30.1

มกราคม-เมษายน 2568
ISSN 0858-6454

สารตำรายา

Pharmacopoeial Newsletter

กลุ่มจัดทำตำรายาของประเทศไทย
สำนักยาและวัตถุเสพติด
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สารตำรายา

Pharmacopoeial Newsletter

ที่ปรึกษา ศิริวรรณ ชัยสมบูรณ์พันธ์, นันทนา สิทธิชัย

บรรณาธิการอำนวยการ สิริชัย กระบี่ศรี

บรรณาธิการ ศศิวิมล พัฒเสมา

ผู้ช่วยบรรณาธิการ กรวิกา จารุพันธ์, สันติ นิ่มน้อย, ธนิตา ปัทมจินดา, ษษิพิมล บุญทวี

คณะที่ปรึกษาด้านวิชาการ ปฏิมา มณีสถิตย์
กรวิกา จารุพันธ์
สำนักยาและวัตถุเสพติด
จินตนา กรดเต็ม
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง

เจ้าของ สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สำนักงาน กลุ่มจัดทำตำรายาของประเทศไทย สำนักยาและวัตถุเสพติด
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซอยโรงพยาบาลบำราศนราดูร นนทบุรี 11000
โทร. 0-2951-0000 ต่อ 99120 โทรสาร 0-2580-5733

วัตถุประสงค์

1. เป็นสื่อเผยแพร่ผลงานของกลุ่มจัดทำตำรายาของประเทศไทย คณะกรรมการจัดทำตำรายาของประเทศไทยและอนุกรรมการที่เกี่ยวข้อง
2. เสนอความก้าวหน้าในการปรับปรุงแก้ไขตำรายาของต่างประเทศและตำรายาของประเทศไทย
3. เผยแพร่ความรู้เรื่องยา วิทยาศาสตร์การแพทย์และวิชาการที่เกี่ยวข้อง
4. เป็นสื่อกลางในการแสดงความคิดเห็นของผู้ใช้และผู้จัดทำตำรายาของประเทศไทย

การส่งเรื่องลงพิมพ์ในสารตำรายา

สารตำรายารับจัดพิมพ์บทความประเภทต่างๆ ดังนี้

1. **นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Article)** เป็นรายงานผลการวิจัยด้านเภสัชศาสตร์ แพทยศาสตร์ วิทยาศาสตร์การแพทย์ และวิทยาศาสตร์ทั่วไปที่ยังไม่เคยพิมพ์ที่ใดมาก่อน

2. **บทความปริทัศน์ (Review Article)** เป็นบทความที่เรียบเรียงจากผลงานด้านวิทยาศาสตร์ที่เคยพิมพ์มาแล้ว กล่าวถึงความก้าวหน้าของเรื่องนั้นโดยเฉพาะ

3. **รายงานวิจัยสั้น (Short Communications)** เป็นบทความที่เรียบเรียงจากรายงานผลทางห้องปฏิบัติการด้านเภสัชศาสตร์ แพทยศาสตร์ วิทยาศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ทั่วไปที่ยังไม่เคยพิมพ์ที่ใดมาก่อน

4. **ภาคสาระสังเขป (Abstract)** เป็นการแปลเรื่องย่อของบทความด้านวิทยาศาสตร์ที่พิมพ์แล้วและเป็นเรื่องที่มีสาระสำคัญน่าสนใจ

5. **ข่าววิทยาศาสตร์ (Scientific News)** เป็นบทความสั้นๆ เกี่ยวกับวิทยาศาสตร์ทั่วไปที่กำลังอยู่ในความสนใจ

6. **ปกิณกะ (Miscellaneous)** เป็นความรู้จากประสบการณ์ทางด้านเภสัชศาสตร์ วิทยาศาสตร์การแพทย์ และความรู้ทั่วไป

หลักเกณฑ์การเขียนต้นฉบับ

1. บทความทุกประเภทจะเขียนเป็นภาษาไทย หรือ ภาษาอังกฤษก็ได้ เพื่อความสะดวกอาจจัดส่งต้นฉบับในแผ่นดิสก์คอมพิวเตอร์ โดยบันทึกเป็นแฟ้มของโปรแกรม MS Word

2. บทความที่เป็นรายงานการวิจัย (original article) ต้องมีบทคัดย่อ (abstract) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ท้ายบทคัดย่อให้มีคำสำหรับทำดรรชนี (key word) ไม่เกิน 5 คำ เป็นภาษาอังกฤษและให้จัดโครงสร้างของบทความเรียงตามลำดับดังนี้ บทนำ (Introduction) วัสดุและวิธีการ (Materials and Methods) ผลการวิจัย (Results) วิจารณ์ผล (Discussion) บทสรุป (Conclusion) และเอกสารอ้างอิง (References)

3. การอ้างอิงเอกสารให้ใช้หมายเลขกำกับ และเรียงตามลำดับของการอ้างอิง ชื่อย่อของวารสาร ให้ใช้ตาม U.S. National Library of Medicine in Index Medicus และคู่มือการเตรียมบทความและรายงานทางวิทยาศาสตร์เพื่อตีพิมพ์ในวารสารของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

4. การเขียนเอกสารอ้างอิงให้เรียงลำดับตามตัวอย่าง

(1) Beckett, A.H. and Stenlake, J.B. 1988. Practical Pharmaceutical Chemistry, 4th ed. Part I. The Athlone Press, London. P.26-7.

(2) Carmona, M., Silva, M. and perezbendito, D. 1992. Determination of Nitrazepam in Tablets. Analytical Letters. 25(7): 1261-74.

(3) เต็ม สมิตินันท์. 2533. ชื่อพันธุ์ไม้แห่งประเทศไทย. กรมป่าไม้ บางเขน กรุงเทพฯ. หน้า 67-8.

การส่งบทความ

ผู้เขียนส่งต้นฉบับจริง 1 ชุด กองบรรณาธิการถือสิทธิ์ในการปรับปรุงแก้ไขเพื่อความสมบูรณ์ของบทความ โดยจะแจ้งให้ผู้เขียนทราบอีกครั้ง

บรรณาธิการแถลง

สารตำรายา ปีที่ 30 ฉบับที่ 1 ประจำปี พ.ศ. 2568 จัดทำขึ้นภายหลังจากที่ในปี พ.ศ. 2567 วารสารได้เว้นการจัดพิมพ์ เนื่องจากไม่มีบทความส่งเข้ารับการพิจารณาตีพิมพ์

ในฉบับนี้ ขอนำเสนอบทความนิพนธ์ต้นฉบับ 2 เรื่อง ได้แก่ เรื่อง “การพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมขั้นตอนเดียวแบบกึ่งปริมาณ” โดย ภญ.มิตรารุณ ศรีเมือง ภญ.ณัฐชา ด้วงรัก จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง และ ภก.วีระชัย พิพัฒน์รัตนเสรี จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 สงขลา ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมแบบขั้นตอนเดียว (one-step) ชนิดกึ่งปริมาณ สำหรับตรวจวิเคราะห์สารไมทราไจนีน (mitragynine) ในน้ำต้มกระท่อม ให้สามารถใช้งานได้อย่างสะดวก รวดเร็ว และมีความน่าเชื่อถือ โดยชุดทดสอบดังกล่าวสามารถตรวจและประเมินปริมาณสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ เหมาะสำหรับการใช้งานภาคสนาม และการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์กระท่อมในทางปฏิบัติ เรื่องที่ 2 ได้แก่เรื่อง “การศึกษาคุณภาพของยาแคปซูลขิงที่จำหน่ายในประเทศไทย” โดย ภญ.สาลินี ณ ระนอง ภญ.ประภาพรรณ สุขพรรณ์ นางสาวอนัญญา สุพันธ์วณิช และ ภญ.จิรานุช แจ่มทวีกุล จากสำนักยาและวัตถุเสพติด เป็นการประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์สมุนไพรขิง ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ผ่านการตรวจวิเคราะห์ทั้งด้านเอกลักษณ์ของยา ความสม่ำเสมอของน้ำหนัก ปริมาณน้ำมันหอมระเหย การละลาย ตลอดจนการปนเปื้อนของโลหะหนักและจุลินทรีย์ เพื่อสะท้อนภาพรวมด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้ยาแคปซูลขิงในปัจจุบัน

ท้ายที่สุดนี้ คณะบรรณาธิการวารสารสารตำรายาขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ (Reviewer) ที่ได้กรุณาพิจารณาให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงต้นฉบับก่อนการตีพิมพ์เผยแพร่ รวมทั้งขอขอบคุณผู้เขียนทุกท่านที่ร่วมเผยแพร่ผลงานทางวิชาการเพื่อเป็นวิทยาทาน และผู้อ่านทุกท่านที่ให้การสนับสนุนวารสารมาโดยตลอด

หากมีข้อผิดพลาดประการใด คณะบรรณาธิการขออภัยมา ณ ที่นี้

สารบาญ

นิพนธ์ต้นฉบับ Original Article

<< การพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมขั้นตอนเดียวแบบกึ่งปริมาณ
(Development of semi-quantitative one-step kratom test kit)……..…… 1

<< การศึกษาคุณภาพของยาแคปซูลขิงที่จำหน่ายในประเทศไทย……..…… 18
(Study of the quality of ginger capsules available in Thailand)

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

การพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมขั้นตอนเดียวแบบกึ่งปริมาณ

(Development of semi-quantitative one-step kratom test kit)

*มิตรารุณ ศรีเมือง**

*วีระชัย พิพัฒน์รัตนเสรี***

*ณัฐชา ด้วงรัก**

Abstract Kratom has been removed from Category 5 narcotics, allowing people to possess, consume, and utilize it, as well as to develop it into herbal products, medicines, food, and cosmetics with economic value. However, such products must comply with applicable consumer protection and product quality control laws. Therefore, it is important to determine the amount of active ingredients in kratom. The Regional Medical Sciences Center 12/1 Trang has developed a one-step, semi-quantitative kratom test kit that can conveniently and rapidly determine the amount of mitragynine, the major active ingredient in kratom. The results showed that the test kit is specific to mitragynine, with a limit of detection of 2.90 mg/L in boiled kratom water samples. Evaluation of the test kit demonstrated 100 per cent precision in qualitative analysis and 100 per cent accuracy in semi-quantitative analysis of mitragynine. Regarding stability, the test kit can be stored at room temperature (25±2 degree celsius) for up to 1 month, and for up to 9 months when refrigerated at 4±2 degree celsius. In conclusion, the one-step, semi-quantitative kratom test kit developed in this study is suitable for the identification and determination of mitragynine in boiled kratom water samples, and it also provides a useful tool for quality control of kratom products produced by manufacturers.

Key words: kratom, test kit, mitragynine, semi-quantitative, one-step

บทคัดย่อ พืชกระท่อมได้รับการประกาศยกเลิกจากการเป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 5 ทำให้ประชาชนสามารถครอบครอง บริโภค และใช้ประโยชน์จากกระท่อม รวมทั้งพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร ยา อาหาร และ

*ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

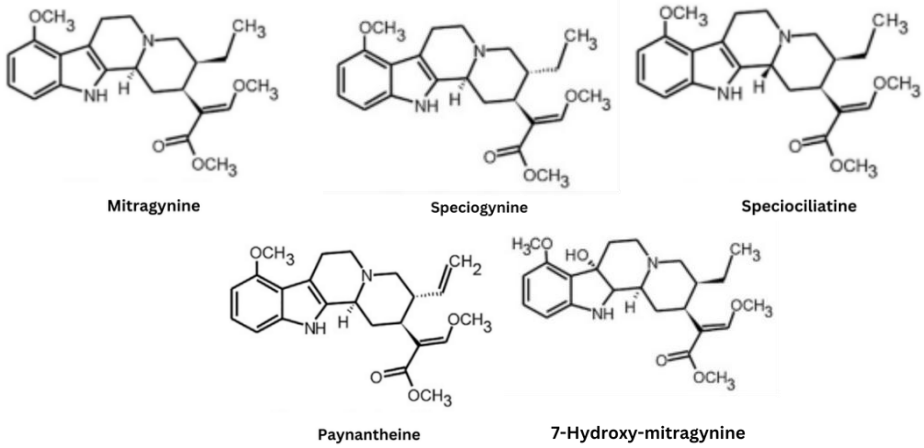
**ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 สงขลา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

เครื่องสำอางที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจได้ อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ต้องเป็นไปตามกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับการคุ้มครองผู้บริโภคและการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ ดังนั้น การตรวจวัดปริมาณสารออกฤทธิ์ในกระท่อมจึงมีความสำคัญ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง ได้พัฒนาชุดทดสอบกระท่อมแบบขั้นตอนเดียว (one-step) ในเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) ที่สามารถตรวจวัดปริมาณไมทราไจนีน ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลักในกระท่อม ได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว ผลการศึกษาพบว่าชุดทดสอบนี้มีความจำเพาะต่อไมทราไจนีน โดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection) เท่ากับ 2.90 มก./ลิตร ในน้ำต้มกระท่อม การประเมินประสิทธิภาพพบว่าชุดทดสอบมีความแม่นยำเชิงคุณภาพ ร้อยละ 100 และมีความถูกต้องเชิงกึ่งปริมาณ ร้อยละ 100 สำหรับการทดสอบความคงตัว พบว่าสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียส ได้นาน 1 เดือน และเก็บรักษาในตู้เย็น 4±2 องศาเซลเซียส ได้นาน 9 เดือน สรุปได้ว่า ชุดทดสอบกระท่อมแบบขั้นตอนเดียวเชิงกึ่งปริมาณที่พัฒนาขึ้นนี้ เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบและการวัดปริมาณไมทราไจนีนในน้ำต้มกระท่อม อีกทั้งยังเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์ต่อการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์กระท่อมในแต่ละรุ่นการผลิตของผู้ประกอบการ

กุญแจคำ : กระท่อม, ชุดทดสอบ, ไมทราไจนีน, กึ่งปริมาณ, ขั้นตอนเดียว

บทนำ

พืชกระท่อม (Kratom) หรือ *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil. เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae สารกลุ่มใหญ่ที่พบในพืชกระท่อม คือ สารกลุ่มอินโดลแอลคาลอยด์ (Indole alkaloid) มีสารสำคัญหลักคือ ไมทราไจนีน (Mitragynine) ปริมาณที่พบในใบพืชกระท่อมของไทยมีสูงถึงร้อยละ 66 โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับปริมาณสารสกัดแอลคาลอยด์ทั้งหมด [1, 2] และยังพบแอลคาลอยด์ชนิดอื่นๆ ด้วย ได้แก่ สเปซิโอไจนีน (Speciogynine) สเปซิโอซีเลียทีน (Speciociliatine) เพแนนเทอีน(Paynantheine) และเซเว่นไฮดรอกซีไมทราไจนีน (7-Hydroxy-mitragynine)



