

การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้นและวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน
ของผลิตภัณฑ์ตรีผลา ในรูปแบบน้ำและรูปแบบผง
PRIMARY SUBSTANCE EXAMINATION AND ANALYSIS
OF COLLAGEN CONTENT
FROM TRIPHALA PRODUCT IN WATER TYPE AND POWDER TYPE

วิไลลักษณ์ สุขใส^{1*} สธภาพ สัตยชี้อ² เกศริน ดรสรีจันทร์³ และ สิริวิมล พรมนัส⁴

^{1*,2,3,4}ภาควิชาการแพทย์แผนไทย วิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนภิเษก นนทบุรี 11150

Wilailak Suksai^{1*}, Sathaporn Satsue², Ketsarin Donsrijan³ and Siriwimon Prommanus⁴

^{1*,2,3,4}Department of Thai Traditional Medicine, Kanchanabhishek Institute
of Medical and Public Health Technology, Nonthaburi, 11150

*E-mail: wilailak55169@gmail.com

Received: 2018-04-17

Revised: 2018-12-17

Accepted: 2019-03-21

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้นและเปรียบเทียบปริมาณคอลลาเจนของผลิตภัณฑ์ ตรีผลาในรูปแบบน้ำและรูปแบบผง จำนวน 22 ชนิด ด้วยวิธีไฮดรอกซีโพรลีน ผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผงมีสารสำคัญเบื้องต้นในกลุ่มแอลคาลอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และสเตียรอยด์ ตามลำดับ และผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำสามารถละลายสารสำคัญเบื้องต้นได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์ ตรีผลารูปแบบผง ส่วนการศึกษาปริมาณคอลลาเจน พบว่าผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำชนิด H มีปริมาณคอลลาเจน มากที่สุดคือ 738.45 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบผงชนิด O มีปริมาณคอลลาเจน มากที่สุดคือ 117.27 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณคอลลาเจนในผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำกับรูปแบบผง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้นสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการตัดสินใจในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ ตรีผลาเพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดและเป็นข้อมูลที่ช่วยสนับสนุน ความเชื่อเกี่ยวกับสรรพคุณของ

ผลิตภัณฑ์ตรีผลาที่มีส่วนช่วยในเรื่องต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเพิ่มคอลลาเจนปรับสมดุลธาตุ บำรุงผิวพรรณ และฟื้นฟูร่างกายของค์รวมทุกระบบให้แข็งแรงทำงานประสานกัน

คำสำคัญ: สารสำคัญเบื้องต้น คอลลาเจน ตรีผลา วิถีไฮดรอกซีโพรลีน

ABSTRACT

This study focused on primary substance examination and analysis of collagen content from triphala product in water type and powder type in 22 brands of triphala product by hydroxyproline assay. The results showed that the triphala product in water type and powder type were the primary substances in alkaloids, tannins, flavonoids, terpenoid and steroids, respectively. The triphala product in water type can dissolve the primary substances better than the triphala product in powder type. The study of collagen content, the H-water type had the highest collagen content of 738.45 $\mu\text{g/ml}$ and O- powder type had the highest collagen content of 117.27 $\mu\text{g/ml}$. When compared the collagen content from triphala product in water type and powder type showed significantly difference ($p>0.05$). Therefore, the information can be used as the decision to purchase the product to get the most benefit and to support the product. That contribute to the fight against free radicals, enhances collagen, balance the skin and restore the whole body system to work together.

Keywords: Primary substance, collagen, Triphala, Hydroxyproline assay

บทนำ

คอลลาเจนเป็นองค์ประกอบของกระดูกและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดที่สุดในสัตว์มีกระดูกสันหลัง คอลลาเจนเป็นโครงสร้างเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำที่มีความแน่นมากเส้นใยคอลลาเจนประกอบด้วยสายพอลิเปปไทด์สามสายพันรอบกันคล้ายเกลียวเชือก หรือเกลียวสามเส้น (triple helix) ใน พอลิเปปไทด์แต่ละสายจะมีการซ้ำของลำดับกรดอะมิโนสามตัวคือ X-Pro-Gly หรือ X-Hyp-Gly โดย Hyp คือ ไฮดรอกซีโพรลีน และ X ที่ตำแหน่งแรกจะเป็นกรดอะมิโนใด ๆ ก็ได้ (Ratanapo, 2011) การรับประทานอาหารที่ช่วยเสริมสร้างคอลลาเจนจากภายในจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดการเกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นของผิวหนังได้ โดยเฉพาะการรับประทานผักและผลไม้ที่มีวิตามินซีและแอนโทไซยานินเนื่องจากวิตามินซีและแอนโทไซยานินเป็นตัวช่วยที่สำคัญในกระบวนการสร้างคอลลาเจน (Rattananukul,

