ผลของ pH ต่อประสิทธิภาพการสกัด Terpene Lactone จากใบแปะก๊วย

Effect of pH for Extraction from *Ginkgo biloba* leaves

นายจรัสระวี ศรีรักษา

นางสาวชนนพร เพ็ชร์งาม

นางสาวรุจยา ภาสสุวรรณ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2557

ผลของ pH ต่อประสิทธิภาพการสกัด Terpene Lactone จากใบแปะก๊วย

Effect of pH for Extraction from *Ginkgo biloba* leaves

นายจรัสระวี ศรีรักษา

นางสาวชนนพร เพ็ชร์งาม

นางสาวรุจยา ภาสสุวรรณ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effect of pH for Extraction from *Ginkgo biloba* leaves

Mr. Jaradrawee Sriruksa

Miss Chanonporn Petngam

Miss Rujaya Passuwan

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN ENVIRONMENTAL CHEMISTRY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2014

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับผู้ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของ pH ต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร Terpene Lactone จากใบแปะก๊วย

Effect of pH for Extraction from *Ginkgo biloba* leaves

ชื่อนักศึกษา นายจรัสระวี ศรีรักษา รหัส 54051052

นางสาวชนนพร เพ็ชร์งาม รหัส 54051062

นางสาวรุจยา ภาสสุวรรณ รหัส 54051115

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เคมีสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อมประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	
ดร.ธิปชัย วัฒนวิจารณ์	
ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของ pH ต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร Terpene Lactone จากใบแปะก๊วย

Effect of pH for Extraction from *Ginkgo biloba* leaves

ชื่อนักศึกษา นายจรัสระวี ศรีรักษา รหัส 54051052

นางสาวชนนพร เพ็ชร์งาม รหัส 54051062

นางสาวรุจยา ภาสสุวรรณ รหัส 54051115

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เคมีสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีสิ่งแวดล้อมประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	
ดร.ธิปชัย วัฒนวิจารณ์	
ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของ pH ต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร Terpene Lactone จากใบแปะก๊วย Effect of pH for Extraction from *Ginkgo biloba* leaves
ชื่อนักศึกษา	นายจรัสระวี ศรีรักษา รหัส 54051052 นางสาวชนนพร เพ็ชร์งาม รหัส 54051062 นางสาวรุจยา ภาสสุวรรณ รหัส 54051115
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2557
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์

บทคัดย่อ

แปะก๊วย (*Ginkgo biloba*) เป็นหนึ่งในสมุนไพรจีนที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคหลายชนิด และยังเชื่อว่าเป็นพืชที่เก่าแก่ที่สุดชนิดหนึ่ง ในใบแปะก๊วยนั้นมีสารในกลุ่ม Terpene Lactones ที่สำคัญ 2 จำพวก คือ Ginkgolides (Ginkgolide A, B, C, และ J) และ Bilobalide โครงงานพิเศษนี้ต้องการเปรียบเทียบผลของ pH ต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร Terpene Lactone จากใบแปะก๊วย ผ่านเทคนิค liquid-liquid extraction โดยใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ทำการหาปริมาณสารสกัดด้วยวิธี HPLC-ELSD จากนั้นวิเคราะห์ผลในเชิงกึ่งปริมาณ (Semi quantitative analysis) พบว่าเมื่อเราต้มใบแปะก๊วยใน 0.1% Na_2HPO_4 และปรับ pH โดยใช้ Buffer 2 กลุ่ม ได้แก่ Universal buffer (UB) และ Buffer Type (BT) ในช่วง pH 3 - 8 ผลการเปรียบเทียบค่า pH ที่มีประสิทธิภาพต่อการสกัด Ginkgolides และ Bilobalide สรุปได้ว่า pH ที่เหมาะสมคือ BT pH 4 และ UB pH 5 โดยพบว่ามีพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak ซึ่งแสดงปริมาณ Total Terpene Lactones (TTLs) เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม เท่ากับ 444,727.7558 Area/g DW และ 522,974.8698 Area/g DW ตามลำดับ ต่อมาได้ทำการทดสอบการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด โดยใช้การรีฟลักซ์ผงใบแปะก๊วยในสารละลาย 0.05 M Borate Buffer pH 9 ที่ 60 °C เป็นเวลา 60 นาที ตามด้วยการใช้คลื่นเสียงอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic Assisted Extraction : UAE) ที่ 60 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาหาค่าพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak ซึ่งแสดงปริมาณ Total Terpene Lactones (TTLs) เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม พบว่าการใช้ BT pH 4 และหรือ UB pH 5 จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด Terpene Lactones ออกมาได้มากขึ้นเมื่อใช้ Ethyl acetate หรือ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ โดยที่ปริมาณ TTLs มากที่สุด คือ 298,644.4412 Area/g DW และ 162,331.7981 Area/g DW ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพจะสูงที่สุด เมื่อสกัดด้วย Ethyl acetate โดยใช้ UB pH 5 เป็นตัวปรับ pH การทดลองนี้ยืนยันผลของ pH ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเอา Terpene Lactones ออกจากใบแปะก๊วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of pH for Extraction from *Ginkgo biloba* leaves		
Students	Mr. Jaradrawee	Sriruksa	ID 54051052
	Miss Chanonporn	Petngam	ID 54051062
	Miss Rujaya	Passuwan	ID 54051115
Degree	Bachelor of Science		
Major Program	Environmental Chemistry		
Academic Year	2014		
Advisor	Dr. Cherdsak Maneeruttanarungroj		

ABSTRACT

Ginkgo (*Ginkgo biloba*) is a Chinese herb that is used in the treatment of many diseases. The plant is believed to be one of the oldest plant in the world. The Terpene Lactones are substances in ginkgo leaves. Terpene Lactones have 2 major groups, Ginkgolides (Ginkgolide A, B, C, and J) and Bilobalide. This special project focused on the comparison of the effect of pH on the efficiency of Terpene Lactones extraction from the Ginkgo leaves through liquid-liquid extraction using Ethyl acetate as a solvent. HPLC-ELSD was used to determine Terpene lactone quantity. The Terpene Lactones were analyzed as a semiquantitative analysis. The leave of Ginkgo was boiled in 0.1% Na_2HPO_4 and adjusted pH with Buffer 2 groups: Universal buffer (UB) and Buffer Type (BT) in the range of pH 3 – 8. The comparison between the effect of pH for extraction of Ginkgolides and Bilobalide was studied. The results concluded that the pH optimum was in BT pH 4 and in UB pH 5. The highest amount of the total Terpene Lactones (TTLs) was calculated as area per gram dry weight, resulting 444,727.7558 Area / g DW and 522,974.8698 Area / g DW, respectively. After that, we tested to optimize the extraction using reflux the ginkgo leaf powder in 0.05 M Borate Buffer solution pH 9 at 60 ºC for 60 min, followed by Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) at 60 ºC for 15 minutes. BT pH 4 and or UB pH 5 were applied to compare the efficiency of extraction. Using Ethyl acetate and Dichloromethane as solvents, the highest efficiency was obtained, showing TTLs 298,644.4412 Area / g DW and 162,331.7981 Area / g DW, respectively. The result shows that the highest extraction efficiency would be obtained when UB pH 5 was applied. This experiment highlights the results of the pH to optimize the extraction of Terpene Lactones from the Ginkgo leaves.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่าน ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ อาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ได้ให้คำแนะนำและคำปรึกษาอย่างใกล้ชิดอีกทั้งยังเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหาต่างๆ รวมทั้งตรวจแก้โครงงานพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น

ขอขอบพระคุณพี่สุนันท์ เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ผล

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก ในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัว รวมทั้งเพื่อน ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำ รวมทั้งกำลังใจตลอดการทำโครงงานพิเศษ

นายจรัสระวี ศรีรักษา

นางสาวชนนพร เพ็ชร์งาม

นางสาวรุจยา ภาสสุวรรณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูปภาพ	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**3**
2.1 ข้อมูลเบื้องต้นของใบแปะก๊วย	3
2.1.1 ประวัติและความเป็นมาของใบแปะก๊วย	3
2.1.2 ข้อมูลทั่วไปของใบแปะก๊วย	4
2.1.3 สารประกอบเคมีในใบแปะก๊วย	6
2.2 สรรพคุณทางเภสัชวิทยาของใบแปะก๊วย	8
2.2.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.2.2 ฤทธิ์เพิ่มระบบไหลเวียนโลหิตและหลอดเลือด	8
2.2.3 ฤทธิ์การยับยั้งการเกาะตัวของเกล็ดเลือด	8
2.2.4 ฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัว	8
2.2.5 ฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว	9
2.2.6 ฤทธิ์ช่วยให้ความจำดีขึ้น	9
2.2.7 ฤทธิ์เพิ่มความสามารถในการเรียนรู้	9
2.2.8 ฤทธิ์ยับยั้งการเสื่อมของสมอง	9
2.3 การสกัดสารด้วยเครื่อง Ultrasonic Assisted Extractions (UAE)	9
2.3.1 หลักการของคลื่นอัลตร้าโซนิค	9
2.3.2 การประยุกต์ใช้	10
2.3.3 กลไกในการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิค	10
2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสาร โดยเทคนิค HPLC	11
2.5 สารละลายบัฟเฟอร์	14
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	**18**
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	18
3.2 ตัวอย่างและสารเคมี	19
3.3 วิธีการทดลอง	19
3.3.1 การเตรียมสารละลาย 0.1 % Na_2HPO_4	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.3.2 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์	20
3.3.3 การทดลองตอนที่ 1 การต้มผงใบแปะก๊วยและสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8	21
3.3.4 การทดลองตอนที่ 2 การสกัดผงใบแปะก๊วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ที่ pH 4 และ pH 5 วิธีการรีฟลักซ์และ Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)	22
3.3.5 การเตรียมสารเพื่อฉีด HPLC	23
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	**24**
4.1 ผลการวิจัย	24
4.1.1 ผลการทดลองตอนที่ 1 การต้มผงใบแปะก๊วยและสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8	24
4.1.2 ผลการทดลองตอนที่ 2 การสกัดผงใบแปะก๊วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ pH 4 และ pH 5 วิธีการรีฟลักซ์ และ Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)	38
4.2 อภิปรายผล	46
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ	**48**
5.1 สรุปผลการวิจัย	48
5.2 ข้อเสนอแนะ	50
บรรณานุกรม	**51**
ภาคผนวก ก	**52**
ภาคผนวก ข	**91**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 ตารางแสดงสารประกอบหลักของใบแปะก๊วย	6
ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ควบคุมความดันและอัลตร้าโซนิค	10
ตารางที่ 3 แสดงค่า pKa ของสารที่นำมาเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์	15
ตารางที่ 4 แสดงสภาวะของแต่ละตัวอย่าง	23
ตารางที่ 5 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC	23
ตารางที่ 6 แสดงน้ำหนักสารสกัดที่ได้ (g) ของแต่ละ pH ก่อนวิเคราะห์ด้วย HPLC	24
ตารางที่ 7 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type ในการควบคุม pH	25
ตารางที่ 8 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer ในการควบคุม pH	25
ตารางที่ 9 แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones (g) จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด	25
ตารางที่ 10 แสดงน้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL ที่ทำการฉีด (เทียบกับน้ำหนักผงแปะก๊วยเริ่มต้น 6.4516 g)	26
ตารางที่ 11 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH	29
ตารางที่ 12 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH	30
ตารางที่ 13 ตารางแสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 1	36
ตารางที่ 14 แสดงน้ำหนักสารสกัดที่ได้ (g) ของแต่ละตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ด้วย HPLC	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 15 แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด	39
ตารางที่ 16 แสดงน้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL ที่ทำการฉีด (เทียบกับน้ำหนักผงแปะก๊วยเริ่มต้น 6.2500 g)	39
ตารางที่ 17 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	39
ตารางที่ 18 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	40
ตารางที่ 19 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	40
ตารางที่ 20 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	40
ตารางที่ 21 ตารางแสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 2	45
ตารางที่ 1.1ข แสดงข้อมูลดิบน้ำหนัก (g) ของสารสกัดที่สกัดได้ที่แต่ละ pH (ตอนที่ 1)	91
ตารางที่ 1.2ข แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones (g) จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด (ตอนที่ 1)	91
ตารางที่ 1.3ข แสดงน้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL ที่ทำการฉีด (ตอนที่ 1)	92
ตารางที่ 1.4ข แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type ในการควบคุม pH	93
ตารางที่ 1.5ข แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer ในการควบคุม pH	93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1.6ข	แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type ในการควบคุม pH	93
ตารางที่ 1.7ข	แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer ในการควบคุม pH	94
ตารางที่ 2.1ข	แสดงข้อมูลดิบน้ำหนัก (g) ของสารสกัดที่สกัดได้ของแต่ละตัวอย่าง (ตอนที่ 2)	95
ตารางที่ 2.2ข	แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด (ตอนที่ 2)	95
ตารางที่ 2.3ข	แสดงน้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL (ตอนที่ 2)	96
ตารางที่ 2.4ข	แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	96
ตารางที่ 2.5ข	แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	97
ตารางที่ 2.6ข	แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	97
ตารางที่ 2.7ข	แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์	97
ตารางที่ 3ข	แสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 1	99
ตารางที่ 4ข	แสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 2	100

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของต้นแปะก๊วย	5
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะใบของแปะก๊วย	5
ภาพที่ 3 แสดงลักษณะผลของแปะก๊วย	6
ภาพที่ 4 แสดงสูตรโครงสร้างของ Bilobalide	7
ภาพที่ 5 แสดงสูตรโครงสร้างของ Ginkgolides	7
ภาพที่ 6 แสดงส่วนประกอบของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography	12
ภาพที่ 7 แสดงการทำงานของ Evaporative Light Scattering Detector	13
ภาพที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH และ % Recovery	15
ภาพที่ 9 HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ใน HERBEL ONE	27
ภาพที่ 10 HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ที่สกัดโดย Ethyl acetate	28
ภาพที่ 11 กราฟแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่างๆ และปริมาณ Total Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH	30
ภาพที่ 12 กราฟแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่างๆ และปริมาณ Total Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH	31
ภาพที่ 13 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบปริมาณของ Total Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่างๆ	31
ภาพที่ 14 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 3 (BT)	32
ภาพที่ 15 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 4 (BT)	32
ภาพที่ 16 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 5 (BT)	33

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 17 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 6 (BT)	33
ภาพที่ 18 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 7 (BT)	33
ภาพที่ 19 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 8 (BT)	34
ภาพที่ 20 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 3 (UB)	34
ภาพที่ 21 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 4 (UB)	34
ภาพที่ 22 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 5 (UB)	35
ภาพที่ 23 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 6 (UB)	35
ภาพที่ 24 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 7 (UB)	35
ภาพที่ 25 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 8 (UB)	36
ภาพที่ 26 แผนภูมิแสดง % Purity ของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ ที่ pH ต่างๆ ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) และ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH	37
ภาพที่ 27 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบปริมาณของ Total Terpene Lactones ที่สกัดได้ ของแต่ละตัวอย่าง	41
ภาพที่ 28 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 1	42
ภาพที่ 29 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 2	42
ภาพที่ 30 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 3	42
ภาพที่ 31 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 4	43
ภาพที่ 32 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 5	43
ภาพที่ 33 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 6	43
ภาพที่ 34 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 7	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 35 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 8	44
ภาพที่ 36 แผนภูมิแสดง % Purity ของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ของแต่ละตัวอย่าง	45
ภาพที่ 1ก แสดง HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones จากการทดลองตอนที่ 1	52
ภาพที่ 2ก แสดง HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones จากการทดลองตอนที่ 2	74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ใบแปะก๊วยเป็นใบจากต้นแปะก๊วย (*Ginkgo biloba*) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Ginkgoaceae ใบมีลักษณะคล้ายใบพัด แยกออกเป็น 2 กลีบ จะเรียกแปะก๊วยว่าเป็นพืชโบราณก็ว่าได้ เพราะถือกำเนิดขึ้นตั้งแต่เมื่อ 270 ล้านปีก่อน แปะก๊วยนั้นเป็นสมุนไพรที่มีต้นกำเนิดจากทางตะวันออกของประเทศจีน ประวัติในวงการแพทย์มีหลักฐานว่าชาวจีนรู้จักใช้แปะก๊วยเป็นเวลายาวนานมากกว่า 5,000 ปี ในตำราจีนได้ระบุให้ใช้ยาชงจากใบแปะก๊วยแล้วนำมาสูดดมเพื่อรักษาโรคหืด ปอด และโรคหัวใจ ต่อมาจึงได้มีการผลิตยาจากสารสกัดใบแปะก๊วยออกจำหน่ายเพื่อรักษาโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ในปัจจุบันหลาย ๆ ประเทศได้ให้การยอมรับถึงสรรพคุณของใบแปะก๊วยในการรักษาโรคต่าง ๆ จึงนิยมนำมาใช้เป็นยาและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเนื่องจากในใบแปะก๊วยนี้ประกอบไปด้วยสารเคมีมากมายหลายชนิด ซึ่งสารเคมีหลัก ๆ ก็คือ สารเคมีทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่มที่มีชื่อว่า "เทอร์ปีน แลคโตน (Terpene lactones)" ที่ประกอบไปด้วยสารสำคัญอยู่ 2 ชนิด คือ Ginkgolides และ Bilobalide สาร Ginkgolides นั้นสามารถแยกออกได้เป็น Ginkgolide A, B, C, J และ M (Ginkgolide M จะพบอยู่ในราก) ซึ่งชื่อที่แตกต่างกันนี้เนื่องมาจากมีหมู่บางหมู่ที่แตกต่างกันแต่โครงสร้างหลักยังเหมือนเดิม

โดย Ginkgolides มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ทำให้ระบบการไหลเวียนโลหิตดีขึ้น เพิ่มการขนส่งสารอาหารและออกซิเจน ลดการเกาะตัวของเกล็ดเลือด ป้องกันการอุดตันของเส้นเลือดขนาดเล็ก ป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease) หรือโรคความจำเสื่อมเนื่องจากการขาดเลือดไปเลี้ยงสมองในผู้สูงอายุ สำหรับ Bilobalide จะช่วยปกป้องเซลล์ประสาทจากการถูกทำลาย จึงช่วยชะลอการเกิดโรคอัลไซเมอร์ในผู้สูงอายุ เนื่องจากช่วยลดความเสี่ยงต่อการเสื่อมของเซลล์ประสาทและความผิดปกติของระบบหลอดเลือดและหัวใจป้องกันการปวดศีรษะไมเกรน (Migraine Headaches) ลดการวิงเวียนศีรษะ ซึ่งมีสาเหตุมาจากระบบการไหลเวียนเลือดไม่เพียงพอ ป้องกันการเสื่อมของกล้ามเนื้อเนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง จากทั้งหมดที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า สารสกัดใบแปะก๊วยนั้นมีสรรพคุณทางยาและมีประโยชน์มาก ดังนั้นหากเราสามารถพัฒนาวิธีการสกัดสารที่มีประโยชน์นี้ออกมาได้ในปริมาณมากที่สุด ก็อาจจะเป็นประโยชน์หรือสามารถนำไปประยุกต์ใช้จริงในอุตสาหกรรมการผลิตสารสกัดจากใบแปะก๊วยได้ โครงงานพิเศษนี้จึงเป็นการศึกษาวิธีที่ใช้สกัดสารพวก Terpene lactone ในสภาวะที่เหมาะสมจากใบแปะก๊วยโดยเปรียบเทียบปริมาณของสารสกัดที่ได้ในแต่ละวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาผลของ pH ต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร Ginkgolides และ Bilobalide จากใบแปะก๊วย

1.2.2 ประยุกต์ใช้ผลของ pH ต่อวิธีการสกัดสาร Ginkgolides และ Bilobalide จากใบแปะก๊วย

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ตอนที่ 1 เปรียบเทียบผลของค่า pH ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร Ginkgolides และ Bilobalide ทั้งในด้านปริมาณและความบริสุทธิ์ โดยทำการทดลองต้มผงใบแปะก๊วยแห้งใน 0.1 % Na_2HPO_4 (Disodium hydrogen phosphate solution) จากนั้นปรับ pH ของน้ำต้มใบแปะก๊วยด้วยการเติม Buffer pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 เมื่อได้ที่สภาวะค่า pH ต่าง ๆ ทั้ง 6 สภาวะแล้ว นำไปสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้คือ Ethyl acetate

1.3.2 เปรียบเทียบปริมาณของสารสกัดที่ได้จากการทดลองตอนที่ 1 โดยเลือกสภาวะ pH ที่ทำการสกัดสาร Ginkgolides และBilobalide ออกมาได้ปริมาณมากที่สุดมาใช้ในการทำการทดลองตอนที่ 2

1.3.3 ตอนที่ 2 ทำการทดลองสกัดสาร Ginkgolides และBilobalide โดยวิธีการรีฟลักซ์และ Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)

1.3.4 เปรียบเทียบปริมาณของสารสกัดที่ได้จากการทดลองตอนที่ 1 และการทดลองตอนที่ 2 เพื่อวิเคราะห์ว่าที่สภาวะใดทำการสกัดสาร Ginkgolides และ Bilobalide ออกมาได้ปริมาณมากที่สุด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เพื่อทราบถึงวิธีและ pH ที่เหมาะสมในการสกัดสาร Ginkgolides และ Bilobalide จากใบแปะก๊วย

1.4.2 ทราบถึงผลของค่า pH ต่อประสิทธิภาพการสกัดสาร Ginkgolides และ Bilobalide จากใบแปะก๊วย

1.4.3 เพื่อเป็นการต่อยอดในการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารจากวิธีอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลเบื้องต้นของใบแปะก๊วย

2.1.1 ประวัติและความเป็นมาของใบแปะก๊วย

แปะก๊วยเป็นพืชที่เก่าแก่ที่สุดในโลก มีกำเนิดมานานกว่า 200 ล้านปีมาแล้ว ในยุคนั้นมีพืชตระกูล Ginkgo ถึง 4 ชนิดด้วยกันและมีการกระจายตัวอย่างกว้างขวางทั้งในซีกโลกตอนเหนือและบางส่วนของซีกโลกตอนใต้ แต่การเปลี่ยนแปลงของดินฟ้าอากาศที่หนาวเย็นลงอย่างมาก ประกอบกับปรากฏการณ์ของธารน้ำแข็งไหล (Glacier) เมื่อประมาณ 2 ล้านปีที่แล้ว เป็นสาเหตุให้พันธุ์พืชหลายชนิดสูญหายไปจากพื้นโลก รวมทั้งพืชในตระกูล Ginkgo อื่น ๆ ด้วย คงเหลือเพียงแปะก๊วยชนิดเดียว ซึ่งพบหลงเหลืออยู่ในประเทศจีน แต่ก็เป็นพืชที่หายากและใกล้จะสูญพันธุ์ โดยพบอยู่ในธรรมชาติเพียงไม่กี่ต้น (เชิดศักดิ์, 2545)

ต้นแปะก๊วยมีอายุยืนยาวมาก ปัจจุบันจะพบต้นแปะก๊วยปลูกเป็นไม้ประดับในหลายประเทศทั่วโลกเพราะเป็นพืชที่ทนทานต่อสิ่งแวดล้อมและเชื้อโรค เชื่อกันว่าต้นกำเนิดของต้นแปะก๊วยอยู่ที่ประเทศจีน ในประเทศจีนแปะก๊วยถือเป็นพืชมหัศจรรย์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในเชิงรักษาโรค ใบของแปะก๊วยถูกใช้ในการรักษาสุขภาพและเป็นยาอายุวัฒนะมานานกว่าพันปี

ในหลายทศวรรษต่อมา แปะก๊วยกลายเป็นพืชที่ได้รับความสนใจในการทำการศึกษาค้นคว้าและวิจัยในห้องทดลองกันอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งนักวิทยาศาสตร์ชาวยุโรปประเทศเยอรมัน ได้มีการศึกษาถึงองค์ประกอบต่าง ๆ ทางเคมีของใบแปะก๊วย เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์นั่นเอง (http://www.4life-today.com/index.php?mo=3&art=658181, 2011)

จากการทดลองในปี ค.ศ.1980 กับผู้ป่วยที่มีอาการบกพร่องเรื้อรังของสมองส่วนซีรีบรัมและหลอดเลือด 80 คน ประเทศเยอรมันได้ทดลองนำสารสกัดจากใบแปะก๊วยมาใช้บำรุงผู้ป่วยโรคนี้ ผลปรากฏว่าผู้ป่วยมีพัฒนาการทางความคิด ความจำ ได้ดีขึ้น และช่วยให้นอนหลับได้ง่ายขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปี ค.ศ.1996ได้มีการพบว่าสารสกัดจากใบแปะก๊วยมีประสิทธิภาพในการป้องกันผู้ที่มีอาการAMS (Asthma & Acute Mountain Sickness: ภาวะการผิดปกติของการหายใจขณะ

ขึ้นที่สูง) ส่วนคนในกลุ่มที่ประสบปัญหาหูอื้ออยู่เป็นประจำ การรับประทานอาหารที่ทำจากใบแปะก๊วยยังช่วยลดภาวะหูอื้อได้อีกด้วย

ในปี ค.ศ.1998 ได้มีการทดลองเกี่ยวกับสรรพคุณทางยาในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของเส้นเลือดดำ โดยให้ผู้ที่มีอาการปวดหลังจากการเดิน รับประทานใบแปะก๊วย พบว่าใบแปะก๊วยมีส่วนช่วยลดอาการปวดได้จริง ทั้งยังทำให้เดินได้ในระยะทางที่ไกลขึ้น รวมไปถึงยังมีการทดลองพบว่าใบแปะก๊วยยังช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดเพื่อเข้าไปเลี้ยงแขน ขา ได้ดีขึ้นอย่างมาก

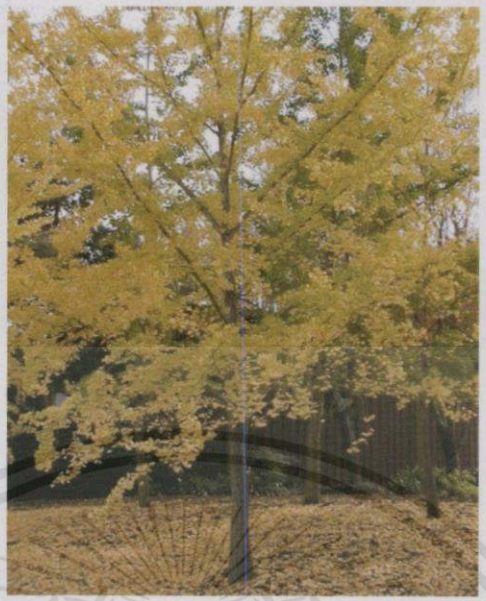
ในปี ค.ศ.2003 Ahlemeyer และ Krieglstein ได้ทดลองนำสารสกัดจากใบแปะก๊วยมาใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) พบว่าสารสกัดจากใบแปะก๊วยสามารถรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้ โดยจะไปยับยั้งการสะสมของอนุมูลอิสระและยับยั้งการตายของเซลล์

ในปี ค.ศ.2006 ได้มีการพบว่าสารสกัดจากใบแปะก๊วยมีประสิทธิภาพในการป้องกันความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลาง (CNS disorders) (กัญญามาศ, ธนาภรณ์ และแสงเทียน, 2556)

2.1.2 ข้อมูลทั่วไปของใบแปะก๊วย

แปะก๊วยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ginkgo biloba L.* เป็นพืชพวก Gymnosperm มีถิ่นกำเนิดมาจากจีนและญี่ปุ่นเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Maiden hair เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่สูงประมาณ 30 - 40 เมตร มีลำต้นขนาดใหญ่คล้ายพืชดอก เป็นไม้ยืนต้นเหมือนสน เจริญได้ดี แตกกิ่งก้านสาขามากมาย ลำต้นสีน้ำตาล เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดการเจริญขั้นที่สอง แผ่นใบกว้างมีลักษณะคล้ายรูปพัด ใบเรียงตัวแบบสลับ (alternate) ใบมีลักษณะเฉพาะคือเป็นร่องลึกบริเวณกลางใบทำให้เห็นเป็นสองพูอย่างชัดเจน จึงได้ชื่อว่า *Ginkgo biloba* (two lobes) นั่นเอง ใบมีสีเขียวและจะเปลี่ยนเป็นสีทองในฤดูใบไม้ร่วง เป็นพืชที่มีเมล็ดเปลือยและเมล็ดมีขนาดใหญ่รับประทานได้ ชอบขึ้นในเขตหวานเช่น จีน เกาหลี ญี่ปุ่น เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของต้นแปะก๊วย

(http://tree-pictures.com/ginkgotree.html)

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะใบของแปะก๊วย

(http://www.gardentaining.com/PSC2620/plant_images/ginkgo_biloba.html)

แปะก๊วยเป็นพืชแยกเพศ คือต้นตัวผู้สร้างสตรอบิลัสตัวผู้ (male strobilus) เป็นช่อ ประกอบด้วยสตรอบิลัสหลายอัน ต้นตัวเมียจะสร้างเมล็ดที่ไม่มีรังไข่ห่อหุ้ม เป็นช่อ ช่อละ 2 เมล็ด เมื่อยังอ่อนจะมีสีเขียว เมื่อแก่จะมีสีเหลือง เมล็ดแพร่พันธุ์โดยเอ็มบริโอที่จะงอกเป็นต้นกล้าและเจริญเติบโตต่อไป (http://paekuai.blogspot.com/2011/06/blog-post.html, 19 มิถุนายน 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะผลของแปะก๊วย

(http://www.gardentaining.com/PSC2620/plant_images/ginkgo_biloba.html)

2.1.3 สารประกอบเคมีในใบแปะก๊วย

ใบแปะก๊วยนั้นมีสารประกอบเคมีอยู่มากมายหลายชนิด โดยมีสารประกอบเคมีกลุ่มหลัก ๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

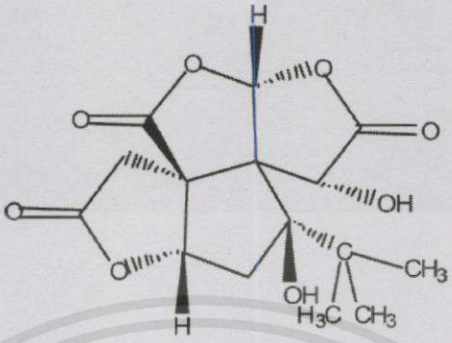
ตารางที่ 1 ตารางแสดงสารประกอบหลักของใบแปะก๊วย (Po-Chuem Chan, 2007)

Class	Major chemical constituents
Terpenoids	Diterpenes: ginkgolides A, B, C, J (M is found in the root) Sesquiterpene: bilobalide Triterpenes: sterols
Flavonoids (flavone, flavonol glycosides, and aglycones)	kaempferol, quercetin, isorhamnetin, rutin, luteolin, delphidenon, myricetin
Biflavonoids	Sciadopitysin, ginkgetin, isoginkgetin, amentoflavone, bilobetin, 5'-methoxybilobetin
Organic acids	Benzoic acid derivatives (ginkgolic acid), *N*-containing acids
Polyprenols	di-*trans*-poly-*cis*-octadecaprenol
Others	waxes, steroids, 2-hexenal, cardanols, sugars, catechins, proanthocyanidins, phenols, aliphatic acids, rhamnose