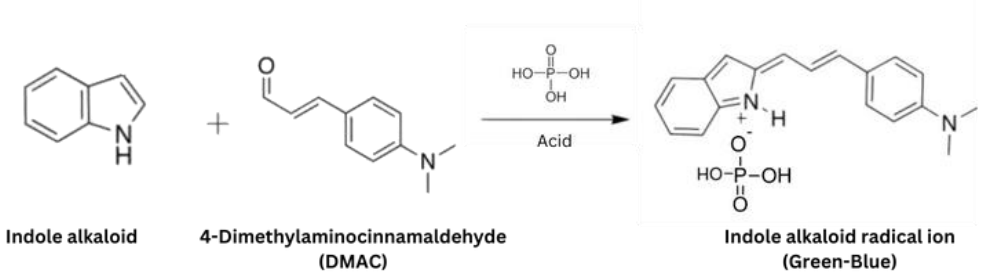
ภาพที่ 1 ตัวอย่างโครงสร้างสารแอลคาลอยด์ที่พบในพืชกระท่อม [1, 3]

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชกระท่อมพบว่ามีผลลดการปวด ลดไข้ แก้ไอ ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ [1] และต้านการซึมเศร้า [1, 3] แต่พิษวิทยาของพืชกระท่อมก็ควรมีการตระหนัก ได้แก่ อาการ

กระสับกระส่าย ใจสั่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง เมื่อใช้ร่วมกับยาอื่นที่เกิดปฏิกิริยาระหว่างกัน [4] จากผลการศึกษาในสัตว์ทดลอง ที่ขนาดน้ำต้มกระท่อม 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบการเปลี่ยนแปลงพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อไต ตับ เช่น การหดตัวของไตและการเสื่อมของท่อไตได้เป็นครั้งคราว การสูงขึ้นของเอนไซม์ตับ [5] แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพยาธิวิทยาของหัวใจและคลื่นไฟฟ้าหัวใจ [5-7] และไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลันและการตายในสัตว์ทดลอง [5,6]

พืชกระท่อมได้รับการประกาศยกเลิกจากรายการยาเสพติดให้โทษประเภท 5 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 8) พ.ศ. 2564 [8] ประชาชนสามารถครอบครอง บริโภค ใช้ประโยชน์จากพืชกระท่อมได้ จึงมีการส่งเสริมพัฒนาพืชกระท่อมเป็นพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจ โดยนำพืชกระท่อมมาเป็นวัตถุดิบหรือส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์สมุนไพร ยา อาหาร เครื่องสำอาง [9] ซึ่งผลิตภัณฑ์ของพืชกระท่อมดังกล่าวยังคงถูกควบคุมภายใต้พระราชบัญญัติพืชกระท่อม พ.ศ. 2565 และกฎหมาย อื่นๆที่เกี่ยวข้อง [9,10] เนื่องจากสารสำคัญในพืชกระท่อมมีทั้งสรรพคุณและผลข้างเคียง คณะกรรมการอาหารและยาจึงต้องกำหนดปริมาณสารสำคัญของพืชกระท่อมในผลิตภัณฑ์สำหรับบริโภคขึ้น โดยกำหนดเป็นขนาดรับประทานของไมทราไจนีนซึ่งไม่เกิน 3 มิลลิกรัมต่อวัน [10-12]

การทราบปริมาณสารสำคัญทำให้เกิดความปลอดภัยกับผู้บริโภค รวมถึงช่วยให้ผู้ผลิตสามารถควบคุมปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ให้มีความสม่ำเสมอ ตามที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12 สงขลา [13] ได้ผลิตชุดทดสอบเชิงคุณภาพสำหรับพืชกระท่อมในของกลางสี่คูณร้อย (4x100) ชนิดแผ่นจุ่ม (Dipstick) แบบ 2 ขั้นตอน ซึ่งเป็นชุดทดสอบเบื้องต้นสำหรับการตรวจเอกลักษณ์ทางอรรถคดีตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 นั้น ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง จึงพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมชนิดกึ่งปริมาณแบบขั้นตอนเดียวขึ้น โดยอาศัยวิธีการทางเคมีของสารเคมีสองชนิดที่เกิดปฏิกิริยาในสภาวะกรดเพื่อเปลี่ยน Indole alkaloid ให้อยู่ในรูป Reduced form หรือ Free radical เกิดสารละลายสีเขียวตองถึงสีน้ำเงินของ Indole alkaloid radical ion โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในภาพที่ 2 [14, 15] ซึ่งเฉดสีที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณไมทราไจนีนสามารถนำเฉดสีมาเทียบหาปริมาณไมทราไจนีนที่เป็นสารสำคัญหลักในน้ำต้มพืชกระท่อมได้



ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาทางเคมีที่ใช้ในการทดสอบสารอินโดลแอลคาลอยด์ในพืชกระท่อม

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องโครมาโทกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง Dionex model ultimate 3000 series, Germany
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า ชนิด 2 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น LC 4201S, Germany
3. เครื่องชั่งไฟฟ้า ชนิด 6 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น MCA6.6S-2S00-M, Germany
4. ขวดวัดปริมาตร ยี่ห้อ Pyrex ขนาด 10, 20, 50, 100 และ 500 มิลลิลิตร
5. ปิเปตอัตโนมัติ ขนาด 10-100 ไมโครลิตร, ขนาด 20-200 ไมโครลิตร, ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร
6. กระดาษกรองชนิดแผ่น Whatman สำหรับกรองตัวอย่าง
7. คอลัมน์ C18 Hypersil BDS 250mm x 4.6 mm, Thermo fisher scientific, United States
8. เครื่องเขย่าสาร รุ่น VXMNAL, Ohaus, United States
9. Nylon syringe filter 13 mm 0.45 um, Agilent
10. หลอดทดสอบขนาด 1.5 มิลลิลิตร
11. Screw cap centrifuge tube

สารมาตรฐานและสารเคมี

1. Mitragynine Source: Chromadex Lot: 00013890-00223 expiry: 4/2025 purity 95.4 %
2. สาร 4-(Dimethylamino)cinnamaldehyde (DMAC) Source: Sigma-Aldrich CAS Number: 6203-18-5
3. Phosphoric acid Source: Merck CAS Number: 7664-38-2
4. Ammonium bicarbonate Source: Sigma-Aldrich CAS Number: 1066-33-7
5. Acetonitrile HPLC grade Source: Merck CAS Number: 75-05-8
6. Methanol HPLC grade Source: Merck CAS Number: 67-56-1
7. Water Type I

วิธีวิเคราะห์

1. การพัฒนาชุดทดสอบ

1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมของชุดทดสอบ

1) ความเข้มข้นของสารละลาย DMAC และ Phosphoric acid: น้ำ (70:30) เปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 25 mg/mL, 50 mg/mL และอ่านผลการทดสอบ

2) ปริมาณที่ใช้ของสารละลาย DMAC และ Phosphoric acid : น้ำ ในหลอด Microcentrifuge เปรียบเทียบที่ปริมาตร 50, 75 และ 100 ไมโครลิตร และอ่านผลการทดสอบ

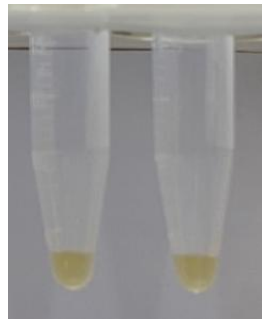
3) ปริมาณที่ใช้ของตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อม เปรียบเทียบที่ปริมาตร 450 และ 950 ไมโครลิตร ในหลอดทดสอบ และอ่านผลการทดสอบ

4) วัดระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยา และวัดช่วงเวลาการอ่านผล

5) เลือกความเข้มข้นของสารละลาย DMAC เท่ากับ 50 mg/mL โดยปริมาณที่ใช้เท่ากับ 50 ไมโครลิตร และปริมาณที่ใช้ของตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อมเท่ากับ 450 ไมโครลิตร ซึ่งทำให้ผลการทดสอบสามารถสังเกตสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาได้ชัดเจนที่สุด สำหรับเตรียมเป็นชุดทดสอบน้ำต้มพืชกระท่อม โดยให้อ่านผลการทดสอบที่เวลา 5 นาที

1.2 การเตรียมชุดทดสอบ

ปิเปตสารละลาย DMAC ความเข้มข้น 50 mg/mL ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดสอบ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด สำหรับเติมตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อมและตัวอย่างน้ำดื่มเทียบผลลบ ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ชุดทดสอบพืชกระท่อม สำหรับทดสอบ 1 ตัวอย่าง

1.3 การใช้งานชุดทดสอบ

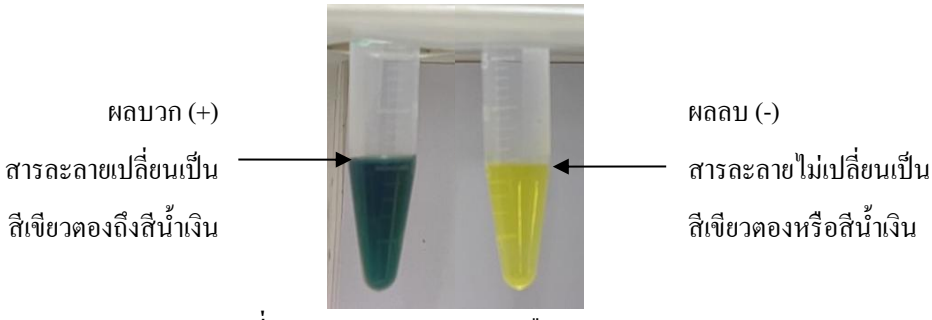
แยกเติมตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อม และน้ำดื่ม อย่างละ 450 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบ ปิดฝาให้แน่น คว่ำหงายหลอดทดสอบ 2 ครั้ง จับเวลา 5 นาที แล้วอ่านผล

การอ่านผล

การอ่านผล สังเกตและบันทึกสีที่เห็น เมื่อครบเวลา 5 นาที

การแปลผล

ผลลบ (-) คือ สารละลายไม่เปลี่ยนเป็นสีเขียวตองหรือสีน้ำเงิน ผลบวก (+) คือ สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวตองถึงสีน้ำเงิน ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การแปลผลการทดสอบพืชกระท่อม

1.4 การศึกษาความสัมพันธ์ของแถบสีมาตรฐานกับปริมาณไมทราไจนีนที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งได้ทวนสอบวิธีแล้ว

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1) เตรียม Stock standard solution ชั่งสารมาตรฐานไมทราไจนีน 10 มิลลิกรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย Methanol (สารละลายไมทราไจนีนความเข้มข้น 1,000 mg/L)

2) เตรียม Working standard solution สำหรับการสร้างเส้นกราฟมาตรฐาน โดยปิเปต Stock standard solution 3, 5, 10, 30, 50, 100, 200, 400, 600, 1000, 1500, 2000 ไมโครลิตร แยกใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย Methanol จะได้สารละลายไมทราไจนีนความเข้มข้น 0.3, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 10, 20, 40, 60, 100, 150, 200 mg/L ตามลำดับ

การเตรียมตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อม

1) เตรียม Stock kratom solution นำพืชกระท่อมทำความสะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งใบกระท่อมสดน้ำหนัก 50 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ต้มบน Hot plate เป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง

2) เตรียม Working kratom solution โดยปิเปต Stock kratom solution ลงในขวดวัดปริมาตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3) เตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไมทราไจนีนโดยปิเปต Working kratom solution กับ Methanol อัตราส่วน 1:1 ใน Screw cap centrifuge tube และผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer จากนั้นกรองผ่านแผ่นกรอง (Nylon syringe filter) 0.45 ไมโครเมตร ฉีด HPLC วัดสัญญาณด้วย Diode array detector

วิเคราะห์หาปริมาณไมทราไจนีนโดยเครื่อง HPLC ตามวิธีของห้องปฏิบัติการ ที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีเรียบร้อยแล้ว[16, 17] มีสภาวะการทดสอบดังนี้

สารละลายตัวพา A : 5.0 mM Ammonium bicarbonate B : Acetonitrile

คอลัมน์ : Hypersil BDS C18 ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร ขนาด 4.6 × 250 มิลลิเมตร

อุณหภูมิคอลัมน์ : 25 องศาเซลเซียส ปริมาตรการฉีด : 5 ไมโครลิตร

UV wavelength : 226 นาโนเมตร

Gradient conditions:

Time (min)	%Mobile phase A	%Mobile phase B	Flow rate (mL/min)
0	50	50	1.5
12	30	70	1.5
12.5	30	70	1.0
14.5	30	70	1.0
18	50	50	1.5

การทดสอบระบบก่อนการวิเคราะห์ (System suitability) ดังนี้

1. ฉีด Diluent จำนวน 1 ซ้ำ เพื่อตรวจสอบ base line และ noise

2. ฉีด Working standard solution ที่ความเข้มข้น 10 mg/L จำนวน 5 ซ้ำ นำพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative standard deviation ; %RSD) เกณฑ์การยอมรับไม่เกิน 2.0

3. สร้างกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้น ของ Working standard solution 0.3, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 10, 20, 40, 60, 100, 150, 200 mg/L คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) เกณฑ์การยอมรับไม่น้อยกว่า 0.990

การสร้างแถบสีมาตรฐาน (Standard color scale)

เตรียม Working kratom solution ที่ความเข้มข้นไมทราไจนีน 2.90, 5.80, 11.60, 17.40, 29.00, 34.80, 43.50, 72.49, 144.98 mg/L โดยปิเปต Stock kratom solution 1, 1, 2, 3, 5, 6, 3, 5 และ 10 มิลลิลิตร แยกใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100, 50 , 50 , 50 , 50 , 50 , 20, 20 และ 20 มิลลิลิตรตามลำดับ ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เตรียมความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ รวมตัวอย่างน้ำดื่ม 10 ขวด แล้วทดสอบด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม อ่านผลจากชุดทดสอบแล้วสร้างแถบสีมาตรฐาน โดยแบ่งโซนการอ่านแถบสีเป็น 3 โซน ดังนี้

Zone 1 คือ ตรวจไม่พบ หรือมีสารไมทราไจนีนน้อยกว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD)

Zone 2 คือ ตรวจพบสารไมทราไจนีนตั้งแต่ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) ถึงสามเท่าของค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ

Zone 3 คือ ตรวจพบสารไมทราไจนีนมากกว่าสามเท่าของค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ

2. การทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ [18, 19]

การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อม

1) เตรียม Stock kratom solution นำพืชกระท่อมทำความสะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งใบกระท่อมสดน้ำหนัก 50 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้มบน Hot plate เป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง

2) เตรียม Working kratom solution โดยปิเปต Stock kratom solution ลงในขวดวัดปริมาตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ตัวอย่างน้ำดื่ม (Sample blank) ได้แก่ น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท

การทดสอบความจำเพาะ (Specificity)

เตรียมตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อม พืชกัญชา และพืชกัญชง (กัญชา กัญชง แหล่งที่มาจากตัวอย่างทดสอบความชำนาญ) ดำเนินการโดยชั่งตัวอย่างพืชแต่ละชนิดน้ำหนัก 5 กรัม แยกใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำปริมาตร

100 มิลลิลิตร ต้มบน Hotplate เป็นเวลา 30 นาที เตรียมชนิดละ 3 ซ้ำ และตัวอย่างน้ำดื่ม รวม 10 ขวด แล้วทดสอบด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม

การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection: LOD)