2012) วิตามินซีเป็นวิตามินชนิดเดียวในกลุ่มของวิตามินที่ละลายได้ในน้ำที่ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โคเอนไซม์ในรูปแบบที่ชัดเจนเหมือนวิตามินละลายน้ำอื่น ๆ จากการศึกษพบว่าวิตามินซีเป็นปัจจัยร่วมในการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งพบมากในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันโดยทำหน้าที่เติมหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) แก่กรดอะมิโนโพรลีน และไลซีนให้เป็นไฮดรอกซีโพรลีนและไฮดรอกซีไลซีน ตามลำดับ กรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของคอลลาเจนซึ่งพบในกระดูกอ่อน เนื้อฟัน หลอดเลือด และเยื่อบุผิว (Sriboonlue, 2012)

ตรีผลา ประกอบด้วยผลไม้ธาตุน้ำ 3 ชนิด ได้แก่ สมอไทย สมอพิเภก มะขามป้อม เป็นสมุนไพร ที่การแพทย์อายุรเวทยกย่องให้เป็นสมุนไพรที่โดดเด่นในด้านการปรับสมดุลธาตุ สามารถบำรุงและฟื้นฟูร่างกายของโดยรวมทุกระบบให้แข็งแรง และทำงานประสานกันอย่างมีประสิทธิภาพ (Wissakdilok, 2012) สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) ผลแก่มีรสฝาดเปรี้ยว เนื่องจากมีสารพวกแทนนินใช้เป็นยาสมาน แก้ลมจุกเสียด ยาเจริญอาหาร ยาบำรุง เป็นยาขงอมกั้วคอกแก้เจ็บคอ ขับน้ำเหลืองเสีย ใช้ภายนอกบดเป็นผงละเอียดโรยแผลเรื้อรัง ใช้รักษาโรคฟันและเหงือกเป็นแผล เป็นยาระบายอ่อนๆ แก้พิษร้อนภายใน แก้ลมป่วง ระบายลม รู้ถ่ายรู้ปิดเอง คุมธาตุในตัวเสร็จ ถ่ายพิษไข้ สารสกัดจากสมอไทยได้รับการยอมรับว่าเป็นราชาสมุนไพร เนื่องจากฤทธิ์ในการกำจัดสารพิษออกจากร่างกายและบำบัดโรคหลายชนิดในขณะเดียวกันยังสามารถบำรุงสุขภาพ และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย (Boonworapat, 2011) สมอพิเภก (*Terminalia belerica* Roxb.) สรรพคุณตามตำราแผนไทย ได้แก่ ผลแก่ แก้เสมหะจุกคอ ทำให้ชุ่มคอ แก้โรคตา แก้ธาตุกำเริบ บำรุงธาตุ แก้ไข้ แก้ริดสีดวง แก้ท้องร่วงท้องเดิน รักษาโรคท้องมาน เมล็ดใน แก้บิด แก้บิดมูกเลือด ที่มีการใช้ตามองค์ความรู้ดั้งเดิมตามประกาศคณะกรรมการแห่งชาติด้านยา (ฉบับที่ 5) พบการใช้สมอพิเภกในยารักษากลุ่มอาการทางระบบไหลเวียนโลหิต (แก้ลม) มีส่วนประกอบของสมอพิเภกร่วมกับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ในตำรับ “ยาหอมนวโกฐ” มีสรรพคุณในการแก้ลมวิงเวียน คลื่นเหียน อาเจียน แก้ลมจุกแน่นในอก ในผู้สูงอายุ แก้ลมปลายไข้ (หลังจากฟื้นไข้แล้วยังมีอาการ เช่น คลื่นเหียน วิงเวียน เบื่ออาหาร ท้องอืด อ่อนเพลีย) (Homhual, 2012) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) สรรพคุณตามตำราแผนไทย ได้แก่ ผลดิบ แก้กระหายน้ำ แก้คออักเสบ แก้ไอ ขับเสมหะ ทำให้ชุ่มคอ แก้พิษแก้หวัด เป็นไข้ตัวร้อน แก้เลือดออกตามไรฟัน แก้เจ็บคอ คอแห้ง และใช้สำหรับผู้ป่วยวิตามินซี เพราะเนื้อผล มีวิตามินซีสูงถึง 1-2 เปอร์เซ็นต์ (มะขามป้อม 1 ผล มีปริมาณวิตามินซีเทียบเท่ากับผลส้มสด 2 ผล) สารสกัดใบและผลมะขามป้อมด้วยเมทานอล ขนาด 50 มก./มล. สามารถยับยั้งการอักเสบได้ โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของนิวโตรฟิลมนุษย์ได้ 40 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งลิโคทรินซึ่งเป็นตัวเหนี่ยวนำให้นิวโตรฟิลมีการเคลื่อนที่ได้ 90 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการผลิตทรอมบอเซนได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ (Chavalittumrong et al., 1996)