แต่สารออกฤทธิ์ที่สำคัญมีอยู่ 2 กลุ่มด้วยกันคือ สารกลุ่ม Terpenoids และสารกลุ่ม Flavonoids โดยสารกลุ่ม Terpenoids จะประกอบไปด้วย Sesquiterpene (Bilobalide) และ Diterpeneslactones (Ginkgolides) สำหรับ Ginkgolides จะแยกออกได้เป็น Ginkgolide A, B, C, J และ M (Ginkgolide M จะพบอยู่ในราก) ซึ่งชื่อที่แตกต่างกันนี้เนื่องมาจากมีหมู่บางหมู่ที่

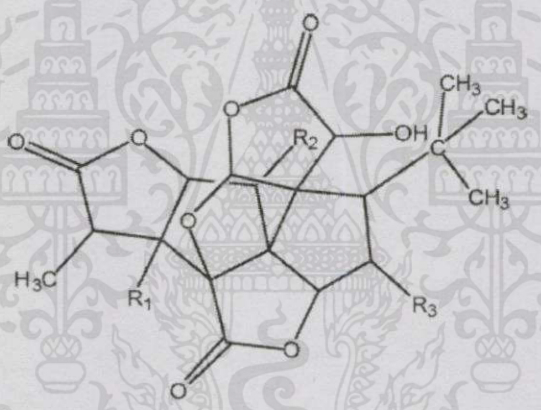
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกันแต่โครงสร้างหลักยังเหมือนเดิม ชื่อและโครงสร้างของ Bilobalide จะแสดงดังภาพที่ 4 ส่วนโครงสร้างของ Ginkgolides จะแสดงดังภาพที่ 5 (เชิดศักดิ์, 2545)



Bilobalide

ภาพที่ 4 แสดงสูตรโครงสร้างของ Bilobalide



Ginkgolides

	R1	R2	R3
Ginkgolide A	OH	H	H
Ginkgolide B	OH	OH	H
Ginkgolide C	OH	OH	OH
Ginkgolide J	OH	H	OH
Ginkgolide M	H	OH	OH

ภาพที่ 5 แสดงสูตรโครงสร้างของ Ginkgolides

การสกัดสารจากใบแปะก๊วยในทางการค้าจะใช้ water - acetone หรือ water - ethanol ในการสกัดสารจากใบแปะก๊วย และในสารมาตรฐานนี้จะมี Flavonoids เป็นส่วนประกอบหลัก โดยทั่วไปในสารมาตรฐานของสารสกัดใบแปะก๊วยจะมี Flavonoids 22 – 27 %, Terpenoids 5 – 7 % (มี Ginkgolide A, B, C 2.8 - 3.4 % และ Bilobalide 2.6 - 3.2 %) และ Ginkgolic acid น้อยกว่า 5 mg/kg (5 ppm) ซึ่ง Ginkgolic acid นี้เป็นสารพิษ ถ้ารับประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้าไปในร่างกายจะทำให้ระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารและลำไส้ ปวดหัว วิงเวียนศีรษะ ถ้าหากสัมผัสถูกผิวหนังจะทำให้เกิดอาการระคายเคืองและเกิดอาการแพ้ นอกจากนั้นแล้วในใบแปะก๊วยยังมีอนุพันธุ์ของ Alkyl phenol และ Alkyl benzoic ซึ่งสารเหล่านี้สามารถที่จะทำให้เกิดอาการแพ้ มีพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันโรค และคุณสมบัติอื่นๆที่ไม่เป็นที่ต้องการ ดังนั้นในสารสกัดใบแปะก๊วยโดยทั่วไปจะมีการกำจัดสารนี้ออกไปด้วย (Po-Chuem Chan, 2007)

2.2 สรรพคุณทางเภสัชวิทยาของใบแปะก๊วย

2.2.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

สารสกัดจากใบแปะก๊วยมีสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะทำหน้าที่ป้องกันการทำลายจากอนุมูลอิสระได้ เช่น บรรเทาโรคหลงลืมในผู้สูงอายุ เหนื่อยล้า สับสน โรควิตกกังวล หน้ามืด วิงเวียน หูอื้อ และช่วยรักษาโรคตาบาง โรคที่เกี่ยวข้องกับการไหวเวียนเลือดไปเลี้ยงจอรับภาพที่ตา (http://www.4life-today.com/index.php?mo=3&art=658181, 2011)

2.2.2 ฤทธิ์เพิ่มระบบไหลเวียนโลหิตและหลอดเลือด

ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา สารสกัดจากใบแปะก๊วยได้ถูกนำมาใช้ในการควบคุมการไหลเวียนของโลหิตและหลอดเลือด ช่วยให้ระบบไหลเวียนโลหิตเป็นปกติ และช่วยส่งเสริมการไหลเวียนโลหิตไปเลี้ยงสมอง มือ และเท้า เพื่อป้องกันอาการเส้นเลือดในสมองตีบ (http://www.4life-today.com/index.php?mo=3&art=658181, 2011)

2.2.3 ฤทธิ์การยับยั้งการเกาะตัวของเกล็ดเลือด

ใบแปะก๊วยจะทำหน้าที่ลดคุณสมบัติความเป็นกาวของเกล็ดเลือด (Platelets) ให้น้อยลงโดยกระบวนการ Competitive Binding ซึ่งจากกระบวนการนี้ทำให้ใบแปะก๊วยสามารถทำให้อัตราการไหลเวียนของเลือดผ่านสมอง (Cerebral) และผ่านส่วนอื่น ๆ มีเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งช่วยพัฒนาให้มีการจัดส่งสารอาหารไปยังสมองมากขึ้นทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxygenation ขึ้นที่เนื้อเยื่อต่างๆและมีผลช่วยในการป้องกันโรคหืด (Asthma) และโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular) (http://nrtdc.agri.kps.ku.ac.th/herb/ginseng.pdf)

2.2.4 ฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัว (Vasodilator activity)

เมื่อให้สารสกัดใบแปะก๊วยด้วยทางหลอดเลือดดำอย่างช้าๆแก่ผู้ป่วย 15 คน ซึ่งมีแผล (lesion) ที่เส้นเลือดแดงนอกกะโหลกศีรษะ แล้วทำการวัดการไหลเวียนของเลือดที่ผิวหนังที่ส่วนมือและเท้า พบว่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (กัญญามาศ และคณะ, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 ฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว (Vasoconstrictor activity)

สารสกัดใบแปะก๊วย เมื่อให้รับประทานร่วมกับสารสกัดโสมในอัตราส่วน 3 : 5 พบว่ามีผลทำให้หลอดเลือดหดตัว โดยวัดจากความดันโลหิต 1 ชั่วโมงหลังจากให้ยา (กัญญามาศ และคณะ, 2556)

2.2.6 ฤทธิ์ช่วยให้ความจำดีขึ้น (Memory enhancement effect)

เมื่อหนูถีบจักรได้รับสารสกัดใบแปะก๊วยแล้วพบว่าช่วยเพิ่มความสามารถในการเรียนรู้และความจำได้ นอกจากนี้การให้สารสกัดแก่ผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) พบว่าแปะก๊วยมีผลต่อ cognitive function ของผู้ป่วยทำให้การรับรู้ดีขึ้น (กัญญามาศ และคณะ, 2556)

2.2.7 ฤทธิ์เพิ่มความสามารถในการเรียนรู้ (Learning enhancement)

การทดลองให้สารสกัดแก่หนูขาวพบว่าหนูสามารถเรียนรู้ได้เร็วขึ้นเมื่อให้สารสกัดก่อนการทดสอบ ส่วนสารสกัดที่ให้แก่หนูถีบจักร พบว่าหนูสามารถเรียนรู้ได้เร็วขึ้นและสามารถจดจำสิ่งที่เรียนรู้ได้ (กัญญามาศ และคณะ, 2556)

2.2.8 ฤทธิ์ยับยั้งการเสื่อมของสมอง (Antidementia activity)

การให้สารสกัดใบแปะก๊วยในผู้ป่วยซึ่งมีอาการทางสมอง อายุ 57 - 76 ปี จำนวน 50 คน พบว่าอาการทางสมองของผู้ป่วยดีขึ้นหลังจากให้ยา 3 สัปดาห์ และอาการโดยรวมดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจนหลังจากให้ยาติดต่อกัน 6 สัปดาห์ (กัญญามาศ และคณะ, 2556)

2.3 การสกัดสารด้วยเครื่อง Ultrasonic Assisted Extractions (UAE)

2.3.1 หลักการของคลื่นอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic Extraction)

คลื่นอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic) หมายถึง คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงเกินกว่าที่หูมนุษย์จะได้ยิน มีความถี่สูงกว่า 20 KHz ขึ้นไป สาเหตุที่มีการนำเอาคลื่นย่านอัลตร้าโซนิคมาใช้ก็เพราะว่าเป็นคลื่นทีมีทิศทางทำให้เราสามารถเล็งคลื่นเสียงไปยังเป้าหมายที่ต้องการได้โดยเจาะจง เรื่องนี้เป็นคุณสมบัติของคลื่นอย่างหนึ่ง ซึ่งจากสมบัติดังกล่าวเราจึงนำคลื่นอัลตร้าโซนิคมาใช้ในการสกัดสารที่สนใจออกจากตัวอย่างโดยส่วนมากจะใช้สกัดสารกึ่งระเหย (Semi-volatile) และระเหยยาก (Non-volatile Organic Compounds) จากตัวอย่างของแข็ง เช่น ดิน ตัวอย่างชีวภาพ น้ำ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 การประยุกต์ใช้

คลื่นอัลตร้าโซนิคสามารถแบ่งการใช้งานออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงความถี่ประมาณ 2 - 10 MHz เรียกช่วงนี้ว่า ช่วงความถี่สูง (High frequency ultrasound) ซึ่งจะนำคลื่นอัลตร้าโซนิคช่วงนี้ไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เพื่อสำหรับดูเพศหรือความผิดปกติของทารกในครรภ์ ช่วงที่สองคือ ช่วงความถี่ต่ำ (Low frequency ultrasound) จะมีค่าความถี่ประมาณ 20 - 100 kHz คลื่นอัลตร้าโซนิคช่วงนี้นำไปประยุกต์ใช้ในทางเคมี ชีววิทยาและชีวเคมี เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ (Sonochemistry) และการทำให้เซลล์แตกเพื่อให้ปลดปล่อยสารสำคัญออกมา

การสกัดโดยคลื่นอัลตร้าโซนิคเป็นเทคนิคที่สำคัญวิธีหนึ่งที่ใช้สำหรับแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญจากพืชแต่ละชนิด (Dong และคณะ, 2010; Heo และ Kim, 2010; Riera และคณะ, 2010) และเป็นวิธีที่สามารถใช้ได้ในระดับปฏิบัติการวิจัยและระดับอุตสาหกรรม (Vinatoru, 2001) และเมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดอัลตร้าโซนิคกับวิธีอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคเป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่เปรียบเทียบการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคกับการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ พบว่าการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคมีราคาถูกและง่ายกว่า (Chen และคณะ, 2008)

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ควบคุมความดันและอัลตร้าโซนิค

การสกัดด้วยตัวทำละลายที่ควบคุมความดัน	การสกัดด้วยอุลตร้าโซนิค
- ระยะเวลาของการสกัดสั้น (ภายใน 1 ชั่วโมง)	- ระยะเวลาการสกัดปานกลาง (1-2 ชั่วโมง)
- ผลผลิตจากการสกัดปานกลางถึงสูง	- ผลผลิตจากการสกัดสูง
- ปริมาณตัวทำละลายสูงเพื่อรักษาความดัน	- ปริมาณตัวทำละลายปานกลาง
- อุณหภูมิสูง ความดันสูง	- อุณหภูมิห้อง
- ราคาสูง	- ราคาปานกลาง

ดัดแปลงจาก : Lee และคณะ (2007)

2.3.3 กลไกในการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิค

จากการประยุกต์ใช้อัลตร้าโซนิคในการสกัดพืช (สด) จำเป็นต้องทราบว่าเพราะเหตุใดอัลตร้าโซนิคจึงช่วยในการสกัดสารสำคัญได้ เนื่องจากเนื้อเยื่อของพืชที่ประกอบเป็นเซลล์นั้นมีส่วนผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุดซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัดได้ ซึ่งการสกัดจะประกอบด้วยสองขั้นตอนคือ กระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลายและการชะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสำคัญออกจากเซลล์เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลง ส่วนการสกัดพืชแห้งจะเพิ่มอีกหนึ่งกระบวนการคือ กระบวนการดูดน้ำกลับ Hydration and swelling (อัลตร้าโซนิคทำให้ Swelling index สูงขึ้นดีกว่าการใช้การกวนทางกลธรรมดา) อัลตร้าโซนิคจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้โดยการเกิดปรากฏการณ์ Cavitation เนื่องมาจากคลื่นนั้นจะประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก จากนั้นเมื่อฟองได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัดจะทำให้ฟองนั้นแตกออก และเกิด Microjet ที่มีความแรงมาก จนสามารถเจาะทำลายผนังเซลล์ของพืชได้ เมื่อผนังเซลล์ของพืชแตกออกจะทำให้เพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การทำให้ขนาดของตัวอย่างเล็กลงก่อน จะเพิ่มการสัมผัสกับตัวทำละลายและ Cavitation ได้ง่ายขึ้น

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารโดยเทคนิค HPLC

HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบ (Substances) โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบในเฟสเคลื่อนที่ (Stationary phase) ของคอลัมน์โดยมีเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นตัวพาไปโดยสารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ของสารนั้นกับเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) หรือเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) สารตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ (Mobile phase) สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ (Mobile phase) หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) ก็จะถูกแยกออกมาทีหลังและสารที่ถูกแยกออกมาได้นั้นจะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดชนิดต่างๆแล้วจะแปรผลออกมาในรูปแบบกราฟที่เรียกว่าโครมาโตแกรม (chromatogram)

ข้อดีของเทคนิคนี้คือสามารถแยกสารผสมได้ในเวลาที่รวดเร็ว มี resolution ที่ดีและ sensitivity สูง เทคนิคนี้มี particle size ของเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) ลดลง และสามารถทนต่อความดันสูงได้โดยการใช้ความดันสูงเพื่อให้การไหลของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เร็วขึ้น

HPLC สามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative Analysis) และเชิงปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative Analysis) โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (Low Volatile Substation) หรือมีน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular Weight Compounds)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิค HPLC นี้ได้ถูกนำมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างจากหลากหลายอุตสาหกรรมทั้งด้านยา สิ่งแวดล้อมรวมถึงใช้มากในอุตสาหกรรมอาหารเช่นการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินสารปนเปื้อนในอาหารสารพิษที่ผลิตจากเชื้อรา (Mycotoxin) ทั้งในด้านเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC จะประกอบด้วย

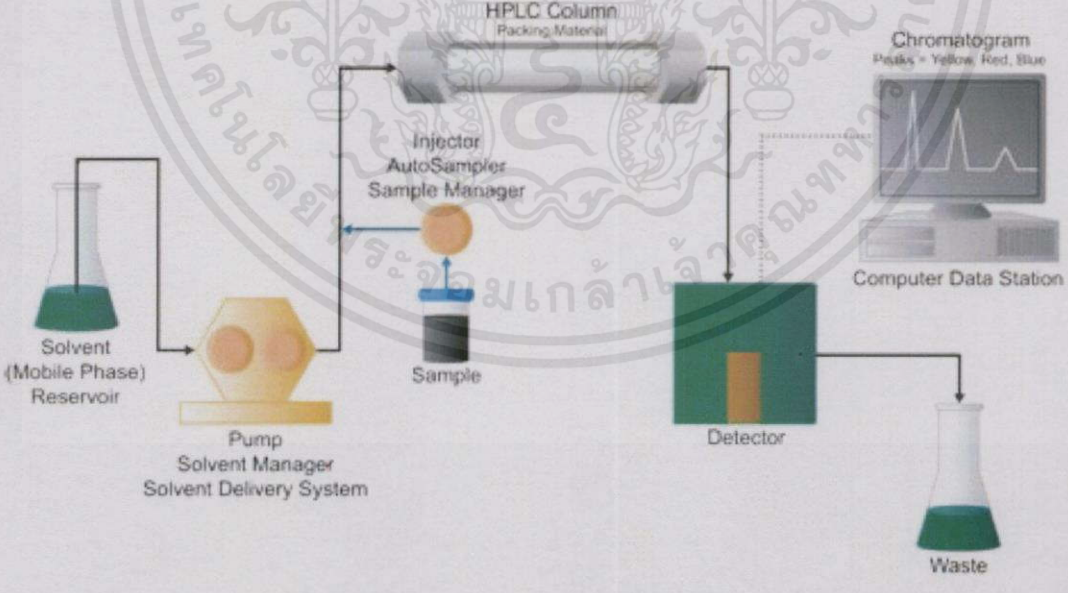
1. Mobile phase/Solvent (Reservoir): ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่างเป็นเฟสเคลื่อนที่มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่เฟสที่อยู่กับที่ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ซึ่งกระบวนการแยกจะเกิดขึ้นภายในคอลัมน์

2. Pump: ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่ระบบ HPLC

3. Injector/Autosampler: ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ HPLC

4. Column: ภายในบรรจุด้วยเฟสที่อยู่กับที่มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจลทำให้เกิดกระบวนการแยกองค์ประกอบของสารที่สนใจโดยกระบวนการแยกจะเกิดขึ้นระหว่างเฟสเคลื่อนที่กับเฟสอยู่กับที่

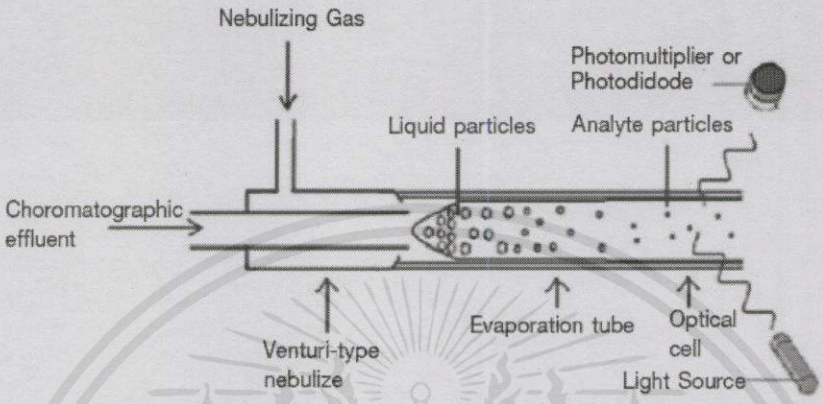
5. Detector: เป็นตัวตรวจวัดสัญญาณทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยกซึ่ง Detector ที่เราใช้ คือชนิด Evaporative Light Scattering Detector (www.sc.kku.ac.th/office/research/ins/file/instruments/hplc)



ภาพที่ 6 แสดงส่วนประกอบของเครื่อง High performance liquid chromatography (www.mfu.ac.th/center/stic/index.php/chemical-analysis-instrument-menu, เมื่อวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำงานของเครื่อง Evaporative Light Scattering Detector (ELSD) ประกอบด้วยหลักการทำงาน 3 ขั้นตอนด้วยกันคือ Nebulization, Mobile phase evaporation และDetection ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดงการทำงานของ Evaporative Light Scattering Detector (สายคนีย์, 2552)

1. Nebulization

สารตัวอย่างที่ออกมาพร้อมกับ Mobile phase ผ่านการแยกจากคอลัมน์จะถูกพ่นด้วย Carrier gas คือ N_2 ให้เป็นละอองฝอยที่สม่ำเสมอ

2. Mobile phase evaporation

ละอองฝอยที่เกิดขึ้นจะเคลื่อนที่ผ่านท่อ (evaporation tube หรือ drift tube) ที่มีระดับความร้อนที่ทำให้ Mobile phase สามารถระเหยไปได้หมดจนเหลือแต่ละอองของสารตัวอย่างซึ่งไม่ระเหย

3. Detection

ฝอยละอองของสารตัวอย่างที่ไม่ระเหยจะเคลื่อนที่ออกจากท่อร้อน และไปยังแนวแสงเลเซอร์ เมื่อแสงเลเซอร์ตกกระทบกับอนุภาคละอองฝอยของสารตัวอย่างจะเกิดการกระเจิงแสง ปริมาณของแสงที่กระเจิงเป็นสัดส่วนโดยตรงกันกับปริมาณของอนุภาคและเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสารตัวอย่าง

ข้อดีของ ELSD คือสามารถตรวจวัดสารได้เกือบทุกชนิด (Quasi-universal detector) ตรวจวัดสารได้ทุกประเภทที่ไม่ระเหยหรือระเหยได้ยากกว่า Mobile phase และไม่ขึ้นกับคุณสมบัติเชิงแสงของสารและชนิดของสารซึ่งเหมาะกับสารจำพวก nonchromaphoric และ unconjugated

compounds ที่ไม่ดูดกลืนแสงในช่วง UV เช่นสารจำพวกไขมันกรดไขมันคาร์โบไฮเดรตหรือพวกน้ำตาลต่างๆ สเตอรอยด์ เป็นต้น จึงเป็นข้อดีกว่าการตรวจวัดด้วย UV detector นอกจากนี้ baseline ที่ได้จาก ELSD จะมีสัญญาณที่เรียบกว่าการใช้ UV และ RI detector เมื่อต้องการแยกสารโดยใช้ mobile phase แบบ gradient elution นอกจากนี้ยังมีข้อดีกว่าการใช้ Fluorescence detector เนื่องจากไม่ต้องทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์เป็นสารอนุพันธ์ก่อนการวิเคราะห์ในขณะที่ ELSD สามารถวิเคราะห์ได้เลย

ส่วนข้อจำกัดของการใช้ ELSD คือไม่สามารถใช้ตรวจวัดหรือวิเคราะห์สารตัวอย่างที่สามารถระเหยหรือระเหิดได้ (volatile substances) และส่วนประกอบทั้งหมดที่ใช้เตรียม Mobile phase ต้องระเหยได้ ฉะนั้นในการใช้ Mobile phase modifier เช่นพวกกรด เบส หรือ Buffer ต้องเลือกชนิดที่สามารถระเหยได้ (volatile mobile phase modifiers) (สายคนีย์, 2552)

2.5 สารละลายบัฟเฟอร์

สารละลายบัฟเฟอร์ หมายถึง สารละลายของกรดอ่อนกับเกลือของกรดอ่อน หรือคู่เบสของกรดอ่อน หรือหมายถึงสารละลายของเบสอ่อนกับเกลือของเบสอ่อน หรือคู่กรดของเบสอ่อนนั้น สมบัติของสารละลายบัฟเฟอร์ คือ รักษาสภาพ pH ของสารละลายเอาไว้โดยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเติมกรดแก่หรือเบสแก่จำนวนเล็กน้อยลงไป สามารถทำได้โดยการเติมกรดอ่อนลงในสารละลายเกลือของกรดอ่อน หรือการเติมเบสอ่อนลงในสารละลายเกลือของเบสอ่อน

pH ของ สารละลายบัฟเฟอร์ขึ้นอยู่กับค่า pKa ของกรดอ่อน ดังนั้นในการเตรียมสารละลาย Buffer ที่ pH ใด pH หนึ่ง สิ่งที่ควรพิจารณาอันดับแรก คือการเลือกชนิดของกรดอ่อน ซึ่งต้องมีค่า pKa ใกล้เคียงกับค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ต้องการเตรียม และการต้านทานการเปลี่ยนแปลง pH จะเท่ากับ pKa ± 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงค่า pK_a ของสารที่นำมาเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

Acid or base	pK_a value (s)	Useful pH range
Acetic acid	4.8	3.8 – 5.8
Phosphoric acid	2.1 7.2 12.3	1.1 – 3.1 6.2 – 8.2 11.3 – 13.3
Trizma base	8.3	7.3 – 9.3
Boric acid	9.24 12.4 13.3	8.24 – 10.24 11.4 – 13.4 12.3 – 14.3

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Qingyong Lang and C.M. Wai (1999) ได้ศึกษาผลของ pH ต่อปริมาณสารสกัด Ginkgolides และ Bilobalide ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี liquid-liquid extraction พบว่าช่วง pH ที่ 4.5 - 5 เป็น pH ที่ได้ปริมาณสารสกัดหรือ % Recovery สูงที่สุดเมื่อเทียบกับ pH อื่นๆ

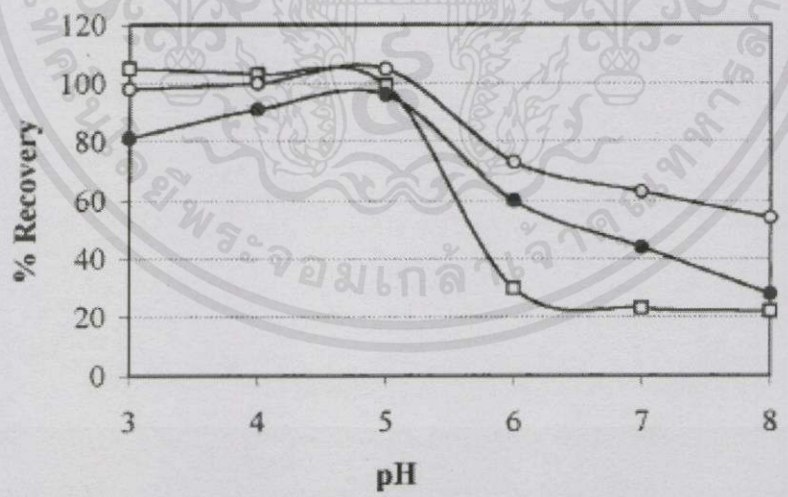


Figure 2. pH effects on liquid/liquid extraction recoveries of (○) ginkgolide A (100 μg), (●) ginkgolide B (100 μg), and (□) bilobalide (150 μg).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH และ % Recovery

(Qingyong Lang and C. M. Wai, 1999)

Teris A. van Beek (2002) ได้ทำการวิเคราะห์ทางเคมีและการควบคุมคุณภาพของสารสกัดใบแปะก๊วย พบว่าสารประกอบที่สำคัญในใบแปะก๊วยคือ Terpene trilactone ได้แก่ Ginkgolide A, B, C, J และ Bilobalide ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ด้วย Thinlayer Chromatography (TLC) และHPLC โดย Detector ที่ใช้ได้แก่ RI, ELSD, MS และGC-FID

Tim Herring (2004) ได้ทำการทดลองหาปริมาณ Terpene trilactone ในสารสกัดจากใบแปะก๊วยในยี่ห้อที่ต่างกัน ทำการวิเคราะห์ผลด้วย HPLC - ELSD โดยใช้ 3 - µm *dp* Alltima C18 column ขนาด 100 mm x 4.6 mm อุณหภูมิของ drift tube ตั้งไว้ที่ 110°C และ Nitrogen flow rate ตั้งไว้ที่ 3.1 L/min

M.-J. Dubber, l. Kanfer (2006) ได้ศึกษาวิธีวิเคราะห์หา Terpene trilactone ในใบแปะก๊วย โดยใช้เทคนิค HPLC-ELSD โดยใช้ Phenomenex Luna Column (5 µm) C18 column ขนาด 250 mm x 2.00 mm อุณหภูมิของคอลัมน์เป็น 45°C Mobile phase ที่ใช้คือ Methanol - Water สัดส่วน 70 : 30 ใน 6 นาทีแรก หลังจากนั้นใช้สัดส่วน 30 : 70 ตลอดการวิเคราะห์ โดยใช้อัตราการไหลเป็น 350 µL/min ซึ่งวิธีนี้จะมีขีดจำกัดของการวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์อยู่ที่ 31.25 และ 62.50 ng

Pushpinder Kaur (2009) ได้ศึกษาวิธีวิเคราะห์ Terpene trilactone ด้วย Reversed - Phase High Performance Liquid Chromatography โดยใช้ Evaporative Light Scattering เป็น Detector (RP - HPCE - ELSD) วิธีนี้จะหาปริมาณของ Bilobalide และ Ginkgolide A, B, C, และ J ได้ภายใน 8 นาที โดยใช้ Zorbax RP - C18 เป็นคอลัมน์ และ Mobile phase ที่ใช้คือ Methanol - Water - Tetrahydrofuran อุณหภูมิของ drift tube ตั้งไว้ที่ 90 °C และ Nitrogen flow rate ตั้งไว้ที่ 1.5 SLM

Linda Lloyd (2011) ได้ศึกษาวิธีวิเคราะห์ Ginkgolides และ Bilobalide ในสารสกัดจากใบแปะก๊วยด้วย RP - HPLC (ELS Detection) โดยสารตัวอย่างที่ใช้ฉีดเตรียมได้โดยนำสารสกัดใบแปะก๊วยไปแช่แข็งแล้วทำการสกัด จากนั้นนำไปวิเคราะห์ผลด้วย HPLC โดยใช้คอลัมน์ PLRP - S 100 Å 5 µm, 250 x 4.6 mm อุณหภูมิของ nebulizer เป็น 100 °C ที่ความดัน 1.0 SLM ใช้อัตราการไหลเป็น 1.0 mL/min วิธีนี้จะได้ปริมาณ Total Terpene Lactones สูงที่สุด

Riera และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาพบว่าการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคที่ระดับความถี่สูงช่วยเพิ่มการถ่ายเทมวลในขั้นตอนการสกัดอัลมอนด์ด้วยของไหลวิกฤตยวดยิ่ง ทำให้น้ำมันที่ได้จากการสกัดเพิ่มขึ้น 20 – 30 % เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Cravotto และคณะ (2008) โดยรายงานว่าการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคให้ผลการทดลองดีกว่าการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคจะทำให้สารสกัดน้ำมันจากสาหร่ายเพิ่มสูงขึ้นจาก 4.8 % เป็น 25.9 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาของ Yu และคณะ (2009) ยังช่วยสนับสนุนการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคโดยรายงานว่า ในสารสกัด cyanuric acid ด้วยเมทานอล ที่เวลา 60 นาที สามารถสกัด cyanuric acid ได้เพียง 55 % และต้องใช้เวลาสูงถึง 240 นาที จึงจะสามารถสกัดได้อย่างสมบูรณ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคพบว่าการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคเพียง 30 นาที ก็ได้สารสกัดสูงถึง 97 % เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Sharma และGupta (2006) ที่ใช้อัลตร้าโซนิคสกัดน้ำมันจากเมล็ดอัลมอนด์และแอพพลิคอตก่อนการฉายรังสีนั้นแสดงถึงผลของการศึกษาที่ดำเนินไปในทิศทางเดียวกันคือการสกัดด้วยอัลตร้าโซนิคที่กำลัง 70 วัตต์ เพียง 2 นาที สามารถเพิ่มปริมาณน้ำมันของเมล็ดอัลมอนด์และแอพพลิคอตจากเดิม 75 – 77 % และ 63 % ตามลำดับ ให้เพิ่มสูงขึ้น 19 – 22 % และลดระยะเวลาในการสกัดจาก 18 ชั่วโมงเหลือเพียง 6 ชั่วโมง นอกจากนี้การทำตัวอย่างให้มีขนาดเล็กลงก่อนการสกัดจะเป็นการเพิ่มพื้นผิวระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลายจึงทำให้เกิดการสัมผัสกับตัวทำละลายและเกิด Cavitation ได้ง่ายขึ้น (Hua และคณะ, 2009)

การศึกษาของ Claver และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาผลของอัลตร้าโซนิคต่อการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากข้าวฟ่างจีนที่สภาวะกำลังของคลื่น 500 - 700 วัตต์ เวลาในการสกัด 3 - 5 นาที และอัตราส่วนของน้ำและวัตถุดิบเท่ากับ 25 - 35 มิลลิลิตรต่อกรัม พบว่าเวลาและอัตราส่วนของน้ำและวัตถุดิบมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันในขณะที่กำลังของคลื่นเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณของโพลีแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

โครงงานพิเศษนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน โดยการทดลองตอนที่ 1 ทำการต้มผงใบแปะก๊วยใน 0.1 % Na_2HPO_4 และทำการสกัดด้วย Ethyl acetate ในสภาวะ pH ต่าง ๆ คือที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 โดยใช้ Buffer 2 กลุ่ม ได้แก่ Buffer type และ Universal Buffer จากนั้นทำการเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่ได้จากการใช้ Buffer ทั้ง 2 กลุ่มนี้ และการทดลองตอนที่ 2 คือ เลือก pH ที่สกัดสารได้ปริมาณมากที่สุดจากผลการทดลองในตอนที่ 1 มาทำการสกัดโดยทำการรีฟลักซ์เป็นเวลา 60 นาที ที่ 60 °C จากนั้นทำ Ultrasonic Assisted Extractions (UAE) เป็นเวลา 15 นาที ที่ 60 °C

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Evaporative Light Scattering Detectors ยี่ห้อ Varian รุ่น Prostar และ Alltech
2. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) บริษัท Metrohmswiss made รุ่น 827 pH Lab ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
3. เครื่อง Ultrasonic Assisted Extractions (UAE)
4. เตาแผ่นความร้อน (Hot plate)
5. กรวยแยก (Separating Funnel)
6. ชุดกรองลดความดัน (Buchner Funnel & Flask)
7. เดซิกเคเตอร์ (Desiccators)
8. ชุดไทเทรต
9. ชุดรีฟลักซ์
10. บิวเรต
11. ปิเปต
12. ขวดวัดปริมาตร
13. กระบอกตวง
14. บีกเกอร์
15. ขวดดูแรน
16. ชามระเหย
17. ขวดรูปชมพู่
19. ขวดฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20. หลอดหยด
21. แท่งแก้ว
22. ช้อนตักสาร
23. Cellulose membrane filter 0.45 µm
24. Syringe
25. Centrifuge tube
26. Thermometer

3.2 ตัวอย่างและสารเคมี

1. ผงใบแปะก๊วย
2. Acetic acid
3. Phosphoric acid
4. Disodium hydrogen phosphate
5. Boric acid
6. Ethyl acetate
7. Anhydrous Sodium Sulphate
8. Sodium chloride
9. Sodium acetate
10. Trizma base
11. Dichloromethane
12. Ethanol
13. Sodium hydroxide
14. Hydrochloric acid

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมสารละลาย 0.1 % Na_2HPO_4

ตวงน้ำกลั่น 900 mL เทลงในบีกเกอร์ขนาด 1 L ชั่งผง Na_2HPO_4 1 g ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นแล้วใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นถ่ายสารละลายลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การเตรียมสารละลาย Buffer

ก. เตรียม 0.8 M Universal Buffer pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8

1. ตวงน้ำกลั่น 700 mL เทลงในบีกเกอร์ขนาด 1 L

2. ชั่งผง H_3BO_3 49.6 g ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นจากนั้นนำไปอุ่นให้ H_3BO_3 ละลายด้วย Hot Plate (ทำใน Hood)

3. จากนั้นเติม conc. CH_3COOH 45.75 mL และ conc. H_3PO_4 54.2 mL ใช้ magnetic stirrer คนให้สารละลายเข้ากัน

4. ถ่ายสารละลายลงในกระบอกตวงขนาด 1 L จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 900 mL ด้วยน้ำกลั่น

5. แบ่งเป็น 10 ส่วน ส่วนละ 90 mL ปรับ pH เป็น 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ด้วย 10 M NaOH ตามลำดับ

6. ในแต่ละส่วนให้ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

ข. เตรียมสารละลาย 1 M Phosphate buffer pH 3

ตวงน้ำกลั่น 30 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL ปิเปต conc. H_3PO_4 3.4 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นอยู่ ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 3 ด้วย 10 M NaOH (วัดค่า pH ด้วย pH meter) ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

ค. เตรียมสารละลาย 1 M Acetate buffer pH 4

ชั่งผง CH_3COONa 1.007 g ละลายในน้ำ 30 mL จากนั้นเติม conc. CH_3COOH 2.5632 mL ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากัน วัดค่า pH ด้วย pH meter (ปรับ pH เพิ่มเติมหากยังไม่ได้ pH 4 ด้วย 37 % HCl หรือ 10 M NaOH) ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

ง. เตรียมสารละลาย 1 M Acetate buffer pH 5

ชั่งผง CH_3COONa 4.314 g ละลายในน้ำ 30 mL จากนั้นเติม conc. CH_3COOH 1.1011 mL ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากัน วัดค่า pH ด้วย pH meter (ปรับ pH เพิ่มเติมหากยังไม่ได้ pH 5 ด้วย 37 % HCl หรือ 10 M NaOH) ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ. เตรียมสารละลาย 1 M Phosphate buffer pH 6

ตวงน้ำกลั่น 30 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL ปิเปต conc. H_3PO_4 3.4 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นอยู่ ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 6 ด้วย 10 M NaOH (วัดค่า pH ด้วย pH meter) ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

ฉ. เตรียมสารละลาย 1 M Phosphate buffer pH 7

ตวงน้ำกลั่น 30 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL ปิเปต conc. H_3PO_4 3.4 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นอยู่ ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 6 ด้วย 10 M NaOH (วัดค่า pH ด้วย pH meter) ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

ช. เตรียมสารละลาย 1 M Tris buffer pH 8

ชั่งผง Trizma base 6.057 g ละลายในน้ำกลั่น 30 mL จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 8 ด้วย 37 % HCl (วัดค่า pH ด้วย pH meter) ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

ซ. เตรียมสารละลาย 0.05 M Borate buffer pH 9

ชั่งผง H_3BO_3 1.546 g ละลายในน้ำกลั่น 250 mL จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 9 ด้วย 10 M NaOH (วัดค่า pH ด้วย pH meter) ปรับปริมาตรให้ได้ 500 mL ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บใส่หลอดพลาสติกและนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

3.3.3 การทดลองตอนที่ 1 การต้มผงใบแปะก๊วยและสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8

1. ชั่งผงใบแปะก๊วยแห้ง 80 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 mL
2. ตวงสารละลาย 0.1 % Na_2HPO_4 800 mL โดยใช้กระบอกตวงขนาด 1 L
3. เทสารละลายลงในบีกเกอร์ที่มีผงใบแปะก๊วยแห้ง ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มโดยใช้ Hot Plate เป็นเวลา 10 นาที (ทำใน Hood)
4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำไปกรองแบบลดความดัน โดยใช้กระดาษกรอง whatman no. 2
5. นำส่วนที่กรองได้ (Filtrate) มาแบ่งเป็น 12 ส่วน ส่วนละ 50 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL
6. ตวง Universal Buffer pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 มา 7.14 mL และตวง Buffer Type pH 3, 4, 5, 6, 7 และ8 มา 5.5 mL โดยใช้กระบอกตวงขนาด 10 mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น

7. นำส่วนที่กรองได้ 12 ส่วน มาเติม Universal Buffer และBuffer Type ที่ตวงไว้ (ปรับ pH เพิ่มเติมหากยังไม่ได้ pH ที่ต้องการ ด้วย 37 % HCl หรือ 10 M NaOH)

8. เติม NaCl ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10% (w/v) แล้วใช้แท่งแก้วคนให้สารเข้ากัน จากนั้นนำไปสกัดในกรวยแยกด้วย Ethyl Acetate ไขชั้นล่าง (ชั้นน้ำ) ไว้ทำขั้นตอนนี้อีกรอบ

9. เทชั้นของ Ethyl acetate รวมกัน แล้วเติม anh. Na_2SO_4 เพื่อดูดน้ำออก

10. กรองผ่านกระดาษกรอง whatman no. 2 เพื่อเอา anh. Na_2SO_4 ออก

11. นำสารสกัดใส่ขามระเหยที่ชั่งน้ำหนักแล้ว ระเหย Ethyl acetate ทิ้ง โดยใช้ Hot Plate และ Water bath (ทำใน Hood) ระเหยจนได้สารสกัดที่แห้ง

12. นำขามระเหยไปชั่งน้ำหนักแล้วจดบันทึกน้ำหนักที่ได้ จากนั้นนำฟิล์มถนอมอาหารมาปิดขามระเหย และนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

13. ทำการเตรียมเป็นสารละลายเพื่อนำไปฉีด HPLC ตามวิธีในข้อ 3.3.5

3.3.4 การทดลองตอนที่ 2 การสกัดผงใบแปะก๊วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ pH 4 และ pH 5 วิธีการรีฟลักซ์และ Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)

1. ชั่งผงใบแปะก๊วยแห้ง 50 g ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 mL

2. ตวงสารละลาย Buffer pH 9 มา 500 mL โดยใช้กระบอกตวงขนาด 1 L

3. เทสารละลายลงในบีกเกอร์ที่มีผงใบแปะก๊วยแห้ง แล้วใช้แท่งแก้วคนให้สารเข้ากัน จากนั้นเทสารละลายลงในขวดก้นกลมเพื่อทำการรีฟลักซ์ เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 60 °C

4. เข้าเครื่อง Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 60 °C

5. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำไปกรองแบบลดความดัน โดยใช้กระดาษกรอง whatman no. 2 นำส่วนที่กรองได้ (Filtrate) มาแบ่งเป็น 8 ส่วนๆละ 50 mL ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 mL โดยทำการปรับ pH ตามตารางที่ 3 แล้วทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด คือ Dichloromethane และ Ethyl acetate

6. ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ครั้ง เทชั้นของสารละลายอินทรีย์รวมกัน จากนั้นเติม anh. Na_2SO_4 เพื่อดูดน้ำออก กรองผ่านกระดาษกรอง whatman no. 2 เพื่อเอา anh. Na_2SO_4 ออก

7. นำสารสกัดใส่ขามระเหยที่ชั่งน้ำหนักแล้ว ระเหยสารละลายอินทรีย์ทิ้ง โดยใช้ Hot Plate และ Water bath (ทำใน Hood) ระเหยจนได้สารสกัดที่แห้ง

8. นำขามระเหยไปชั่งน้ำหนักแล้วจดบันทึกน้ำหนักที่ได้ จากนั้นนำฟิล์มถนอมอาหารมาปิดขามระเหย และนำไปแช่ตู้เย็นจนกว่าจะใช้งาน

9. ทำการเตรียมเป็นสารละลายเพื่อนำไปฉีด HPLC ตามวิธีในข้อ 3.3.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงสภาวะของแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่างที่	pH ที่ต้องการ	ปรับ pH โดย	NaCl		ตัวทำละลายอินทรีย์
			ใส่	ไม่ใส่	
1	pH 5	1M NaOH หรือ 37 % HCl		✓	Ethyl acetate
2	pH 5	1M NaOH หรือ 37 % HCl	✓		Ethyl acetate
3	pH 4	เติม Acetate buffer 1M pH 4 และ ปรับด้วย 1M NaOH หรือ 37 % HCl		✓	Ethyl acetate
4	pH 5	เติม Universal Buffer pH 5 และ ปรับด้วย 1M NaOH หรือ 37 % HCl		✓	Ethyl acetate
5	pH 5	1M NaOH หรือ 37 % HCl		✓	Dichloromethane
6	pH 5	1M NaOH หรือ 37 % HCl	✓		Dichloromethane
7	pH 4	เติม Acetate buffer 1M pH 4และ ปรับด้วย 1M NaOH หรือ 37 % HCl		✓	Dichloromethane
8	pH 5	เติม Universal Buffer pH5 และ ปรับด้วย 1M NaOH หรือ 37 % HCl		✓	Dichloromethane

3.3.5 การเตรียมสารเพื่อฉีด HPLC

1. ละลายสารสกัดที่ระเหยแห้งในขามระเหยทั้งหมดใน 2 mL 50 % Ethanol
2. ใช้แท่งแก้วคนสารให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 µm
3. กรองสารสกัดลงในขวด Vial สำหรับฉีด HPLC

* หมายเหตุ ขวด Vial จะต้องกลั้วด้วย Methanol (HPLC Grade) แล้วทิ้งไว้ให้แห้งก่อนที่จะเตรียมสารเพื่อฉีด HPLC

ตารางที่ 5 แสดงสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC

Column	Mobile phase	Detector
Phenomenex Luna (5 µm) C18 Dimensions 250 mm × 4.6 mm และ Temperature 45 °C	Methanol/Water 30 : 70 (v/v) สำหรับ 6 นาทีแรก หลังจากนั้นใช้สัดส่วน 70:30 ตลอด	ESD Detector Gas flow และ Drift tube temperature ตั้งที่ 1.5 L/min และ 117.5 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการวิจัย

4.1.1 ผลการทดลองตอนที่ 1 การต้มผงใบแปะก๊วยและสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8

จากวิธีการทดลองในข้อที่ 3.3.3 ทำการสกัดโดยการต้มผงใบแปะก๊วยใน 0.1 % Na_2HPO_4 จากนั้นกรองแล้วนำส่วนที่กรองได้ มาทำการแบ่งเป็น 12 ส่วน แล้วปรับ pH ของน้ำต้มใบแปะก๊วยด้วยการเติม Buffer pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 (Buffer type และ Universal Buffer) จากนั้นเติม NaCl แล้วทำการสกัดในกรวยแยกด้วย Ethyl acetate ทำการสกัด 2 ครั้ง จากนั้นเทชั้น Ethyl acetate รวมกัน และเติม anh. Na_2SO_4 เพื่อดูดน้ำออก นำไประเหยแห้ง แล้วชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ ได้ผลการทดลองเป็นไปดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงน้ำหนักสารสกัดที่ได้ (g) ของแต่ละ pH ก่อนวิเคราะห์ด้วย HPLC

pH	3	4	5	6	7	8
Terpene Lactone (Buffer type: BT)	0.0647	0.0589	0.0495	0.0505	0.0268	0.0249
Terpene Lactone (Universal Buffer: UB)	0.0759	0.0717	0.0683	0.0571	0.0224	0.0085

นำสารสกัดที่ได้มาละลายใน 50 % Ethanol จากนั้นนำไปกรองผ่านเมมเบรน แล้วทำการฉีดสารเข้าเครื่อง HPLC จะได้พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type และ Universal Buffer ในการควบคุม pH เป็นไปดังตารางที่ 7 และ 8 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type ในการควบคุม pH

BT	BB	GJ	GC	GA	GB
3	22,078.5580	2,613.7860	8,818.6325	15,954.5030	10,166.1910
4	26,845.2720	1,845.3590	10,168.6375	20,044.9100	12,830.4085
5	24,839.4415	2,321.5720	9,145.9375	19,425.5790	11,866.2350
6	26,755.6195	3,169.6010	9,735.5790	18,750.7940	12,214.4935
7	10,140.4370	2,311.8935	4,821.4005	11,150.6870	6,381.6960
8	3,808.4410	1,098.7790	1,142.7650	8,642.0980	1,873.2080

ตารางที่ 8 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer ในการควบคุม pH

UB	BB	GJ	GC	GA	GB
3	33,522.6320	4,684.1265	11,908.9030	19,779.7645	14,016.8295
4	32,103.1570	4,988.3735	13,225.0730	20,200.0215	13,651.0490
5	32,285.6790	4,912.5090	12,602.3755	21,015.1160	13,540.1670
6	27,402.8000	5,067.9770	9,732.4405	19,933.8070	12,161.9450
7	5,615.9700	1,106.7410	1,498.9705	8,956.4485	3,471.3955
8	-	175.9470	-	751.5570	102.4350

นำน้ำหนักดิบของสารสกัดที่ได้ มาคำนวณหาปริมาณสารสกัด ในสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด เป็นไปดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones (g) จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด

pH	3	4	5	6	7	8
Terpene Lactone (Buffer type)	0.0016	0.0015	0.0012	0.0013	0.0007	0.0006
Terpene Lactone (Universal Buffer)	0.0019	0.0018	0.0017	0.0014	0.0006	0.0002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

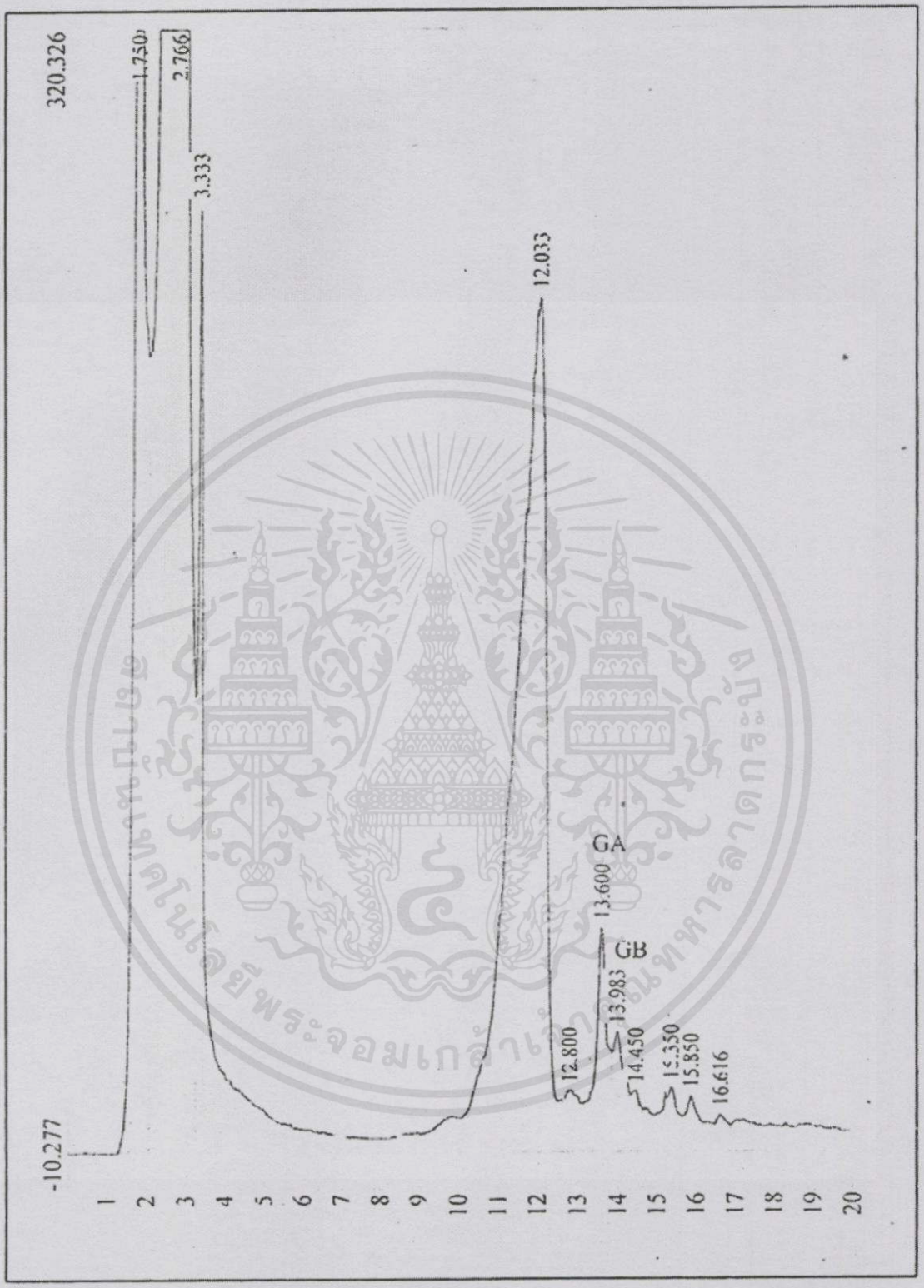
จากนั้นเมื่อได้ปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones (g) จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด จึงทำการคำนวณหาน้ำหนักใบแห้งเริ่มต้น เป็นไปดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงน้ำหนักใบแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL ที่ทำการฉีด (เทียบกับน้ำหนักผงแปะก๊วยเริ่มต้น 6.4516 g)

pH	3	4	5	6	7	8
Terpene Lactone (Buffer type)	0.1613	0.1613	0.1614	0.1614	0.1613	0.1614
Terpene Lactone (Universal Buffer)	0.1613	0.1613	0.1613	0.1613	0.1613	0.1617

เมื่อทำการฉีดสารเข้าเครื่อง HPLC จะได้ HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactone จากนั้นนำ Retention time ที่ได้มาเปรียบเทียบกับ HPLC Chromatogram ของงานวิจัยอื่นๆ (ภาพที่ 9 และ 10) ที่ได้ทำการศึกษามาแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

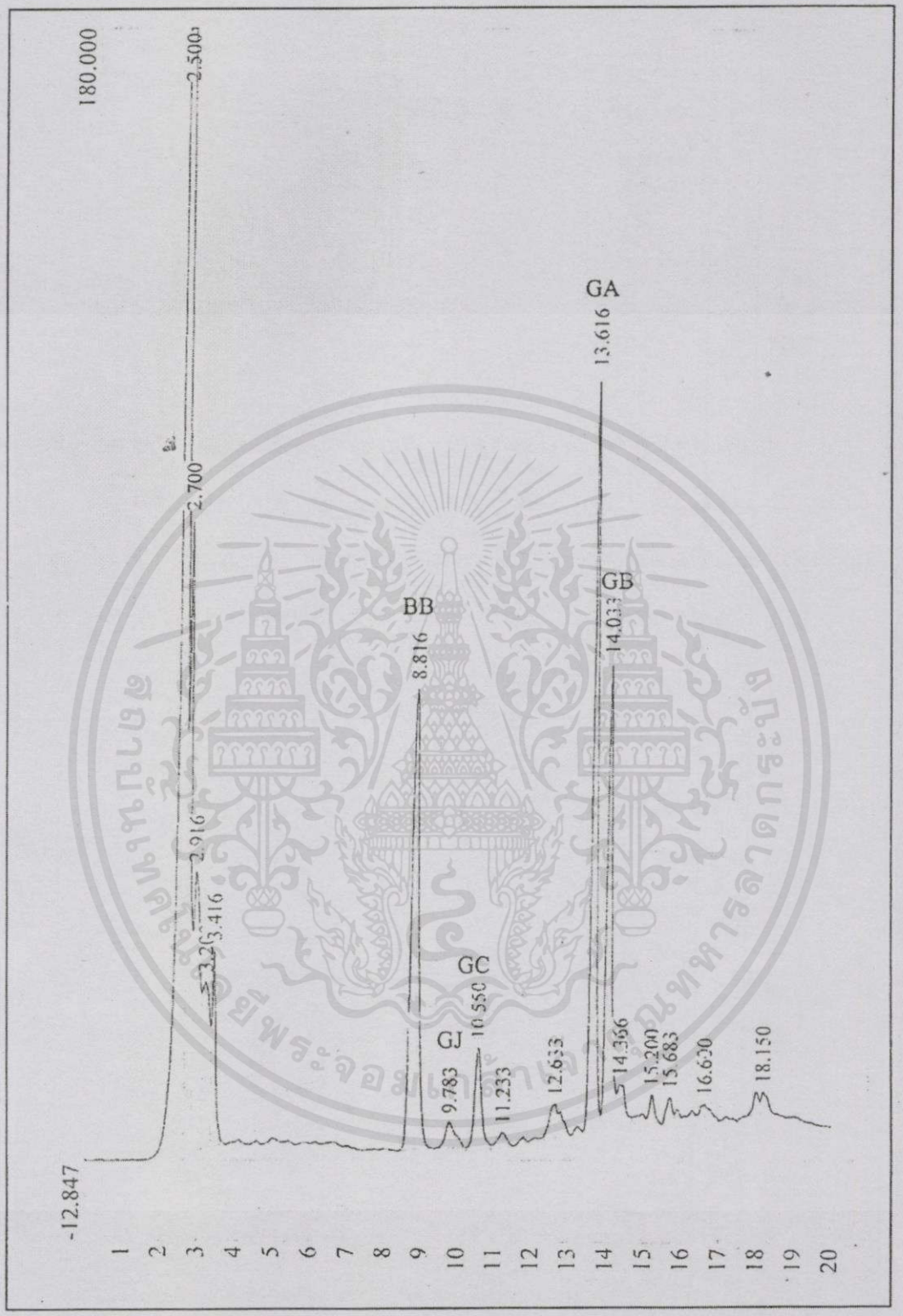


ภาพที่ 9 HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ใน HERBEL ONE

(Phenomenex Luna Column ขนาด 250 × 4.6 mm, flow rate of 1.5 L/min, ELS Detector)

(กัญญามาศ และคณะ, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ ... ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ... นำไปใช้



ภาพที่ 10 HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ที่สกัดโดย Ethyl acetate
(Phenomenex Luna Column ขนาด 250 × 4.6 mm, flow rate of 1.5 L/min, ELS Detector)
(กัญญามาศ และคณะ, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จาก HPLC Chromatogram (ภาพที่ 9 และ 10) จะแสดงให้เห็นถึง Retention Time (RT) ของสาร Terpene Lactones ดังนี้

ชนิดของสาร	Retention time (RT)
Bilobalide (BB)	~ 8.8 min
Ginkgolide J (GJ)	~ 9.7 min
Ginkgolide C (GC)	~ 10.5 min
Ginkgolide A (GA)	~ 13.6 min
Ginkgolide B (GB)	~ 14 min

จาก HPLC Chromatogram ของสารตัวอย่าง จะได้พื้นที่ใต้กราฟตามตารางที่ 7 (BT) และ 8 (UB) นำพื้นที่ใต้กราฟนี้ และข้อมูลน้ำหนักแห้งเริ่มต้นในตารางที่ 6 มาคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) (วิธีคำนวณดูในภาคผนวก) ได้ค่าดังตารางที่ 11 และ 12

ตารางที่ 11 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH

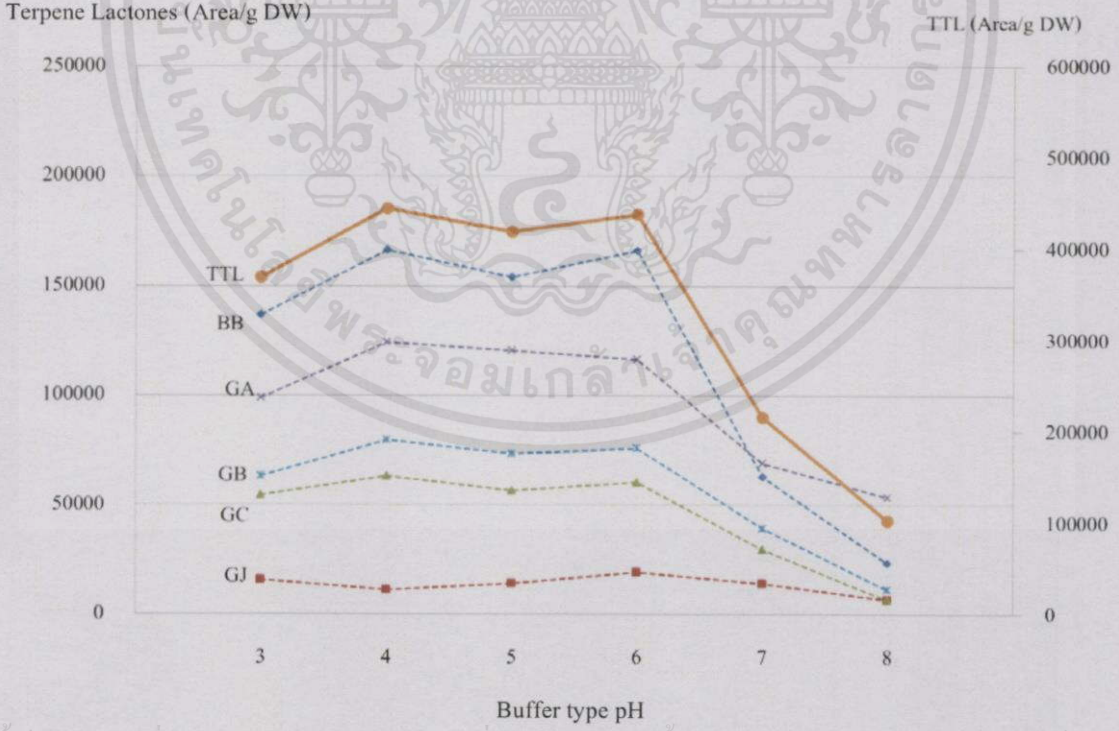
BT	BB	GJ	GC	GA	GB	Total
3	136,878.8469	16,204.5009	54,672.2412	98,911.9839	63,026.6026	369,694.1755
4	166,430.7006	11,440.5394	63,041.7700	124,270.9857	79,543.7601	444,727.7558
5	153,995.2976	14,392.8828	56,701.4104	120,431.3639	73,566.2430	419,087.1977
6	165,874.8884	19,650.3503	60,356.9684	116,247.9479	75,725.3162	437,855.4712
7	62,866.9374	14,332.8797	29,890.8897	69,130.1116	39,564.1414	215,784.9598
8	23,610.9175	6,812.0211	7,084.7179	53,577.7993	11,613.1928	102,698.6486

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH

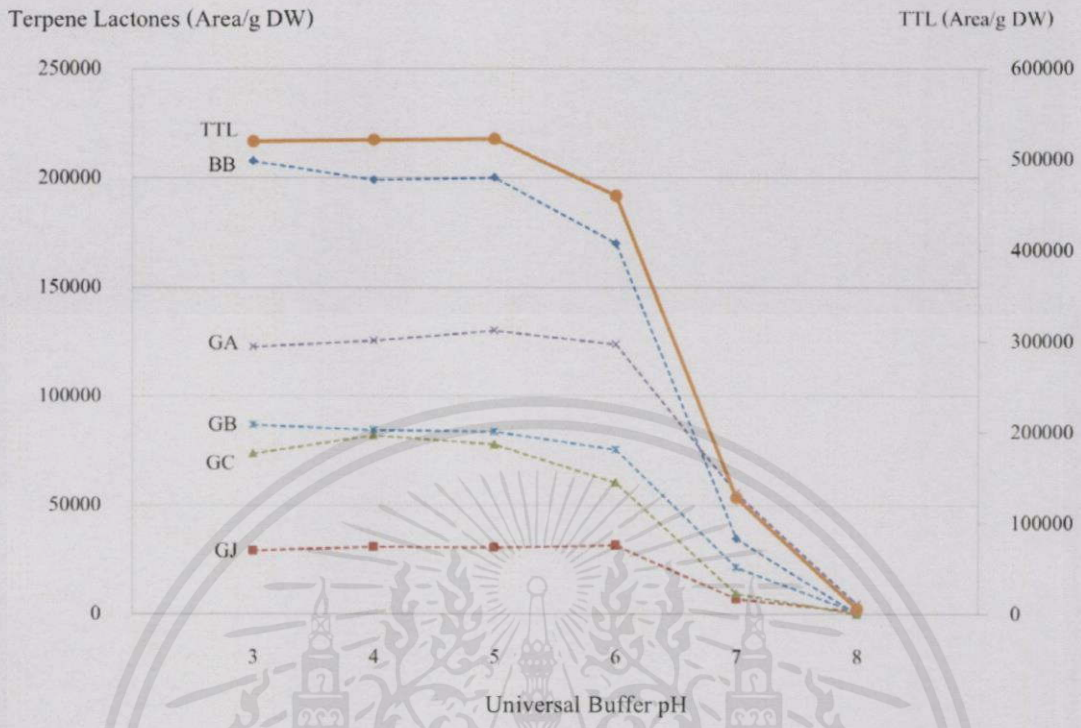
UB	BB	GJ	GC	GA	GB	Total
3	207,827.8487	29,039.8419	73,830.7688	122,627.1823	86,899.1290	520,224.7707
4	199,027.6317	30,926.0601	81,990.5332	125,232.6193	84,631.4259	521,808.2702
5	200,159.2002	30,455.7285	78,130.0403	130,285.9020	83,943.9988	522,974.8698
6	169,887.1668	31,419.5722	60,337.5109	123,582.1885	75,399.5350	460,625.9734
7	34,816.9250	6,861.3825	9,293.0595	55,526.6491	21,521.3608	128,019.3769
8	-	1,090.8060	-	4,659.3738	635.0590	6,385.2388

