอทานอลร่วมกับเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงผลได้มีความแตกต่างตามตัวอย่าง ตัวอย่างที่ 1 และ 2 ผลได้ 1.82 และ 8.32 (mg/g) ตามลำดับ ซึ่งยังอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าผลได้ในงานวิจัยนี้

ผลการทดสอบจึงชี้ให้เห็นชัดว่า การเลือกหญ้าเขาแพะจากแหล่งผลิตที่ดีมีผลกระทบสูงต่อปริมาณของสาร Icariin

4. บทสรุป

ผลการวิจัยสามารถสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

• หญ้าเขาแพะเป็นพืชที่มีสารสำคัญ Icariin เป็นองค์-ประกอบซึ่งมีข้อมูลการศึกษาว่าสารดังกล่าวมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่ออกฤทธิ์คล้ายสารเคมีที่ใช้เป็นยา Erectile Dysfunction สรรพคุณบำรุงของสมุนไพรจึงอาจเกี่ยวเนื่องจากฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสาร Icariin ที่มีในสมุนไพร

• การสกัดสารสำคัญ Icariin จากหญ้าเขาแพะด้วยวิธีการสกัด 3 แบบพบว่าการใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงให้ผลได้ที่สูงที่สุดทั้งนี้เนื่องจากคลื่นความถี่สูงทำให้เกิด acoustic cavitation แรงสั่นสะเทือนที่เกิดจากการแตกตัวของฟองขนาดเล็กส่งพลังงานไปยังสารทำละลายช่วยทำให้โมเลกุลของสารทำละลายเคลื่อนตัวได้เร็วขึ้นและแทรกซึมได้ลึก สามารถสกัด Icariin ออกมาได้มากประมาณ 40-45 %w/w โดยใช้เวลาสั้นกว่าวิธีการแช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลได้สูงใกล้เคียงกันที่ 40-43 %w/w

• การบดไม่มีส่วนทำให้ผลได้ของการสกัดสาร Icariin เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ ทั้งในส่วนที่เป็นใบและส่วนหัว ทั้งนี้อาจเนื่องสาร Icariin ละลายได้ง่ายในเอทานอลและเคลื่อนตัวได้เร็ว อิทธิผลของการแพร่ไม่มีผลต่อการสกัดด้วยวิธีการแช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงและวิธีแบบคลื่นเสียงความถี่สูง

• สารตัวอย่างหญ้าเขาแพะ EP1 โดยเฉพาะส่วนที่เป็นใบ EP1L ให้ผลได้ที่สูงที่สุด 40-45 %w/w ส่วนที่เป็นหัว EP1R มีเพียง 10% ของส่วนที่เป็นใบ สำหรับหญ้าเขาแพะ EP2L ที่เป็นใบนั้น ให้ผลได้ที่ต่ำมากประมาณ 1-1.5% เท่านั้นเมื่อเทียบกับ EP1L

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการวิจัยพืชสมุนไพรเพื่อส่งเสริมผู้ประกอบการรายใหม่ กระทรวงศึกษาธิการและภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีและบริษัทบิลเลียนแนร์เฮิร์บส์ จำกัด จ.ปทุมธานี ที่สนับสนุนทุนวิจัยและการทำงานวิจัยนี้

6. เอกสารอ้างอิง

1. Chunhawaraporn, R., [Online] Available : http://www.angelfire.com/ri2/rangsan/important.html [July 2016]. (In Thai)

2. http://drug.fda.moph.go.th/zone_search/files/sea001_002.aspH. [July 2016].

3. Zhang, H.F., Yang, X.H., Zhao, L.D. and Wang, Y., 2009, “Ultrasonic-assisted Extraction of Epimedin C from Fresh Leaves of Epimedium and Extraction Mechanism,” *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, pp. 54-60.

4. Zhang, H.F., Yang T.S, Li, Z.Z. and Wang, Y., 2007, Simultaneous Extraction of Epimedin A, B, C and Icariin from Herba Epimedii by Ultrasonic Technique, Ultrason Sonochem,15 (4), pp. 376-85.

5. Cheng, H., Feng, S., Jia, X., Li, Q., Zhou, Y. and Ding, C., 2013,“Structural Characterization and Antioxidant Activities of Polysaccharides Extracted from *Epimedium acuminatum,” Carbohydrate Polymers*, 92, pp. 63–68.

6. Zhang, H.F., Zhang, X., Yang, X.H., Qiu, N.X., Wangc, Y. and Wang, Z.Z, 2013, “Microwave Assisted Extraction of Flavonoids from Cultivated *Epimedium sagittatum*: Extraction Yield and Mechanism, Antioxidant Activity and Chemical Composition,” *Industrial Crops and Products*, 50, pp. 857–865.

7. Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L. and Mason, TJ., 2001, “Investigation of the Effects of Ultrasound on Vegetal Tissues during Solvent Extraction,” *Ultrason Sonochem*, 8, pp. 137-42.

8. Hemwimol, S., Pavasan, P. and Shotipruk, A., 2006, “Ultrasound-assisted Extraction of Morinda Citrifolia,” *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, pp. 543-548.

9. Takeuchi, H., Hayashi, K. and Shimura, K., 2013, “Studies on Extraction and Determination of Icariin in Epimedii Herba,” *Miehogokennenpo*, 58, pp. 63-65.