ปัจจุบันได้มีการขายเครื่องดื่มสมุนไพรผลา โดยอ้างสรรพคุณว่า ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกัน ความเสื่อมของเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกาย ช่วยทำให้สุขภาพแข็งแรง ป้องกันไม่ให้ร่างกายอ่อนเพลีย ไข้เป็น ยาอายุวัฒนะ ทำให้มีอายุยืนยาว ชะลอความแก่ชรา คงความอ่อนเยาว์ ช่วยเพิ่มคอลลาเจน ทำให้ผิวพรรณผ่องใสยิ่งขึ้น มีส่วนช่วยทำให้แผลลึกลับต่างดำหายและจางเร็วยิ่งขึ้น ตรีผลาประโยชน์ช่วยทำให้หลับสบาย หลับลึก และตื่นมาอย่างสดชื่น มีชีวิตชีวาไม่่วงนอน ช่วยปรับธาตุ ปรับสมดุลในร่างกาย กระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต (Matchon online, 2017) จากข้อมูลดังกล่าวทำให้ผู้ศึกษาสนใจที่จะศึกษาหาปริมาณคอลลาเจนในผลิตภัณฑ์ตรีผลาทั้งในรูปแบบน้ำและรูปแบบผงเพื่อดูว่าผลิตภัณฑ์ตรีผลาในรูปแบบน้ำซึ่งผ่านการแปรรูปโดยการใช้ความร้อน และผลิตภัณฑ์ตรีผลาในรูปแบบผงซึ่งผ่านการแปรรูปโดยการบดละเอียดจะมีสารสำคัญเบื้องต้นและมีปริมาณคอลลาเจนหรือไม่เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปสนับสนุนการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ตรีผลา

วิธีการ

1. สารเคมีและอุปกรณ์

คลอรามินที่ 4-(ไดเมทิลอะมิโน)เบนซอลดีไฮด์ สารมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน (Sigma-Aldrich, USA) และหม้อนิ่งความดันไอน้ำ (Wise Clave, Germany)

2. วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และตัวอย่าง (Suksai & Thapphasarapong, 2014)

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายไฮดรอกซีโพรลีน ปริมาณ 0.001 กรัม ให้มีความเข้มข้น 1-25 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ใน 50 มิลลิโมลาร์ของอะซีเตตบัฟเฟอร์ pH 3.5 เตรียมสารละลาย 0.056 โมลาร์ของคลอรามิน ที่ ใน 50 เปอร์เซ็นต์ เอ็น-โพรพานอล เตรียมสารละลายแอร์ริก จาก 1 โมลาร์ ของ 4-(ไดเมทิลอะมิโน)เบนซอลดีไฮด์ ในสารละลายผสมของเอ็น-โพรพานอล ต่อกรดเปอร์คลอริก (2:1 โดยปริมาตร)

2.2 เตรียมตัวอย่าง

1. เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผงที่กำหนดในท้องตลาด จังหวัดนนทบุรี โดยคัดเลือกจากผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผงที่มีราคาไม่เกิน 1,500 บาท จำนวน 22 ชนิด

2. เตรียมผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำชนิด A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K และผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบผงชนิด L,M,N,O,P,Q,R,S,T,U,V ด้วยน้ำปราศจากไอออน ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสูตร

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

C_1 คือ ความเข้มข้นสารละลายก่อนเจือจาง (โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)

C_2 คือ ความเข้มข้นสารละลายหลังเจือจาง (โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)

V_1 คือ ปริมาตรสารละลายก่อนเจือจาง (โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)

