

อิทธิพลของอุณหภูมิ เวลา และตัวทำละลายที่มีต่อ การสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชัน*

สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม⁽¹⁾

¹⁾ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Email : skajorn3@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ เมทานอลและเอทานอล โดยใช้สภาวะในการสกัดที่ต่างกัน คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดอยู่ในช่วง 25°C – 50°C และระยะเวลาในการสกัดอยู่ในช่วง 30 นาที - 24 ชั่วโมง ปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จะถูกนำไปวิเคราะห์โดยเครื่อง ยูวี – วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ผลจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่า 1) สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดที่ให้ปริมาณสารเคอร์คูมินสูงสุด (80.95 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมขมิ้นแห้ง หรือ คิดเป็นร้อยละ 8.09 โดยน้ำหนัก) คือที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมงเมื่อใช้เมทานอลเป็นสารสกัด 2) สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดที่ให้ปริมาณสารเคอร์คูมินสูงสุด (91.52 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมขมิ้นแห้ง หรือ คิดเป็นร้อยละ 9.15 โดยน้ำหนัก) คือที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเมื่อใช้เอทานอลเป็นสารสกัด 3) ปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จะลดลงเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น 4) สารสกัดเคอร์คูมินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ได้

คำสำคัญ : ขมิ้นชัน, เคอร์คูมิน

* รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 27 มิถุนายน 2548 และได้รับบทความฉบับแก้ไขเมื่อวันที่ 29 พฤศจิกายน 2548

The Effect of Temperature, Time and Solvent on an Extraction of Curcumin from Turmeric^{*}

Somjai Kajorncheappunngam⁽¹⁾

¹⁾ Assistant Professor Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University

Email : skajorn3@yahoo.com

ABSTRACT

This research work is a study of the extraction of curcumin from turmeric. Curcumin was extracted by two organic solvents namely methanol and ethanol. The conditions of extraction are temperature (25°C – 50°C) and extraction time (30 minutes to 24 hours). After the extraction at each condition, the amount of curcumin was analyzed by UV/vis – spectrophotometer. The results showed that : 1) the optimum condition that gave the highest yield of curcumin (80.95mg/ g turmeric or 8.09% by wt..) is at 25°C and extraction time of 5 hours for methanol extraction. 2) the optimum condition that gave the highest yield of curcumin (91.52mg/ g turmeric or 9.15% by wt.) is at 25°C and extraction time of 2 hours for ethanol extraction. 3) the amount of extractable curcumin decreased as extraction temperature increased 4) the extractable curcumin can suppress the growth of fungi *Aspergillus Niger* effectively.

Keywords : turmeric,curcumin,solvent extraction

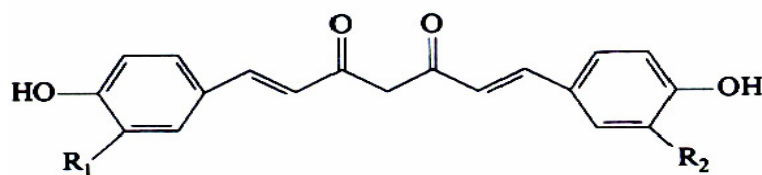
*

Original manuscript submitted: June 27, 2005 and Final manuscript received: November 29, 2005

บทนำ

ขมิ้นชันมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linn อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชสมุนไพรทรงคุณค่าที่มีอยู่ตามธรรมชาติมาช้านานเพราะด้วยคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้ทางยา จากรายงานการทดลองวิจัยและศึกษาค้นคว้าของสถาบัน รวมถึงหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่างๆ พบว่าขมิ้นสามารถใช้บำบัดรักษาอาการของโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับคนเราได้ไม่น้อยกว่า 50 โรค อีกทั้งยังสามารถนำมาใช้ปรุงแต่งสีส้ม [Pfeiffer et al., 2003] เพิ่มรสชาติของอาหารให้มีความน่ารับประทาน และมีคุณค่าทางโภชนาการมากยิ่งขึ้นเรียกได้ว่า เป็นทั้งอาหารและยา