เตรียมตัวอย่าง Working kratom solution โดยค่อยๆ ลดความเข้มข้นลงจาก Stock kratom solution (ความเข้มข้นไมทราไจนีน 289.97 mg/L) ปิเปต Stock kratom solution 3, 2, 1, 1 และ 1 มิลลิลิตร แยกใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50, 50, 50, 100 และ 500 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้ Working kratom solution ที่ความเข้มข้นไมทราไจนีน 17.40, 11.60, 5.80, 2.90 และ 0.58 mg/L ตามลำดับ เตรียมแต่ละความเข้มข้นจำนวน 10 ซ้ำ รวมตัวอย่างน้ำดื่ม 10 ขวด แล้วทดสอบด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม

การทดสอบหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ ทดสอบด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ นำผลที่ได้จากการทดสอบที่ให้ผลบวกทุกหลอดทั้ง 10 ซ้ำ ของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจพบมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) ในตัวอย่างดังนี้

- ค่าความถูกต้องหรือจำนวนซ้ำของตัวอย่างทดสอบที่ให้ผลบวก/ผลลบ (No. of positive/negative) ต้องได้ผลบวกทั้ง 10 ซ้ำ

- คำนวณหาค่าอัตราการตอบสนองเชิงบวกหรือ Positive response rate (%) โดยการนำจำนวนซ้ำของตัวอย่างที่ทดสอบให้ผลบวก เท่ากับ 100% จากนั้นนำค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ ทำการทดสอบ 10 ซ้ำเพื่อดูความเที่ยง

การทดสอบความเที่ยงเชิงคุณภาพ (Precision)

เตรียมตัวอย่างน้ำ และ Working kratom solution ที่ความเข้มข้นเท่ากับค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ(LOD) ของตัวอย่าง จำนวนตัวอย่างละ 10 ขวด เตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า LOD จำนวนตัวอย่างละ 10 ขวด และความเข้มข้นต่ำกว่าค่า LOD จำนวนตัวอย่างละ 10 ขวด ดังนี้

เตรียมตัวอย่าง Working kratom solution ที่ความเข้มข้น 0.58, 2.90 และ 5.80 mg/L โดยปิเปต Stock kratom solution 1 มิลลิลิตร แยกใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500, 100 และ 50 มิลลิลิตรตามลำดับ และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น รวมตัวอย่างน้ำ 10 ขวด เตรียมความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ รวม 40 ขวด ทดสอบด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม อ่านผลและแปลผลด้วยแถบสีมาตรฐาน นำผลการศึกษามาคำนวณหาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องเชิงคุณภาพจากสูตรดังนี้

ความไว (Sensitivity, %) = (True positive samples/all positive samples) × 100

ความจำเพาะ (Specificity, %) = (True negative samples/all negative samples) × 100

ความถูกต้อง (Accuracy, %) = [(True positive samples + True negative samples)/Total samples] × 100

การทดสอบความถูกต้องเชิงปริมาณของชุดทดสอบ (Accuracy)

เป็นการศึกษาเปรียบเทียบการอ่านค่าเชิงปริมาณจากชุดทดสอบกับวิธีมาตรฐานด้วยเทคนิค HPLC ดำเนินการโดยเตรียมตัวอย่าง Working kratom solution ที่ความเข้มข้น 0.46, 0.51, 0.58, 5.18, 5.80, 6.18, 29.00,

32.80, 64.49, 72.49 mg/L เตรียมความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ หาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารไมทราไจนีนด้วยเทคนิค HPLC แล้วเปรียบเทียบกับการแปลผลด้วยแถบสีมาตรฐานจากชุดทดสอบพืชกระท่อม

การทดสอบความคงตัวของชุดทดสอบ (Stability)

เตรียมชุดทดสอบจำนวน 15 Lot ได้แก่ Lot ที่ 1-15 จากนั้นแบ่งชุดทดสอบแต่ละ Lot เก็บที่ 4 สภาวะ คือ อุณหภูมิห้อง 30±2 องศาเซลเซียสไม่ป้องกันแสง อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียสป้องกันแสง อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียสไม่ป้องกันแสง และเก็บในตู้เย็น(อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส) เปรียบเทียบแยกเป็นรายสัปดาห์ รวม 8 สัปดาห์ จากนั้นเปรียบเทียบแยกเป็นรายเดือน (เดือนที่ 3-9) รวม 9 เดือน

ผล

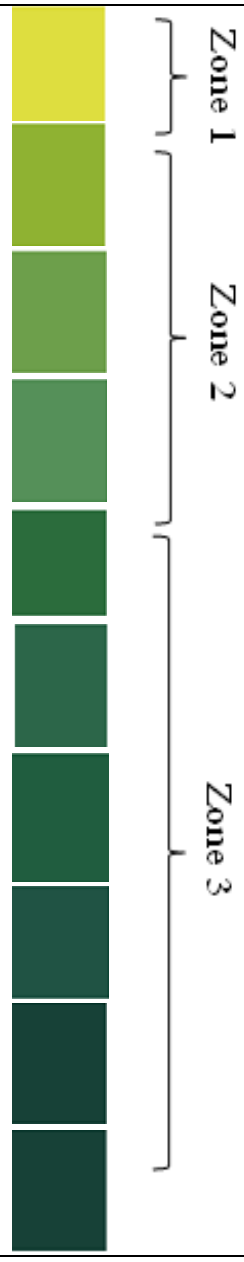
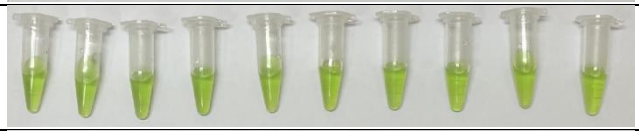
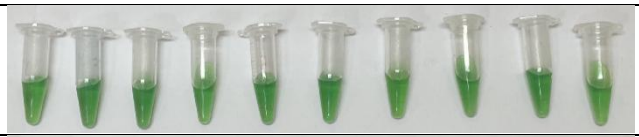
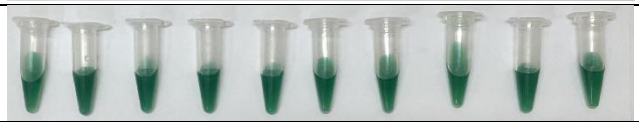
ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของแถบสีมาตรฐานกับปริมาณไมทราไจนีนที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC พบเฉดสีจากการทดสอบด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อมสัมพันธ์กับปริมาณไมทราไจนีน ดังตารางที่ 1 โดยสามารถสร้างแถบสีมาตรฐาน (Standard color scale) ได้ 3 โซน คือ โซน 1 ตรวจไม่พบหรือ มีสารไมทราไจนีนน้อยกว่า 2.90 mg/L โซน 2 มีสารไมทราไจนีนตั้งแต่ 2.90-11.60 mg/L โซน 3 มีสารไมทราไจนีนตั้งแต่ 11.60-100.00 mg/L สำหรับการศึกษานี้วิธีวิเคราะห์ปริมาณไมทราไจนีนด้วยเทคนิค HPLC พบพีคของไมทราไจนีนที่เวลา 11.6 นาที เมื่อตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 226 นาโนเมตร การทดสอบระบบของ HPLC ก่อนการวิเคราะห์ (System suitability) ด้วยสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10 mg/L เป็นตามเกณฑ์กำหนดคือ %RSD Peak area ไม่เกิน 2.0 พีคไมทราไจนีนของสารมาตรฐานและน้ำต้มพืชกระท่อมมี Spectrum, Retention time ตรงกัน และไม่ถูกรบกวนด้วยพีคอื่น (ภาพที่ 5) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ของเส้นกราฟมาตรฐานเท่ากับ 0.999 อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ %RSD ความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 0.28 mg/L ขีดจำกัดของการวิเคราะห์หาปริมาณเท่ากับ 0.84 mg/L

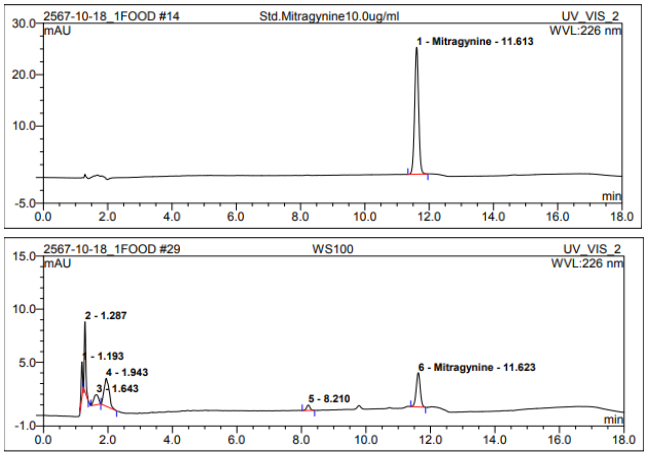
ผลการศึกษาความจำเพาะ (Specificity) ของชุดทดสอบพืชกระท่อม ในตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อม พบว่าชุดทดสอบมีความจำเพาะโดยให้ผลบวกกับน้ำต้มพืชกระท่อม ในขณะที่ไม่พบปฏิกิริยาที่เกิดผลบวกกับตัวอย่างกัญชา กัญชง (ตารางที่ 2)

ผลการศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบไมทราไจนีน (LOD) ด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม โดยทดสอบ Working kratom solution ที่ความเข้มข้นไมทราไจนีน 0.00, 0.58, 2.90, 5.80, 11.60 และ 17.40 mg/L ตามลำดับ จำนวน 10 ซ้ำ พบว่า ค่า LOD ในตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อม เท่ากับ 2.90 mg/L (ตารางที่ 3)

ผลการศึกษาความเที่ยงเชิงคุณภาพของชุดทดสอบ (Precision) จากการทดสอบตัวอย่าง 2 ชนิด คือ ผลบวกจริง 20 ตัวอย่าง และผลลบจริง 20 ตัวอย่าง ไม่พบผลบวกลวง (False positive; FP) และผลลบลวง (False negative; FN) จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด คำนวณค่าความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง เท่ากับร้อยละ 100 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 แถบสีมาตรฐานจากการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อมกับปริมาณไมทราไจนีนที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

ความเข้มข้น (mg/L)	การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี	แถบสีมาตรฐาน
0.0		
2.90		
5.80		
11.60		
17.40		
29.00		
34.80		
43.50		
72.49		
144.98		



ภาพที่ 5 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานและน้ำต้มพืชกระท่อมที่ความยาวคลื่น 226 นาโนเมตร

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาความจำเพาะ (Specificity) ของชุดทดสอบพืชกระท่อม

รายการ	ชนิดตัวอย่าง		
	พืชกระท่อม (positive/negative)	พืชกัญชา (positive/negative)	พืชกัญชง (positive/negative)
ตัวอย่างน้ำต้มพืช	3/0	0/3	0/3
หลอดเทียบผลลบ	0/1	-	-

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบไมทราไจนีน (LOD) ของชุดทดสอบพืชกระท่อม

ความเข้มข้น ไมทราไจนีน (mg/L)	No. of positive/negative
0.00	0/10
0.58	0/10
2.90	10/0
5.80	10/0
11.60	10/0
17.40	10/0
LOD (mg/L)	2.90

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาความเที่ยง (Precision) เชิงคุณภาพของชุดทดสอบพืชกระท่อม

จำนวนตัวอย่าง		ทดสอบด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม		
		ตรวจพบ	ตรวจไม่พบ	รวม
ผลบวก 20 ตัวอย่าง		20 (TP)*	0 (FP)	20
ผลลบ 20 ตัวอย่าง		0 (FN)	20 (TN)*	20
	รวม	20	20	40
ความไว (Sensitivity)	= TP×100/(TP+FN)		= 100%	
ความจำเพาะ (Specificity)	= TN×100/(FP+TN)		= 100%	
ความถูกต้อง (Accuracy)	= (TP+TN)×100/Total sample		= 100%	

* TP: True positive, TN: True negative

ผลการศึกษาความถูกต้องเชิงปริมาณของชุดทดสอบ (Accuracy) จากตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นไมทราไจนีนด้วยเทคนิค HPLC เปรียบเทียบกับการอ่านและแปลผลจากแถบสีมาตรฐานด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อมด้วยเทคนิค HPLC และชุดทดสอบพืชกระท่อม

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นสารไมทราไจนีนด้วยเทคนิค HPLC (mg/L)	แปลผลด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม	
		พบ/ไม่พบสารสำคัญ	การอ่านค่าเชิงปริมาณ
1	0.58	ไม่พบ	Zone 1 มีสารไมทราไจนีนน้อยกว่า 2.90 mg/L หรือตรวจไม่พบ
	5.80	พบ	Zone 2 มีสารไมทราไจนีน ตั้งแต่ 2.90 -11.60 mg/L
	29.00	พบ	Zone 3 มีสารไมทราไจนีน ตั้งแต่ 11.60 - 100.00 mg/L
2	0.46	ไม่พบ	Zone 1 มีสารไมทราไจนีนน้อยกว่า 2.90 mg/L หรือตรวจไม่พบ
	6.18	พบ	Zone 2 มีสารไมทราไจนีน ตั้งแต่ 2.90 -11.60 mg/L
	72.49	พบ	Zone 3 มีสารไมทราไจนีน ตั้งแต่ 11.60 -100.00 mg/L

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นสารไมทราไจนีน ด้วยเทคนิค HPLC (mg/L)	แปลผลด้วยชุดทดสอบพืชกระท่อม	
		พบ/ไม่พบสารสำคัญ	การอ่านค่าเชิงปริมาณ
3	0.51	ไม่พบ	Zone 1 มีสารไมทราไจนีนน้อยกว่า 2.90 mg/L หรือตรวจไม่พบ
	5.18	พบ	Zone 2 มีสารไมทราไจนีน ตั้งแต่ 2.90 -11.60 mg/L
	32.80	พบ	Zone 3 มีสารไมทราไจนีน ตั้งแต่ 11.60 -100.00 mg/L
	64.49	พบ	Zone 3 มีสารไมทราไจนีน ตั้งแต่ 11.60 -100.00 mg/L

ผลการศึกษาความคงตัวของชุดทดสอบ โดยเตรียมและเก็บชุดทดสอบพืชกระท่อม Lot 1 ถึง Lot 15 แบ่งเก็บที่ 4 สภาวะ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 30±2 องศาเซลเซียสไม่ป้องกันแสง อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียสป้องกันแสง อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียสไม่ป้องกันแสง และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าชุดทดสอบสามารถเก็บที่อุณหภูมิห้อง 30±2 องศาเซลเซียสไม่ป้องกันแสงได้นาน 2 สัปดาห์ อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียส ทั้งป้องกันแสงและไม่ป้องกันแสงได้นาน 1 เดือน ส่วนชุดทดสอบที่เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสได้นาน 9 เดือน โดยที่ยังให้ผลการทดสอบถูกต้อง (ตารางที่ 6) และผู้วิจัยยังคงศึกษาความคงตัวของชุดทดสอบที่เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียสต่อไป

ตารางที่ 6 ผลการศึกษาความคงตัวของชุดทดสอบพืชกระท่อม ในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็น