V_2 คือ ปริมาตรสารละลายหลังเจือจาง (โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)

3. เตรียมผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผง จำนวน 22 ชนิด ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 50 มิลลิโมลาร์ของอะซีเตตบัฟเฟอร์ pH 3.5 จากนั้นเติม 2 นอร์มอลของโซเดียม ไฮดรอกไซด์ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ให้ความร้อนโดยใช้หม้อน้ำร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

3. การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้น

การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผง 4 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ แทนนิน และฟลาโวนอยด์ จะใช้ปฏิบัติการการเกิดสีหรือตะกอน (Sunthorncharoenon & Ruangwiset, 2008) ดังนี้

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ นำตัวอย่าง ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ระบายให้แห้ง นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วย 5 เปอร์เซ็นต์กรดซัลฟิวริก 5 มิลลิลิตร กรองเอาสารละลายมาแบ่งเป็น 2 ส่วนดังนี้ ส่วนที่ 1 นำไปหยดบนแผ่นสไลด์ 1 หยด และหยดน้ำยาตราเจนดรอพ 1 หยด ลงบนสารสกัด สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น ผลบวกจะได้ตะกอนสีส้มแสดงว่าพบแอลคาลอยด์ ส่วนที่ 2 นำสารสกัด ทำให้มีสภาพเป็นด่างโดยเติมแอมโมเนียไฮดรอกไซด์เข้มข้นที่ละ 1 หยด จนมีสภาพเป็นด่าง (ตรวจสอบด้วยกระดาษลิตมัส ซึ่งจะเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน) หลังจากนั้นเติมตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน นำสารสกัดไดคลอโรมีเทนที่ได้หยดลงบนกระดาษกรอง 1 หยด ด้วยน้ำยาตราเจนดรอพ ผลบวกจะได้สีส้มแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

การตรวจสอบสารกลุ่มสเตียรอยด์ ด้วยวิธีลิเบอร์แมนเบอร์ชาร์ด โดยเตรียมตัวอย่าง ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ระบายให้แห้ง แล้วหยดด้วยน้ำยาอะซิติกแอนไฮไดรด์ 3 หยด และหยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 หยด ผลบวกจะให้สีน้ำเงิน-เขียว แสดงว่าพบสารกลุ่มสเตียรอยด์ ส่วน การตรวจสอบการเกิดฟอง โดยนำตัวอย่าง 0.005 กรัมเติมน้ำร้อน ปริมาตร 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเขย่าหลอดทดลองขึ้นลง ประมาณ 10 วินาที สังเกตลักษณะของฟองที่เกิดขึ้น วัดความสูงของฟอง หลังจากนั้นหยด 5 เปอร์เซ็นต์กรดไฮโดรคลอริก 1 หยด สังเกตฟอง ถ้าฟองยังอยู่แสดงว่ามีสารกลุ่มซาโปนิน ฟองจะมีลักษณะคล้ายรังผึ้ง และให้สีแดง สีชมพู หรือสีม่วงแดง แสดงว่าพบสารกลุ่มสเตียรอยด์ (Steroids)

การตรวจสอบสารกลุ่มแทนนิน แบ่งเป็น 2 ส่วน ดังนี้ ส่วนที่ 1 นำตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ระบายให้แห้งเติมสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์

ไซเดียมคลอไรด์ 2-3 หยด กรองสารละลายเอาส่วนตะกอนทิ้ง สารละลายที่ได้แบ่งเป็น 3 หลอด ประกอบด้วย หลอดที่ 1 หลอดควบคุม หลอดที่ 2 เติมน้ำยาเจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ และหลอดที่ 3 เติมน้ำยาเจลาตินซอล ในหลอดที่ 1 และ 2 ผลบวกจะได้ตะกอน ส่วนที่ 2 นำตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แบ่งเป็น 4 หลอด ประกอบด้วย หลอดที่ 1 หลอดควบคุม หลอดที่ 2 เติมน้ำยาเพอริคคโลไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ผลบวก จะได้สีน้ำเงิน หรือ สีเขียว หลอดที่ 3 เติมน้ำยาโบรมีนวอเทอร์ ผลบวก จะได้ตะกอนสีเทาเข้ม และหลอดที่ 4 เติมน้ำยา ไลม์วอเทอร์ ผลบวก จะได้ตะกอนสีเทาเหลืองๆ

การตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธีชิโนดะ (Shinoda's method) เตรียมตัวอย่างที่ ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร หยดกรด ไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร แล้วเติม แผ่นแมกนีเซียมแผ่นเล็ก ๆ ประมาณ 5 - 8 แผ่น เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา สังเกตไม่พบแผ่นแมกนีเซียม ไม่พบการเกิดฟองและสีที่เกิดขึ้นจะให้ผลบวก สีส้ม-แดง

4. การวิเคราะห์คอลลาเจนด้วยวิธีไฮดรอกซีโพรลีน Suksai & Thapphasarapong (2014)

ปีเปต 100 ไมโครลิตร ของสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน ที่ความเข้มข้น 1-25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในขวดสีชา จากนั้นเติม 900 ไมโครลิตร ของ คลอรามีนที่ 1 ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 25 นาที เติมน้ำ 900 ไมโครลิตร ของสารละลายแอมโมเนีย 65 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณคอลลาเจนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีนและจากสูตร ปริมาณคอลลาเจน = ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) x 100/13.5 (Reddy & Enwemeka, 1996)

ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้น

การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้น 4 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ แทนนิน และฟลาโวนอยด์พบสารสำคัญเบื้องต้น 4 ชนิด คือ แอลคาลอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนอยด์ ทั้งผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผง

ผลิตภัณฑ์ ตรีผลา	สารสำคัญเบื้องต้น							
	แอลคาลอยด์		ซาโปนิน	แทนนิน		สเตียรอยด์	ฟลาโวนอยด์	เทอร์ปีนอยด์
	A.1	A.2		T.1	T.2			
รูปแบบน้ำ								
A	++	++	-	++	+	-	++	+++
B	++	+++	-	+	+	-	++	++
C	+	++	-	++	++	-	+++	++
D	+	++	-	++	++	-	+	++
E	++	++	-	++	+++	-	++	++
F	+++	++	-	++	++	-	+	+
G	+	+	-	+	+	-	+	+
H	+++	++++	-	+++	++++	-	+++	+++
I	+	++	-	++	++	-	+++	+++
J	++	++	-	+	++	-	++	+++
K	++	+++	-	+	++	-	+++	++
รูปแบบผง								
L	+	++	-	++	++	-	+++	++
M	++	++	-	++	+++	-	++	++
N	+	+	-	+	++	-	++	+++
O	+++	++++	-	+++	++++	-	+++	+++
P	++	+++	-	+	++	-	++	++
Q	+	++	-	++	+++	-	+++	+++
R	++	+	-	++	+	-	+++	++
S	+	++	-	++	+++	-	++	++
T	+	+	-	+	+	-	+	+
U	++	+++	-	++	+++	-	++	+
V	+	++	-	++	++	-	++	++

หมายเหตุ: ผลบวก (+) คือ สีเข้มมากหรือมีตะกอน จำนวนเครื่องหมายบวกมาก แสดงว่าเกิดปฏิกิริยามาก
ผลลบ (-) คือ ไม่เกิดปฏิกิริยาหรือไม่เกิดตะกอนกับน้ำยาทดสอบ

การทดสอบสารกลุ่มแอลคาลอยด์;

(A.1) การทดสอบด้วยน้ำยาตราเจนดรอพ

(A.2) การทดสอบด้วยน้ำยาฟันทราเจนดรอพ

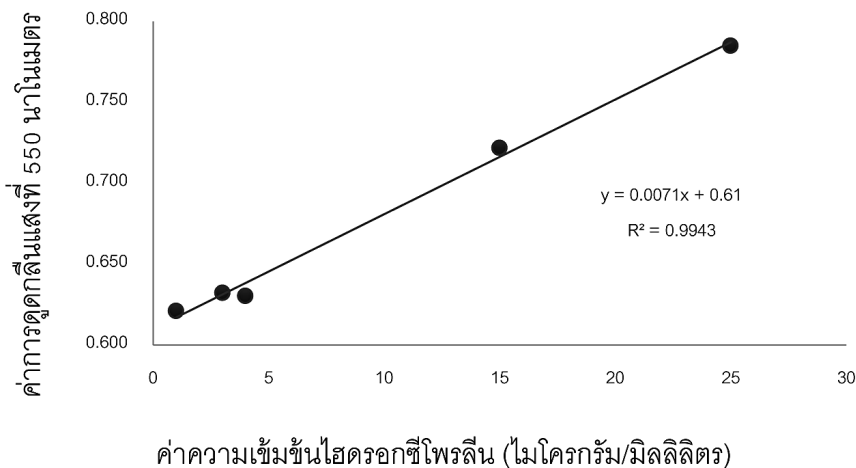
การทดสอบสารกลุ่มแทนนิน;