สารเคมีที่พบในขมิ้นชัน จะพบในส่วนของน้ำมันหอมระเหยเป็นสำคัญ โดยทั่วไปแล้วขมิ้น จะมีน้ำมันหอมระเหยตั้งแต่ 2 – 6 % (v/w) น้ำมันมีสีเหลืองและเรืองแสงได้เล็กน้อย สารเคมีที่พบมากที่สุดคือ เทอร์มิโรน (termeron) ประมาณ 58 – 59 % นอกจากนี้ยังพบสารที่สำคัญอีกกลุ่มหนึ่งคือเคอร์คูมินนอยด์ (curcuminoids) ซึ่งประกอบด้วยสารที่สำคัญ 3 ตัว คือ เคอร์คูมิน (curcumin; 75 - 81%) เดสเมธอกซีเคอร์คูมิน (desmethoxycurcumin; 15-19%) และบิสเดสเมธอกซีเคอร์คูมิน (bisdesmethoxycurcumin; 2.2 – 6.6%) ทั้งเดสเมธอกซีเคอร์คูมินและบิสเดสเมธอกซีเคอร์คูมิน เป็นอนุพันธ์ของเคอร์คูมิน [Jayaprakasha et al., 2005] เนื่องจากมีสารเคอร์คูมินในปริมาณมากที่สุด ดังนั้นเพื่อความสะดวกในการเรียกชื่อจึงมักเรียกสารทั้งสามตัวนี้รวมกันว่า สารเคอร์คูมิน สูตรโครงสร้างของสารเคอร์คูมินนอยด์แสดงในรูปที่ 1 เคอร์คูมินซึ่งมีประมาณ 1.8 – 5.4 % เป็นสารสีเหลืองส้ม หรือสีเหลืองแดง ซึ่งเป็นสีของขมิ้นนั่นเอง สารนี้ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ และกรดอะซิติก [บัญญัติ, 2543] จากการศึกษาพบว่าเคอร์คูมินมีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ลดไขมันในเลือด ขับน้ำดี สมานแผล ยับยั้งการเกิดพิษต่อตับ ต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ต้านมะเร็ง ไส้และฆ่ายุง เป็นต้น [สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2543]



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างเคมีของ สารเคอร์คูมินนอยด์ [สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2544]

Curcumin : $R_1 = R_2 = OCH_3$

Desmethoxycurcumin : $R_1 = H, R_2 = OCH_3$

Bisdesmethoxycurcumin : $R_1 = R_2 = H$

การสกัดพืชสมุนไพรโดยทั่วไปจะนิยมใช้วิธีดั้งเดิม (traditional method) คือการสกัดด้วยไอน้ำ และการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน เอทานอล เมทานอล เป็นต้น ส่วนอีกวิธีหนึ่งคือการสกัดสารจากพืชสมุนไพรด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid) ซึ่งยังไม่ค่อยมีงานวิจัยที่ใช้วิธีนี้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพรแพร่หลายนักในประเทศไทยเพราะอุปกรณ์เครื่องมือมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นงานวิจัยเกี่ยวกับการสกัดสารจากพืชสมุนไพรในประเทศไทยจึงยังคงใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น งานวิจัยของ Wuthi-udomlert [Wuthi-udomlert et al., 1999] ได้สกัดน้ำมัน

หอมระเหยจากขมิ้นด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำและสกัดโดยใช้ 95% เอทานอล พบว่าสารเคอร์คูมินที่สกัดได้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนังบางชนิดได้ Tawatsin [Tawatsin et al., 2001] ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นด้วยกระบวนการกลั่นด้วยไอน้ำเช่นกันและนำผลผลิตน้ำมันหอมระเหยไปทดสอบการใส่ยุงพบว่ามีความเข้มข้นได้ 6-8 ชั่วโมง อีก 2 ปีต่อมา Vudhivanich [Vudhivanich, 2003] ได้สกัดสารจากขมิ้นด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ (40% – 95%) พบว่าสารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้

เนื่องจากขมิ้นเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์มากมายดังกล่าวข้างต้นอีกทั้งมีปลูกมากมายในประเทศไทยประกอบกับรัฐบาลพยายามส่งเสริมภูมิปัญญาชาวบ้านในการนำสมุนไพรมาสกัดทำเป็นยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและอาหารเสริม งานวิจัยเกี่ยวกับขมิ้นส่วนใหญ่จะเน้นการนำขมิ้นไปใช้ประโยชน์มากกว่าดังนั้นการศึกษาค้นคว้าของตัวแปรต่างๆ ที่ควบคุมกระบวนการสกัดสารเคอร์คูมินซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของขมิ้นจึงเป็นวัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยนี้ โดยงานวิจัยนี้จะทำการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกันในการสกัดภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิ และเวลาในการสกัดที่ต่าง ๆ กัน เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดให้ได้สารเคอร์คูมินมากที่สุดซึ่งอุณหภูมิ เวลาและชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์เป็นตัวแปรที่สำคัญที่ต้องคำนึงถึงในกระบวนการสกัดสาร จากนั้นจะนำสารสกัดเคอร์คูมินที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแอสเพอร์จิลลัส ซึ่งเป็นสาเหตุการทำให้อาหารเน่าเสีย ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะประโยชน์อย่างยิ่งต่อกระบวนการสกัดและต่อการขยายสเกลในการสกัดเคอร์คูมินจากขมิ้นและการนำสารเคอร์คูมินไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อไป