Lot	อุณหภูมิห้อง (30±2°C)		อุณหภูมิห้อง (25±2°C)		ตู้เย็น (4±2°C)		
	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-2)	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 3)	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 2	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 2 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 3-9
1	+	N/A	+	N/A	+	+	+
2	+	N/A	+	N/A	+	+	+
3	+	N/A	+	N/A	+	+	+
4	+	N/A	+	N/A	+	+	+
5	+	N/A	+	N/A	+	+	+
6	+	N/A	+	N/A	+	+	+
7	+	N/A	+	N/A	+	+	+
8	+	N/A	+	N/A	+	+	+
9	+	N/A	+	N/A	+	+	+

Lot	อุณหภูมิห้อง (30±2°C)		อุณหภูมิห้อง (25±2°C)		ตู้เย็น (4±2°C)		
	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-2)	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 3)	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 2	เดือนที่ 1 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 2 (สัปดาห์ 1-4)	เดือนที่ 3-9
10	+	N/A	+	N/A	+	+	+
11	+	N/A	+	N/A	+	+	+
12	+	N/A	+	N/A	+	+	+
13	+	N/A	+	N/A	+	+	+
14	+	N/A	+	N/A	+	+	+
15	+	N/A	+	N/A	+	+	+

หมายเหตุ: N/A ; Not available

วิจารณ์

การพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมขั้นตอนเดียวแบบกึ่งปริมาณโดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง พัฒนามาจากชุดทดสอบพืชกระท่อมชนิดแผ่นจุ่ม (Dipstick) 2 ขั้นตอน ที่ใช้สำหรับการตรวจเอกลักษณ์ทางอรรถคดีนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อลดขั้นตอนการทดสอบให้สะดวก รวดเร็วและใช้ตรวจหาปริมาณสารสำคัญเบื้องต้นในตัวอย่างน้ำต้มพืชกระท่อมสำหรับการบริโภคในครัวเรือนและวัตถุดิบตั้งต้นในสารสกัดชั้นน้ำสำหรับผู้ประกอบการผลิตภัณฑ์พืชกระท่อม ชุดทดสอบอาศัยหลักการของการเกิดสีจากปฏิกิริยาเคมีของสารเคมีกับสารกลุ่มอินโดลแอลคาลอยด์ในพืชกระท่อม เฉดสีที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณไมทราไจนีนซึ่งเป็นแอลคาลอยด์หลักในพืชกระท่อม ด้วยพืชกระท่อมในประเทศไทยมีลักษณะเฉพาะที่มีปริมาณไมทราไจนีนสูงถึงร้อยละ 66 ของแอลคาลอยด์ทั้งหมด [1, 2] จึงสามารถนำมาสร้างเป็นชุดทดสอบได้ทั้งแบบคุณภาพและแบบกึ่งปริมาณ ผลการทดสอบความจำเพาะของชุดทดสอบกับพืชกระท่อมพบว่าให้ผลบวกกับพืชกระท่อม แต่ให้ผลลบกับพืชกัญชา กัญชงที่มีโครงสร้างและการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาคล้ายคลึงกัน [20, 21] แสดงถึงค่าการทดสอบที่ได้มีความจำเพาะเจาะจงกับสารสำคัญในพืชกระท่อม จากการศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบไมทราไจนีนในน้ำต้มพืชกระท่อม พบว่ามีขีดจำกัดการตรวจพบอยู่ที่ 2.90 mg/L และเมื่อเตรียมน้ำต้มพืชกระท่อมที่ความเข้มข้นนี้จำนวน 10 ซ้ำ ผลตรวจพบร้อยละ 100 และแปลผลด้วยแถบสีมาตรฐานอยู่ในแถบสี Zone 2 ทุกหลอด แสดงถึงความสามารถของชุดทดสอบที่สามารถตรวจพบสารไมทราไจนีนที่ระดับ LOD ได้ จากนั้นผู้วิจัยได้ประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบโดยการศึกษาความเที่ยงเชิงคุณภาพในน้ำต้มพืชกระท่อมที่ให้ผลบวกจริงตัวอย่างละ 20 ตัวอย่าง และผลลบจริงตัวอย่างละ 20 ตัวอย่าง ได้ค่าความไว ความจำเพาะ ความถูกต้องเชิงคุณภาพ ร้อยละ 100 แสดงให้เห็นว่า การอ่านผลบวก การอ่านผลลบ ซึ่งการอ่านผลได้ถูกต้องเชิงคุณภาพของชุดทดสอบมีความเที่ยงสูงไม่มีความแปรปรวน เชื่อถือได้ จากผลการศึกษาความถูกต้องของการเทียบค่าไมทราไจนีนเชิงปริมาณแสดงให้เห็นว่าชุดทดสอบมีความสามารถในการทดสอบค่าไมทราไจนีนเบื้องต้นได้ และมีความถูกต้องเพียงพอที่จะยกระดับความสามารถของชุดทดสอบในการตรวจเชิงคุณภาพไปเป็นเชิงกึ่งปริมาณได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์มากขึ้นในการ

เทียบหาปริมาณไมทราไจนีนที่เป็นสารสำคัญหลักในน้ำต้มพืชกระท่อม ทำให้สามารถนำมาใช้ทดสอบหาปริมาณเบื้องต้นสำหรับน้ำต้มพืชกระท่อมที่บริโภคในครัวเรือนและผู้ประกอบการพืชกระท่อมได้ สำหรับผลการศึกษาความคงตัวของชุดทดสอบ (Stability) เปรียบเทียบที่ 4 สภาวะ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 30±2 องศาเซลเซียสไม่ป้องกันแสง อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียสป้องกันแสง อุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียสไม่ป้องกันแสง และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าชุดทดสอบสามารถเก็บที่สภาวะแรกนาน 2 สัปดาห์ และอุณหภูมิห้อง 25±2 องศาเซลเซียส ทั้งป้องกันแสงและไม่ป้องกันแสงได้นาน 1 เดือน ส่วนชุดทดสอบเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส ได้นาน 9 เดือน โดยที่ยังให้ผลการทดสอบถูกต้อง แต่ชุดทดสอบที่เก็บอุณหภูมิห้องเก็บได้ไม่นานเนื่องจากสารเคมีที่ใช้เตรียมชุดทดสอบ DMAC มีความเสถียรในสภาวะอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสมากกว่าสภาวะอื่น [15, 22] การพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมขั้นตอนเดียวแบบกึ่งปริมาณในการศึกษานี้ ผู้วิจัยได้สร้างแถบสีมาตรฐานจากการทดสอบที่เวลา 5 นาที ดังนั้นการอ่านผลเทียบหาปริมาณจึงต้องสังเกตปฏิกิริยาการเกิดสีที่ 5 นาทีหลังจากทดสอบ แต่ปฏิกิริยาการเกิดสีจะเริ่มสังเกตเห็นได้ตั้งแต่เวลา 2 นาที และปรากฏอยู่จนถึง 10 นาที ข้อจำกัดของชุดทดสอบนี้คือ เป็นการตรวจหาปริมาณกลุ่มสารอินโดลแอลคาลอยด์ หากต้องการระบุชนิดของแอลคาลอยด์ เช่น สเปซิโอไจนีน (Speciogynine) สเปซิโอซีเลียทีน (Speciociliatine) เพแนนเทอีน (Paynantheine) และเซเว่นไฮดรอกซีไมทราไจนีน (7-Hydroxy-mitragynine) จะต้องดำเนินการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

บทสรุป

ชุดทดสอบพืชกระท่อมขั้นตอนเดียวแบบกึ่งปริมาณที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาใช้ตรวจหาไมทราไจนีนและเทียบหาปริมาณเบื้องต้นของไมทราไจนีนในน้ำต้มพืชกระท่อมได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.คทายุทธ นิกาพฤกษ์ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี ที่ให้ข้อเสนอแนะ คำปรึกษา ข้อคิดเห็นต่างๆ ขอขอบคุณนางสาวนิตยา เพียรทรัพย์ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง ที่สนับสนุนการจัดทำชุดทดสอบต้นแบบและการนำชุดทดสอบไปใช้งาน ขอขอบคุณ ดร. สุภาภรณ์ ชุมพล สำหรับการให้คำปรึกษาวิธีวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชสวนจังหวัดตรัง ที่ช่วยระบุชนิดสมุนไพร

เอกสารอ้างอิง

1. จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. พืชกระท่อม. ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์. [ออนไลน์]. 2564; [สืบค้น 21 พ.ค. 2567]; [14 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: https://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file= 251

2. Takayama H. Chemistry and pharmacology of analgesic indole alkaloids from the rubiaceous plant, *Mitragyna speciosa*. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2004. 52(8):916-28.
3. Buckhalter S, Soubeyrand E, Ferrone SAE, Rasmussen DJ, Manduca JD, et al. The antidepressant-like and analgesic effects of Kratom alkaloids are accompanied by changes in low frequency oscillations but not ΔFosB accumulation. Front Pharmacol. 2021;12. 1-20.
4. วุฒิเชษฐ รุ่งเรือง. พิษวิทยาของพืชกระท่อม. วารสารเภสัชกรรมโรงพยาบาล. 2563;30(2). 118-124.
5. Hassan Z, Singh D, Suhaimi FW, Chear NJ, Harun N, See CP, et al. Evaluation of toxicity profile of kratom (Mitragyna speciosa Korth) decoction in rats. Regul Toxicol Pharmacol. 2023;143.
6. ภัสสราภรณ์ ศรีมังกรแก้ว, กฤติกาญจน์ สุวรรณสโรช, อัญชลี สิริมนตาภรณ์. ความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังทางปากของสารสกัดน้ำจากใบกระท่อมในหนูแรทสายพันธุ์ Wistar. ว กรมวิทย พ. 2024.66(2): 186-207.
7. Leong Abdullah MFI, Tan KL, Narayanan S, Yuvashnee N, Chear NJY, Singh D, et al. Is kratom (Mitragyna speciosa Korth.) use as sociated with ECG abnormalities? Electrocardiogram comparisons between regular kratom users and controls. Clinical Toxicology. 2021;59(5):400-8.
8. พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 8) พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 138 ตอนที่ 35 ก. (2564, พฤษภาคม 26). [ออนไลน์]. 2564; [สืบค้น 21 พ.ค. 2567]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: https://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2564/A/035/T_0001.PDF.
9. พระราชบัญญัติพืชกระท่อม พ.ศ. 2565. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 139 ตอนที่ 52 ก (2565, สิงหาคม 23). [ออนไลน์]. 2565; [สืบค้น 21 พ.ค. 2567]; [15 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: https://ratchakitcha.soc.go.th/documents/17220044.pdf.
10. พระราชบัญญัติผลิตภัณฑ์สมุนไพร พ.ศ. 2562. ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 136 ตอนที่ 56 ก (2562, เมษายน 26). [ออนไลน์]. 2562; [สืบค้น 21 พ.ค. 2567]; [45 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: https://ratchakitcha.soc.go.th/documents/17087272.pdf.
11. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. คำแนะนำการพัฒนาและขออนุญาตผลิตภัณฑ์สมุนไพร ประเภทผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพ น้ำใบกระท่อม. [ออนไลน์]. 2566; [สืบค้น 21 ก.พ. 2568]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: https://herbal.fda.moph.go.th/product/kratom-detail/.
12. วนรัตน์ ศยามล. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประเมินความปลอดภัยและความเหมาะสมในการใช้กระท่อมเป็นส่วนประกอบในอาหาร. [ออนไลน์]. 2566; [สืบค้น 21 พ.ค. 2567]; [14 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: https://food.fda.moph.go.th/media.php?id=5129399711011813376&name=KM01_Kratom.pdf.
13. วีระชัย พิพัฒน์รัตนเสรี, ประภา เพ็ชรมาก, ชนิสรา อินทร์เตรียะ, นฤมล บุญราศรี, สายใจ ปริยะวาที. การพัฒนาชุดทดสอบพืชกระท่อมในของกลางสี่คูณร้อย (4x100) ชนิดแผ่นจุ่ม (Dipstick) เพื่อใช้สนับสนุนการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด. ประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์. กรุงเทพมหานคร. 2557.

14. Porubsky P, Scott E, Williams T. P-Dimethylaminocinnamaldehyde derivatization for colorimetric detection and HPLC–UV/vis–MS/MS identification of indoles. Arch Int Physiol Biochim Biophys. 2008. 475 (1): 14–17.

15. Wikipedia. 4-(Dimethylamino)cinnamaldehyde [Online]. 2021 July 28 [cited 2024 May 20]. Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/P-Dimethylaminocinnamaldehyde.

16. Mudge EM, Brown PN. Determination of mitragynine in *Mitragyna speciosa* raw materials and finished products by liquid chromatography with UV detection: singlelaboratory validation. J AOAC Int, 2017. 100(1), 18-24.

17. AOAC Official Methods of Analysis. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. 20th Ed. AOAC International. 2016.

18. Eurachem Guide Annex D - notes on qualitative analysis. In: Eurachem Guide. The fitness for purpose of analytical methods - a laboratory guide to method validation and related topics: 2nd ed.

[online]. 2014; [cited 2024 May 20]; [3 screens]. Available from: URL: https://www.eurachem.

org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf.

19. National Association of Testing Authorities. General accreditation guidance - validation and

verification of quantitative and qualitative test methods. [online]. 2018; [cited 2024 May 20]; [31

screens]. Available from: URL: https://nata.com.au/files/2021/05/Validation-and-Verification of-Quantitative-and-Qualitative-Test-Methods.pdf.

20. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 16078, Tetrahydrocannabinol [online]. 2025; [cited 2025 Feb 21]. Available from: URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tetrahydrocannabinol.

21. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 644019, Cannabidiol [online]. 2025; [cited 2025 Feb 21]. Available from: URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cannabidiol.

22. Meudt, WJ., Gaines, T.P. Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxidase enzymes. I. Colorimetric determination of indole-3-acetic acid oxidation products. Plant Physiol. 1967. 42, 1395-9.

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Articles

การศึกษาคุณภาพของยาแคปซูลขิงที่จำหน่ายในประเทศไทย

Study of the quality of ginger capsules available in Thailand

*นางสาวสาลินี ณ ระนอง**

*นางสาวประภาพรรณ สุขพรรณ์**

*นางสาวอนัญญา สุพันธ์วณิช**

*นางสาวจิรานุช แจ่มทวีกุล**

Abstract Ginger capsules are an herbal product which has been widely used in clinical trials in recent ten years for treatment of variety symptoms such as dysmenorrhea, nausea and vomiting caused by chemotherapy. In fiscal year 2016, a study of the quality of ginger capsules available in Thailand was carried out by the Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences. Twelve samples were randomly collected from drug stores and government hospitals which joined this study. The analysis of all the samples for identification, weight variation, contents of active ingredients including gingerols, gingerdiol, gingerdione, and shogaols, content of volatile oil, and dissolution followed the United States Pharmacopeia (USP), 38th edition. Moreover, the method for contents of active ingredients was verified before testing. In addition, the heavy metals and microbial contaminations were analyzed according to the methods of Thai Pharmacopoeia II, 2011. As the results, 66.67% of the ginger capsules did not meet the standard requirements for identification, weight variation, content of volatile oil, dissolution, and heavy metals and microbial contaminations.