จากตารางที่ 11 และ 12 นำมาสร้างกราฟและแผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่างๆ ด้วย BT และ UB ตามลำดับ ดังภาพต่อไปนี้

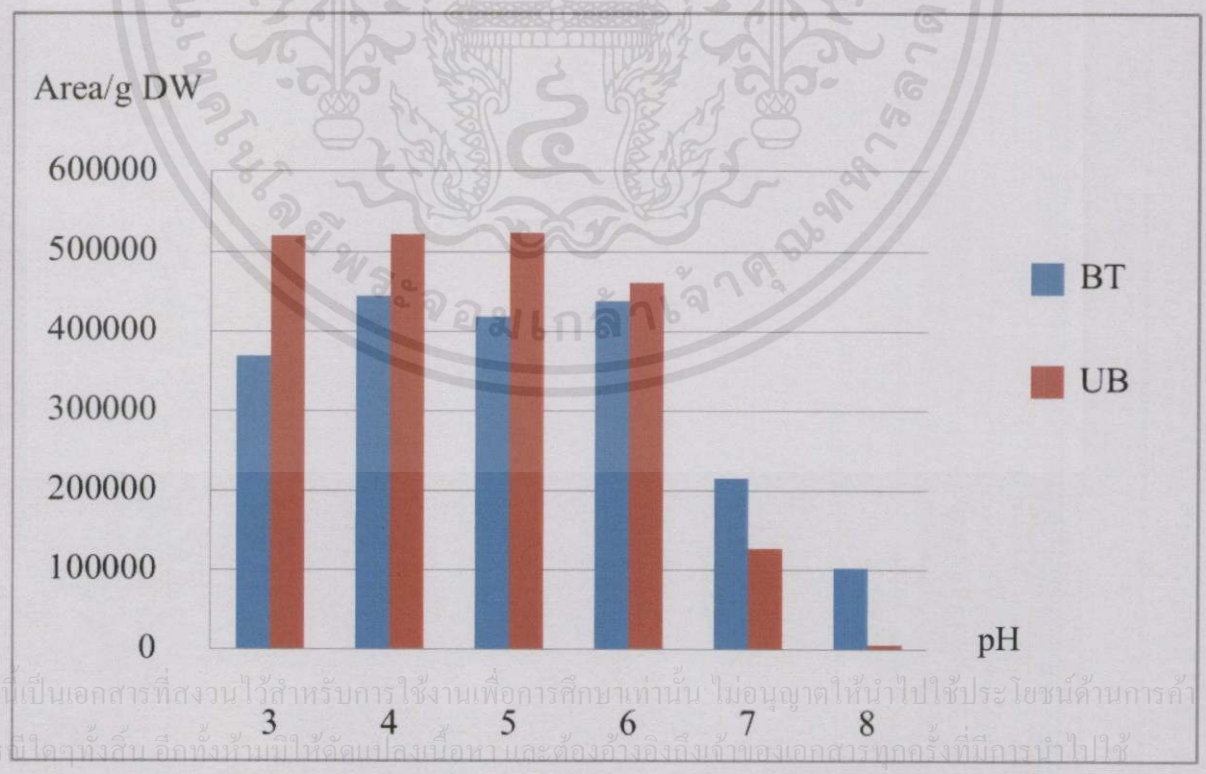


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 11 กราฟแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่างๆ และปริมาณ Total Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH



ภาพที่ 12 กราฟแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่างๆ และปริมาณ Total Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB)ในการควบคุม pH



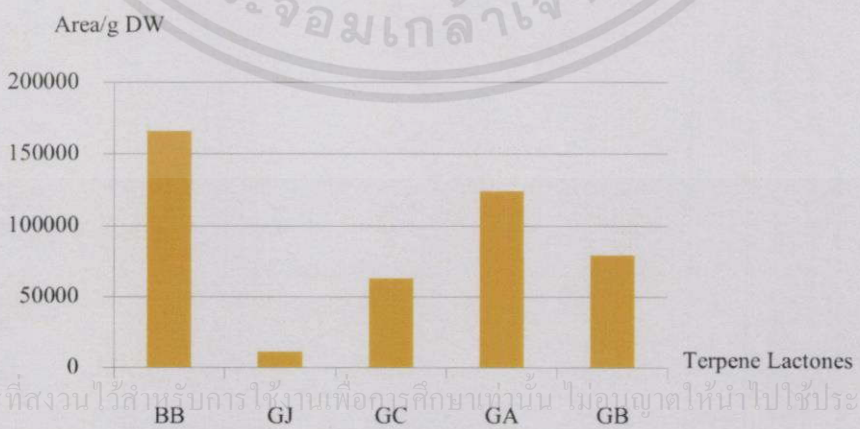
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 13 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบปริมาณของ Total Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่างๆ

จากภาพ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของ TotalTerpene Lactones (TTLs) ที่สกัดได้ที่ pH ต่าง ๆ ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH พบว่าสามารถเรียงลำดับปริมาณของ Terpene Lactones จากมากไปหาน้อย ได้ดังนี้ คือ ที่ pH 4 > pH 6 > pH 5 > pH 3 > pH 7 > pH 8 และของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH สามารถเรียงลำดับปริมาณของ Terpene Lactones จากมากไปหาน้อย ได้ดังนี้ คือ ที่ pH 5 > pH 4 > pH 3 > pH 6 > pH 7 > pH 8 และหากเปรียบเทียบปริมาณ TTLs ที่ BT pH 4 และ UB pH 5 จะพบว่าที่ UB5 > BT 4

จากข้อมูลในตารางที่ 11 และ 12 นำมาสร้างแผนภูมิแท่งแสดงปริมาณ Terpene Lactones แต่ละชนิด ได้ดังรูปภาพที่ 14 - 25 ดังนี้

ภาพที่ 14 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 3 (BT)

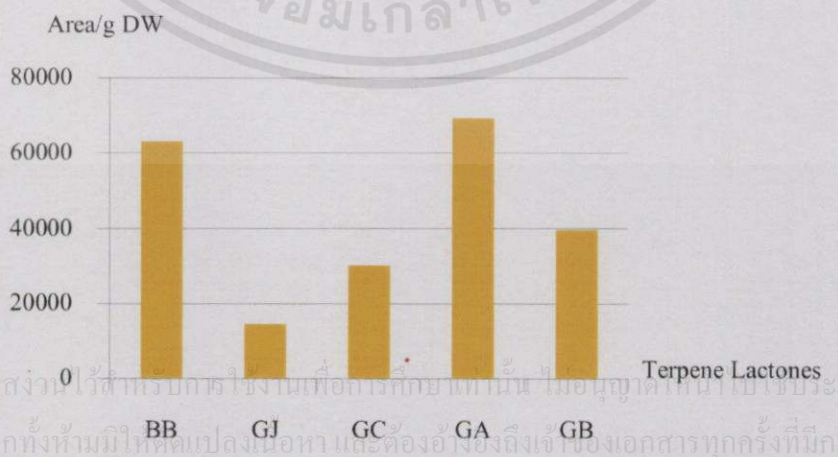


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 15 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 4 (BT)

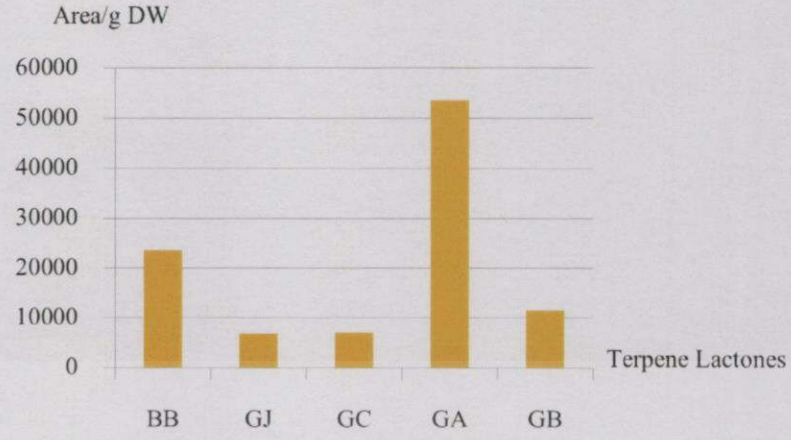
ภาพที่ 16 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 5 (BT)

ภาพที่ 17 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 6 (BT)



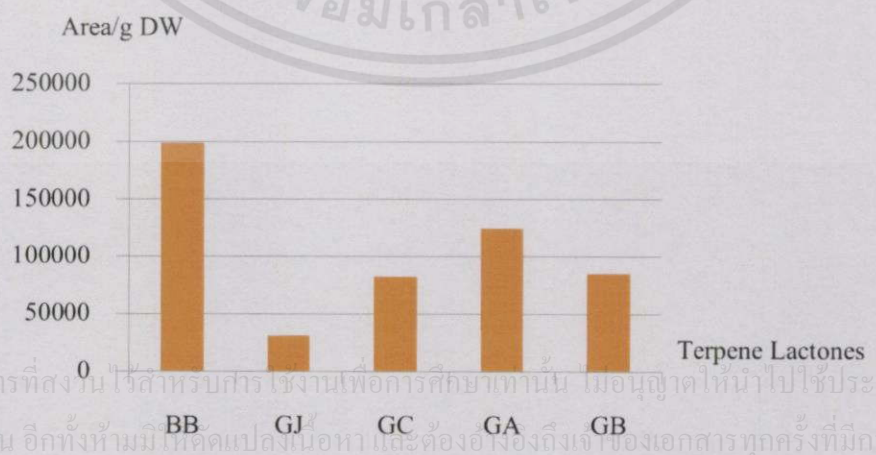
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 18 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 7 (BT)



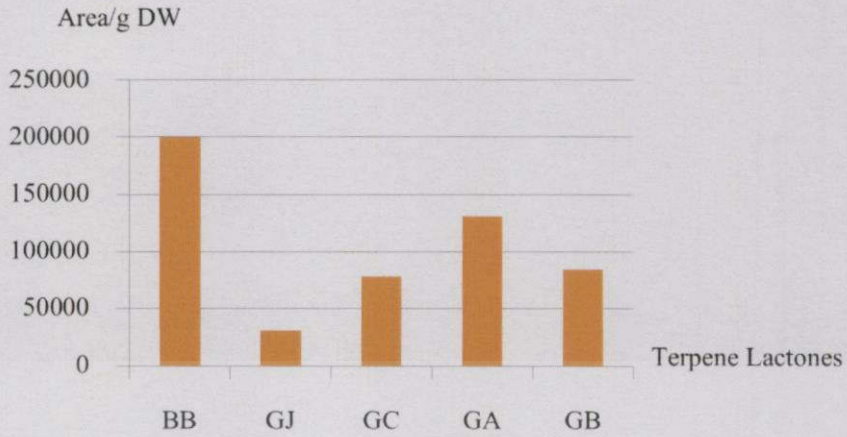
ภาพที่ 19 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 8 (BT)

ภาพที่ 20 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 3 (UB)

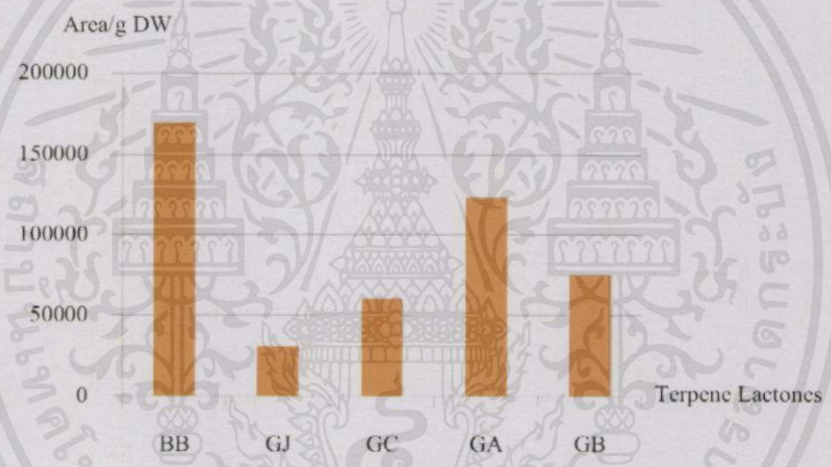


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

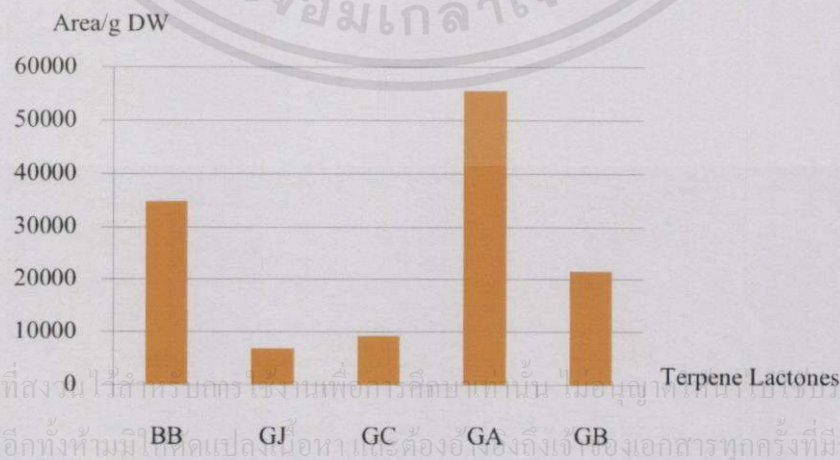
ภาพที่ 21 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 4 (UB)



ภาพที่ 22 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 5 (UB)

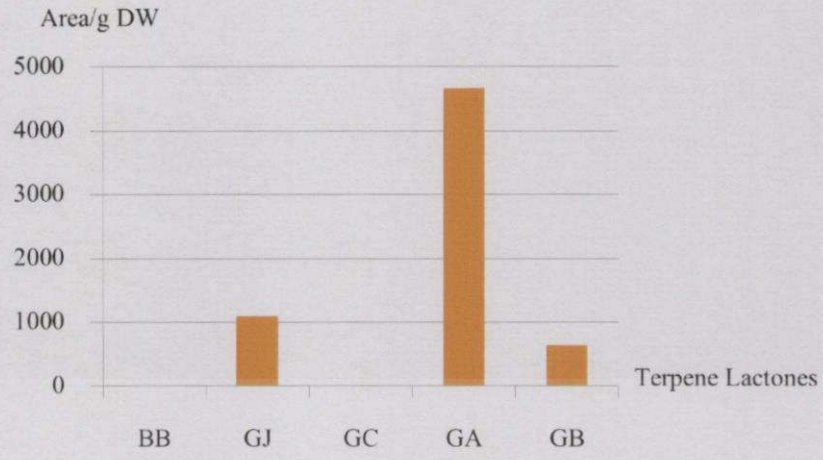


ภาพที่ 23 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 6 (UB)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 24 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 7 (UB)



ภาพที่ 25 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ที่ pH 8 (UB)

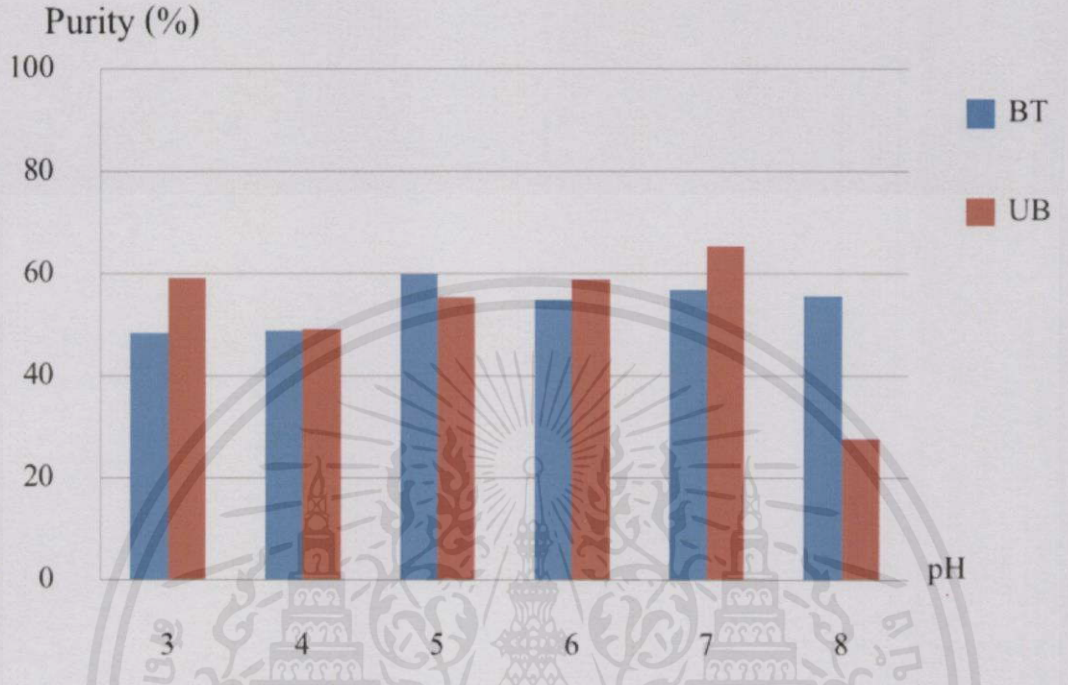
จาก HPLC Chromatogram ของแต่ละตัวอย่าง เราให้ Area ของทุก Peak ในการฉีดทั้งหมดเป็น 100 % จึงคำนวณหาค่าความบริสุทธิ์ (% Purity) ได้จากผลรวม % Peak Area ของสาร Terpene Lactone แต่ละชนิด

ตารางที่ 13 ตารางแสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 1

ตัวอย่าง	% Peak area					Total
	BB	GJ	GC	GA	GB	% Peak area
BT 3	17.8969	2.1187	7.1484	12.9327	8.2407	48.3374
BT 4	18.3172	1.2591	6.9383	13.6772	8.7545	48.9463
BT 5	21.991	2.0553	8.0971	17.1979	10.5055	59.8468
BT 6	20.8062	2.4648	7.5708	14.5814	9.4985	54.9217
BT 7	16.6014	3.7849	7.8933	18.2553	10.4478	56.9827
BT 8	12.7974	3.6922	3.84	29.0399	6.2945	55.6640
UB 3	23.6072	3.2986	8.3865	13.9292	9.8709	59.0924
UB 4	18.7893	2.9196	7.7403	11.8226	7.9897	49.2615
UB 5	21.251	3.2335	8.2951	13.8325	8.9124	55.5245
UB 6	21.7387	4.0204	7.7208	15.8136	9.6481	58.9416
UB 7	17.7989	3.5076	4.7507	28.386	11.002	65.4452
UB 8	0	4.7467	0	20.2755	2.7635	27.7857

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จาก HPLC Chromatogram นำ % Peak Area มาสร้างเป็นแผนภูมิแท่ง แสดง % Purity ได้ดังนี้



ภาพที่ 26 แผนภูมิแสดง % Purity ของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ ที่ pH ต่างๆ ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) และ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH

จากภาพ เมื่อเปรียบเทียบความบริสุทธิ์ของสารสกัด Terpene Lactones ที่สกัดได้ที่ pH ต่าง ๆ ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH พบว่าที่ pH 5 มีความบริสุทธิ์มากที่สุด ตามด้วย ที่ pH 7 > pH 8 > pH 6 > pH 4 > pH 3 และของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH ที่ pH 7 มีความบริสุทธิ์มากที่สุด ตามด้วย ที่ pH 3 > pH 6 > pH 5 > pH 4 > pH 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลการทดลองตอนที่ 2 การสกัดผงใบแปะก๊วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ pH 4 และ pH 5 ด้วยวิธีการรีฟลักซ์และ Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)

จากวิธีการทดลองในข้อที่ 3.3.4 ทำการสกัดโดยการรีฟลักซ์ผงใบแปะก๊วยใน Buffer pH 9 ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 60 นาที และใช้คลื่นเสียงอัลตร้าโซนิคแทนการต้มใน 0.1 % Na_2HPO_4 ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรอง แล้วนำส่วนที่กรองได้มาแบ่งเป็น 8 ส่วน และทำการปรับ pH (ตามตารางที่ 4) ดังนี้

1. pH 5 (ปรับด้วย HCl)
2. pH 5 + NaCl (ปรับด้วย HCl)
3. BT 4
4. UB 5
5. pH 5 (ปรับด้วย HCl)
6. pH 5 + NaCl (ปรับด้วย HCl)
7. BT 4
8. UB 5

จากนั้นทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยตัวอย่างที่ 1 - 4 สกัดด้วย Ethyl acetate และตัวอย่างที่ 5 - 8 สกัดด้วย Dichloromethane ทำการสกัด 2 ครั้ง จากนั้นเทชั้นสารละลายอินทรีย์รวมกัน แล้วเติม anh. Na_2SO_4 เพื่อดูดน้ำออก นำไประเหยแห้ง แล้วชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ ได้ผลการทดลองเป็นดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงน้ำหนักสารสกัดที่ได้ (g) ของแต่ละตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ด้วย HPLC

ตัวอย่าง	1	2	3	4	5	6	7	8
น้ำหนักสารสกัด (g)	0.0463	0.0467	0.0524	0.0555	0.0173	0.0163	0.0171	0.0168

นำสารสกัดที่ได้มาละลายใน 50 % Ethanol จากนั้นนำไปกรองผ่านเมมเบรน แล้วทำการฉีดสารเข้าเครื่อง HPLC จะได้พื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate และ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นไปดังตารางที่ 15 และ 16 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB
1	4,115.5205	2,957.3510	6,716.9115	16,548.8670	10,092.9480
2	4,525.9710	3,788.9140	7,805.6230	17,174.5880	11,486.7580
3	4,278.9190	2,768.6940	8,905.6550	16,680.4540	11,145.4110
4	4,767.4375	3,330.8980	8,429.3180	18,614.2505	11,538.0140

ตารางที่ 16 แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB
5	1,204.7250	412.7580	76.2985	16,406.2950	7,293.6490
6	979.3240	385.7490	125.9855	13,616.0140	6,031.8335
7	1,191.1265	389.3880	126.9905	16,022.0935	7,171.9650
8	728.4745	292.2545	106.1510	11,544.4520	4,995.4095

นำน้ำหนักดิบของสารสกัดที่ได้ มาคำนวณหาปริมาณสารสกัด ในสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด เป็นไปดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด

ตัวอย่าง	1	2	3	4	5	6	7	8
น้ำหนักสารสกัด (g)	0.0012	0.0012	0.0013	0.0014	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004

จากนั้นเมื่อได้ปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones (g) จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด จึงทำการคำนวณหาน้ำหนักใบแห้งเริ่มต้น เป็นไปดังตารางที่ 18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 แสดงน้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL ที่ทำการฉีด (เทียบกับน้ำหนักผงแปะก๊วยเริ่มต้น 6.2500 g)

ตัวอย่าง	1	2	3	4	5	6	7	8
น้ำหนักสารสกัด (g)	0.1563	0.1563	0.1563	0.1563	0.1564	0.1564	0.1564	0.1563

จาก HPLC Chromatogram ของสารตัวอย่าง จะได้พื้นที่ใต้กราฟตามตารางที่ 15 (Ethyl acetate) และ 16 (Dichloromethane) นำพื้นที่ใต้กราฟนี้ และข้อมูลน้ำหนักแห้งเริ่มต้นในตารางที่ 14 มาคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) (วิธีคำนวณดูในภาคผนวก) ได้ค่าดังตารางที่ 19 และ 20

ตารางที่ 19 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

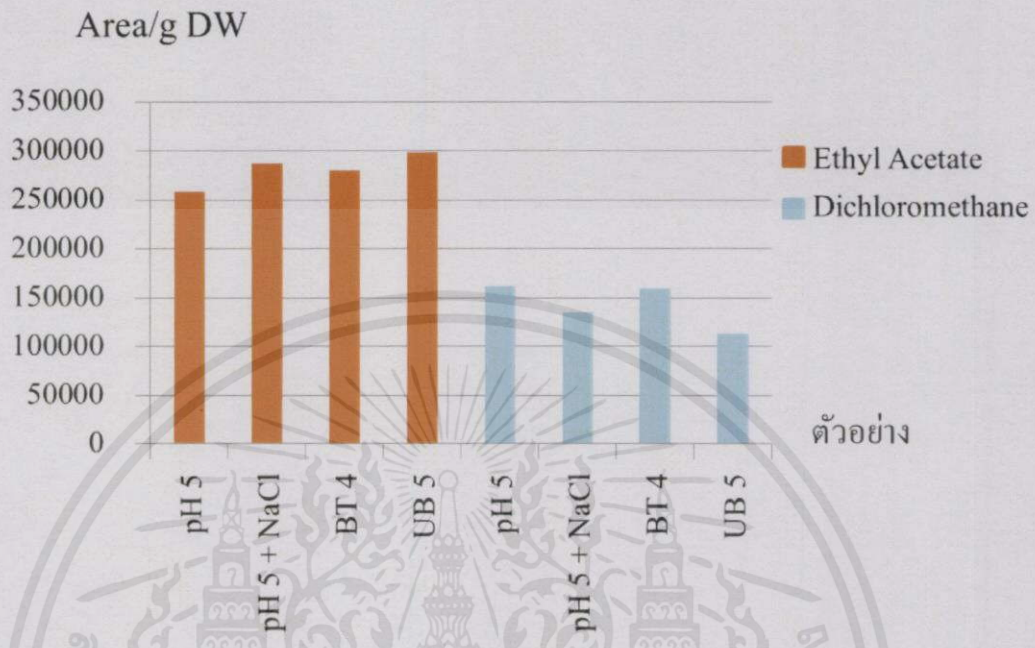
ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB	TTL
1	26,328.0417	18,918.9340	42,969.8082	105,867.3529	64,567.1808	258,651.3176
2	28,953.7990	24,238.6561	49,934.5753	109,870.2508	73,483.7414	286,481.0226
3	27,385.0816	17,719.6416	56,996.1920	106,754.9056	71,330.6304	280,186.4512
4	30,500.6686	21,310.1097	53,928.3073	119,088.5219	73,816.8337	298,644.4412

ตารางที่ 20 แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB	TTL
5	7,701.3188	2,638.5947	487.7454	104,878.7964	46,625.3428	162,331.7981
6	6,259.9813	2,465.7637	805.3176	87,035.5403	38,556.3564	135,122.9593
7	7,614.2917	2,489.1679	811.7884	102,421.4424	45,846.8801	159,183.5705
8	4,662.2368	1,870.4288	679.3664	73,884.4928	31,970.6208	113,067.1456

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง

จากตารางที่ 19 และ 20 นำมาสร้างกราฟและแผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ได้ดังภาพต่อไปนี้

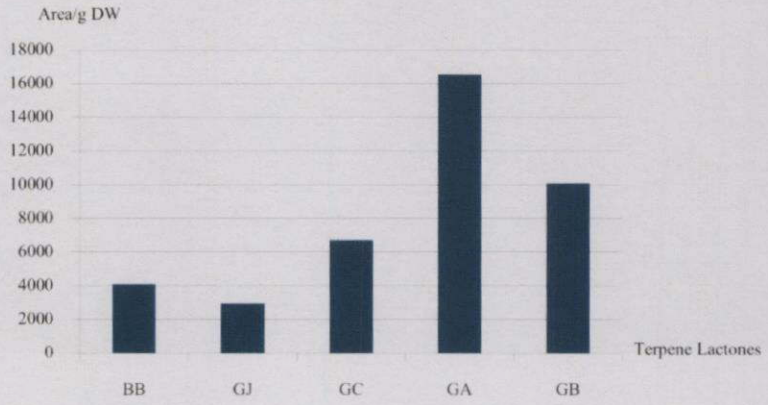


ภาพที่ 27 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบปริมาณของ Total Terpene Lactones ที่สกัดได้ของแต่ละตัวอย่าง

จากภาพ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของ Total Terpene Lactones (TTLs) ที่สกัดได้ ที่ pH และตัวทำละลายต่าง ๆ กันของตัวอย่าง พบว่า ตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ จะสามารถสกัดสารได้มากกว่าตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ในทุก ๆ สภาวะ โดยตัวอย่างที่ทำการสกัดสารได้มากที่สุดคือ UB 5 : Ethyl acetate ส่วนการเติมเกลือ NaCl นั้น ในการทดลองที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่า NaCl ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด แต่สำหรับ การทดลองที่ใช้ Dichloromethane นั้นกลับทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดนั้นลดลง

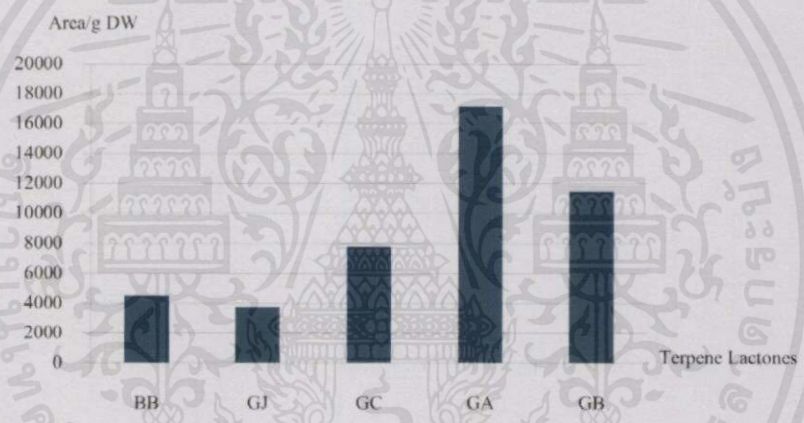
จากข้อมูลในตารางที่ 19 และ 20 นำมาสร้างแผนภูมิแท่งแสดงปริมาณ Terpene Lactones แต่ละชนิด ได้ดังรูปภาพที่ 28 - 35 ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



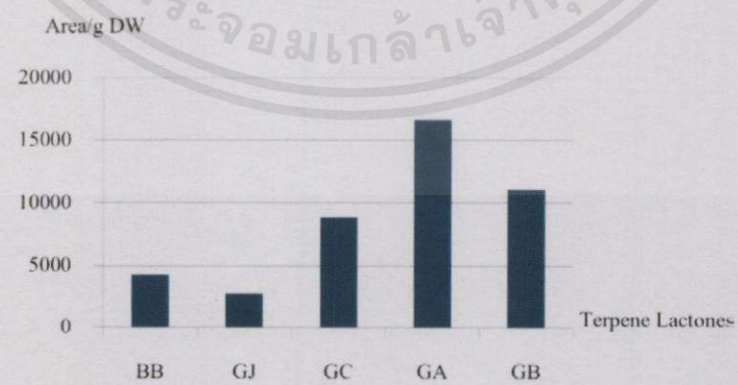
ภาพที่ 28 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 1

(pH 5 : Ethyl acetate)