(T.1) การทดสอบด้วยน้ำยา ร้อยละ 1 ของ เจลาติน และเจลาตินซอล

(T.2) การทดสอบด้วยน้ำยา ร้อยละ 1 ของ เฟอริกคลอไรด์ โบรมีน และ ไลม์วอเทอร์

2. การวิเคราะห์คอลลาเจนด้วยวิธีไฮดรอกซีโพรลีน

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและพิสัย (linearity and range) การวิเคราะห์ด้วยวิธีไฮดรอกซีโพรลีน จากสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีนในช่วงความเข้มข้น 1-25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 5 ระดับ ความเข้มข้น ๆ ละ 5 ขั้ว นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟเส้นตรงและคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient: r) โดย $r > 0.99$ ซึ่งเข้าใกล้ 1 และไม่น้อยกว่า 0.995 ถือว่ากราฟมาตรฐานดังกล่าวมีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ



รูปที่ 1 กราฟสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีน

เปรียบเทียบปริมาณคอลลาเจนในผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผง จำนวน 22 ชนิด ผลการทดลอง ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนด้วยวิธีไฮดรอกซีโพรลีนในผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผง จำนวน 22 ชนิด (n = 5)

ชนิด	ผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำ ปริมาณคอลลาเจน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ชนิด	ผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบผง ปริมาณคอลลาเจน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
A	120.81	L	77.00
B	394.16	M	103.70
C	375.59	N	89.93
D	178.82	O	117.27
E	126.03	P	89.51
F	165.05	Q	93.06
G	81.79	R	98.28
H	738.45	S	97.03
I	107.88	T	58.63
J	154.41	U	60.72
K	87.01	V	77.62

สรุปและวิจารณ์ผล

การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้นในผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผงพบว่าผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำสามารถละลายสารสำคัญเบื้องต้นในกลุ่มแอลคาลอยด์แทนนิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และสเตียรอยด์ ได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบผง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ตรีผลาแต่ละชนิด แต่ละรูปแบบมีกรรมวิธีการผลิตและส่วนประกอบสารสำคัญในปริมาณที่แตกต่างกัน การตรวจสอบพบสารสำคัญเบื้องต้นดังกล่าวช่วยยืนยันฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ตรีผลาที่สามารถช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเพิ่มคอลลาเจน ปรับสมดุลธาตุ บำรุงผิวพรรณ และฟื้นฟูร่างกายของโดยรวมทุกระบบให้แข็งแรงทำงานประสานกันได้ เนื่องจากแอลคาลอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และสเตียรอยด์ มีฤทธิ์ต้านอักเสบ (Alam & Gomes, 2003) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Bag et al., 2012) ฤทธิ์ขับเสมหะ (Siddique, 1981) ยับยั้งเชื้อราในกลุ่มเดอริมาโทไฟท์ และยีสต์ (Dutta et al., 1998) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Laplae & Siangproar, 1977) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อเกิดโรคที่ผิวหนัง และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Bunyamalee & Tienwan, 2013)

การวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนด้วยวิธีไฮดรอกซีโพรลีน พบว่าผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำชนิด H มีปริมาณคอลลาเจนมากที่สุด และผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบผงชนิด O มีปริมาณคอลลาเจนมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณคอลลาเจนรูปแบบน้ำกับรูปแบบผงพบว่า ผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำมีปริมาณคอลลาเจนมากกว่าผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบผง

เนื่องจากกรรมวิธีการทำผลิตภัณฑ์น้ำตรีผลาเป็นวิธีการสกัดด้วยน้ำ คือ การสกัดโดยการต้ม ใช้ความร้อนช่วยในการสกัด ทำให้ได้ปริมาณสารสำคัญละลายออกมาได้มากขึ้น (Chantaboon et al., 2014) ส่งผลให้รูปแบบน้ำมีสารสำคัญออกมามากกว่ารูปแบบผง ซึ่งรูปแบบผงมีกรรมวิธีการทำผลิตภัณฑ์โดยการนำสมุนไพรแห้งมาบดและบรรจุจำหน่ายไม่ได้ผ่านกระบวนการสกัด เพื่อให้ได้สารสำคัญที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ทำให้พบปริมาณคอลลาเจนน้อยกว่าแบบน้ำที่ผ่านการต้มและใช้ความร้อน