Keywords: Ginger capsules, Study of the quality

บทคัดย่อ ยาแคปซูลขิงเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีการใช้อย่างแพร่หลายสำหรับการทดลองทางคลินิกในช่วงสิบปีที่ผ่านมา โดยมีการนำมาใช้รักษาอาการต่างๆ เช่น อาการปวดประจำเดือน อาการคลื่นไส้อาเจียนจากการใช้ยาเคมีบำบัด ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ทำการศึกษาคุณภาพยาแคปซูลขิงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างยาแคปซูลขิง จำนวน 12 ตัวอย่าง จากร้านยาและโรงพยาบาลที่เข้าร่วมการศึกษานี้ ตัวอย่างทั้งหมดได้นำมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพตามวิธีและเกณฑ์มาตรฐานของตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา ฉบับที่ 38 ในหัวข้อ การตรวจเอกลักษณ์ การหาความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย การหาปริมาณสารสำคัญ gingerols, gingerdione, gingerdiol, และ shogaols การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย และการทดสอบการละลาย ทั้งนี้วิธีการหาปริมาณสารสำคัญได้มีการทวนสอบความถูกต้องของวิธีก่อนการทดสอบ นอกจากนี้ยังมีการตรวจหาการปนเปื้อนของโลหะหนักและเชื้อจุลินทรีย์ตามวิธีและเกณฑ์มาตรฐานของตำรายาของประเทศไทย เล่ม 2 ปีพ.ศ. 2554 ผลการศึกษาพบว่ามียาแคปซูลขิงที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานสูงถึงร้อยละ 66.67 ในหัวข้อการตรวจเอกลักษณ์ การหาความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย การทดสอบการละลาย และการปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อจุลินทรีย์

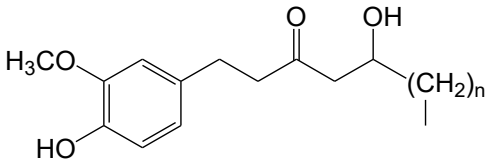
กุญแจคำ: ยาแคปซูลขิง, การศึกษาคุณภาพ

*สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

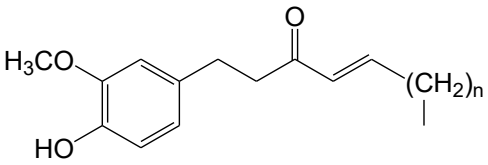
บทนำ

ขิงถูกนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณมานานในหลายประเทศ เช่น จีน ญี่ปุ่น อินเดีย โดยมีข้อบ่งใช้ในการรักษาอาการอาหารไม่ย่อย ท้องอืด ท้องผูก คลื่นไส้ ปวดศีรษะ ข้ออักเสบ หวัด และไอ [1] ในประเทศไทยขิงจัดอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ กลุ่มยาพัฒนาจากสมุนไพร ซึ่งส่วนที่ใช้คือเหง้า ใช้บรรเทาอาการท้องอืด แน่นจุกเสียด คลื่นไส้ เมารถ เมาเรือ และป้องกันอาการคลื่นไส้หลังผ่าตัด โดยเป็นยาที่อยู่ในรูปแบบแคปซูล ชาชง และผงแห้ง [2]

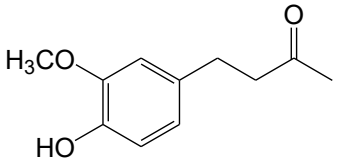
สารสำคัญที่ได้จากเหง้าขิงสามารถแยกเป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ ได้แก่ oleoresin ซึ่งได้จากการสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ และน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ซึ่งได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยสารสำคัญจำพวก oleoresin ที่พบมีหลายกลุ่ม เช่น gingerols, gingerdiols, gingerdiones, shogaols, paradols, และ zingerone ซึ่งพบสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ 6-gingerol ส่วนในน้ำมันระเหยง่ายพบสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ zingiberene [1] ดังแสดงใน**รูปที่ 1**



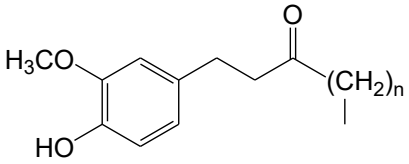
6-gingerol, n= 6
8-gingerol, n=8
10-gingerol, n=10



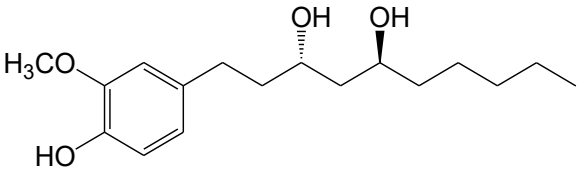
6-shogaol, n= 6
8-shogaol, n=8
10-shogaol, n=10



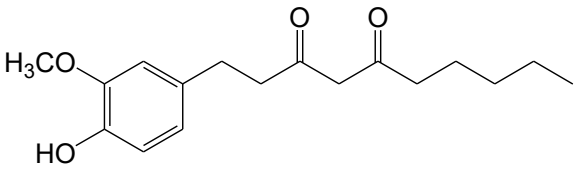
Zingerone



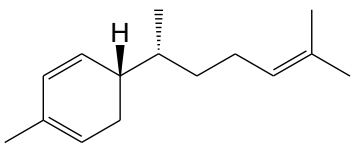
6-paradol, n= 6
8-paradol, n=8
10-paradol, n=10



6-gingerdiol



6-gingerdione



Zingiberene

รูปที่ 1 โครงสร้างขององค์ประกอบทางเคมีจากเหง้าขิง

มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่ม oleoresin ในระดับ *in vitro* และ *in vivo* เช่น ฤทธิ์การต้านการอักเสบของ 6-gingerol, 10-gingerol, 6-shogoal, และ 8-shogaol [3, 4] ฤทธิ์ในการต้านเบาหวานโดยการเพิ่ม glucose uptake ของ 6-gingerol และ

8-gingerol [5] และการเพิ่มปริมาณอินซูลินในกระแสเลือดของ 6-gingerol [6] ฤทธิ์การต้านความอ้วนโดยการลดการสะสม oil droplet ของ 6-gingerol [7] ฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดของ 6-gingerol และ 6-shogaol [8] ฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Helicobector pylori* ของ 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, และ 6-shogoal [9] ฤทธิ์ในการต้านอาการคลื่นไส้อาเจียนโดยการยับยั้ง serotonin receptor ของ 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, และ 6-shogoal [10]

นอกจากรายงานการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับ *in vitro* และ *in vivo* แล้ว ยังพบรายงานการศึกษาประสิทธิภาพของขิงในระดับคลินิกที่สอดคล้องกัน เช่น การลดอาการปวดประจำเดือน [11] การลดดัชนีมวลกาย การเพิ่มปริมาณอินซูลิน [12] การเพิ่มปริมาณน้ำนมหลังคลอดบุตร [13] ฤทธิ์ในการลดอาการคลื่นไส้อาเจียนจากยาเคมีบำบัด [14] โดยรูปแบบยาที่ใช้ในการศึกษาเหล่านี้คือยาแคปซูลขิง ซึ่งเป็นการนำเหง้าขิงแห้ง มาบดละเอียด แล้วบรรจุในแคปซูลเจลาตินชนิดแข็ง

แม้จะพบว่าการใช้ยาแคปซูลขิงมีประสิทธิภาพที่ดีในการรักษาหลายอาการ แต่ประสิทธิภาพในการรักษาเหล่านั้นไม่ได้เกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอทุกครั้งที่ทำการทดลอง ตัวอย่างเช่นการศึกษาฤทธิ์ในการลดอาการคลื่นไส้อาเจียนในผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัด จากการศึกษาของ Manusirivithaya และคณะในปี ค.ศ. 2004 รายงานว่ายาแคปซูลขิงไม่มีผลช่วยลดอาการคลื่นไส้อาเจียนหลังได้รับยาเคมีบำบัดใน acute phase แต่ช่วยลดอาการคลื่นไส้อาเจียนได้ใน delayed phase [14] ต่อมาในปี ค.ศ. 2009 Zick และคณะรายงานการศึกษายาแคปซูลขิงว่าไม่มีประสิทธิภาพในการช่วยลดอาการคลื่นไส้อาเจียนในผู้ป่วยทั้งใน acute phase และ delayed phase [15] จากผลการทดลองที่ขัดแย้งกันดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงได้ตั้งข้อสังเกตเกี่ยวกับคุณภาพของยาแคปซูลขิง เนื่องจากพบว่าในการทดลองเหล่านั้นไม่ได้มีการควบคุมคุณภาพของยาแคปซูลขิงก่อนนำมาทดลอง ทำให้ไม่ทราบปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ให้ผู้ป่วยรับประทานในแต่ละครั้ง เมื่อปริมาณยาที่ได้รับไม่เท่ากัน จึงอาจทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาต่างกัน เป็นที่มาให้ทางคณะผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาคุณภาพของยาแคปซูลขิงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

จากรายงานการศึกษาคุณภาพยาแคปซูลขิงในประเทศไทยในอดีตพบว่ามีการศึกษาเฉพาะปริมาณน้ำมันระเหยง่ายและส่วนประกอบในน้ำมันระเหยง่าย [16] แต่ยังไม่มีเคยมีรายงานการศึกษาสาร oleoresin ซึ่งเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ และยังไม่มีรายงานการศึกษาคุณภาพด้านอื่นๆ ของยาแคปซูลขิงตามวิธีและเกณฑ์มาตรฐานของตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา ฉบับที่ 38 ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้จัดทำการศึกษาคุณภาพยาแคปซูลขิงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย เพื่อชี้ให้เห็นถึงคุณภาพยาแคปซูลขิงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ซึ่งจะนำไปสู่การดำเนินการปรับปรุงกระบวนการผลิตของผู้ผลิตเพื่อให้ได้ยาแคปซูลขิงที่มีคุณภาพตามมาตรฐานสากล ที่จะสามารถสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ

วัสดุและวิธีการ

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 TLC silica gel 60G F_{254} 25 Glass Plates 20 x 20 cm (Merck)

1.2 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (Waters รุ่น 2695), Photo Diode Array Detector (Waters รุ่น 2996) และ software (Empower 1)

1.3 เครื่องชั่ง (Mettler Toledo รุ่น AT261 และ รุ่น MX5)

1.4 เครื่องกรองน้ำ (Millipore รุ่น Milli-Q)

1.5 Column C18, 4.6 x 250 mm, 5 µm (Shisedo รุ่น Capcell Pak C18 MG-II)

1.6 Membrane filter ชนิด Nylon 0.45 µm (National Scientific)

1.7 Syringe filter ชนิด Nylon 0.45 µm (Vertipure)

1.8 เครื่อง Dissolution (Vankel VK 7000)

1.9 Oil bath (WiseBath model WHB-11)

1.10 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (PerkinElmer Analyst 800)

1.11 กระดาษกรอง Whatman® No.1

2. สารเคมี

2.1 สารมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจเอกลักษณ์ และหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ USP Capsaicin RS (Lot No. I0L046) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 94.1, USP Ginger Constituent Mixture RS (Lot No. F0E129) และ USP Powdered Ginger RS (Lot No. F04421)

2.2 สารมาตรฐานที่ใช้ในการหา Relative Retention Time (RRT) ของสารแต่ละตัวในคอลัมน์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ 6-gingerol (Lot No. PRF7012805), 8-gingerol (Lot No. PRF7012806), 10-gingerol (Lot No. 15010602), 6-shogaol (Lot No. 16011504), 8-shogaol (Lot No. PRF7031503) และ 10-shogaol (Lot No. 14102207) ของยี่ห้อ Chengdu Biopurify Phytochemicals

2.3 สารเคมี HPLC grade ได้แก่ Acetonitrile ยี่ห้อ Macron Fine Chemicals, USA; Methanol ยี่ห้อ Macron Fine Chemicals, USA; Ethanol ยี่ห้อ Carlo Erba, Switzerland

2.4 สารเคมี analytical grade ได้แก่ Ether ยี่ห้อ Lab Supplies, UK; Hexane ยี่ห้อ Merck, Germany; Phosphoric acid ยี่ห้อ Merck, Germany; Xylene ยี่ห้อ Baker Chemical, UK; Hydrochloric acid ยี่ห้อ Carlo Erba, Switzerland; Sulfuric acid ยี่ห้อ Carlo Erba, Switzerland; Nitric acid ยี่ห้อ Carlo Erba, Switzerland

2.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ ยี่ห้อ Scharlau, Spain ได้แก่ Neutralizing Fluid, Levine Eosin-Methylene Blue Agar; ยี่ห้อ Becton Dickinson and Company, USA ได้แก่ Tryptic Soy Agar, Sabouraud Dextrose Agar with Antibiotics, Tryptic Soy Broth, TAT Broth Base, MacConkey Agar, Brilliant Green Agar, Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar, Bismuth Sulfite Agar, Columbia Agar, Reinforced Medium for *Clostridia*; ยี่ห้อ Merck, Germany ได้แก่ Enterobacteria Enrichment Broth-Mossel, Crytal Violet-Neutral Red-Bile-Dextrose Agar, MacConkey Broth, Tetrathionate Brilliant Green Broth, Rappaport Vassiliadis Broth

3. ตัวอย่างที่ใช้

ตัวอย่างยาแคปซูลขิงที่สุ่มเก็บในประเทศไทย จากร้านยาแผนปัจจุบัน ร้านค้าผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรที่ตั้งอยู่ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล และโรงพยาบาลของรัฐ รวม 12 ตัวอย่าง ซึ่งมาจากผู้ผลิต 7 ราย โดยมีรายละเอียดดัง **ตารางที่ 1**

4. วิธีการ

4.1 การตรวจเอกลักษณ์ (Identification) [17]

ตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโตกราฟีชนิดผิวบาง (Thin-Layer Chromatography, TLC)

4.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน A โดยละลาย USP Powder Ginger RS จำนวน 500 มิลลิกรัม ด้วย methanol จำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

4.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐาน B โดยละลาย USP Ginger Constituent Mixture RS ซึ่งเป็นสารผสมที่ประกอบด้วย 6-gingerol และ 6-shogaol จำนวน 0.6 มิลลิกรัม ด้วยสารละลาย USP Capsaicin RS ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร โดยในสารละลายมาตรฐาน B จะประกอบด้วย 6-gingerol, 6-shogaol และ capsaicin

4.1.3 เตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยละลายตัวอย่าง จำนวน 200 มิลลิกรัม ด้วย methanol จำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