ภาพที่ 29 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 2

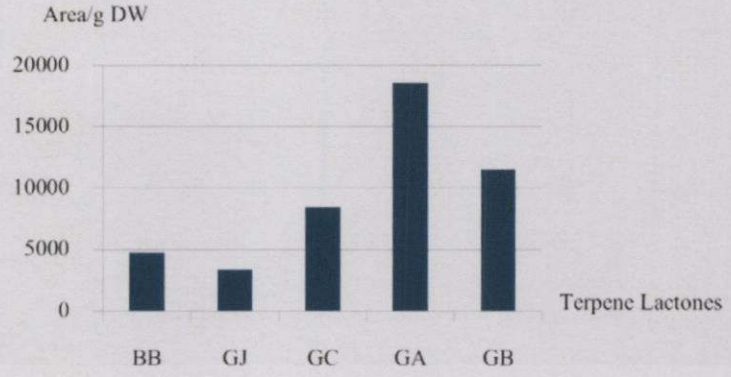
(pH 5 + NaCl : Ethyl acetate)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น การนำไปใช้

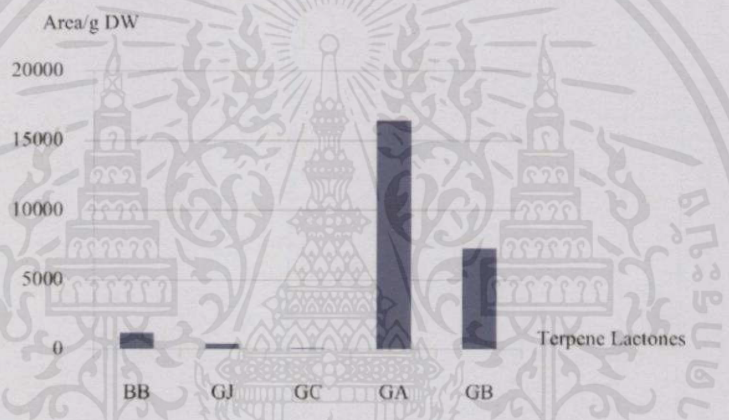
ภาพที่ 30 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 3

(BT 4 : Ethyl acetate)



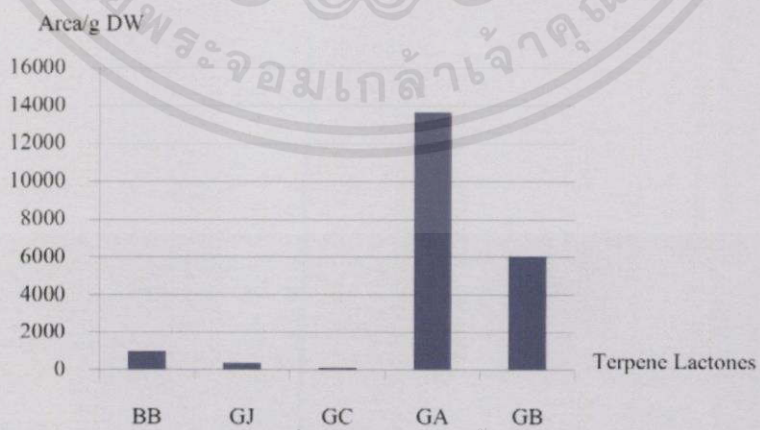
ภาพที่ 31 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 4

(UB 5 : Ethyl acetate)



ภาพที่ 32 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 5

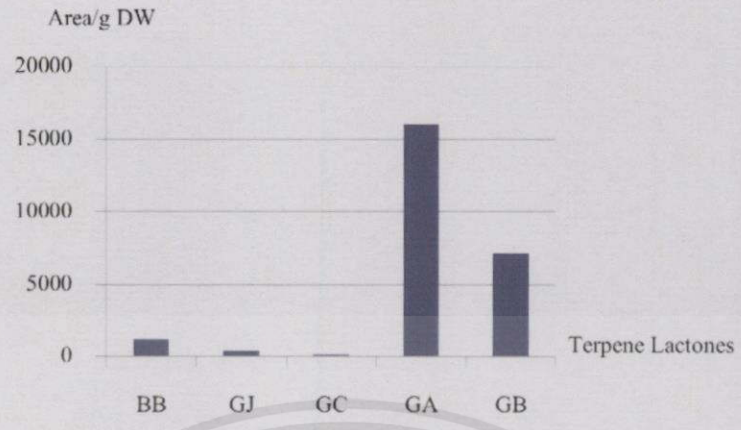
(pH 5 : Dichloromethane)



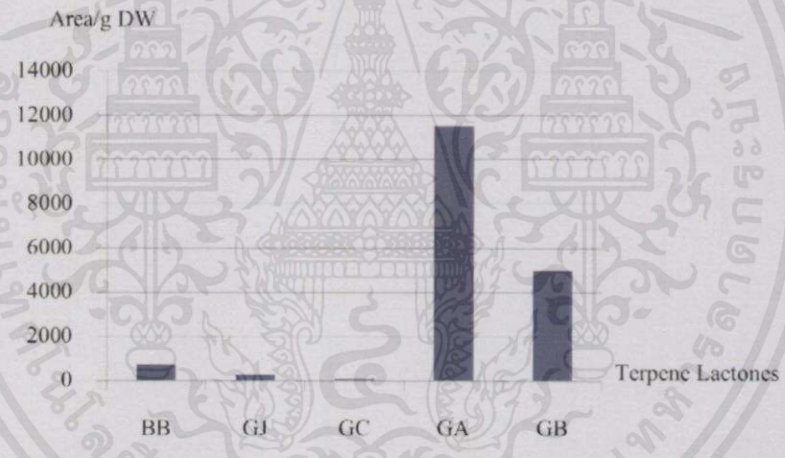
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 33 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 6

(pH 5 + NaCl : Dichloromethane)



ภาพที่ 34 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 7 (BT 4 : Dichloromethane)



ภาพที่ 35 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ 8 (UB 5 : Dichloromethane)

เมื่อพิจารณาส่วนของ Ginkgolides และ Bilobalide พบว่า ในตัวทำละลายแต่ละตัวอย่างจะพบ GA และ GB ปริมาณสูงว่า BB, GJ และ GC

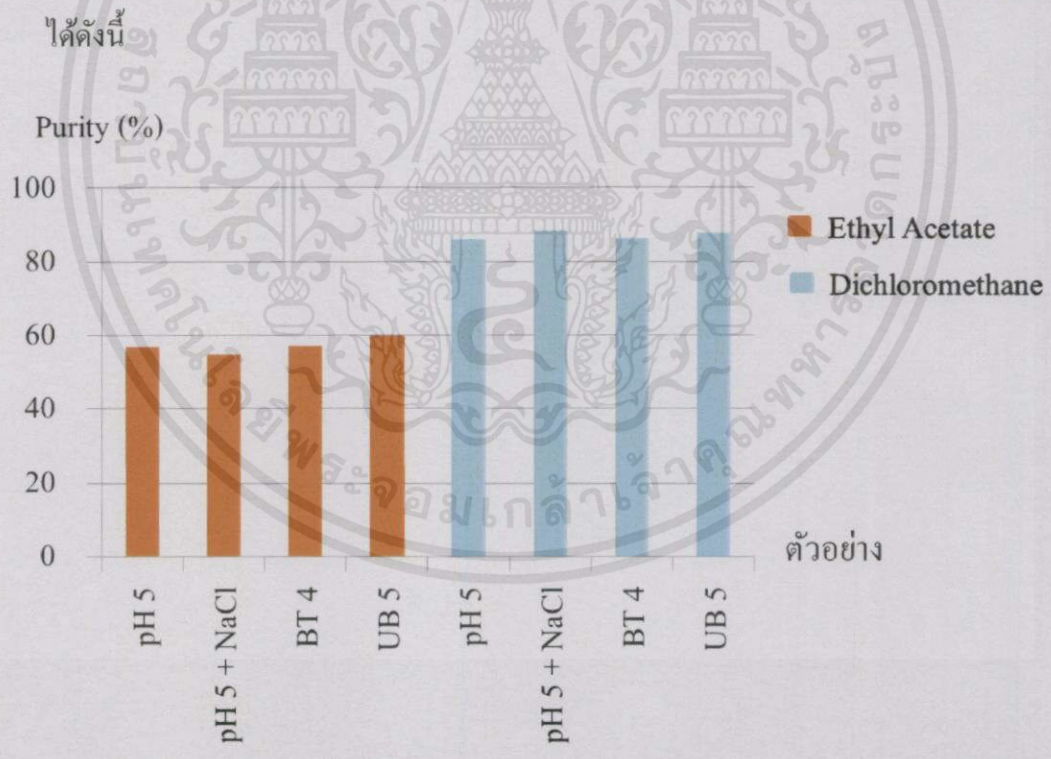
จาก HPLC Chromatogram ของแต่ละตัวอย่าง เราให้ Area ของทุก Peak ในการฉีดทั้งหมดเป็น 100 % จึงคำนวณหาค่าความบริสุทธิ์ (% Purity) ได้จากผลรวม % Peak Area ของสาร Terpene Lactones แต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 21 ตารางแสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 2

ตัวอย่าง	% Peak area					Total
	BB	GJ	GC	GA	GB	% Peak area
1	5.7718	4.1476	9.4202	23.209	14.1549	56.7035
2	5.5226	4.6232	9.5245	20.9565	14.0162	54.6430
3	5.5667	3.602	11.586	21.7007	14.4998	56.9552
4	6.0933	4.2572	10.7735	23.791	14.7468	59.6618
5	4.0846	1.3995	0.2587	55.6255	24.7291	86.0974
6	4.0884	1.6104	0.5259	56.8424	25.1809	88.2480
7	4.1297	1.35	0.4403	55.5498	24.8658	86.3356
8	3.6247	1.4542	0.5282	57.4424	24.856	87.9055

จาก HPLC Chromatogram นำ % Peak Area มาสร้างเป็นแผนภูมิแท่ง แสดง % Purity ได้ดังนี้



ภาพที่ 36 แผนภูมิแสดง % Purity ของ Terpene Lactones ที่สกัดได้ของแต่ละตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 อภิปรายผล

จากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาข้างต้น จะสรุปผลในประเด็นต่างๆได้ดังนี้

ตอนที่ 1 เราต้องการที่จะให้ Terpene Lactones ละลายออกมาอยู่ในชั้นน้ำ ดังนั้นจึงทำการต้มใบแปะก๊วยในสารละลายที่เป็นเบส ซึ่ง 0.1 % Na_2HPO_4 ที่เรานำมาใช้ จะให้ pH ประมาณ 9 โดย Terpene Lactones จะอยู่ในรูป Deprotonated form ทำให้ละลายออกมาอยู่ในชั้นน้ำได้มาก จากนั้นปรับ pH เมื่อปรับ pH แล้ว จะทำให้โครงสร้างของ Terpene Lactones อยู่ในรูป Protonated form สภาพขั้วจึงน้อยลง ทำให้เมื่อสกัดโดย Ethyl acetate จึงได้สารที่เราต้องการออกมาละลายอยู่ในชั้นสารละลายอินทรีย์ได้มากในช่วงที่ pH เป็นกรด สำหรับตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH จะเห็นว่า ที่ BT pH 4 จะให้ปริมาณของ Total Terpenes Lactones (TTLs) มากที่สุด รองลงมาได้แก่ pH 6, pH 5, pH 3, pH 7 และ pH 8 ส่วนตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH จะเห็นว่า ที่ UB pH 5 จะให้ปริมาณของ Total Terpenes Lactones (TTLs) มากที่สุด รองลงมาได้แก่ pH 4, pH 3, pH 6, pH 7 และ pH 8 อีกทั้งเมื่อพิจารณาในภาพรวมของปริมาณ Terpene Lactones แต่ละชนิด ยังพบว่า ในช่วง pH 3 – 7 จะพบ BB และ GA ในปริมาณค่อนข้างสูงกว่า GJ, GC และ GB แต่ที่ UB pH 8 กลับไม่พบ BB และ GJ พบเพียงแต่ GC, GA และ GB เท่านั้น

เมื่อพิจารณาในเรื่องของความบริสุทธิ์ สำหรับตัวอย่างที่ใช้ Buffer type (BT) ในการควบคุม pH จะเห็นว่า ที่ BT pH 5 มีความบริสุทธิ์สูงที่สุด ตามด้วยที่ pH 7, pH 8, pH 6, pH 4 และ pH 3 ส่วนตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer (UB) ในการควบคุม pH จะเห็นว่า ที่ UB pH 7 มีความบริสุทธิ์สูงที่สุด ตามด้วย ที่ pH 3, pH 6, pH 5, pH4 และ pH 8

ตอนที่ 2 ทำการสกัดโดยการรีฟลักซ์ผงใบแปะก๊วยใน Buffer pH 9 และใช้คลื่นเสียงอัลตร้าโซนิค จากนั้นปรับ pH ให้เป็น pH 4 และpH 5 ด้วยวิธีต่าง ๆ ดังตารางที่ 4 แล้วทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด คือ Ethyl acetate และ Dichloromethane จะเห็นว่าปริมาณของ Total Terpene Lactones (TTLs) ที่สกัดได้ ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์จะสามารถสกัดสารได้มากกว่าตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ในทุก ๆ สภาวะแต่ตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane นั้น จะมีความบริสุทธิ์ของสาร Terpene Lactones มากกว่าค่อนข้างมาก ในทุก ๆ สภาวะเช่นกัน โดยในแต่ละสภาวะที่ใช้ตัวทำละลายเดียวกันจะมีค่าความบริสุทธิ์ใกล้เคียงกัน

เมื่อพิจารณาตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ตัวอย่างที่ให้ปริมาณของ TTLs มากที่สุด คือ ตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer pH 5 (UB 5) ตามด้วย pH 5 + NaCl, Buffer Type pH 4 (BT 4) และ pH 5 จะเห็นว่า ที่ UB 5 จะให้ปริมาณ TTLs มากกว่าที่ BT 4 เช่นเดียวกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 1 และจากการที่เติม NaCl เพื่อลดการเกิดอิมัลชันระหว่างชั้นน้ำกับชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่า NaCl ยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดให้ดียิ่งขึ้นอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองสกัดสารจากใบแปะก๊วยในตอนที่ 1 การต้มผงใบแปะก๊วยใน 0.1 % Na_2HPO_4 ซึ่งเป็นสารละลายเกลือที่มีค่า pH ประมาณ 9 ซึ่งน่าจะทำให้สาร Terpene Lactones อยู่ในรูป Deprotonated form แล้วละลายออกมาอยู่ในชั้นน้ำเป็นจำนวนมาก และใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งทำการสกัดในกรวยแยกที่ pH ต่าง ๆ คือที่ pH 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 เพื่อเปรียบเทียบว่า ที่ pH ใด สาร Terpene Lactones จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป Protonated form แล้วออกมาอยู่ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากที่สุด โดยใช้ Buffer 2 กลุ่ม ได้แก่ Buffer Type และ Universal Buffer ทำการตรวจสอบปริมาณของ Terpene Lactones ด้วยเครื่อง HPLC - ELSD ได้ผลดังนี้ คือ

เมื่อใช้ Buffer Type ในการควบคุม pH จะให้พื้นที่ใต้กราฟ ซึ่งแสดงถึงปริมาณ Total Terpene Lactones (TTLs) เป็น 369,694.1755, 444,727.7558, 419,087.1977, 437,855.4712, 215,784.9598 และ 102,698.6486 ต่อน้ำหนักใบแห้ง 1 กรัม และมีความบริสุทธิ์เป็น 48.3374 %, 48.9463 %, 59.8468 %, 54.9217 %, 56.9827 % และ 55.6640 % ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าที่ BT pH 4 จะทำการสกัดสารได้ในปริมาณมากที่สุด และที่ BT pH 5 จะมีความบริสุทธิ์มากที่สุด

แต่เมื่อใช้ Universal Buffer ในการควบคุม pH จะให้พื้นที่ใต้กราฟ ซึ่งแสดงถึงปริมาณ Total Terpene Lactones (TTLs) เป็น 520,224.7707, 521,808.2702, 522,974.8698, 460,625.9734, 128,019.3769 และ 6,385.2388 ต่อน้ำหนักใบแห้ง 1 กรัม และมีความบริสุทธิ์เป็น 59.0924 %, 49.2615 %, 55.5245 %, 58.9416 %, 65.4452 % และ 27.7857 % ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าที่ UB pH 5 จะทำการสกัดสารได้ในปริมาณมากที่สุดและที่ UB pH 7 จะมีความบริสุทธิ์มากที่สุด จึงนำค่า pH ที่ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดในตอนที่ 1 นี้ไปทำการทดลองต่อในตอนที่ 2

การทดลองตอนที่ 2 นำค่า pH ที่สกัดสารได้ปริมาณมากที่สุดจากผลการทดลองในตอนที่ 1 มาทดลองเปลี่ยนวิธีการโดยใช้การรีฟลักซ์ผงใบแปะก๊วยแห้งในสารละลาย 0.05 M Buffer pH 9 เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 60 °C เพื่อให้สาร Terpene Lactones อยู่ในรูป Deprotonated form แล้วละลายออกมาอยู่ในชั้นน้ำเช่นเดียวกับตอนที่ 1 และทดลองใช้คลื่นเสียงอัลตร้าโซนิค เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 60 °C ต่อมาทำการปรับ pH ให้เป็น pH 4 และ pH 5 โดยวิธีที่แตกต่างกัน (ตามตารางที่ 4 หน้าที่ 23) จากนั้นทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด คือ Ethyl acetate และ Dichloromethane พบว่าปริมาณของ Total Terpene Lactones (TTLs) ที่สกัดได้ ของตัวอย่างที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ จะสามารถสกัดสารได้มากกว่าตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ในทุก ๆ สภาวะ (ดังแสดงในรูปภาพที่ 27 หน้าที่ 41) แต่ตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane นั้น จะมีความบริสุทธิ์ของสาร Terpene Lactones มากกว่าค่อนข้างมาก ในทุก ๆ สภาวะเช่นกัน โดยในแต่ละสภาวะที่ใช้ตัวทำละลายเดียวกันจะมีค่าความบริสุทธิ์ใกล้เคียงกัน

ในส่วนของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ เช่นเดียวกับตอนที่ 1 ตัวอย่างที่ให้ปริมาณของ TTLs มากที่สุด คือ ตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer pH 5 (UB 5) ตามด้วย pH 5 + NaCl, Buffer Type pH 4 (BT 4) และ pH 5 โดยจะให้พื้นที่ใต้กราฟ ซึ่งแสดงถึงปริมาณ Total Terpene Lactones (TTLs) เป็น 298,644.4412, 286,481.0226, 280,186.4512 และ 258,651.3176 ต่อน้ำหนักใบแห้ง 1 กรัม และมีความบริสุทธิ์เป็น 59.6618 %, 54.6430 %, 56.9552 % และ 56.7035 % ตามลำดับจะเห็นว่า ที่ UB 5 จะให้ปริมาณ TTLs มากกว่าที่ BT 4 เช่นเดียวกับตอนที่ 1 ส่วนความบริสุทธิ์นั้นจะมีค่าใกล้เคียงกัน และจากการที่เติม NaCl เพื่อลดการเกิดอิมัลชันระหว่างชั้นน้ำกับชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่า NaCl ยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดให้ดียิ่งขึ้นอีกด้วย

ในส่วนของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ตัวอย่างที่ให้ปริมาณของ TTLs มากที่สุด คือ ตัวอย่างที่ใช้ pH 5 ตามด้วย Buffer Type pH 4 (BT 4), pH 5 + NaCl และ Universal Buffer pH 5 (UB 5) โดยจะให้พื้นที่ใต้กราฟ ซึ่งแสดงถึงปริมาณ Total Terpene Lactones (TTLs) เป็น 162,331.7981, 159,183.5705, 135,122.9593 และ 113,067.1456 ต่อน้ำหนักใบแห้ง 1 กรัม และมีความบริสุทธิ์เป็น 86.0974 %, 86.3356 %, 88.2480 % และ87.9055 % ตามลำดับ จะเห็นว่า ที่ UB 5 จะให้ปริมาณ TTLs น้อยกว่าที่ BT 4 ซึ่งขัดแย้งกับในตอนที่ 1 ส่วนความบริสุทธิ์นั้นจะมีค่าใกล้เคียงกัน และจากการที่เติม NaCl เพื่อลดการเกิดอิมัลชันระหว่างชั้นน้ำกับชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่า NaCl ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง

จากที่กล่าวมาทั้งหมดจะสรุปได้ว่า วิธีที่เหมาะสมที่สุดที่จะทำการสกัดสาร Terpene Lactones จากใบแปะก๊วยให้ได้ปริมาณมาก คือ ต้มผงใบแปะก๊วยในสารละลายที่เป็นเบส เช่น 0.1 % Na_2HPO_4 นำไปกรองแบบลดความดัน นำส่วนที่กรองได้ไปเติม Universal Buffer pH 5 และทำการปรับ pH ให้เป็น 5 จากนั้นนำไปทำ Liquid-liquid extraction ด้วย Ethyl acetate เอาเฉพาะส่วนของ Ethyl acetate ไประเหยแห้ง ก็จะได้สารสกัดจากใบแปะก๊วยตามที่ต้องการ แต่หากต้องการสารสกัดที่มีความบริสุทธิ์สูง ให้ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์แทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการวิเคราะห์หาสารสกัด Terpene Lactones ซึ่งประกอบไปด้วย Bilobalide, Ginkgolide J, Ginkgolide C, Ginkgolide A และ Ginkgolide B โดยปกติแล้วจะต้องนำสารมาตรฐานมาฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อดู Retention time ของสารแต่ละตัว เนื่องจากโครงงานพิเศษมีงบประมาณจำกัด จึงทำให้อ้างอิงข้อมูลมาจากที่อื่นมาทำการเทียบ Retention time อาจทำให้ Retention time ของสารตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์คลาดเคลื่อนไป

สำหรับการรีฟลักซ์ และการทำอัลตร้าโซนิค จะต้องควบคุมอุณหภูมิให้ได้ประมาณ 60 °C แต่เครื่องให้ความร้อน และเครื่องอัลตร้าโซนิค ไม่สามารถปรับอุณหภูมิตามที่ต้องการได้ จึงทำการต้มน้ำเพื่อนำไปปรับให้ได้อุณหภูมิที่ต้องการ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก และอาจไม่ได้อุณหภูมิที่คงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กัญญามาศ พุทธานุ, ธนาภรณ์ มาศวรรณา, แสงเทียน แสวงดี. 2556. **การสกัดเทอร์ปีนแลคโตนจากใบแปะก๊วย.** โครงงานพิเศษหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาเคมีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์. 2545. **การสกัดสารพวก Terpene lactones และ Flavonoids จากใบแปะก๊วย.** โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชุติมา วันเพ็ญ. 2555. **การสกัดอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซกคาไรด์จากแก่นตะวันด้วยอุลตร้าโซนิค.** วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.

Po-Chuen Chan,Qingsu Xia and Peter P. Fu. 2007. ***Ginkgo Biloba* Leave Extract Biological, Medicinal, and Toxicological Effects.** Environmental Science and Heaalth Part C. 25:211-244

Qingyong Lang and C. M. Wai. 1999. **An Extraction Method for Determination of Ginkgolides and Bilobalide in Ginkgo Leaf Extracts. Department of Chemistry.** 71:2929-2933

สายดนีย์ หวังพัฒนพาณิชย์. (2552, 1 มกราคม – มีนาคม). **ELSD กับงานวิเคราะห์สมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ.** วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม. 16(1).

จิราภรณ์ พิมพ์ภูม. **เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง.** (ออนไลน์). สืบค้นจาก :http://www.sc.kku.ac.th/office/research/ins/file/instruments/hplc [วันที่ค้นข้อมูล 21 พฤศจิกายน 2557]

จักกฤษณ์. 2554. **สารสกัดจากใบแปะก๊วย (*Ginkgo Biloba*).** (ออนไลน์). สืบค้นจาก :http://www.4lifetoday.com/index.php?mo=3&art=658181#.VG65SvmUd9o [วันที่ค้นข้อมูล 21 พฤศจิกายน 2557]

Songsak Saiyood. 2554. **แปะก้วย แก้ฉี่บ่อยเพราะมดลูกหย่อน.** (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://paekuai.blogspot.com/2011/06/blog-post.html [วันที่ค้นข้อมูล 21 พฤศจิกายน 2557]

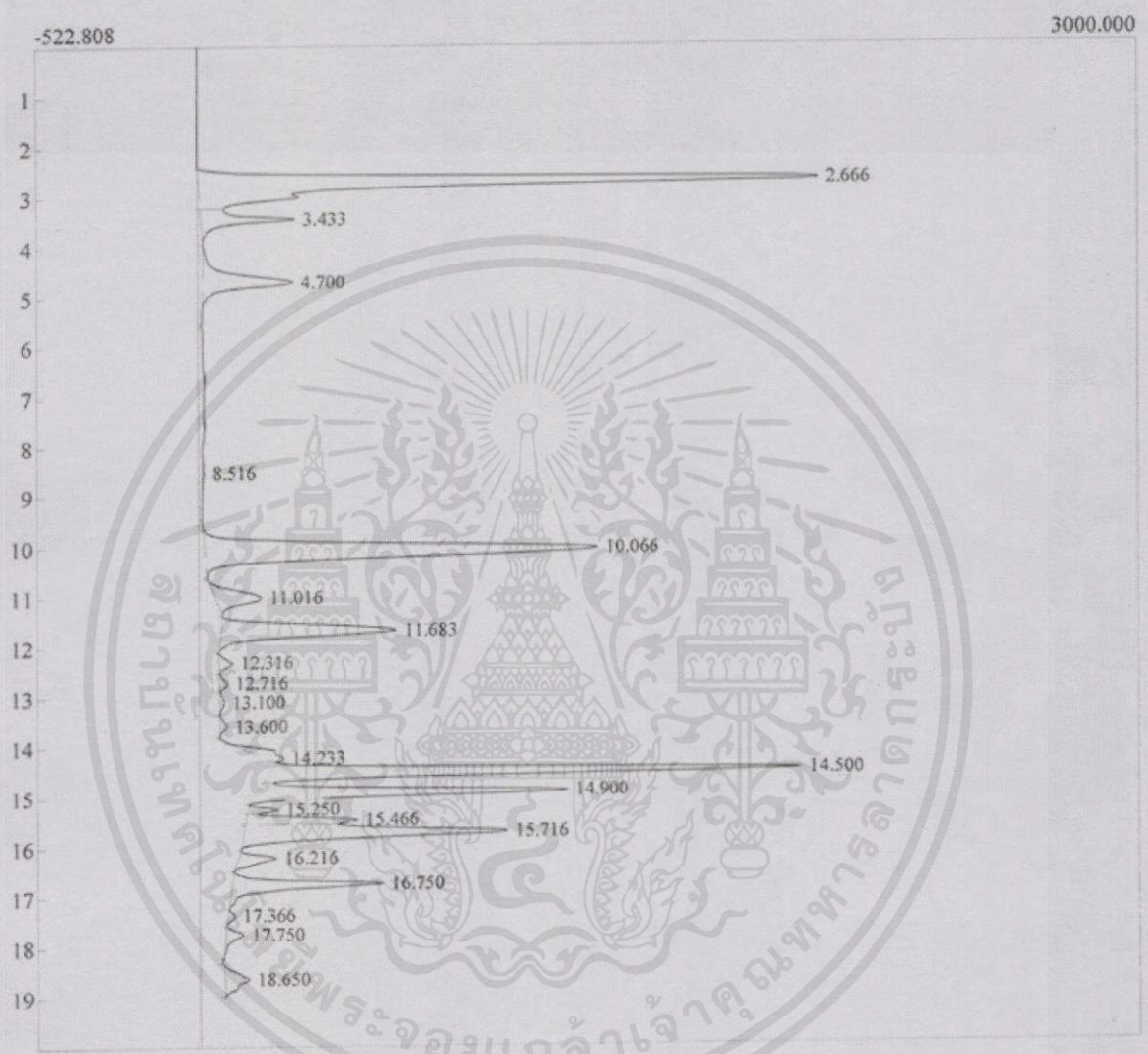
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ภาพที่ 1ก แสดง HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactone จากการทดลองตอนที่ 1 การต้มผงใบแปะก๊วยและสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ที่ pH 3, 4, 5, 6, 7, และ 8 (แสดงในหน้าที่ 53 - 73)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 17:04:25
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide19.chr ()
Sample: BT 3 , 50 uL



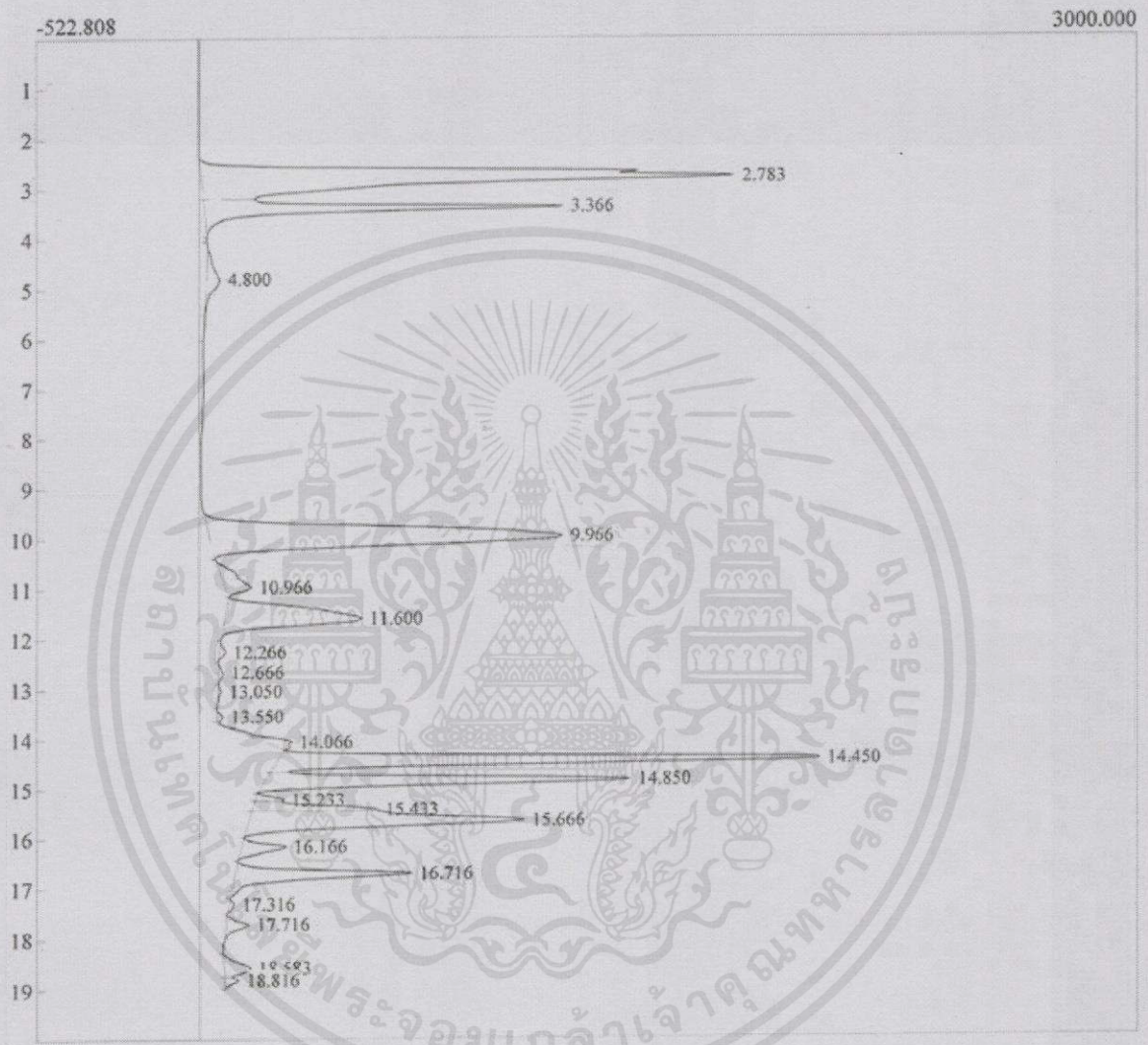
Component	Retention	Area	Area %
	2.666	28978.1500	23.4897
	3.433	3354.1595	2.7189
	4.700	5126.6455	4.1557
	8.516	107.5690	0.0872
	10.066	22078.5580	17.8969
	11.016	2613.7860	2.1187
	11.683	8818.6325	7.1484
	12.316	498.7105	0.4043
	12.716	315.0155	0.2554
	13.100	244.0140	0.1978
	13.600	294.4045	0.2386