จากผลการทดลองเบื้องต้นทำให้ทราบ สารสำคัญเบื้องต้นและปริมาณคอลลาเจนในผลิตภัณฑ์ตรีผลารูปแบบน้ำและรูปแบบผง ผู้วิจัยเห็นว่าควรจะศึกษาการตรวจเอกลักษณ์สมุนไพรตรีผลา เพื่อให้ได้ข้อมูลที่น่าไปพัฒนาต่อยอดการวิจัยในทางการแพทย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณวิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนภิเษก ที่เอื้อเพื่อเครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

Reference

- Alam, M.I. & Gomes, A. (2003). Snake venom neutralization by Indian medicinal plants (*Vitex negundo* and *Emblica officinalis*) root extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. (86), 75-80.
- Bag, A., Bhattacharyya, S.K., Pal, N.K. & Chattopadhyay, R.R. (2012). In vitro antimicrobial potential of *Terminalia chebula* fruit extracts against multidrug-resistant uropathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S1883-S1887.
- Boonworapat, W. (2011). *thai-chinese herbal encyclopedia frequently used in thailand*. Bangkok: S. Printing. (in Thai)
- Bunyamalee, P. & Tienwan, P. (2013). **Antioxidant activity and tyrosinase activity of cream**. Search from <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/newspdf/specialproject/2556-26.pdf>. [2017, 20 July]. (in Thai)
- Chavalittumrong, P., Auttavich, E., Ruksarmun, P. & Jantapech, P. (1996). Subacute toxicity of traditional medicinal triphala. *Journal of Medical Sciences*. 38(3), 170-171. (in Thai)
- Chantaboon, S., Phuphewkham, T., Phanngam, P., Phimal, W. & Rinthong, P. (2014). The effect of triphala extract to HMG-CoA reductase. *Isan Journal of*

- Pharmaceutical Sciences.** (9) Supplement, 161. (in Thai)
- Dutta, B.K., Rahman, I. & Das, T.K. (1998). Antifungal activity of Indian plant extracts. **Mycoses.** 41, 535-536.
- Homhual, S. (2012). **Beleric Myrobalan.** Search from <http://www.thaicrudedrug.com/main.php?Action=viewpage&pid=133> [2017, 20 July]. (in Thai)
- Laplae, J. & Siangproar, M. (1977). **Antimicrobial activity and antioxidant activity of hair follicles.** Search from <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/en/service-research-special-abstract.php?num=30&year=2557> [2017, 24 October]. (in Thai)
- Matchon Online. (2017). **Tripala three fruit balls coordinated antiretroviral therapy.** Search from https://www.sentangsedtee.com/health-beauty/article_27675 [2017, 24 October]. (in Thai)
- Rattananukul, V. (2012). **Collagen.** Search from <http://biology.ipst.ac.th/index.php/About-the-year-2012/337-2012-07-12-03-58-59html>. [2017, 20 May]. (in Thai)
- Ratanapo, S. (2011). **Introduction to biochemistry.** Bangkok: Department of Biochemistry. Faculty of Science Kasetsart University. (in Thai)
- Reddy, G.K. & Enwemeka, C.S. (1996). A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. **Clinical Biochemistry.** 29(3), 225-9.
- Siddique, H.H. (1981). Pharmacological studies on emblica officinalis. **Bulletin of Islamic Medicine,** (1), 471-478.
- Sriboonlue, P. (2012). **Biochemistry Textbook.** Khon Kaen: Department of Biochemistry Faculty of Medicine Khonkaen University. (in Thai)
- Suksai, W. & Thapphasarapong, S. **Method validation of collagen content by colorimetric analysis.** In Pongsakorn Punrattanasin (Editors), Graduate Research Conference, Khon Kaen University, 2014 (1515-1521). Khon Kaen: Khon Kaen University. (in Thai)
- Sunthorncharoenon, N. & Ruangwiset, N. (2008). **Quality of thai medicine from research to sustainable development.** Bangkok: National Research Council of Thailand. (in Thai)
- Wissakdilok, N. (2012). **The ruler of balance and detoxification.** Search from <http://thearokaya.com/web/?p=5386> [2017, 20 July]. (in Thai)