4.1.4 เตรียมสารละลายตัวพาซึ่งประกอบด้วย ether และ hexane ในอัตราส่วน 7:3

ตารางที่ 1 ยาแคปซูลขิงที่ใช้ในการศึกษาคุณภาพ

ตัวอย่าง	ผู้ผลิต	รุ่นการผลิต	ชื่อตัวอย่าง	บรรจุภัณฑ์ (capsule)	ปริมาณผงยา (mg/capsule)	วันผลิต	วันหมดอายุ
1	A	I	A-I	ขวด (100)	500	13 ก.พ. 58	13 ก.พ. 61
2	B	I	B-I	บลิสเตอร์ (1x10x10)	500	19 พ.ค. 58	19 พ.ค. 61
3	B	II	B-II	บลิสเตอร์ (1x10x10)	500	1 ต.ค. 57	1 ต.ค. 60
4	C	I	C-I	ขวด (100)	500	15 ม.ค. 58	15 ม.ค. 63
5	D	I	D-I	ขวด (70)	500	12 มิ.ย. 58	12 มิ.ย. 60
6	D	II	D-II	ขวด (70)	500	14 พ.ย. 58	14 พ.ย. 60
7	D	III	D-II	ขวด (70)	500	10 ธ.ค. 58	10 ธ.ค. 60
8	E	I	E-I	ขวด (100)	500	13 ก.พ. 58	13 ก.พ. 62
9	F	I	F-I	ขวด (60)	500	18 พ.ค. 58	18 พ.ค. 60
10	F	II	F-II	ขวด (60)	500	12 ก.พ. 59	12 ก.พ. 61
11	F	III	F-III	ขวด (60)	500	10 มี.ค. 59	10 มี.ค. 61
12	G	I	G-I	ขวด (100)	500	29 ม.ค. 59	ไม่ระบุ

หมายเหตุ เลือกตัวอย่าง D-III ในการทวนสอบความถูกต้องของวิธีในการหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ 6-gingerol, 8-gingerol A, 6-shogaol, 6-gingerdiol, 6-gingerdione, 10-gingerol และ 8-shogaol

4.1.5 นำสารละลายมาตรฐาน A สารละลายมาตรฐาน B และสารละลายตัวอย่าง จำนวน 20, 40, และ 20 ไมโครลิตร ตามลำดับหยดลงบนแผ่น TLC แล้วนำไปวางในถังโครมาโตกราฟี ปล่อยให้สารละลายตัวพาเคลื่อนที่ 15 เซนติเมตรจากจุดที่หยดสารละลายที่ต้องการทดสอบ จากนั้นนำแผ่น TLC ไปผึ่งให้แห้งในตู้ดูดควัน และตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

4.1.6 นำแผ่น TLC มาพ่นด้วย 10% sulfuric acid in 95% ethanol จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

4.2 การหาความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย (Weight variation) [17]

4.2.1 ชั่งน้ำหนักยาแต่ละแคปซูลจำนวน 20 แคปซูล แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นคำนวณน้ำหนักแต่ละแคปซูลเทียบกับค่าเฉลี่ยต้องอยู่ในช่วง 90-110% (stage I)

4.2.2 หากมีแคปซูลใดอยู่นอกช่วงที่กำหนด ให้หาน้ำหนักของผงยาในแต่ละแคปซูลจำนวน 20 แคปซูล แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของน้ำหนักผงยาในแต่ละแคปซูลเทียบกับค่าเฉลี่ย ต้องไม่มากกว่า 2 แคปซูลที่มีความแตกต่างเกินช่วง 90-125% (stage II)

4.2.3 หากมีมากกว่า 2 แคปซูลที่มีความแตกต่างเกินช่วง 10-25% แต่ไม่ถึง 6 แคปซูล ให้หาน้ำหนักของผงยาในแต่ละแคปซูลเพิ่มอีก 40 แคปซูล แล้วหาค่าเฉลี่ย จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของน้ำหนักผงยาในแต่ละแคปซูลเทียบกับค่าเฉลี่ยของน้ำหนักผงยา 60 แคปซูล ต้องมีไม่มากกว่า 6 จาก 60 แคปซูลที่มีความแตกต่างเกิน 10% และไม่มีแคปซูลใดที่มีความแตกต่างเกิน 25% (stage III)

4.3 การหาปริมาณสารสำคัญ (Content of active ingredient) และการทวนสอบวิธี (Verification method)ในการหาปริมาณสารสำคัญ [17]

4.3.1 การหาปริมาณ gingerols, gingerdiol, gingerdione, และ shogaols ตามหัวข้อความแรง (Strength) ในตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา ฉบับที่ 38 โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

4.3.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน

4.3.1.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน USP Capsaicin RS ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน methanol

4.3.1.1.2 เตรียมสารละลาย system suitability โดยละลาย USP Ginger Constituent Mixture RS ด้วยสารละลายมาตรฐาน capsaicin จากข้อ 4.3.1.1.1 จำนวน 1 มิลลิลิตร

4.3.1.2 เตรียมสารละลายตัวอย่าง

4.3.1.2.1 แกะผงยาออกจากแคปซูลขิง จำนวน 20 แคปซูล นำผงยามาร่อนผ่านแร่ง mesh no. 80

4.3.1.2.2 ชั่งผงยาที่ผ่านแร่งแล้ว จำนวน 2 กรัม ใส่ Glass-stoppered conical flask ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปต 95% ethanol จำนวน 50 มิลลิลิตรใส่ใน flask แล้วเขย่าทุก 30 นาทีเป็นเวลา 8 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าอีก 16 ชั่วโมง

4.3.1.2.3 กรองสารละลายตัวอย่างด้วยหัวกรอง nylon ขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC

4.3.1.3 สภาวะของเครื่อง HPLC

- คอลัมน์: Capcell Pak C18 MG-II (Shisedo) ขนาด 4.6x250 mm, 5 µm
- อัตราการไหล: 1 มิลลิลิตรต่อนาที
- อุณหภูมิของคอลัมน์: 30 องศาเซลเซียส
- ปริมาตรที่ฉีด: 25 ไมโครลิตร
- เครื่องตรวจวัด: Diode array ที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร
- สารละลายตัวพา: สารละลาย A ประกอบด้วย acetonitrile, 0.01% phosphoric acid in water, methanol ในอัตราส่วน 55:44:1 สารละลาย B ประกอบด้วย acetonitrile โดยสัดส่วน gradient ที่ใช้แสดงใน**ตารางที่ 2**

ตารางที่ 2 สัดส่วนของ gradient ที่ใช้แยกสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง

เวลา (นาที)	สารละลาย A	สารละลาย B
0	100	0
75	100	0
77	0	100
87	0	100
89	100	0
110	100	0

4.3.1.4 หาปริมาณสารสำคัญ

4.3.1.4.1 ทำ system suitability โดยฉีดสารละลาย system suitability 1 เข็ม และฉีดสารละลายมาตรฐานจำนวน 6 เข็ม ซึ่งค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ดังนี้

- resolution ระหว่าง 6-gingerol กับ capsaicin ≥ 3

- resolution ระหว่าง capsaicin กับ 6-shogaol ≥ 10
- tailing factors ของพีคของ 6-gingerol, capsaicin, และ 6-shogaol ≤ 2
- % RSD ของ capsaicin หลังฉีด standard solution 6 ซ้ำ $\leq 2.5\%$

4.3.1.4.2 วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ โดยเตรียมสารละลายตัวอย่าง 2 ครั้ง (A กับ B) แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC

4.3.1.5 คำนวณปริมาณสารสำคัญ

4.3.1.5.1 คำนวณปริมาณรวมของ gingerols, gingerdiol, gingerdione, และ shogaols ในรูปมิลลิกรัมต่อแคปซูล โดยพิจารณาจากค่า Relative Retention Time (RRT) คือ 6-gingerol = 0.8, 8-gingerol A = 1.6, 6-shogaol = 2.0, 6-gingerdiol = 2.8, 6-gingerdione = 2.9, 10-gingerol = 3.9 และ 8-shogaol = 4.9 โดยเทียบ retention time กับ capsaicin (RRT = 1.0) เพื่อระบุตำแหน่ง และใช้ค่าพื้นที่ใต้พีค นำไปคำนวณปริมาณรวมของสารสำคัญ ดังสมการ

$$\text{Result} = (r_T/r_S) \times C_S \times (V/W_U) \times A_{WC}$$

r_T = ผลรวมของพื้นที่ใต้พีคของ gingerols, gingerdiol, gingerdione, และ shogaols ในสารละลายตัวอย่าง, r_S = พื้นที่ใต้พีคของ capsaicin ในสารละลายมาตรฐาน, C_S = ความเข้มข้นของ capsaicin ในสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), V = ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร), W_U = น้ำหนักของตัวอย่าง (มิลลิกรัม), A_{WC} = น้ำหนักเฉลี่ยของปริมาณผงยาที่บรรจุในแคปซูล (มิลลิกรัม)

4.3.1.5.2 คำนวณปริมาณ 6-gingerol (G_0) ในแต่ละแคปซูล ในหน่วยมิลลิกรัมต่อแคปซูล โดยใช้ค่าพื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol ที่มีค่า RRT = 0.8 ซึ่งคำนวณปริมาณ 6-gingerol ดังสมการ

$$G_0 = (r_U/r_S) \times (C_S/W) \times V \times A$$

r_U = พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol ในสารละลายตัวอย่าง, r_S = พื้นที่ใต้พีคของ capsaicin ในสารละลายมาตรฐาน, C_S = ความเข้มข้นของ capsaicin ในสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), W = น้ำหนักของตัวอย่าง (มิลลิกรัม), V = ปริมาตรสุดท้ายของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร), A = น้ำหนักเฉลี่ยของปริมาณผงยาที่บรรจุในแคปซูล (มิลลิกรัม)

4.3.1.5.3 เกณฑ์การยอมรับ คือ ปริมาณรวมของ gingerols, gingerdiol, gingerdione, และ shogaols ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 90 และไม่เกินร้อยละ 110 ของปริมาณที่ระบุไว้ในฉลาก

4.3.2 การทวนสอบวิธีหาปริมาณสารสำคัญ

4.3.2.1 ทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธี

ทำโดยการหาค่า Relative Retention Time (RRT) ของสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง โดยนำ Retention Time (RT) ของสารแต่ละตัวมาเทียบกับ RT ของ capsaicin โดยสารแต่ละตัวมีค่า RRT ดังนี้ Capsaicin = 1, 6-gingerol = 0.8, 8-gingerol A = 1.6, 6-shogaol = 2.0, 6-gingerdiol = 2.8, 6-gingerdione = 2.9, 10-gingerol = 3.9 และ 8-shogaol = 4.9

4.3.2.2 ทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน capsaicin ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.10, 0.20, 0.60, และ 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (corelation coefficient: r) ต้องไม่น้อยกว่า 0.9995 และ ค่า Y-intercept ต้องไม่มากกว่าร้อยละ 0.2

4.3.2.3 ทดสอบความเที่ยง

4.3.2.3.1 repeatability

-เตรียมสารละลายตัวอย่าง จำนวน 6 ตัวอย่าง แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

-นำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสำคัญในสารละลายตัวอย่างเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

-นำค่าปริมาณสารสำคัญทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย (mean) และ %RSD โดย %RSD ที่ได้ต้องมีค่าไม่มากกว่าร้อยละ 2

4.3.2.3.2 intermediate precision

ทำการทดสอบเหมือนกับ repeatability แต่เปลี่ยนนักวิเคราะห์ และทำการวิเคราะห์คนละวัน ค่า %RSD ต้องมีค่าไม่มากกว่าร้อยละ 2

4.4 การทดสอบการละลาย (Dissolution) [17]

ใช้วิธีหาปริมาณเช่นเดียวกับการหาปริมาณสารสำคัญ 6-gingerol

4.4.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน

4.4.1.1 ชั่งสารมาตรฐาน USP Capsaicin RS จำนวน 1 มิลลิกรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ด้วย methanol ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4.4.1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐาน USP Capsaicin RS มา 5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 20 มิลลิลิตร ด้วย 0.1 N hydrochloric acid

4.4.2 เตรียมสารละลายตัวอย่าง

4.4.2.1 คำนวณจำนวนแคปซูลที่ทำให้มีปริมาณ gingerols, gingerdiol, gingerdione, และ shogaols รวม 20 มิลลิกรัม เพื่อใส่ในแต่ละ vessel ในการทดสอบการละลาย

4.4.2.2 ใช้ Apparatus II paddle และตัวทำละลาย คือ 0.1 N hydrochloric acid จำนวน 500 มิลลิลิตร

4.4.2.3 นำแคปซูลแต่ละแคปซูลใส่ในขดลวดสปริง ใส่ลงไปในแต่ละ vessel แล้วไปปั่นที่ความเร็ว 75 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 นาที

4.4.2.4 หลังครบกำหนดเวลา ให้ปิเปตสารละลายตัวอย่างขึ้นมา vessel ละ 4 มิลลิลิตร ใส่ลงใน centrifuge tube เดียวกัน แล้วนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายด้วยหัวกรองชนิด nylon ขนาด 0.45 ไมครอน

4.4.3 สภาวะของเครื่อง HPLC เหมือนกับการหาปริมาณสารสำคัญ

4.4.4 เกณฑ์การยอมรับ คือ ปริมาณ 6-gingerol ละลายออกมาไม่น้อยกว่า 60% ในเวลา 60 นาที

4.5 การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย (Content of volatile oil) [17]

4.5.1 แกะผงยาออกจากแคปซูลขิง นำผงยามาร่อนผ่านแร่ง mesh no. 80

4.5.2 ชั่งผงยาที่ผ่านแร่งแล้ว ปริมาณ 25 กรัม ใส่ในภาชนะก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร

4.5.3 เติมน้ำ จำนวน 250 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ นำมาประกอบเข้ากับอุปกรณ์สำหรับกลั่นที่เติมน้ำลงใน graduate tube จนถึง standard line

4.5.4 เติม xylene จำนวน 2.0 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 130-150 องศาเซลเซียส จนน้ำเริ่มเดือด

4.5.5 ปรับอัตราเร็วในการกลั่นให้อยู่ที่ 3 หยดต่อนาที เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

4.5.6 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ไขน้ำออกช้าๆ จนระดับของ xylene ลงไปอยู่ที่ขีด 0 อ่านปริมาตรของสารละลายผสมของ xylene และน้ำมันหอมระเหยที่ได้หักลบกับปริมาตรของ xylene ที่เติมลงไป

4.5.7 คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากน้ำหนักของผงยาที่ปราศจากความชื้น

4.5.8 เกณฑ์การยอมรับคือ น้ำมันหอมระเหยไม่น้อยกว่าร้อยละ 1.4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก

4.6 การตรวจหาการปนเปื้อนของสารหนู ตะกั่ว และแคดเมียม (Heavy metals contamination) [18]

ตรวจหาการปนเปื้อนของสารหนู (As) ตะกั่ว (Pb) และแคดเมียม (Cd) ใช้วิธี Atomic Absorption Spectrophotometry, Graphite Furnace

4.6.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 50 ส่วนในพันล้านส่วน
- สารละลายมาตรฐานตะกั่ว 50 ส่วนในพันล้านส่วน
- สารละลายมาตรฐานแคดเมียม 2.5 ส่วนในพันล้านส่วน

4.6.2 เตรียมสารละลายตัวอย่าง

4.6.2.1 แกะผงยาออกจากแคปซูลขิง จำนวน 10 แคปซูล บดให้เข้ากัน

4.6.2.2 ชั่งผงยาปริมาณ 250 มิลลิกรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม 50% nitric acid จำนวน 2.5 มิลลิลิตร ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา แล้วนำไปตั้งบนอ่างอังไอน้ำ เป็นเวลา 15 นาที