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14.233	1050.1665	0.8513
14.500	15954.5030	12.9327
14.900	10166.1910	8.2407
15.250	628.7595	0.5097
15.466	2880.3745	2.3348
15.716	11135.4780	9.0264
16.216	1399.5400	1.1345
16.750	5330.7435	4.3211
17.366	224.1080	0.1817
17.750	733.0420	0.5942
18.650	1433.0450	1.1616
	123365.5960	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 16:39:31
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide17.chr ()
Sample: BT 4 , 50 uL



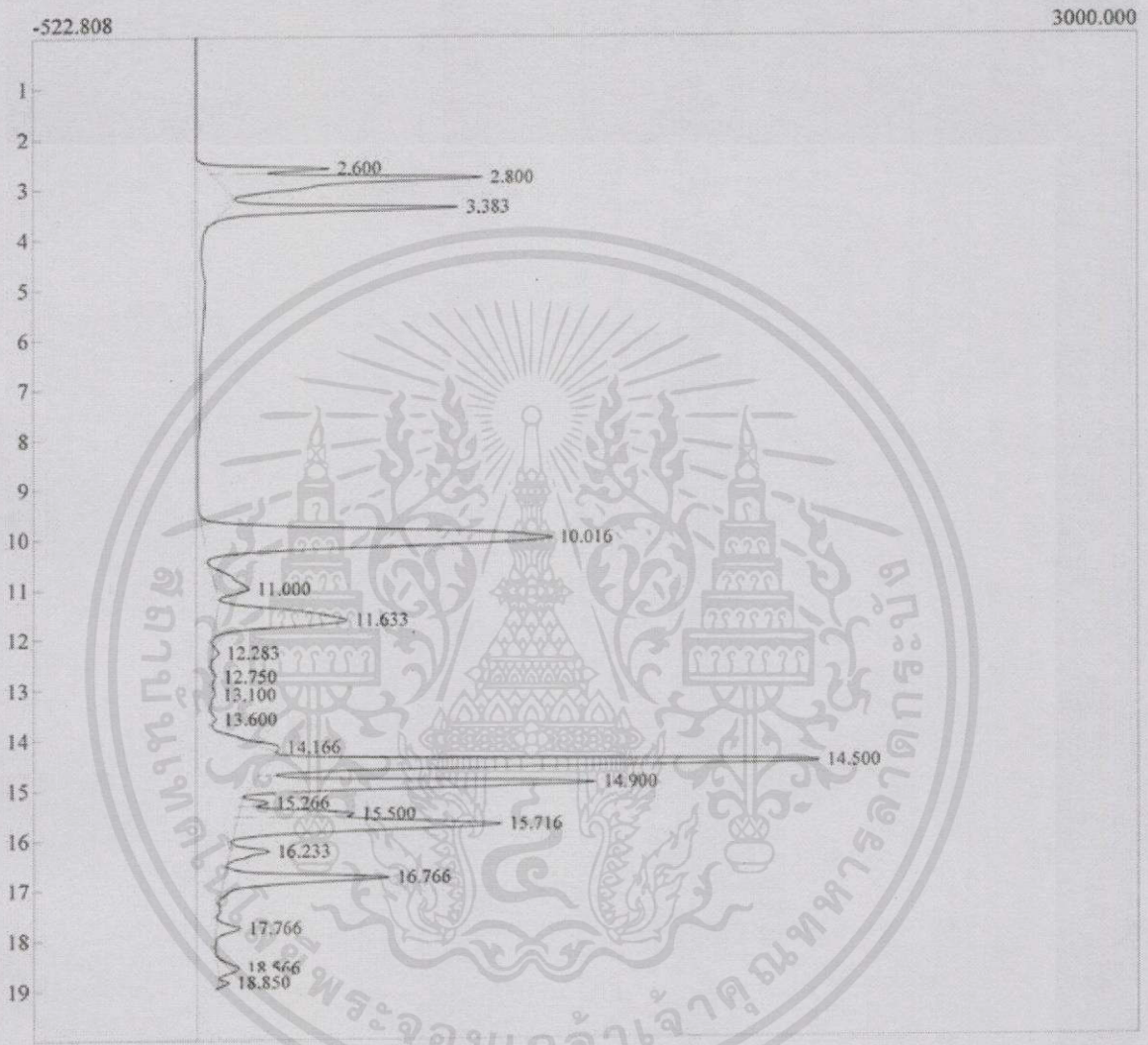
Component	Retention	Area	Area %
	2.783	32121.9310	21.9176
	3.366	10898.0200	7.4360
	4.800	1457.1455	0.9942
	9.966	26845.2720	18.3172
	10.966	1845.3590	1.2591
	11.600	10168.6375	6.9383
	12.266	244.8940	0.1671
	12.666	183.5875	0.1253
	13.050	103.5200	0.0706
	13.550	143.3290	0.0978
	14.066	1025.9090	0.7000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14.450	20044.9100	13.6772
14.850	12830.4085	8.7545
15.233	514.9370	0.3514
15.433	2819.0070	1.9235
15.666	14319.1540	9.7703
16.166	1697.5940	1.1583
16.716	6681.6440	4.5591
17.316	174.7630	0.1192
17.716	854.5930	0.5831
18.583	1237.8500	0.8446
18.816	344.9290	0.2354
	146557.3940	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 16:14:37
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide15.chr ()
Sample: BT 5 , 50 uL



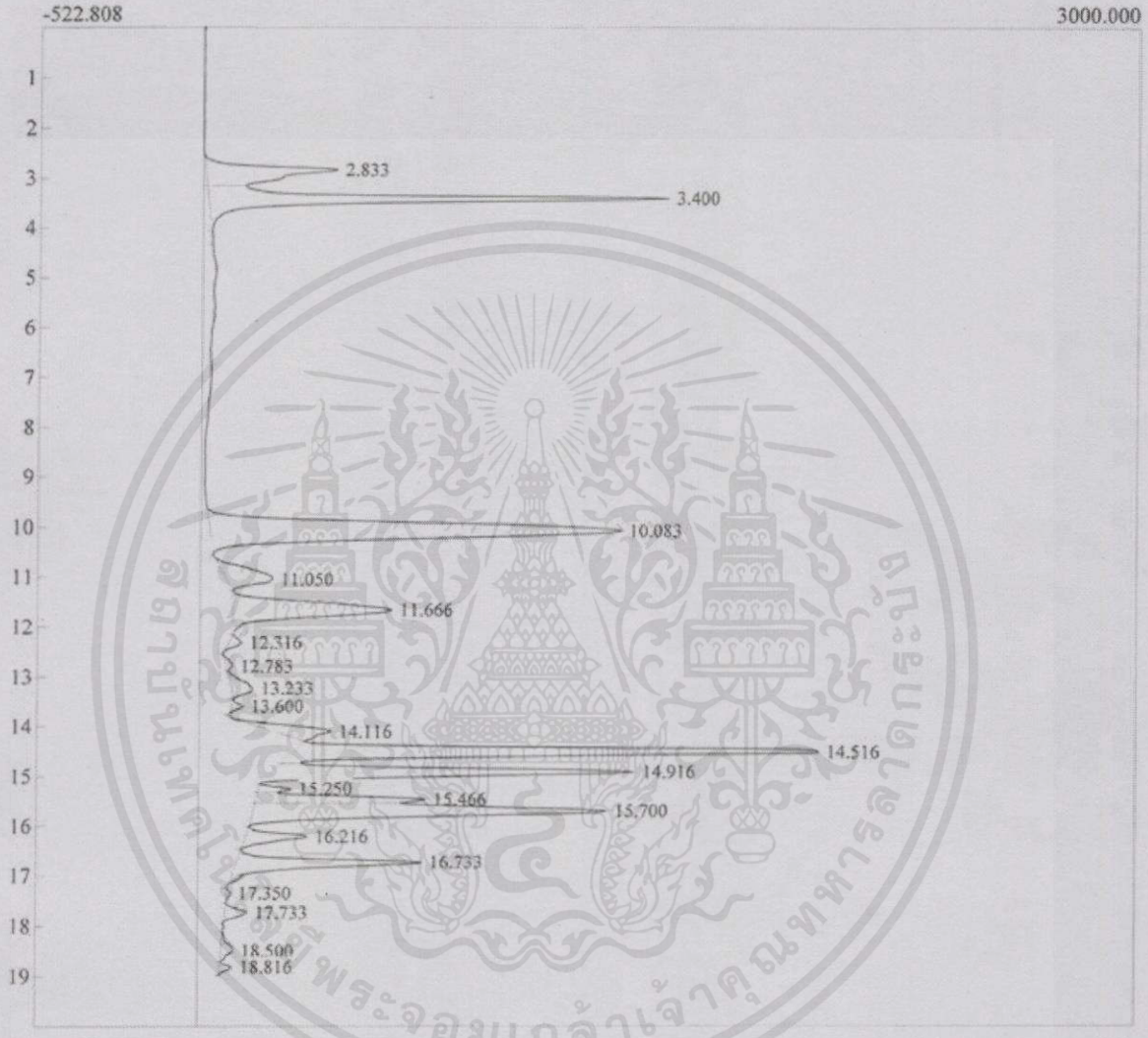
Component	Retention	Area	Area %
	2.600	2581.3170	2.2853
	2.800	10089.5540	8.9325
	3.383	6100.4610	5.4009
	10.016	24839.4415	21.9910
	11.000	2321.5720	2.0553
	11.633	9145.9375	8.0971
	12.283	276.3690	0.2447
	12.750	117.4385	0.1040
	13.100	121.1200	0.1072
	13.600	103.1050	0.0913
	14.166	563.0845	0.4985

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14.500	19425.5790	17.1979
14.900	11866.2350	10.5055
15.266	590.3930	0.5227
15.500	3122.1620	2.7641
15.716	12137.7910	10.7459
16.233	1405.9960	1.2448
16.766	6075.9550	5.3792
17.766	885.7170	0.7841
18.566	954.3540	0.8449
18.850	229.3485	0.2030
	112952.9305	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 15:49:56
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide14.chr ()
Sample: BT 6 , 50 uL



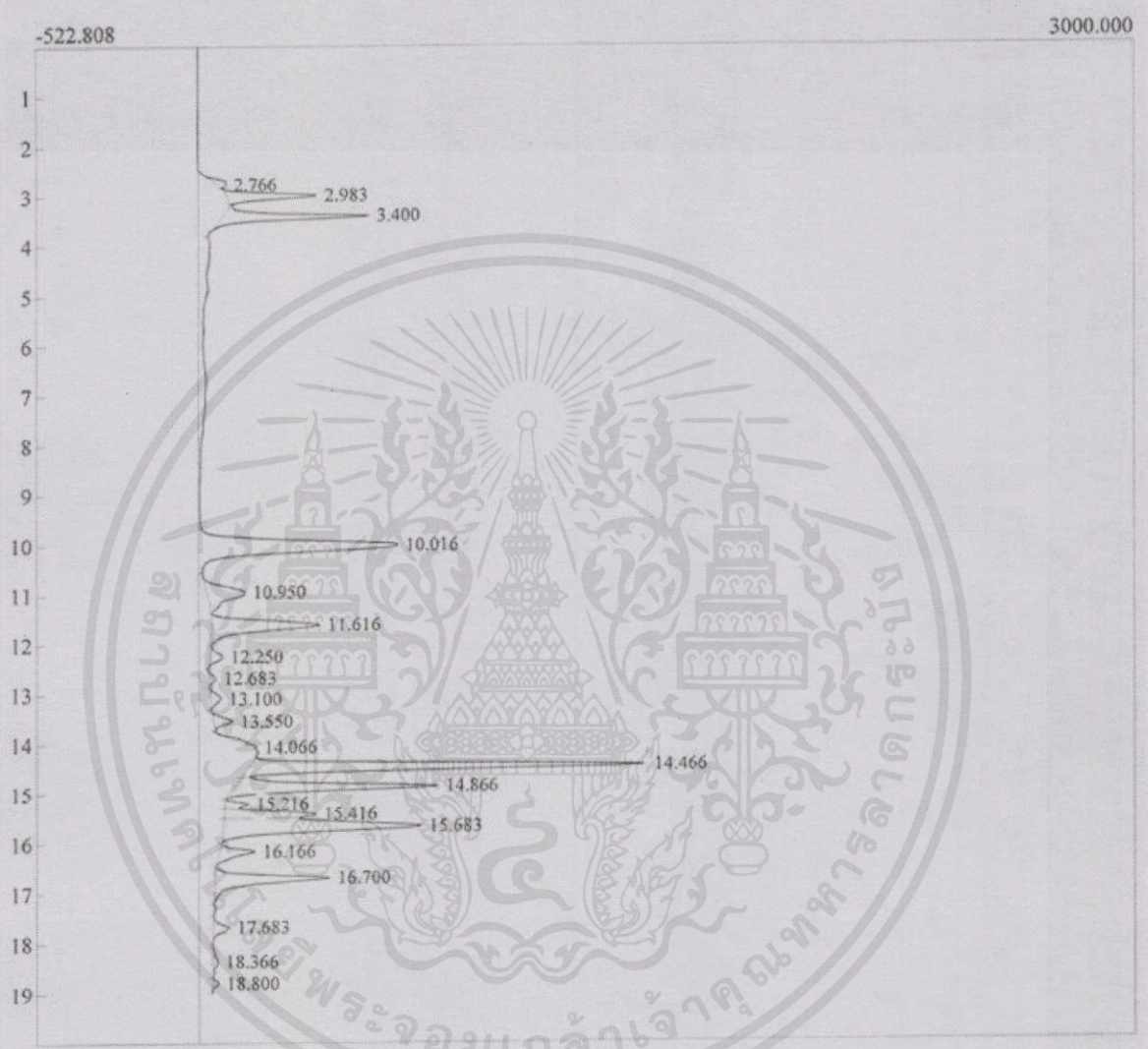
Component	Retention	Area	Area %
	2.833	6801.9930	5.2895
	3.400	14852.2890	11.5497
	10.083	26755.6195	20.8062
	11.050	3169.6010	2.4648
	11.666	9735.5790	7.5708
	12.316	457.7350	0.3560
	12.783	207.4190	0.1613
	13.233	1216.3060	0.9458
	13.600	326.4645	0.2539
	14.116	2474.5340	1.9243
	14.516	18750.7940	14.5814

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14.916	12214.4935	9.4985
15.250	631.2820	0.4909
15.466	4397.5950	3.4197
15.700	15866.4345	12.3384
16.216	2187.1825	1.7008
16.733	6728.1885	5.2321
17.350	118.0870	0.0918
17.733	761.9770	0.5925
18.500	644.9500	0.5015
18.816	295.7350	0.2300
	128594.2590	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 15:25:16
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide13.chr ()
Sample: BT 7 , 50 uL



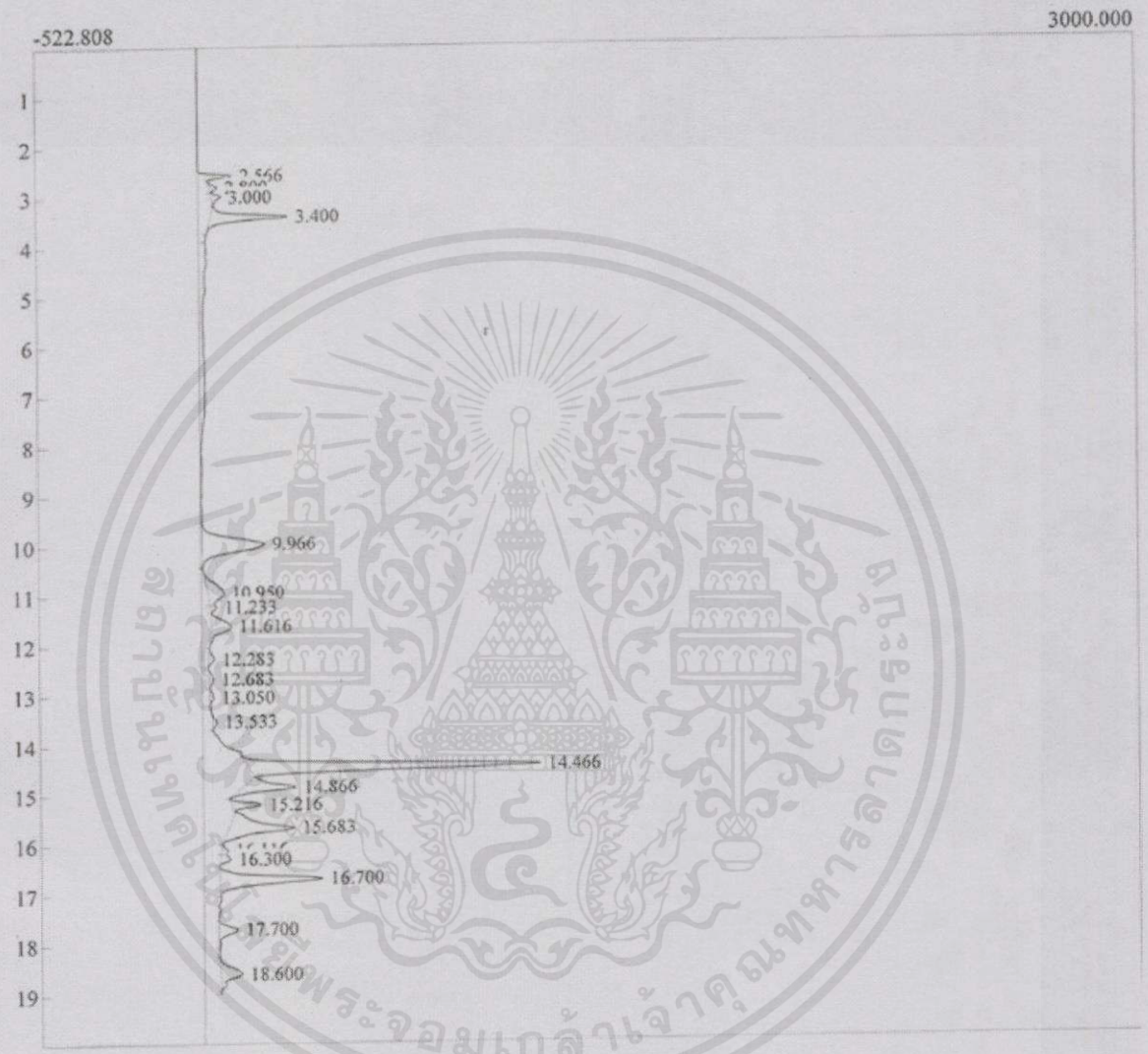
Component	Retention	Area	Area %
	2.766	323.2490	0.5292
	2.983	2356.6980	3.8583
	3.400	3774.8450	6.1800
	10.016	10140.4370	16.6014
	10.950	2311.8935	3.7849
	11.616	4821.4005	7.8933
	12.250	480.9865	0.7874
	12.683	209.1060	0.3423
	13.100	433.1145	0.7091
	13.550	617.8580	1.0115
	14.066	259.1300	0.4242

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14.466	11150.6870	18.2553
14.866	6381.6960	10.4478
15.216	475.3355	0.7782
15.416	2448.8990	4.0092
15.683	8722.7750	14.2805
16.166	1158.5155	1.8967
16.700	4043.6910	6.6201
17.683	569.5530	0.9324
18.366	267.2030	0.4375
18.800	134.8050	0.2207
	61081.8780	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 15:00:35
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide12.chr ()
Sample: BT 8 , 50 uL



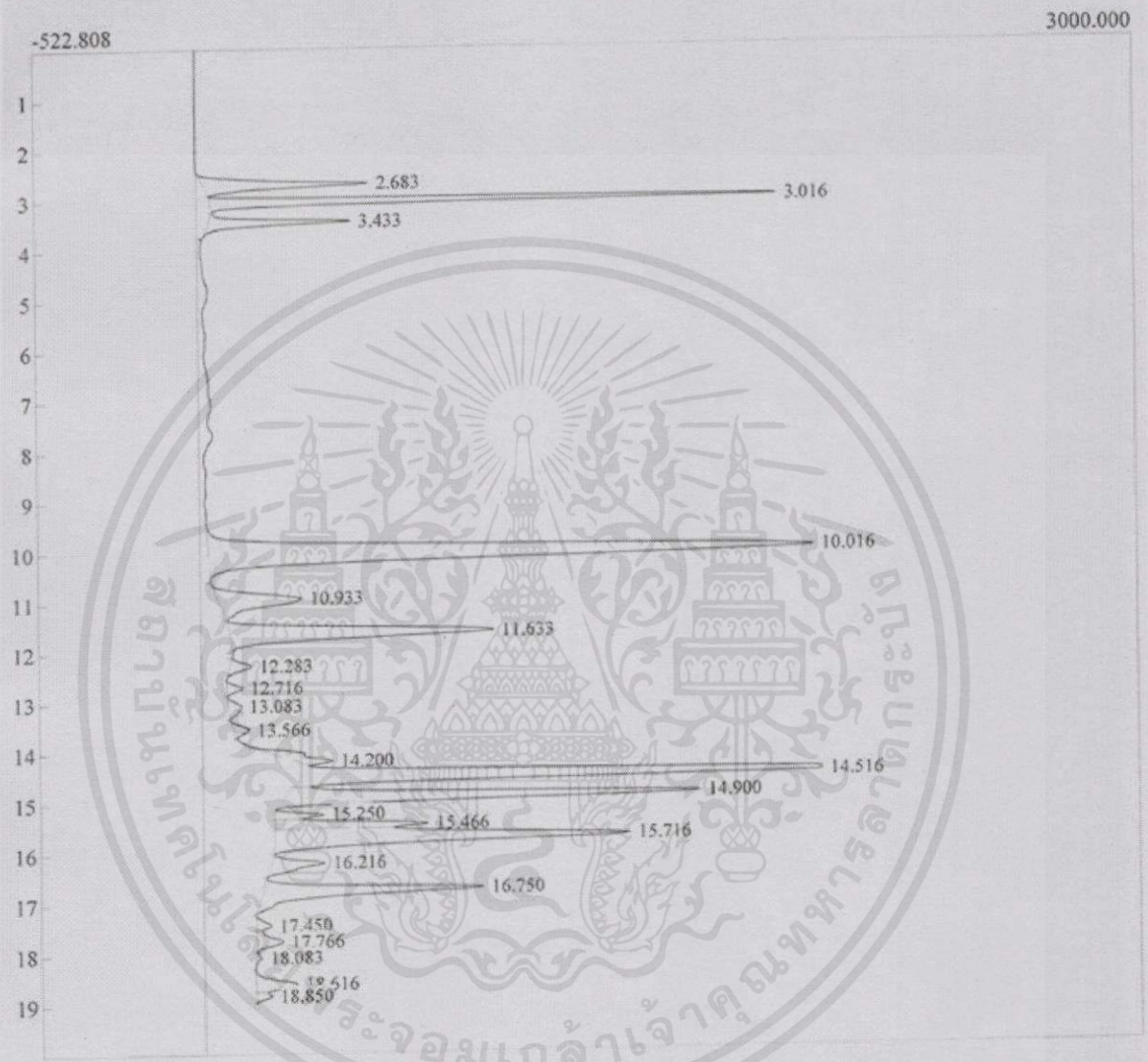
Component	Retention	Area	Area %
	2.566	453.6030	1.5242
	2.800	163.6510	0.5499
	3.000	237.5420	0.7982
	3.400	2066.9110	6.9454
	9.966	3808.4410	12.7974
	10.950	1098.7790	3.6922
	11.233	114.5240	0.3848
	11.616	1142.7650	3.8400
	12.283	206.6030	0.6942
	12.683	191.7935	0.6445
	13.050	128.3360	0.4312

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13.533	137.1440	0.4608
14.466	8642.0980	29.0399
14.866	1873.2080	6.2945
15.216	641.8640	2.1568
15.683	3042.7645	10.2245
16.116	141.6020	0.4758
16.300	274.7340	0.9232
16.700	3571.6900	12.0019
17.700	714.1320	2.3997
18.600	1107.2470	3.7207
	29759.4320	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 14:35:39
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide11.chr ()
Sample: UB 3 , 50 uL



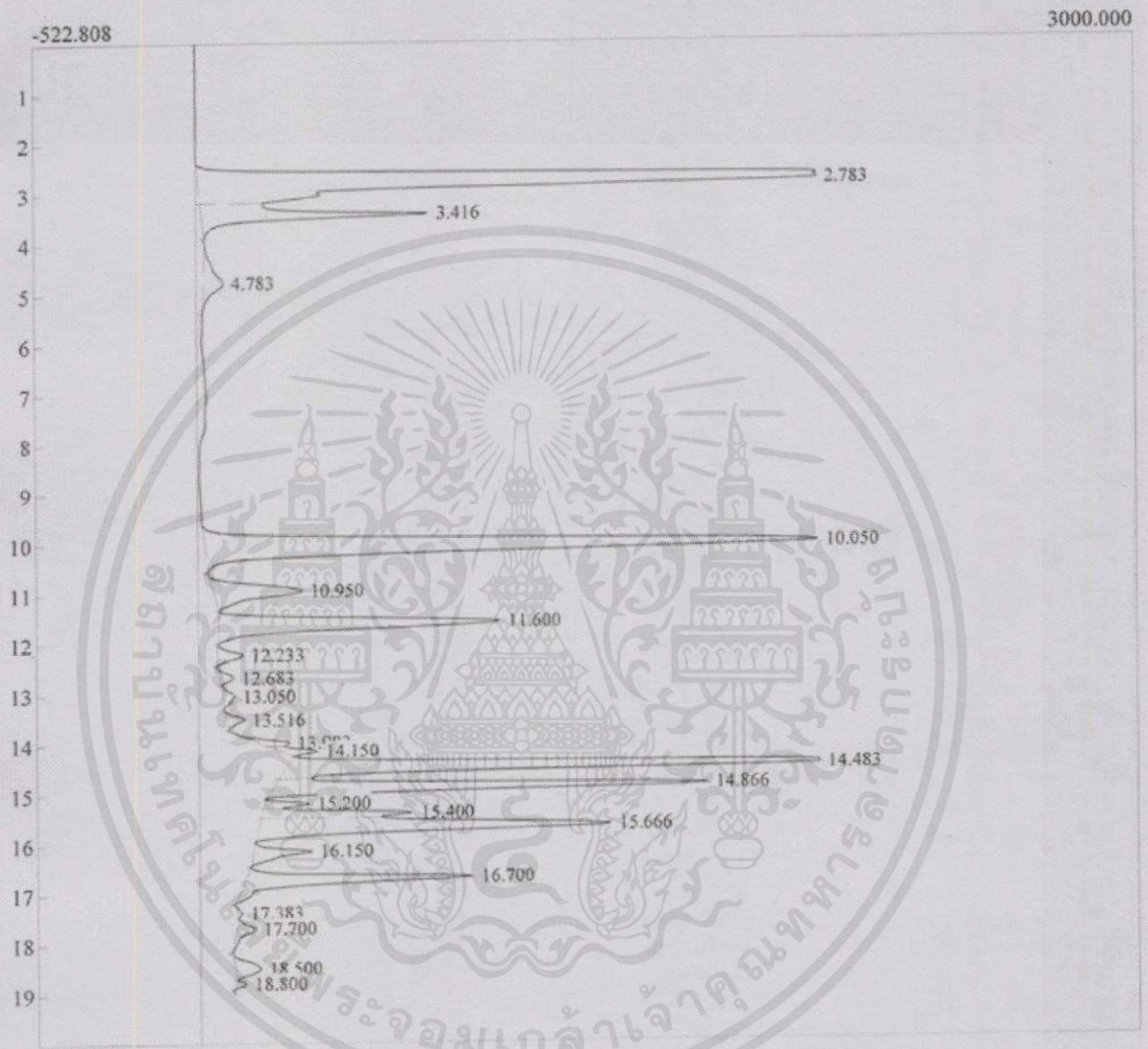
Component	Retention	Area	Area %
	2.683	4879.7340	3.4364
	3.016	11253.6340	7.9250
	3.433	3409.8530	2.4013
	10.016	33522.6320	23.6072
	10.933	4684.1265	3.2986
	11.633	11908.9030	8.3865
	12.283	774.9110	0.5457
	12.716	459.6310	0.3237
	13.083	663.1490	0.4670
	13.566	514.9225	0.3626
	14.200	1560.5450	1.0990

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14.516	19779.7645	13.9292
14.900	14016.8295	9.8709
15.250	1008.4685	0.7102
15.466	3872.7530	2.7273
15.716	15782.6510	11.1144
16.216	2024.1210	1.4254
16.750	8252.9030	5.8118
17.450	426.3630	0.3003
17.766	1076.9340	0.7584
18.083	128.5095	0.0905
18.616	1598.1510	1.1254
18.850	402.1945	0.2832
	142001.6835	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 14:10:59
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide10.chr ()
Sample: UB 4 , 50 uL



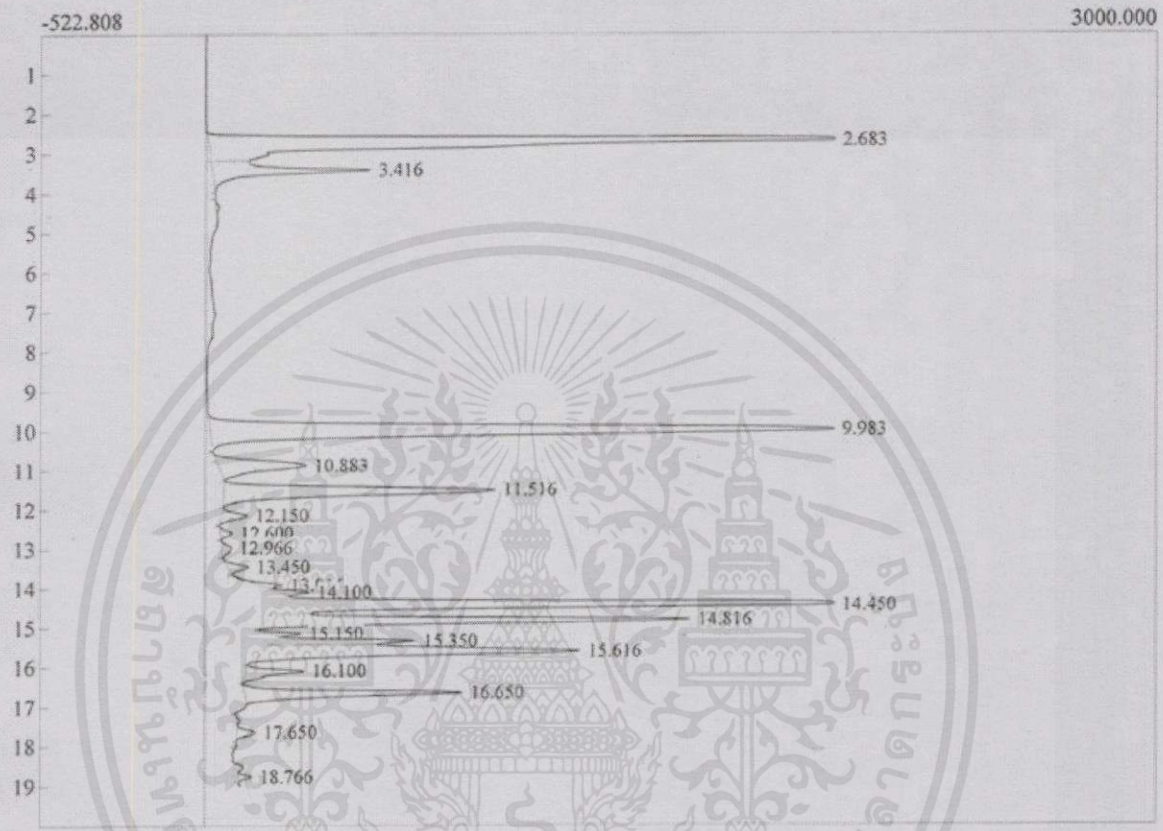
Component	Retention	Area	Area %
	2.783	39104.5080	22.8870
	3.416	8562.3530	5.0114
	4.783	1953.8290	1.1435
	10.050	32103.1570	18.7893
	10.950	4988.3735	2.9196
	11.600	13225.0730	7.7403
	12.233	977.4960	0.5721
	12.683	446.9235	0.2616
	13.050	525.3750	0.3075
	13.516	598.7560	0.3504
	13.983	686.3465	0.4017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14.150	829.9230	0.4857
14.483	20200.0215	11.8226
14.866	13651.0490	7.9897
15.200	934.9485	0.5472
15.400	3856.4080	2.2571
15.666	15504.0600	9.0742
16.150	1995.2570	1.1678
16.700	8133.0160	4.7601
17.383	128.4220	0.0752
17.700	900.5200	0.5271
18.500	1330.8330	0.7789
18.800	222.2640	0.1301
	170858.9125	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 13:46:18
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide09.chr ()
Sample: UB 5 , 50 uL



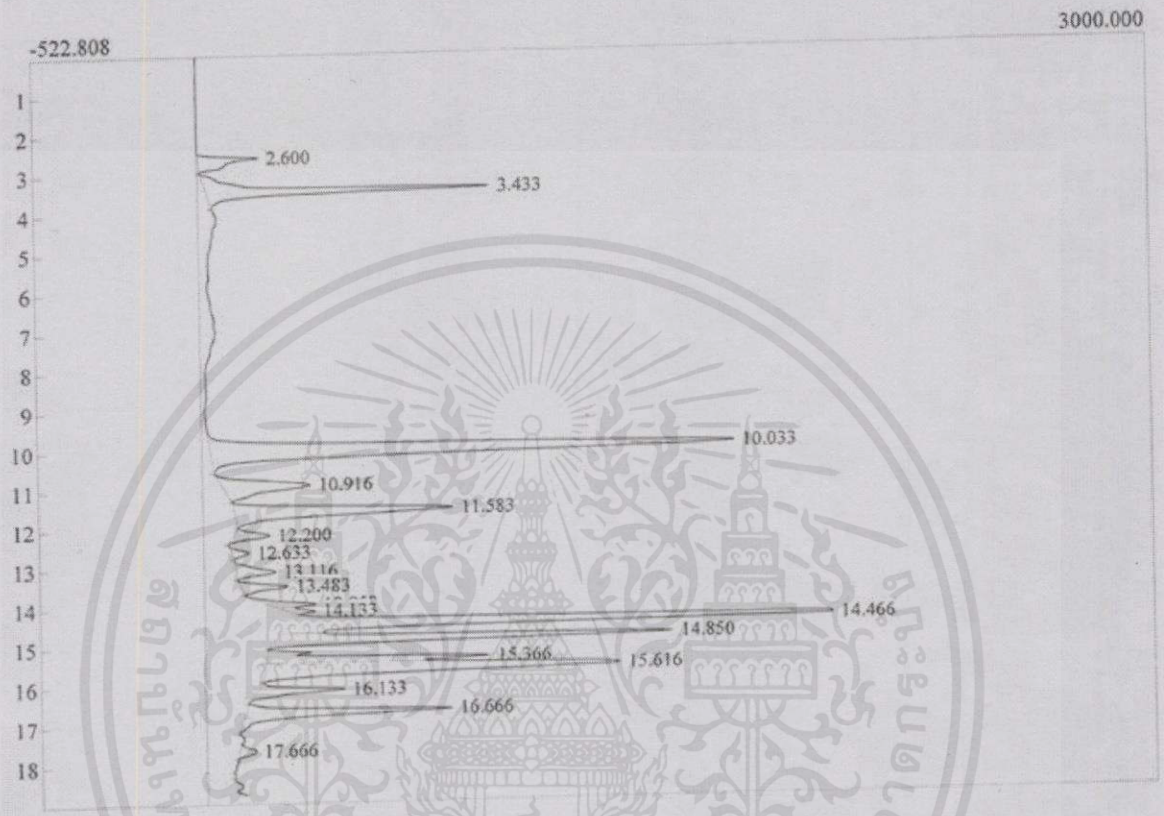
Component	Retention	Area	Area %
	2.683	30557.4520	20.1134
	3.416	6309.0540	4.1527
	9.983	32285.6790	21.2510
	10.883	4912.5090	3.2335
	11.516	12602.3755	8.2951
	12.150	962.0400	0.6332
	12.600	355.0640	0.2337
	12.966	455.8995	0.3001
	13.450	673.4940	0.4433
	13.916	344.8990	0.2270
	14.100	601.6850	0.3960
	14.450	21015.1160	13.8325
	14.816	13540.1670	8.9124
	15.150	450.1070	0.2963
	15.350	3405.3180	2.2414
	15.616	13665.1520	8.9946
	16.100	1939.1370	1.2764
	16.650	6907.6605	4.5467
	17.650	661.2400	0.4352
	18.766	281.7660	0.1855

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

151925.8145 100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

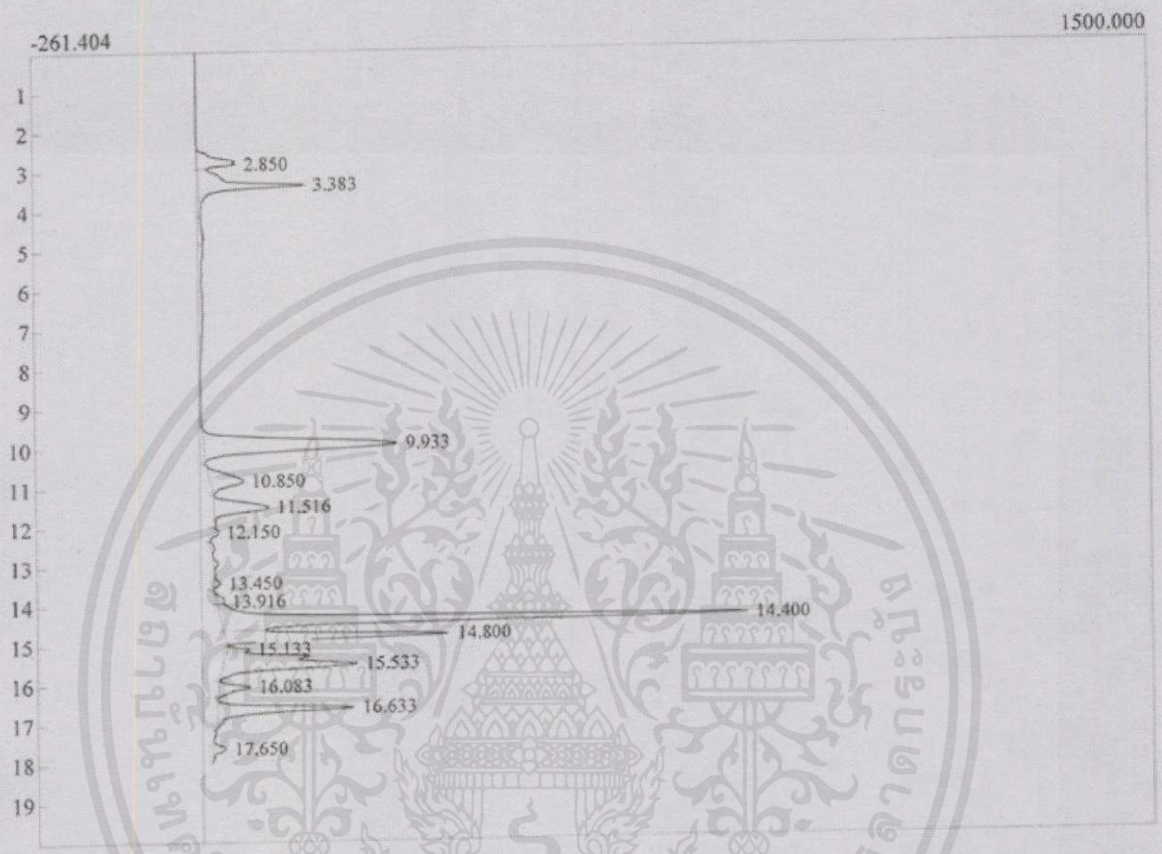
Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 13:18:39
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide08.chr ()
Sample: UB 6 , 50 uL



Component	Retention	Area	Area %
	2.600	2351.4190	1.8654
	3.433	8964.0840	7.1112
	10.033	27402.8000	21.7387
	10.916	5067.9770	4.0204
	11.583	9732.4405	7.7208
	12.200	1322.7970	1.0494
	12.633	533.0870	0.4229
	13.116	1543.5980	1.2245
	13.483	1511.8360	1.1993
	13.950	1234.3160	0.9792
	14.133	544.8335	0.4322
	14.466	19933.8070	15.8136
	14.850	12161.9450	9.6481
	15.366	6433.8690	5.1040
	15.616	16679.2460	13.2317
	16.133	2767.5225	2.1955
	16.666	7130.4250	5.6566
	17.666	739.0990	0.5863
		126055.1015	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

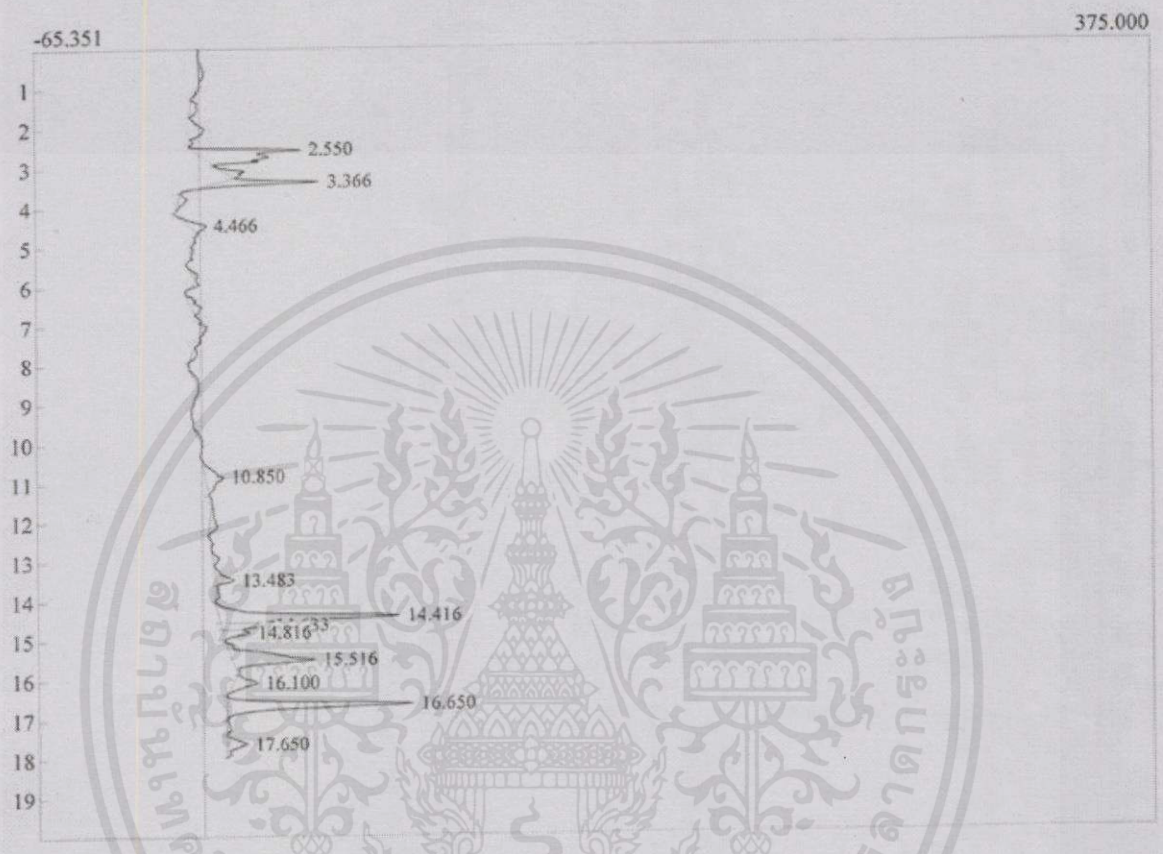
Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 12:54:59
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide07.chr ()
Sample: UB 7 , 50 uL



Component	Retention	Area	Area %
	2.850	908.7330	2.8801
	3.383	2276.8300	7.2160
	9.933	5615.9700	17.7989
	10.850	1106.7410	3.5076
	11.516	1498.9705	4.7507
	12.150	86.9090	0.2754
	13.450	101.2005	0.3207
	13.916	154.4725	0.4896
	14.400	8956.4485	28.3860
	14.800	3471.3955	11.0020
	15.133	227.0910	0.7197
	15.533	4064.2710	12.8810
	16.083	562.8770	1.7839
	16.633	2286.7030	7.2473
	17.650	233.7530	0.7408
		31552.3655	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 09/18/2014 12:31:20
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 18-09-57-Ginkgolide06.chr ()
Sample: UB 8 , 50 uL



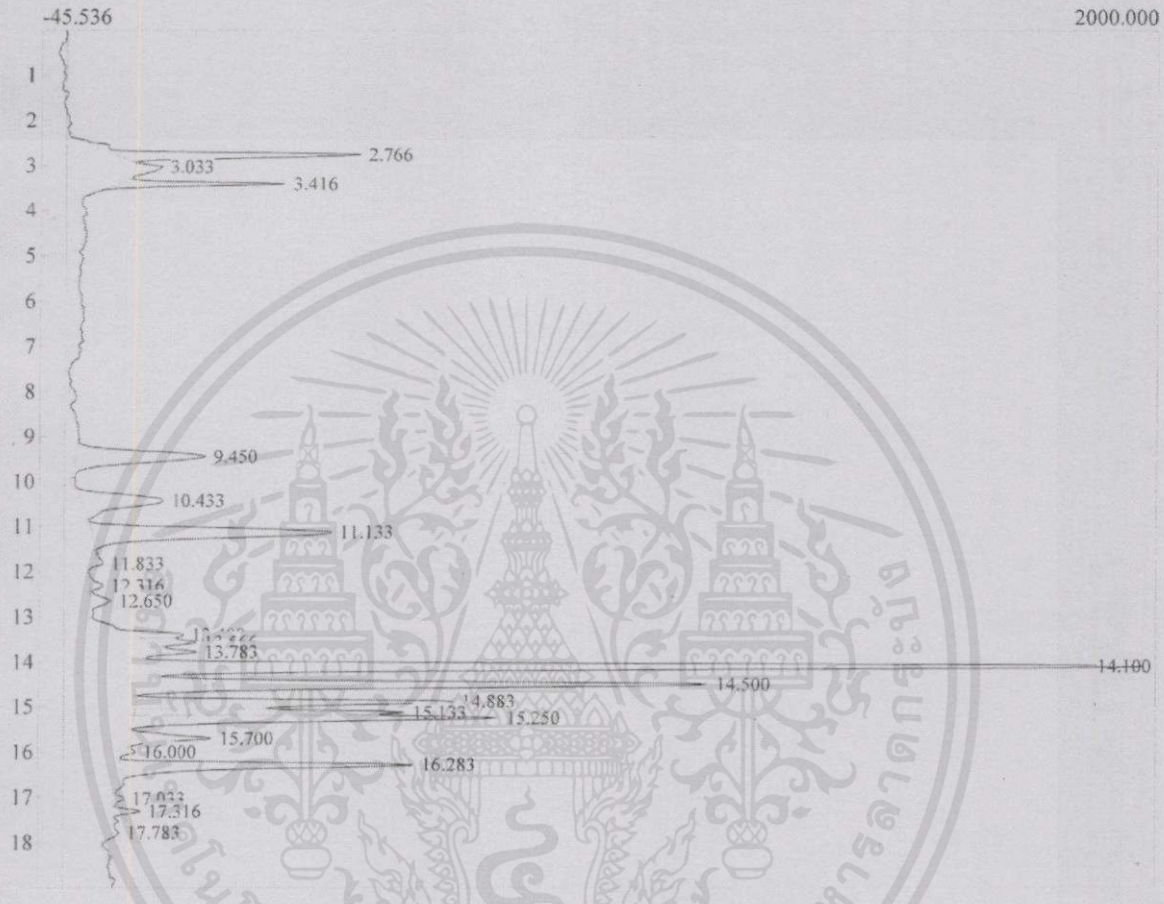
Component	Retention	Area	Area %
	2.550	583.7740	15.7490
	3.366	255.3160	6.8879
	4.466	85.1300	2.2966
	10.850	175.9470	4.7467
	13.483	91.9460	2.4805
	14.416	751.5570	20.2755
	14.633	150.2720	4.0540
	14.816	102.4350	2.7635
	15.516	523.2120	14.1152
	16.100	131.0460	3.5354
	16.650	743.7260	20.0642
	17.650	112.3660	3.0314
		3706.7270	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2ก แสดง HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactone จากการทดลองตอนที่ 2 การสกัดผงใบแปะก๊วยด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ pH 4 และ pH 5 วิธีการรีฟลักซ์และ Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) (แสดงในหน้าที่ 75 - 90)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 11:00:05
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide01.chr ()
Sample: #1 EtOAc pH5 , 50 uL



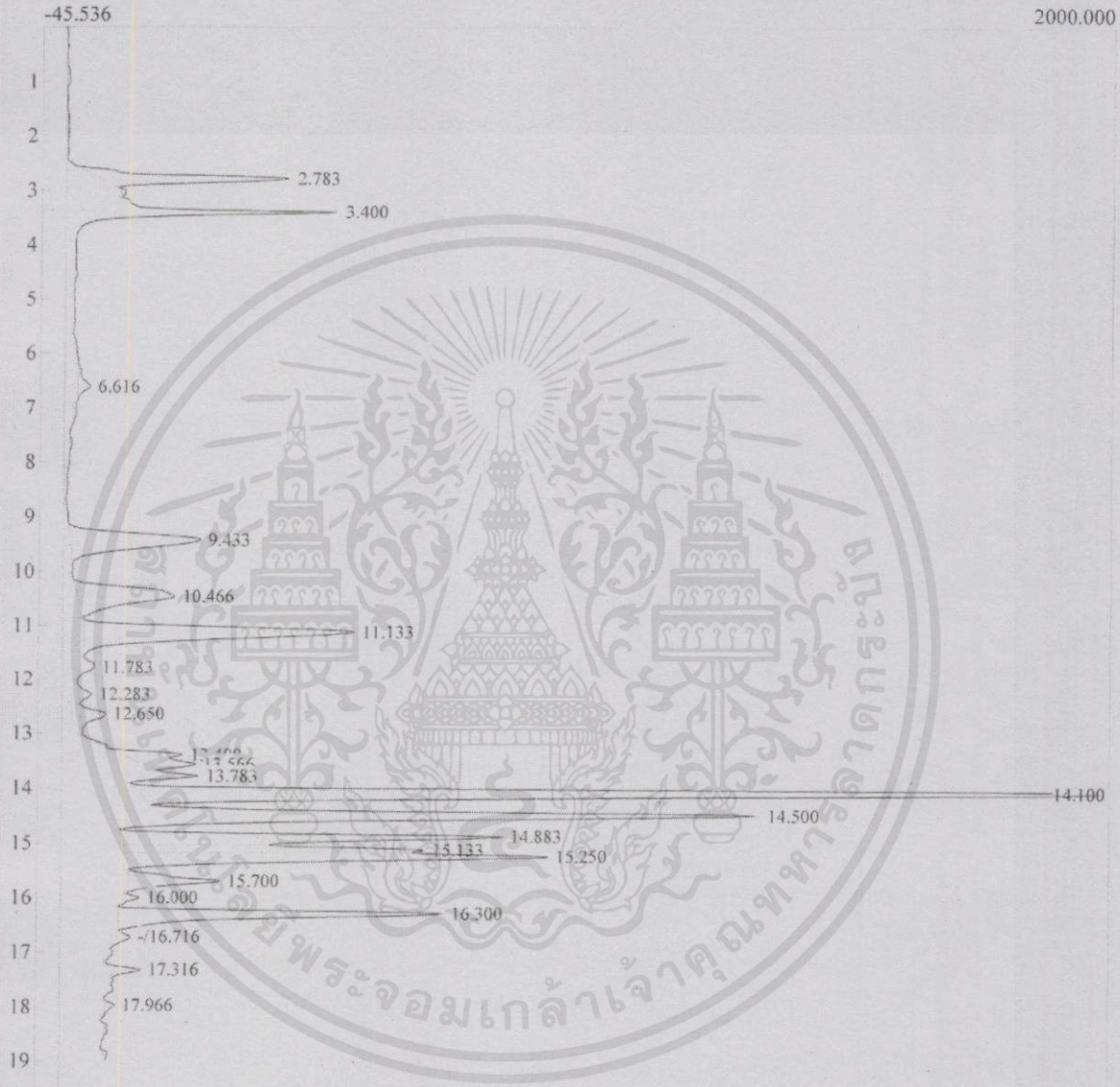
Component	Retention	Area	Area %
	2.766	3689.6200	5.1745
	3.033	559.3090	0.7844
	3.416	1778.8160	2.4947
	9.450	4115.5205	5.7718
	10.433	2957.3510	4.1476
	11.133	6716.9115	9.4202
	11.833	204.0470	0.2862
	12.316	267.6170	0.3753
	12.650	476.0955	0.6677
	13.400	669.6290	0.9391
	13.566	666.6420	0.9349
	13.783	499.7180	0.7008
	14.100	16548.8670	23.2090
	14.500	10092.9480	14.1549
	14.883	5417.8680	7.5983
	15.133	3567.4190	5.0031
	15.250	5856.1180	8.2129

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15.700	1430.4110	2.0061
16.000	129.1390	0.1811
16.283	5087.5900	7.1351
17.033	127.9650	0.1795
17.316	335.9420	0.4711
17.783	108.0165	0.1515
	71303.5600	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 11:25:04
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide02.chr ()
Sample: #2 EtOAc pH5+NaCl, 50 uL



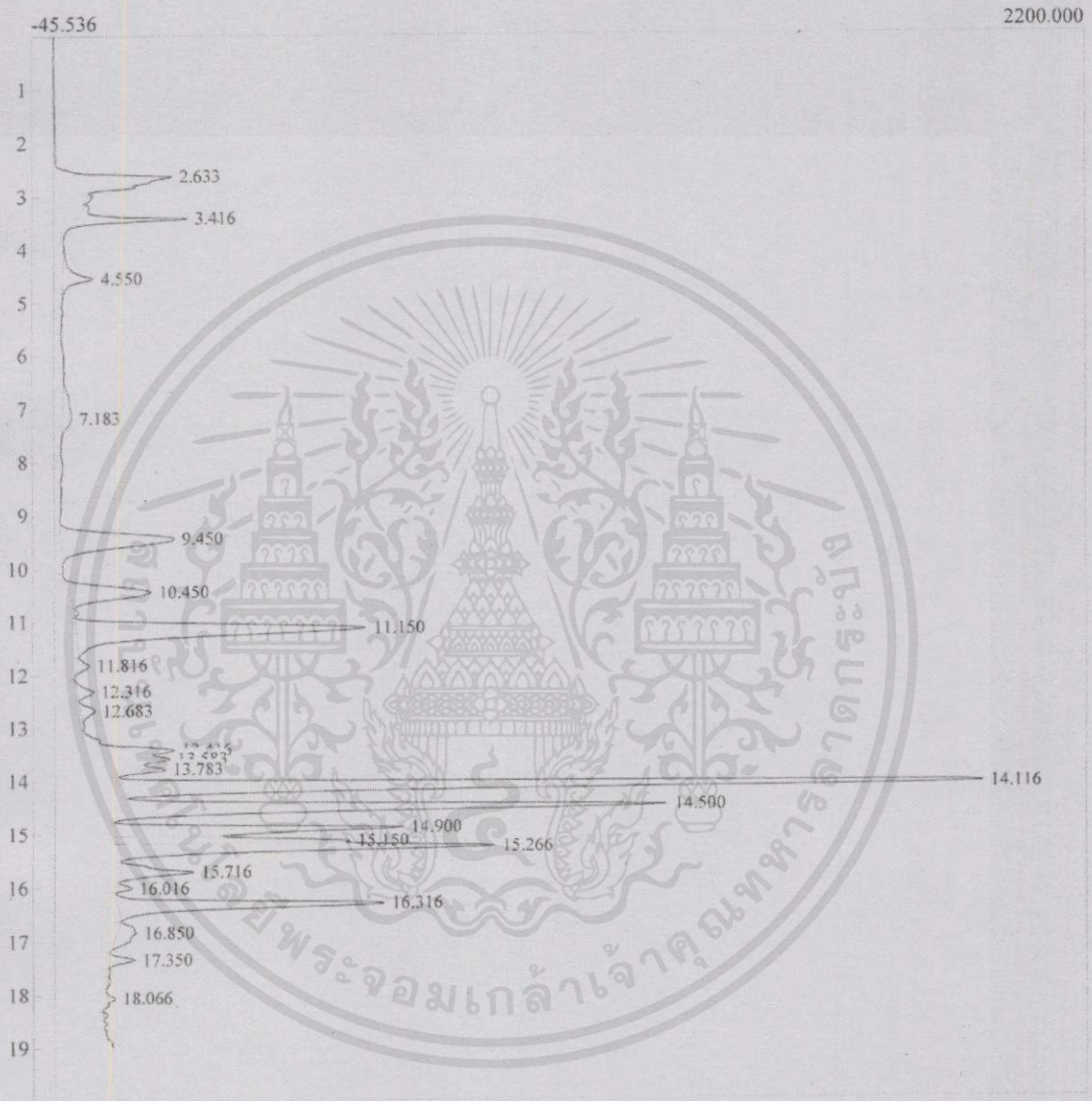
Component	Retention	Area	Area %
	2.783	3319.7015	4.0507
	3.400	3185.9000	3.8874
	6.616	408.8585	0.4989
	9.433	4525.9710	5.5226
	10.466	3788.9140	4.6232
	11.133	7805.6230	9.5245
	11.783	354.7980	0.4329

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12.283	240.4200	0.2934
12.650	611.5730	0.7462
13.400	707.7455	0.8636
13.566	998.9380	1.2189
13.783	659.8380	0.8051
14.100	17174.5880	20.9565
14.500	11486.7580	14.0162
14.883	6458.2850	7.8804
15.133	3522.7900	4.2985
15.250	8067.2875	9.8437
15.700	1831.7350	2.2351
16.000	199.0960	0.2429
16.300	5734.3490	6.9971
17.316	421.6705	0.5145
17.966	162.6730	0.1985
	81667.5125	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 11:50:06
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide03.chr ()
Sample: #3 EtOAc BT 4, 50 uL



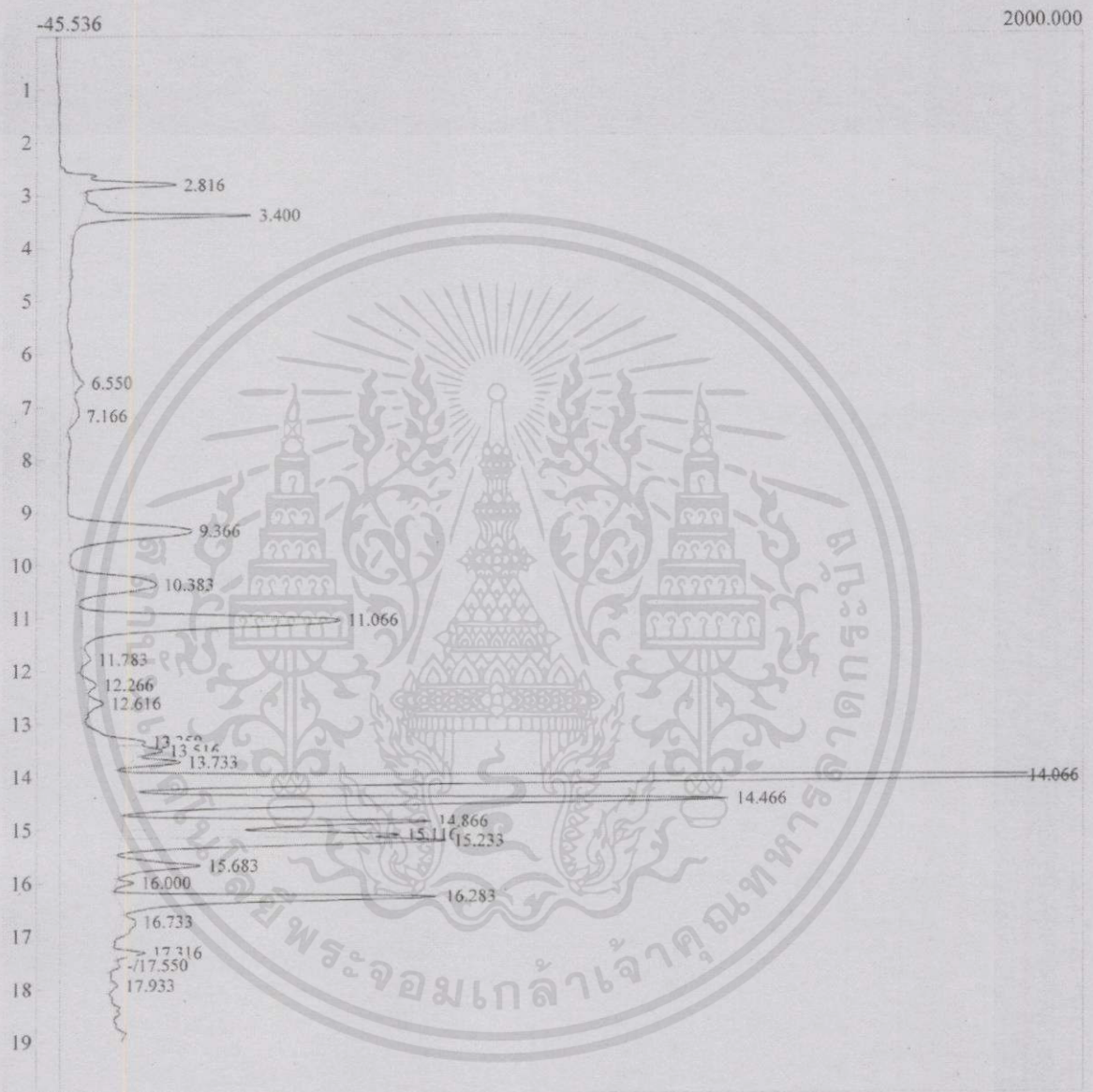
Component	Retention	Area	Area %
	2.633	3360.4300	4.3718
	3.416	1589.5870	2.0680
	4.550	960.2840	1.2493
	7.183	780.2785	1.0151
	9.450	4278.9190	5.5667
	10.450	2768.6940	3.6020
	11.150	8905.6550	11.5860