4.6.2.3 เติม concentrated nitric acid จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ข้อ 4.6.2.2 ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา แล้วนำไปตั้งบนอ่างอังไอน้ำต่อ เป็นเวลา 60 นาที

4.6.2.4 ถ่ายสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Type I

4.6.2.5 กรองสารละลายโดยใช้กระดาษกรอง Whatman® No.1

4.6.3 เตรียมสารละลาย blank โดยเตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายตัวอย่าง แต่ไม่มีส่วนผสมของสารตัวอย่าง

4.6.4 วิธีการหาปริมาณสารหนู (As) ตะกั่ว (Pb) และแคดเมียม (Cd)

สร้างกราฟมาตรฐานจากสารละลายมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและระดับความเข้มข้นของสารหนูและตะกั่วที่ 5, 10, 20, 30 ,40, 50, 60 และ 80 ส่วนในพันล้านส่วน ระดับความเข้มข้นของแคดเมียมที่ 0.15, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 และ 4.0 ส่วนในพันล้านส่วน โดยตั้งระบบการทำงานของเครื่องให้เจือจางสารละลายมาตรฐานอัตโนมัติและกำหนดให้ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานอย่างน้อยเท่ากับ 0.995 แล้ววิเคราะห์หาปริมาณสารหนู ตะกั่ว และแคดเมียม ในสารละลายตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยมีสภาวะการทำให้เกิดอะตอมดัง**ตารางที่ 3**

ตารางที่ 3 สภาวะการทำให้เกิดอะตอมในการหาปริมาณ สารหนู (As) ตะกั่ว (Pb) และแคดเมียม (Cd) ด้วยเทคนิค Atomic Absorption Spectrophotometry

ธาตุ / สภาวะ	สารหนู	ตะกั่ว	แคดเมียม
Wavelength (nm)	193.7	283.3	228.8
Pyrolysis temp (°C)	1200	500	500
Atomize temp (°C)	2100	1500	1500
Matrix modifiers	0.005 mg Palladium	0.003 mg Magnesium nitrate	0.003 mg Magnesium nitrate

4.6.5 เกณฑ์การยอมรับ คือปริมาณการปนเปื้อนสารหนูไม่เกิน 4 ส่วนในล้านส่วน ปริมาณการปนเปื้อนตะกั่วไม่เกิน 10 ส่วนในล้านส่วน และปริมาณการปนเปื้อนแคดเมียมไม่เกิน 0.3 ส่วนในล้านส่วน

4.7 การตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ (Microbial contamination) [19, 20]

4.7.1 เตรียมสารละลายตัวอย่าง

4.7.1.1 ชั่งตัวอย่าง 10.00±0.20 กรัม

4.7.1.2 เจือจางให้เป็น 10^{-1} ถึง 10^{-5} ด้วย Neutralizing Fluid

4.7.2 ตรวจปริมาณ Total Aerobic Microbial Count (TAMC)

4.7.2.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 1 มิลลิลิตร ไปเพาะเชื้อใน Tryptic Soy Agar จำนวน 2 plates ต่อหนึ่งความเข้มข้น

4.7.2.2 บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน

4.7.2.3 นับจำนวนโคโลนี แล้วคำนวณหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่าง 1 กรัม

4.7.3 ตรวจปริมาณ Total Combined Yeasts/Moulds count (TYMC)

4.7.3.1 ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้ว จำนวน 1 มิลลิลิตร ไปเพาะเชื้อใน Sabouraud Dextrose Agar with Antibiotics จำนวน 2 plates ต่อหนึ่งความเข้มข้น

4.7.3.2 บ่มที่ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

4.7.3.3 นับจำนวนโคโลนี แล้วคำนวณหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่าง 1 กรัม

4.7.4 ตรวจปริมาณ Bile-Tolerant Gram-Negative Bacteria (BNB)

4.7.4.1 ชั่งตัวอย่าง 10.00±0.20 กรัม เติม Tryptic Soy Broth ให้ครบ 100 มิลลิลิตร บ่มที่ 20-25 °C เป็นเวลา 2-5 ชั่วโมง

4.7.4.2 เจือจางตัวอย่างให้เป็น 10^{-2} ถึง 10^{-4}

4.7.4.3 ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วนำไปเพาะเชื้อใน Enterobacteria Enrichment Broth-Mossel ความเข้มข้นละ 1 หลอด

4.7.4.4 บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4.7.4.5 นำมาเพาะเชื้อบน Crystal Violet-Neutral Red-Bile-Dextrose Agar บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

4.7.4.6 แปลผลปริมาณ *Enterobacteria* ในตัวอย่าง 1 กรัม โดยอ่านค่าจากตาราง Probable Number of Bacteria

4.7.5 ตรวจปริมาณ *Escherichia coli* (*E. coli*)

4.7.5.1 ชั่งตัวอย่าง 10.00±0.20 กรัม เจือจางโดยการเติม Neutralizing Fluid ให้ครบ 100 มิลลิลิตร

4.7.5.2 ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้ว จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ใน TAT Broth Base 100 มิลลิลิตร บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-48 ชั่วโมง

4.7.5.3 ปิเปตตัวอย่างที่บ่มแล้ว จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ใน MacConkey Broth 100 มิลลิลิตร บ่มที่ 42-44 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

4.7.5.4 นำมาเพาะเชื้อบน MacConkey Agar บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง

4.7.5.5 ถ้ามีเชื้อขึ้นให้นำเชื้อที่สงสัยเพาะบน Levine Eosin-Methylene Blue Agar บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

4.7.6 ตรวจปริมาณ *Salmonella* spp. (*S.* spp.)

4.7.6.1 ชั่งตัวอย่าง 25.00±0.20 กรัม เจือจางด้วย Buffer Peptone medium จำนวน 225 มิลลิลิตร บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

4.7.6.2 แยกเพาะเชื้อต่อในหลอดทดลอง 2 หลอด ที่บรรจุ Tetrathionate bile brilliant green broth และ Rappaport Vassiliadis Broth หลอดละ 10 มิลลิลิตร บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

4.7.6.3 นำมาเพาะเชื้อบน Brilliant Green Agar, Xylene-Lysine-Deoxycholate Agar และ Bismuth Sulfite Agar บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง

4.7.7 ตรวจปริมาณ *Clostridium* spp. (*C.* spp.)

4.7.7.1 ชั่งตัวอย่าง 10.00±0.20 กรัม เจือจางด้วย Neutralizing Fluid ให้ครบ 100 มิลลิลิตร

4.7.7.2 ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้ว จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ใน Reinforced Medium for Clostridia จำนวน 2 หลอด โดยหลอดแรกนำไปให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส 10 นาที และทำให้เย็นทันที ส่วนหลอดที่ 2 ไม่ต้องให้ความร้อน นำไปบ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ 48 ชั่วโมง

4.7.7.3 เพาะบน Columbia Agar ที่ใส่ gentamicin บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ 48 ชั่วโมง

4.7.7.4 นำเชื้อที่สงสัยเพาะบน Columbia Agar จำนวน 2 plates โดย plate แรกบ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ 48 ชั่วโมง และ plate ที่ 2 บ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส ในสภาวะมีอากาศ 48 ชั่วโมง

4.7.8 ประเมินผลการปนเปื้อนจุลินทรีย์ โดยมีเกณฑ์การยอมรับ ดังนี้

- Total aerobic microbial count $\leq 5 \times 10^5$ CFU/g
- Yeast & Molds count $\leq 5 \times 10^4$ CFU/g
- Bile-tolerant gram-negative bacteria $\leq 10^3$/g
- Absence of *Escherichia coli* per 10 g
- Absence of *Clostridium* spp. per 10 g
- Absence of *Salmonella* spp. per 25 g

ผลการทดสอบ

การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโตกราฟีชนิดผิวบาง เมื่อตรวจสอบแผ่น TLC ของทุกตัวอย่าง ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร พบ quenching spot ของ 6-gingerol ซึ่งมีค่า $R_f = 0.2$ และ 6-shogaol ซึ่งมีค่า $R_f = 0.4$ เช่นเดียวกันกับในสารละลายมาตรฐาน B และเมื่อนำแผ่น TLC มาพ่นด้วย 10% sulfuric acid in 95% ethanol จะพบ spot ทั้งสองติดสีน้ำตาลส้ม ซึ่งตรงกับ spot ของ 6-gingerol และ 6-shogaol ในสารละลายมาตรฐาน B

การหาความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย พบว่ามี 8 ตัวอย่างที่น้ำหนักทั้งแคปซูลอยู่ในช่วง 90-110% ของน้ำหนักเฉลี่ย (Stage I) มี 2 ตัวอย่างที่น้ำหนักผงยาในแต่ละแคปซูลมีเปอร์เซ็นต์ ความแตกต่างเกิน 10 % ไม่เกิน 2 แคปซูล (Stage II) มี 1 ตัวอย่างที่น้ำหนักผงยาในแต่ละแคปซูลมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างอยู่ในช่วง 10-25% ไม่เกิน 6 แคปซูล (Stage III) และมี 1 ตัวอย่าง ที่น้ำหนักผงยาในแต่ละแคปซูลมีเปอร์เซ็นต์ ความแตกต่างในช่วง 10-25% เกิน 6 แคปซูล ซึ่งผิดมาตรฐาน

การหาปริมาณรวมสารสำคัญ gingerols, gingerdione, gingerdiol, และ shogaols อยู่ในช่วง 0.34-1.58% w/w ซึ่งก่อนการหาปริมาณสารสำคัญ ผู้วิจัยได้ทวนสอบความถูกต้องของวิธีในการหาปริมาณสารสำคัญ พบว่าวิธีมีความจำเพาะเจาะจง โดยได้ค่า RRT ใกล้เคียงกับที่กำหนด และไม่มีสารอื่นมารบกวนพีคสารสำคัญ การทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลาย capsaicin ในช่วงที่ทดสอบ ให้ค่า r เท่ากับ 1.0000 การทดสอบ repeatability ให้ค่า %RSD เท่ากับ 0.3 และการทดสอบ intermediate precision ให้ค่า %RSD เท่ากับ 1.3 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับของตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา ฉบับที่ 38 ดังนั้นจึงสามารถใช้วิธีดังกล่าวในการหาปริมาณสารสำคัญในยาแคปซูลขิงได้

การทดสอบการละลายพบว่ามี 2 ตัวอย่าง คือ D-I และ F-III ที่ตกเกณฑ์มาตรฐานการละลาย โดยพบว่ามีเปอร์เซ็นต์ของสาร 6-gingerol ที่ละลายออกมามีเพียง 58.6 % และ 46.0% ตามลำดับ

การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย พบว่ามี 2 ตัวอย่าง คือ D-III และ F-III ที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ตกเกณฑ์มาตรฐาน โดยพบเพียง 1.14 และ 1.11% v/w ตามลำดับ

ทั้งนี้ผลการทดสอบความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย การหาปริมาณสารสำคัญ การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย และการทดสอบการละลายของทุกตัวอย่าง แสดงรายละเอียดได้ดัง**ตารางที่ 4**

การตรวจการปนเปื้อนโลหะหนัก พบว่ามี 1 ตัวอย่าง (A-I) ปนเปื้อนแคดเมียมสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานตำรายาของประเทศไทย เล่ม 2 ปี พ.ศ. 2554

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย ปริมาณสารสำคัญ ปริมาณการละลาย และปริมาณน้ำมันหอมระเหย

ชื่อตัวอย่าง	ความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย	ปริมาณสารสำคัญ Ginls+Gind+Gine+Shos		ปริมาณสารสำคัญ Ginls+Gine		ปริมาณสารสำคัญ Shos		ปริมาณการละลายของ 6-gingerol (%)	ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (% v/w)
		(mg/cap)	(% w/w)	(mg/cap)	(% w/w)	(mg/cap)	(% w/w)		
A(I)	ผ่าน (stage I)	3.32	0.78	2.01	0.47	1.17	0.28	104.1	2.3
B(I)	ผ่าน (stage II)	4.25	0.83	2.30	0.45	1.75	0.34	86.0	2.4
B(II)	ผ่าน (stage II)	4.51	0.88	2.68	0.52	1.67	0.32	86.9	2.6
C(I)	ผ่าน (stage I)	1.42	0.34	0.67	0.16	0.63	0.15	74.7	1.4
D(I)	ผ่าน (stage I)	7.14	1.41	5.31	1.05	1.62	0.32	58.6	1.6
D(II)	ผ่าน (stage I)	6.86	1.43	5.68	1.19	0.97	0.20	88.7	1.6
D(III)	ผ่าน (stage I)	7.02	1.44	5.80	1.19	1.01	0.21	87.8	1.1
E(I)	ผ่าน (stage I)	6.77	1.58	4.81	1.12	1.66	0.39	81.5	2.4
F(I)	ไม่ผ่าน	2.88	0.63	1.51	0.33	1.22	0.27	61.8	1.6
F(II)	ผ่าน (stage I)	1.72	0.36	0.68	0.14	0.90	0.19	65.1	1.4
F(III)	ผ่าน (stage I)	2.08	0.44	1.24	0.26	0.72	0.15	46.0	1.1
G(I)	ผ่าน (stage III)	5.97	1.25	4.34	0.91	1.34	0.28	82.5	2.1

Ginls = gingerols, Gind = gingerdiol, Gine = gingerdione, Shols = Shogaols

การตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ พบว่ามีตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานตำรายาของประเทศไทย เล่ม 2 ปีพ.ศ. 2554 ได้แก่ ตัวอย่าง D-III, E-I, G-I พบเชื้อ Total aerobic microbial count ตัวอย่าง D-II, E-I, G-I พบเชื้อ Bile-tolerant gram-negative bacteria และ ตัวอย่าง E-I, G-I พบเชื้อ *Clostridium* spp. ซึ่งผลการตรวจการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของทุกตัวอย่าง แสดงรายละเอียดดัง**ตารางที่ 5**

ตารางที่ 5 ผลการตรวจปนเปื้อนของโลหะหนักและการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

ชื่อตัวอย่าง	การปนเปื้อนโลหะหนัก			การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์					
	สารหนู	ตะกั่ว	แคดเมียม	TAMC	TYMC	BNB	*E. coli*	*C.* spp.	*S.* spp.
A-I	ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
B-I	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
B-II	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
C-I	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
D-I	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
D-II	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
D-III	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
E-I	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน
F-I	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
F-II	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
F-III	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน
G-I	ผ่าน	ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน

วิจารณ์ผลการทดสอบ

ยาแคปซูลขิงเป็นยาสมุนไพรที่มีรายงานการศึกษาทางคลินิกที่แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาและมีความปลอดภัยสูง [11-14] อย่างไรก็ตามพบรายงานอาการข้างเคียงจากการใช้ยาแคปซูลขิง ได้แก่ การแสบร้อนกลางอก อาเจียน และท้องอืด [21] และพบรายงานการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาแคปซูลขิงกับยาอื่นๆ เช่น การลด bioavailability ของยา cyclosporine [22]

ผลการวิเคราะห์คุณภาพยาแคปซูลขิงพบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานหลายหัวข้อ ได้แก่ ความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ยไม่ผ่านร้อยละ 8 ปริมาณการละลายไม่ผ่านร้อยละ 16.7 ซึ่งตัวอย่างที่ไม่ผ่านพบว่าผงยาอัดตัวกันเป็นแท่งที่แข็งมาก ซึ่งส่งผลต่อการละลาย ปริมาณน้ำมันระเหยไม่ผ่านง่ายร้อยละ 16.7 ปริมาณแคดเมียมไม่ผ่านร้อยละ 8 Total aerobic microbial count ไม่ผ่านร้อยละ 25 Bile-tolerant gram-negative bacteria ไม่ผ่านร้อยละ 25 และตรวจพบเชื้อ *Clostridium* spp. ร้อยละ 16.7 ส่วนปริมาณสารสำคัญนั้นไม่สามารถตัดสินได้ว่ายาแคปซูลขิงในแต่ละตัวอย่างผ่านเกณฑ์มาตรฐานหรือไม่ เนื่องจากตัวอย่างไม่มีการระบุปริมาณสารสำคัญบนฉลาก แต่หากพิจารณาปริมาณสารสำคัญต่อน้ำหนัก โดยใช้เกณฑ์มาตรฐานของวัตถุดิบตามมาตรฐานตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา ฉบับที่ 38 ที่กำหนดปริมาณ gingerols และ gingerdione รวมกันไม่ต่ำกว่า 0.8 % w/w และปริมาณ shogaols ไม่เกิน 0.18 % w/w พบว่าไม่มีตัวอย่างใดเลยที่ผ่านทั้งสองเกณฑ์มาตรฐานดังกล่าว

จากปัญหาการไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานดังกล่าวของยาแคปซูลขิงข้างต้น อาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคใน 2 ด้านหลัก คือ ด้านประสิทธิภาพของยา และด้านความปลอดภัยในการใช้ยา การรับประทานยาที่มีปริมาณสารสำคัญในผงยาน้อย ยาที่มีปริมาณผงยาไม่เท่ากันในแต่ละแคปซูล และยาที่ไม่สามารถปลดปล่อยสารสำคัญออกมาได้ภายในระยะเวลาที่เหมาะสม ทำให้ยาที่รับประทานเข้าไปนั้นไม่ให้ผลในการรักษา ส่วนการรับประทานยาที่มีปริมาณโลหะหนักแคดเมียมเกินเกณฑ์มาตรฐาน อาจทำให้เกิดการสะสมแคดเมียมที่ไต โดยแคดเมียมมีค่าครึ่งชีวิตนาน 10-30 ปี หากสะสมในปริมาณมากอาจทำให้เกิดพิษต่อไต และส่งผลต่อระบบกระดูกในเวลาต่อมาได้ [23] และการรับประทานยาที่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *Clostridium* spp. อาจทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร และมีอาการรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ [24]

ดังนั้นการแก้ปัญหาคุณภาพยาแคปซูลขิงอาจทำได้โดยอาศัยความร่วมมือกันของเกษตรกรผู้ผลิตวัตถุดิบและโรงงานผู้ผลิตยาสมุนไพร เกษตรกรอาจต้องคำนึงเพิ่มเติมในเรื่องการปลูก เก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาเหง้าขิง เช่น การเลือกแหล่งปลูก เพื่อป้องกันการดูดซับโลหะหนักจากพื้นที่ปลูก [25] การเลือกเก็บเหง้าขิงที่มีอายุที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ขิงที่มีสารสำคัญสูง [26] การเก็บรักษาเหง้าของสดในสภาวะที่เหมาะสม เพื่อไม่ให้สารสำคัญสลายตัวก่อนนำมาผลิตเป็นยาสมุนไพร [27] ในส่วนโรงงานผู้ผลิตสมุนไพร การเตรียมวัตถุดิบก็มีความสำคัญ ควรระวังไม่ให้สารสำคัญทั้งน้ำมันหอมระเหยและสารกลุ่ม oleoresin สลายตัวในระหว่างการแปรรูปเหง้าขิงสดเป็นผงขิงแห้ง [28, 29] นอกจากนี้ผงขิงแห้งที่ดีต้องมีความชื้นเหมาะสม [30] ให้เกิดการไหลที่ดีในขั้นตอนการบรรจุลงแคปซูล เพื่อให้ได้แคปซูลที่มีปริมาณผงยาสม่ำเสมอ นำมาบรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมและฆ่าเชื้อต่อไป โดยกระบวนการที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ ผู้ผลิตจำเป็นต้องมีการทดลองเพิ่มเติมเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในแต่ละกระบวนการการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ และเพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลิตภัณฑ์ควรมีการควบคุมคุณภาพ และควรระบุปริมาณสารสำคัญแต่ละตัวไว้บนฉลากด้วย

จากการที่ผู้ผลิตไม่ระบุปริมาณสารสำคัญบนฉลากยา นอกจากจะเกิดปัญหาในการควบคุมคุณภาพแล้ว ยังทำให้เกิดปัญหาในการบริโภคยาสมุนไพรนั้นๆ ด้วย เนื่องจากผู้บริโภคไม่ทราบว่าควรรับประทานยาในปริมาณเท่าไหร่ เมื่อรับประทานยาในขนาดที่ไม่เหมาะสมก็ไม่เกิดประสิทธิภาพในการรักษา การที่ผู้ผลิตไม่ระบุปริมาณสารสำคัญบนฉลากยาอาจสืบเนื่องมาจากการที่ประเทศไทยไม่ได้มีเกณฑ์มาตรฐานปริมาณสารสำคัญของวัตถุดิบ ในอนาคตควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อกำหนดมาตรฐานปริมาณสารสำคัญกลุ่มต่างๆ ที่เหมาะสมกับขิงในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นแนวทางให้ผู้ผลิตได้ใช้เป็นเกณฑ์ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ต่อไป

สรุปผลการทดสอบ

จากผลการศึกษาพบว่ามียาแคปซูลขิงที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานสูงถึงร้อยละ 66.67 ในหัวข้อการตรวจเอกลักษณ์ การหาความแตกต่างจากน้ำหนักเฉลี่ย การหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย การทดสอบการละลาย และการปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าคุณภาพของยาแคปซูลขิงที่มีจำหน่ายในประเทศไทยยังไม่ได้มาตรฐาน ส่งผลต่อผู้บริโภคในด้านความปลอดภัย อย่างไรก็ตามความร่วมมือกันในการพัฒนากระบวนการที่เกี่ยวข้อง โดยเริ่มตั้งแต่การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ กระบวนการผลิต การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสม นำไปสู่ความเชื่อมั่นในผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่นำมาบริโภค อีกทั้งผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีคุณภาพสามารถส่งออกเพื่อสร้างการเติบโตทางด้านเศรษฐกิจให้กับประเทศได้

ข้อจำกัดในการทดสอบ

1. ไม่สามารถหาสารมาตรฐาน 6-gingerdiol และ 6-gingerdione เพื่อนำมาคำนวณค่า RRT ในขั้นตอนการทวนสอบความจำเพาะเจาะจงได้ แต่เนื่องจากเมื่อลองวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง พบว่าทุกตัวอย่างมี peak ที่มีค่า RRT 2.8 และ 2.9 ซึ่งเป็นไปในรูปแบบเดียวกันกับค่า RRT ที่ USP กำหนด จึงใช้ peak ที่ RRT = 2.8 ในการคำนวณปริมาณ 6-gingerdiol และ peak ที่ RRT = 2.9 ในการคำนวณปริมาณ 6-gingerdione
2. ไม่สามารถ integrate peak ของ 10-shogaol ที่มีค่า RRT = 5.2 ในสารละลายตัวอย่างได้ การคำนวณปริมาณ shogaols จึงไม่ได้รวมปริมาณ 10-shogaol
3. จำนวนตัวอย่างที่ใช้ทดสอบมีจำนวนน้อย เนื่องจากผู้ผลิตบางรายไม่ใช่ผู้ผลิตรายใหญ่ ซึ่งจะไม่ผลิตสินค้ารุ่นการผลิตใหม่ จนกว่าสินค้ารุ่นการผลิตเดิมจะหมด รวมทั้งข้อจำกัดในการดำเนินงานจำเป็นต้องเสร็จสิ้นภายในปีงบประมาณจึงไม่สามารถรอให้ผู้ผลิตรายย่อยผลิตยาแคปซูลขิงจนครบ 3 รุ่นการผลิตได้
4. ในประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดมาตรฐานปริมาณสารสำคัญในขิง จึงไม่มีเกณฑ์ในการตัดสินว่ายาแคปซูลขิงที่ใช้ในการทดสอบนั้นมีปริมาณสารสำคัญ gingerols, shogaols, gingerdiol, gingerdione ที่เข้ามาตรฐานหรือไม่

เอกสารอ้างอิง

1. Barceloux, D.G., 2008. Medical Toxicology of Natural Substances. Chapter 68 Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). John Wiley & Sons, Inc. pp. 482-487.
2. National Drug System Development Committee. 2012. National List of Essential Medicines [online]. Available from: http://kpo.moph.go.th/webkpo/tool/Thaimed2555.pdf [2018, Octerber 10]
3. Lee, S.W., et al. 2011. Phenolic Compounds Isolated from *Zingiber officinale* Roots Inhibit Cell Adhesion. Food Chemistry. 128(3): 778-782.
4. Lee, T.Y., et al. 2009. 6-Gingerol Inhibits ROS and iNOS through the Suppression of PKC-alpha and NF-kappaB Pathways in Lipopolysaccharide-stimulated Mouse Macrophages. Biochemical and Biophysical Research Communications. 382(1): 134-139.
5. Li, Y., et al. 2012. Gingerols of *Zingiber officinale* Enhance Glucose Uptake by Increasing Cell Surface GLUT4 in Cultured L6 Myotubes. Planta Medica. 78(14): 1549-1555.
6. Chakraborty, D., et al. 2012. [6]-Gingerol Isolated from Ginger Attenuates Sodium Arsenite Induced Oxidative Stress and Plays a Corrective Role in Improving Insulin Signaling in Mice. Toxicology Letters. 210(1): 34-43.

7. Tzeng, T.F. and Liu I.M. 2013. 6-gingerol Prevents Adipogenesis and the Accumulation of Cytoplasmic Lipid Droplets in 3T3-L1 Cells. Phytomedicine. 20(6): 481-487.

8. Liao, Y.R., et al. 2012. Anti-platelet Aggregation and Vasorelaxing Effects of the Constituents of the Rhizomes of *Zingiber officinale*. Molecules. 17(8): 8928-8937.

9. Mahady, G.B., et al. 2003 Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and the Gingerols Inhibit the Growth of Cag A+ Strains of *Helicobacter pylori*. Anticancer Research. 23: 3699-3702.

10. Pertz, H.H., et al. 2011. Effects of Ginger Constituents on the Gastrointestinal Tract: Role of Cholinergic M3 and Serotonergic 5-HT3 and 5-HT4 Receptors. Planta Medica. 77(10): 973-978.

11. Rahnama, P., et al. 2012. Effect of *Zingiber officinale* R. Rhizomes (Ginger) on Pain Relief in Primary Dysmenorrhea: a Placebo Randomized Trial. BMC Complementary and Alternative Medicine. 12(92): 1-8.

12. Attari, V.E., et al. 2016. Changes of Serum Adipocytokines and Body Weight Following *Zingiber officinale* Supplementation in Obese Women: a RCT. European Journal of Nutrition. 55(6): 2129-2136.

13. Paritakul, P., et al. 2006. The Effect of Ginger on Breast Milk Volume in the Early Postpartum Period: A Randomized, Double-Blind Controlled Trial. Breastfeeding Medicine. 11(7): 361-365.

14. Manusirivithaya, S., et al. 2004. Antiemetic Effect of Ginger in Gynecologic Oncology Patients Receiving Cisplatin. International Journal of Gynecological Cancer. 14: 1063-1069.

15. Zick, S.M., et al. 2009. Phase II Trial of Encapsulated Ginger as a Treatment for Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting. Supportive Care in Cancer. 17(5): 563-572.

16. Charoenchai, L., Saohin W., and Boonchoong, P. 2013. The Study of Chemical Compositions of Volatile Oil from Fresh Ginger Rhizomes and Ginger Capsules in Thailand. Isan Journal of Pharmaceutical Sciences. 9: 52-63.

17. United States Pharmacopeial Convention. 2015. The United States Pharmacopeia 38th -National Formular 33rd (USP 38-NF 33), Volume V: Ginger Capsules. Rockville, MD. pp. 6058-6060.

18. Chaiwat, C., Jamtaweekul J., and Inthongkaew P. 2014. Safety of Herbal Medicines in the National List. Bulletin of the Department of Medical Sciences. 59: 123-134.

19. British Pharmacopoeia Commission. 2015. British Pharmacopoeia: Microbiological Examination of Herbal Medicinal Products for Oral Use. The Stationery Office, London. pp. V497-V499.

20. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. 2011. Thai Pharmacopoeia II 2011, Volume I part 1: Limits for Microbial Contamination. Office of National Buddishm Press: Bangkok. pp. 637-641.

21. Arfeen, Z., et al., 1995. A Double-blind Randomized Controlled Trial of Ginger for the Prevention of Postoperative Nausea and Vomiting. Anaesthesia and Intensive Care Journal. 23: 449-452.

22. Chiang, H.M., et al. 2006. Ginger Significantly Decreased the Oral Bioavailability of Cyclosporine in Rats. 34(5): 845-855.

23. Jarup, L. and Akesson A. 2009. Current Status of Cadmium as an Environmental Health Problem. Toxicology and Applied Pharmacology. 238(3): 201-208.

24. Hall, A.J., et al. 2012. The Roles of *Clostridium difficile* and Norovirus among Gastroenteritis-Associated Deaths in the United States, 1999-2007. Clinical Infectious Diseases. 55(2): 216-223.

25. Gupta, S., et al. 2010. Volatile (As and Hg) and Non-volatile (Pb and Cd) Toxic Heavy Metals Analysis in Rhizome of *Zingiber officinale* Collected from Different Locations of North Western Himalayas by Atomic Absorption Spectroscopy. Food and Chemical Toxicology. 48(10): 2966-2971.

26. Phoungchandang, S. and Sertwasana A. 2010. Spray-drying of Ginger Juice and Physicochemical Properties of Ginger Powders. ScienceAsia. 36(1): 40-45.

27. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E. and Rahmat A. 2016. Changes in Antioxidant and Antibacterial Activities as well as Phytochemical Constituents Associated with Ginger Storage and Polyphenol Oxidase Activity. BMC Complementary and Alternative Medicine. 16(1): 382-392.

28. Marrelli, M., Menichini F., and Conforti F. 2015. A Comparative Study of *Zingiber officinale* Roscoe Pulp and Peel: Phytochemical Composition and Evaluation of Antitumour Activity. Natural Product Research. 29(21): 2045-2049.

29. Jayashree, E., Visvanathan R., and John Zachariah T. 2014. Quality of Dry Ginger (*Zingiber officinale*) by Different Drying Methods. Journal of Food Science and Technology. 51(11): 3190-3198.

30. Saohin, W., et al., 2006. Suitable Drying Conditions for Ginger Capsule Production. Isan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2(2): 9-16.