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11.816	279.1350	0.3631
12.316	375.2630	0.4882
12.683	354.7990	0.4616
13.416	549.6020	0.7150
13.583	270.9660	0.3525
13.783	471.4370	0.6133
14.116	16680.4540	21.7007
14.500	11145.4110	14.4998
14.900	5376.6200	6.9948
15.150	2971.8440	3.8663
15.266	7381.5640	9.6032
15.716	1497.3905	1.9481
16.016	184.3970	0.2399
16.316	5312.2200	6.9110
16.850	843.1270	1.0969
17.350	421.1730	0.5479
18.066	106.6260	0.1387
	76865.8760	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 12:15:01
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide04.chr ()
Sample: #4 EtOAc UB 5, 50 uL



Component	Retention	Area	Area %
	2.816	1750.6930	2.2376
	3.400	2400.2560	3.0678
	6.550	309.4340	0.3955
	7.166	326.1885	0.4169
	9.366	4767.4375	6.0933
	10.383	3330.8980	4.2572
	11.066	8429.3180	10.7735

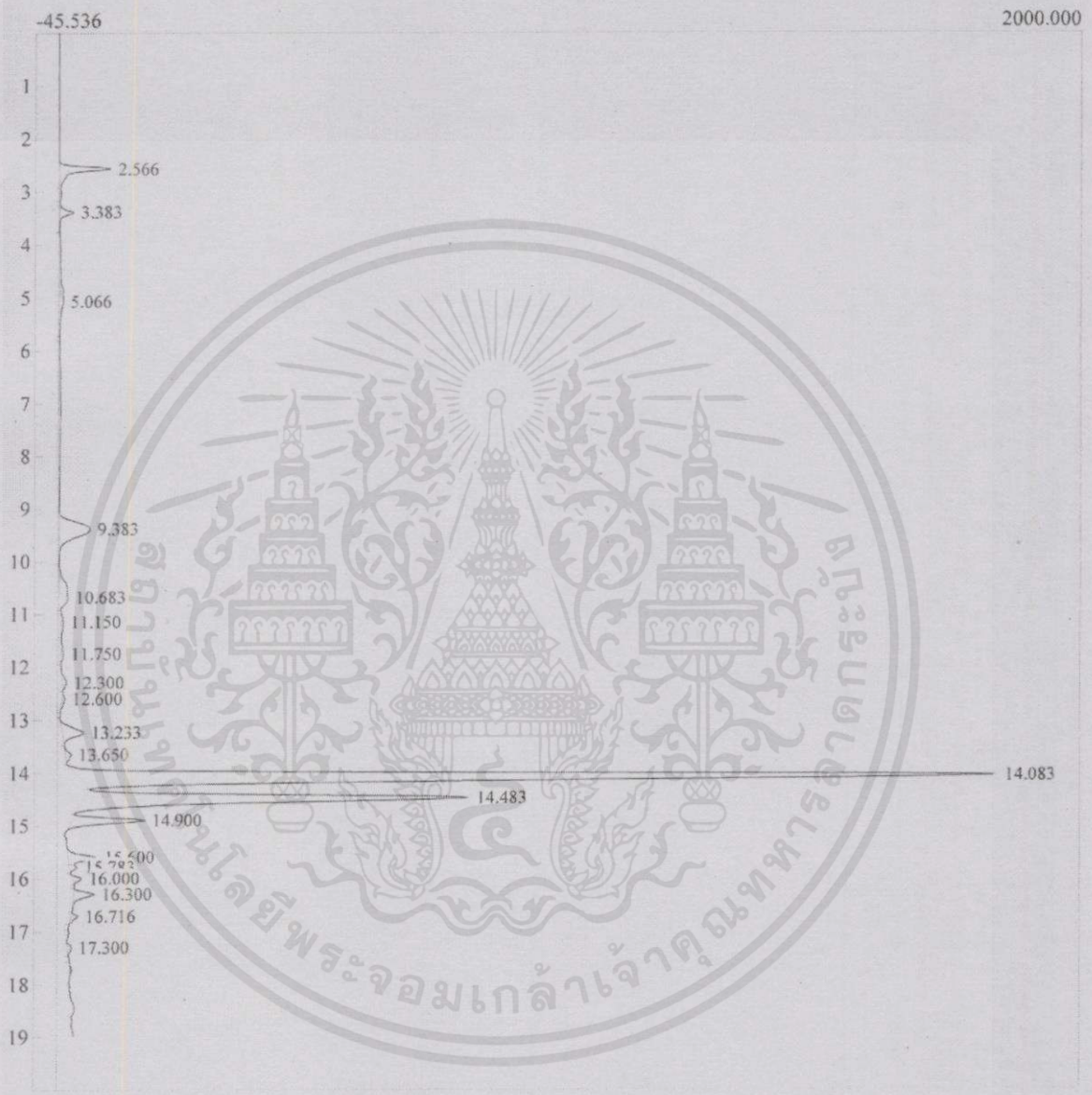
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11.783	184.1870	0.2354
12.266	251.7360	0.3217
12.616	321.6340	0.4111
13.350	325.0400	0.4154
13.516	544.6010	0.6961
13.733	752.3935	0.9616
14.066	18614.2505	23.7910
14.466	11538.0140	14.7468
14.866	5554.6030	7.0994
15.116	3683.2030	4.7075
15.233	6332.2125	8.0932
15.683	1715.9740	2.1932
16.000	217.8640	0.2785
16.283	5742.1205	7.3390
16.733	526.0100	0.6723
17.316	407.0220	0.5202
17.933	132.3145	0.1691
	78157.4045	100.0000

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 12:40:01
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide05.chr ()
Sample: #5 Dichlo pH5, 50 uL



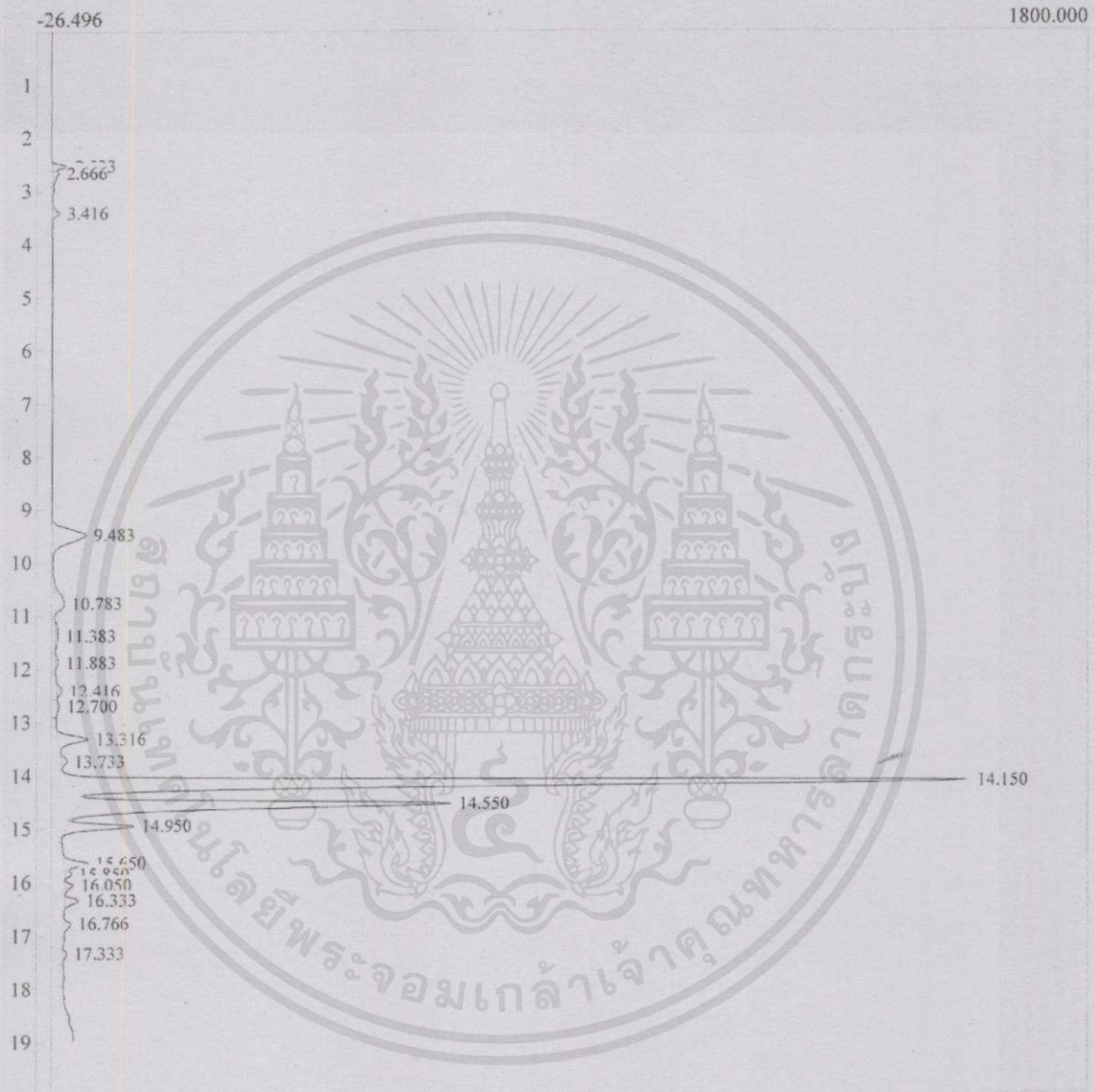
Component	Retention	Area	Area %
	2.566	694.0640	2.3532
	3.383	169.3375	0.5741
	5.066	188.7355	0.6399
	9.383	1204.7250	4.0846
	10.683	412.7580	1.3995
	11.150	76.2985	0.2587
	11.750	69.9080	0.2370

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12.300	97.7730	0.3315
12.600	67.4490	0.2287
13.233	492.0710	1.6684
13.650	104.7980	0.3553
14.083	16406.2950	55.6255
14.483	7293.6490	24.7291
14.900	1054.0210	3.5737
15.600	474.7540	1.6097
15.783	93.5570	0.3172
16.000	102.8240	0.3486
16.300	319.0590	1.0818
16.716	101.3590	0.3437
17.300	70.7790	0.2400
	29494.2145	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 13:04:54
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide06.chr ()
Sample: #6 Dichlo pH5+NaCl, 50 uL



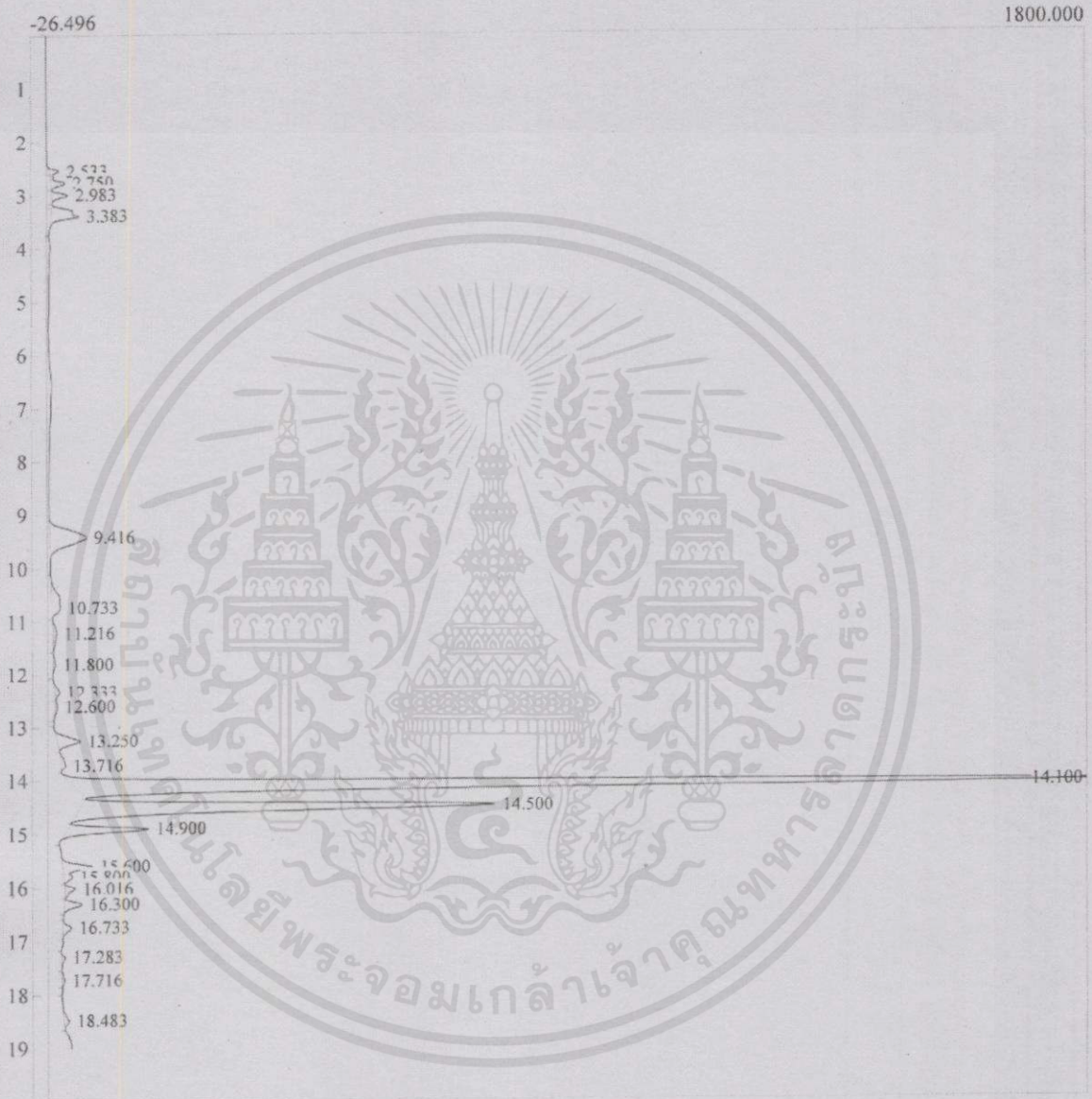
Component	Retention	Area	Area %
	2.533	137.3775	0.5735
	2.666	92.2150	0.3850
	3.416	97.8975	0.4087
	9.483	979.3240	4.0884
	10.783	385.7490	1.6104
	11.383	125.9855	0.5259
	11.883	55.7345	0.2327

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12.416	92.4490	0.3859
12.700	46.5850	0.1945
13.316	487.3360	2.0345
13.733	94.5850	0.3949
14.150	13616.0140	56.8424
14.550	6031.8335	25.1809
14.950	851.8520	3.5562
15.650	344.4670	1.4380
15.850	80.3560	0.3355
16.050	98.9425	0.4131
16.333	185.3490	0.7738
16.766	96.7770	0.4040
17.333	53.1590	0.2219
	23953.9880	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 13:30:18
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide07.chr ()
Sample: #7 Dichlo BT 4 , 50 uL



Component	Retention	Area	Area %
	2.533	83.6620	0.2901
	2.750	175.5130	0.6085
	2.983	165.6000	0.5741
	3.383	556.0770	1.9280
	9.416	1191.1265	4.1297
	10.733	389.3880	1.3500
	11.216	126.9905	0.4403

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11.800	49.4625	0.1715
12.333	86.1115	0.2986
12.600	48.9275	0.1696
13.250	409.2665	1.4190
13.716	106.1740	0.3681
14.100	16022.0935	55.5498
14.500	7171.9650	24.8658
14.900	1014.2250	3.5164
15.600	413.7345	1.4344
15.800	113.8445	0.3947
16.016	134.8990	0.4677
16.300	233.7980	0.8106
16.733	144.1450	0.4998
17.283	55.2950	0.1917
17.716	48.7660	0.1691
18.483	101.6750	0.3525
	28842.7395	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lab name: HPLC-ELSD
Analysis date: 11/06/2014 13:55:10
Column: Luna C18,250 X4.0mm
Carrier: 70 %MeOH in H2O
Data file: 06-11-57-Ginkgolide08.chr ()
Sample: #8 Dichlo UB 5 , 50 uL

Component	Retention	Area	Area %
	2.516	186.2380	0.9267
	3.433	93.5785	0.4656
	4.983	118.2265	0.5883
	9.500	728.4745	3.6247
	10.783	292.2545	1.4542
	11.450	106.1510	0.5282
	11.850	44.8985	0.2234

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12.383	58.9050	0.2931
12.650	37.5200	0.1867
13.283	401.5045	1.9978
13.700	86.3820	0.4298
14.133	11544.4520	57.4424
14.516	4995.4095	24.8560
14.916	683.3200	3.4000
15.616	299.7620	1.4915
15.816	74.1965	0.3692
16.033	85.9680	0.4278
16.300	153.2350	0.7625
16.750	73.2900	0.3647
17.300	33.6630	0.1675
	20097.4290	100.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1ข. วิธีการคำนวณปริมาณรวมของ Terpene Lactones ต่อน้ำหนักใบแห้ง 1 กรัม (Area/g) ของการทดลองตอนที่ 1

ตารางที่ 1.1ข แสดงข้อมูลดิบน้ำหนัก (g) ของสารสกัดที่สกัดได้ที่แต่ละ pH

pH	3	4	5	6	7	8
Terpene Lactone (Buffer type)	0.0647	0.0589	0.0495	0.0505	0.0268	0.0249
Terpene Lactone (Universal Buffer)	0.0759	0.0717	0.0683	0.0571	0.0224	0.0085

ตารางที่1.2ข แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones (g) จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด

pH	3	4	5	6	7	8
Terpene Lactone (Buffer type)	0.0016	0.0015	0.0012	0.0013	0.0007	0.0006
Terpene Lactone (Universal Buffer)	0.0019	0.0018	0.0017	0.0014	0.0006	0.0002

ตัวอย่างการคำนวณ

1. Buffer type pH3

สารละลาย 50% Ethanol 2 mL มีสารสกัด = 0.0647 g

$$50\ \mu L \text{ จะมีสารสกัด} = \frac{0.0647\ g \times 50\mu L}{2\ mL} \times \frac{1\ mL}{1000\mu L}$$

$$= 0.0016\ g$$

2. Universal Buffer pH3

สารละลาย 50% Ethanol 2 mL มีสารสกัด = 0.0759 g

$$50\ \mu L \text{ จะมีสารสกัด} = \frac{0.0759\ g \times 50\mu L}{2\ mL} \times \frac{1\ mL}{1000\mu L}$$

$$= 0.0019\ g$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1.3ข แสดงน้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL ที่ทำการฉีด (เทียบกับน้ำหนักผงแป๊ะก๊วยเริ่มต้น 6.4516 g)

pH	3	4	5	6	7	8
Terpene Lactone (Buffer type)	0.1613	0.1613	0.1614	0.1614	0.1613	0.1614
Terpene Lactone (Universal Buffer)	0.1613	0.1613	0.1613	0.1613	0.1613	0.1617

ตัวอย่างการคำนวณ

1. Buffer type pH 3

สารสกัด 0.0647 g คิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น = 6.4516 g

สารสกัด 0.0016 g จะคิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น $= \frac{0.0016\ \text{g} \times 6.4516\ \text{g}}{0.0647\ \text{g}}$

$= 0.1613\ \text{g}$

2. Universal Buffer pH 3

สารสกัด 0.0759 g คิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น = 6.4516 g

สารสกัด 0.0019 g จะคิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น $= \frac{0.0019\ \text{g} \times 6.4516\ \text{g}}{0.0759\ \text{g}}$

$= 0.1613\ \text{g}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1.4ข แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type ในการควบคุม pH

pH	BB	GJ	GC	GA	GB
3	22,078.5580	2,613.7860	8,818.6325	15,954.5030	10,166.1910
4	26,845.2720	1,845.3590	10,168.6375	20,044.9100	12,830.4085
5	24,839.4415	2,321.5720	9,145.9375	19,425.5790	11,866.2350
6	26,755.6195	3,169.6010	9,735.5790	18,750.7940	12,214.4935
7	10,140.4370	2,311.8935	4,821.4005	11,150.6870	6,381.6960
8	3,808.4410	1,098.7790	1,142.7650	8,642.0980	1,873.2080

ตารางที่ 1.5ข แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer ในการควบคุม pH

pH	BB	GJ	GC	GA	GB
3	33,522.6320	4,684.1265	11,908.9030	19,779.7645	14,016.8295
4	32,103.1570	4,988.3735	13,225.0730	20,200.0215	13,651.0490
5	32,285.6790	4,912.5090	12,602.3755	21,015.1160	13,540.1670
6	27,402.8000	5,067.9770	9,732.4405	19,933.8070	12,161.9450
7	5,615.9700	1,106.7410	1,498.9705	8,956.4485	3,471.3955
8	-	175.9470	-	751.5570	102.4350

ตารางที่1.6ข แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Buffer type ในการควบคุม pH

pH	BB	GJ	GC	GA	GB	Total
3	136,878.8469	16,204.5009	54,672.2412	98,911.9839	63,026.6026	369,694.1755
4	166,430.7006	11,440.5394	63,041.7700	124,270.9857	79,543.7601	444,727.7558
5	153,995.2976	14,392.8828	56,701.4104	120,431.3639	73,566.2430	419,087.1977
6	165,874.8884	19,650.3503	60,356.9684	116,247.9479	75,725.3162	437,855.4712
7	62,866.9374	14,332.8797	29,890.8897	69,130.1116	39,564.1414	215,784.9598
8	23,610.9175	6,812.0211	7,084.7179	53,577.7993	11,613.1928	102,698.6486

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

Buffer type pH 3(BB) พื้นที่ใต้กราฟ $= \frac{\text{Area}}{\text{Dry weight}}$

$= \frac{22{,}078.5580}{0.1613\ \text{g}}$

$=$ 136,878.8469Area/g DW

ตารางที่1.7ข แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Universal Buffer ในการควบคุม pH

pH	BB	GJ	GC	GA	GB	Total
3	207,827.8487	29,039.8419	73,830.7688	122,627.1823	86,899.1290	520,224.7707
4	199,027.6317	30,926.0601	81,990.5332	125,232.6193	84,631.4259	521,808.2702
5	200,159.2002	30,455.7285	78,130.0403	130,285.9020	83,943.9988	522,974.8698
6	169,887.1668	31,419.5722	60,337.5109	123,582.1885	75,399.5350	460,625.9734
7	34,816.9250	6,861.3825	9,293.0595	55,526.6491	21,521.3608	128,019.3769
8	-	1,090.8060	-	4,659.3738	635.0590	6,385.2388

ตัวอย่างการคำนวณ

Universal Buffer pH 3 (BB) พื้นที่ใต้กราฟ $= \frac{\text{Area}}{\text{Dry weight}}$

$= \frac{33{,}522.6320}{0.1613\ \text{g}}$

$=$ 207,827.8487 Area/g DW

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2ข. วิธีการคำนวณปริมาณรวมของ Terpene Lactones ต่อน้ำหนักใบแห้ง 1 กรัม (Area/g) ของการทดลองตอนที่ 2

ตารางที่ 2.1ข แสดงข้อมูลดิบน้ำหนัก (g) ของสารสกัดที่สกัดได้ของแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	1	2	3	4	5	6	7	8
น้ำหนักสารสกัด (g)	0.0463	0.0467	0.0524	0.0555	0.0173	0.0163	0.0171	0.0168

ตารางที่2.2ข แสดงปริมาณของสารสกัด Terpene Lactones จากสารละลาย 50 µL ที่ทำการฉีด

ตัวอย่าง	1	2	3	4	5	6	7	8
น้ำหนักสารสกัด (g)	0.0012	0.0012	0.0013	0.0014	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004

ตัวอย่างการคำนวณ

1. สกัดด้วย Ethyl acetate (1)

สารละลาย 50% Ethanol 2 mL มีสารสกัด = 0.0463 g

$$50\ \mu L \text{ จะมีสารสกัด} = \frac{0.0463\ g \times 50\mu L}{2\ mL} \times \frac{1\ mL}{1000mL}$$

$$= 0.0012\ g$$

2. สกัดด้วย Dichloromethane (5)

สารละลาย 50% Ethanol 2 mL มีสารสกัด = 0.0173 g

$$50\ \mu L \text{ จะมีสารสกัด} = \frac{0.0173\ g \times 50\mu L}{2\ mL} \times \frac{1\ mL}{1000mL}$$

$$= 0.0004\ g$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่2.3ข แสดงน้ำหนักแห้งเริ่มต้น (g) ในสารสกัด 50 µL (เทียบกับน้ำหนักผงแปะก๊วยเริ่มต้น 6.2500 g)

ตัวอย่าง	1	2	3	4	5	6	7	8
น้ำหนักสารสกัด (g)	0.1563	0.1563	0.1563	0.1563	0.1564	0.1564	0.1564	0.1563

ตัวอย่างการคำนวณ

1. สกัดด้วย Ethyl acetate (1)

สารสกัด 0.0463 g คิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น = 6.2500 g

$$\text{สารสกัด 0.0012 g จะคิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น} = \frac{0.0012\ \text{g} \times 6.2500\ \text{g}}{0.0463\ \text{g}}$$

$$= 0.1563\ \text{g}$$

2. สกัดด้วย Dichloromethane (5)

สารสกัด 0.0173 g คิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น = 6.2500 g

$$\text{สารสกัด 0.0004 g จะคิดเป็นน้ำหนักแห้งเริ่มต้น} = \frac{0.0004\ \text{g} \times 6.2500\ \text{g}}{0.0173\ \text{g}}$$

$$= 0.1564\ \text{g}$$

ตารางที่ 2.4ข แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB
1	4,115.5205	2,957.3510	6,716.9115	16,548.8670	10,092.9480
2	4,525.9710	3,788.9140	7,805.6230	17,174.5880	11,486.7580
3	4,278.9190	2,768.6940	8,905.6550	16,680.4540	11,145.4110
4	4,767.4375	3,330.8980	8,429.3180	18,614.2505	11,538.0140

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5ข แสดงข้อมูลดิบพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละ Peak จาก HPLC Chromatogram ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB
5	1,204.7250	412.7580	76.2985	16,406.2950	7,293.6490
6	979.3240	385.7490	125.9855	13,616.0140	6,031.8335
7	1,191.1265	389.3880	126.9905	16,022.0935	7,171.9650
8	728.4745	292.2545	106.1510	11,544.4520	4,995.4095

ตารางที่ 2.6ข แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB	TTL
1	26,328.0417	18,918.9340	42,969.8082	105,867.3529	64,567.1808	258,651.3176
2	28,953.7990	24,238.6561	49,934.5753	109,870.2508	73,483.7414	286,481.0226
3	27,385.0816	17,719.6416	56,996.1920	106,754.9056	71,330.6304	280,186.4512
4	30,500.6686	21,310.1097	53,928.3073	119,088.5219	73,816.8337	298,644.4412

ตารางที่ 2.7ข แสดงพื้นที่ใต้กราฟในแต่ละ Peak เมื่อคำนวณต่อน้ำหนักใบแปะก๊วยแห้ง 1 กรัม (Area/g DW) จาก HPLC Chromatogram ของ Terpene Lactones ของตัวอย่างที่ใช้ Dichloromethane เป็นตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวอย่าง	BB	GJ	GC	GA	GB	TTL
5	7,701.3188	2,638.5947	487.7454	104,878.7964	46,625.3428	162,331.7981
6	6,259.9813	2,465.7637	805.3176	87,035.5403	38,556.3564	135,122.9593
7	7,614.2917	2,489.1679	811.7884	102,421.4424	45,846.8801	159,183.5705
8	4,662.2368	1,870.4288	679.3664	73,884.4928	31,970.6208	113,067.1456

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

Ethyl acetate (1) (BB) พื้นที่ใต้กราฟ $= \frac{\text{Area}}{\text{Dry weight}}$

$= \frac{4{,}115.5205}{0.1563\ \text{g}}$

$= 26{,}328.0417$ Area/g DW

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3ข. วิธีการคำนวณค่าความบริสุทธิ์ (Purity) ของการทดลองตอนที่ 1

ตารางที่ 3ข แสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 1

ตัวอย่าง	% Peak area					Total
	BB	GJ	GC	GA	GB	% Peak area
BT 3	17.8969	2.1187	7.1484	12.9327	8.2407	48.3374
BT 4	18.3172	1.2591	6.9383	13.6772	8.7545	48.9463
BT 5	21.991	2.0553	8.0971	17.1979	10.5055	59.8468
BT 6	20.8062	2.4648	7.5708	14.5814	9.4985	54.9217
BT 7	16.6014	3.7849	7.8933	18.2553	10.4478	56.9827
BT 8	12.7974	3.6922	3.84	29.0399	6.2945	55.6640
UB 3	23.6072	3.2986	8.3865	13.9292	9.8709	59.0924
UB 4	18.7893	2.9196	7.7403	11.8226	7.9897	49.2615
UB 5	21.251	3.2335	8.2951	13.8325	8.9124	55.5245
UB 6	21.7387	4.0204	7.7208	15.8136	9.6481	58.9416
UB 7	17.7989	3.5076	4.7507	28.386	11.002	65.4452
UB 8	0	4.7467	0	20.2755	2.7635	27.7857

ตัวอย่างการคำนวณ

1. % Peak area ของ BT 3

% Peak area = 17.8969 + 2.1187 + 7.1484 + 12.9327 + 8.2407 = 48.3374 %

2. % Peak area ของ UB 3

% Peak area = 23.6072 + 3.2986 + 8.3865 + 13.9292 + 9.8709 = 59.0924 %

* หมายเหตุ % Peak area เทียบได้เป็นค่าความบริสุทธิ์ (Purity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4ข. วิธีการคำนวณค่าความบริสุทธิ์ (Purity) ของการทดลองตอนที่ 2

ตารางที่ 4ข แสดงค่าความความบริสุทธิ์จาก % Peak area ของตัวอย่างในตอนที่ 2

ตัวอย่าง	% Peak area					Total
	BB	GJ	GC	GA	GB	% Peak area
1	5.7718	4.1476	9.4202	23.209	14.1549	56.7035
2	5.5226	4.6232	9.5245	20.9565	14.0162	54.6430
3	5.5667	3.602	11.586	21.7007	14.4998	56.9552
4	6.0933	4.2572	10.7735	23.791	14.7468	59.6618
5	4.0846	1.3995	0.2587	55.6255	24.7291	86.0974
6	4.0884	1.6104	0.5259	56.8424	25.1809	88.2480
7	4.1297	1.35	0.4403	55.5498	24.8658	86.3356
8	3.6247	1.4542	0.5282	57.4424	24.856	87.9055

ตัวอย่างการคำนวณ

1. % Peak area ของตัวอย่างที่ 1 (Ethyl acetate)

% Peak area = 5.7718 + 4.1476 + 9.4202 + 23.209 + 14.1549 = 56.7035 %

2. % Peak area ของตัวอย่างที่ 5 (Dichloromethane)

% Peak area = 4.0846 + 1.3995 + 0.2587 + 55.6255 +24.7291 = 86.0974 %

* หมายเหตุ % Peak area เทียบได้เป็นค่าความบริสุทธิ์ (Purity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้