ขั้นตอนการทดลองและวิธีการทดลอง

การเตรียมวัตถุดิบขมิ้น

นำเหง้าขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn) มาล้างทำความสะอาดผึ่งแห้งผานเป็นแผ่นบาง ๆ โดยไม่ต้องปลอกเปลือกหลังจากนั้นนำไปอบในตู้ที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำขมิ้นชันที่อบแห้งแล้วไปเข้าเครื่องปั่นเพื่อบดเป็นผงแล้วเก็บผงขมิ้นชันที่ได้ใส่ลงในภาชนะขวดแก้วสีชาที่แห้งแล้วปิดฝาให้สนิท

การทำกราฟมาตรฐานของเคอร์คูมิน

1. การทำกราฟมาตรฐานของเคอร์คูมินโดยใช้ เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

เตรียมโดยละลายสารมาตรฐานเคอร์คูมิน (ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Fluka ประเทศสวิสเซอร์แลนด์) 0.01 กรัม ใน 99.8 % เมทานอล (ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Lab Scan Asia, ประเทศไทย) 25 มิลลิลิตร จากนั้นเปิดสารละลายเคอร์คูมินที่ได้มา 20 , 50 , 100 , 120 และ 150 ไมโครลิตรใส่ลงในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับ ปริมาตรด้วยเมทานอลจนมีปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นเป็น 0.8 2 4 4.8 และ 6 มิลลิกรัม/ลิตรตามลำดับ หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร [โรเชิต, 2547] (ได้ทำการทดลองตรวจสอบก่อนแล้วพบว่าความยาวคลื่นในช่วง 200-500 นาโนเมตร สารเคอร์คูมินสามารถดูดกลืนแสงได้มากที่สุดที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้นำไป

สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) กับค่าความเข้มข้นของสารละลายเคอร์คูมิน (แกน x) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/ลิตร

2. การทำกราฟมาตรฐานของเคอร์คูมินโดยใช้ เอทานอลเป็นตัวทำละลาย
ทำการทดลองเหมือนข้อ (1) แต่ใช้ 99.7 % เอทานอล (ผลิตภัณฑ์ของบริษัท BDH Laboratory, ประเทศอังกฤษ) แทน 99.8 % เมทานอล

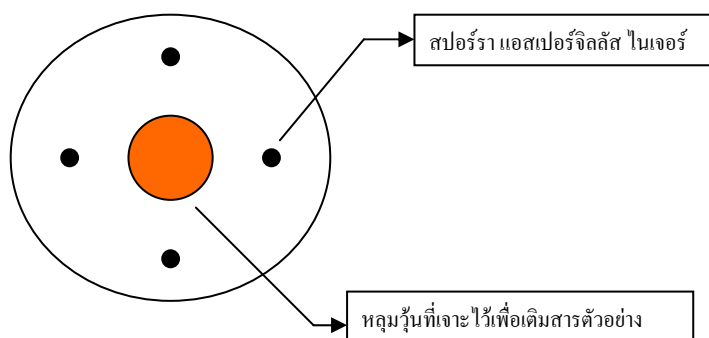
การสกัดสารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันแห้งที่สภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ โดยใช้ เมทานอลและเอทานอล เป็นตัวทำละลาย

1. ชั่งขมิ้นชันแห้งปริมาณ 0.3 กรัม ละลายใน 99.8% เมทานอลปริมาตร 10 มิลลิลิตรแล้วเก็บสารตัวอย่างนี้ไว้ในขวดแก้วสีชาและปิดฝาให้สนิทเขย่าให้เข้ากันโดยเขย่าบ่อยๆ และทำการเตรียมตัวอย่างแบบเดียวกันนี้ ทั้งหมด 6 ขวด
2. เก็บขวดแก้วสีชาในข้อ (1) ไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ(25°C) และทำการเก็บสารละลายตัวอย่าง ที่เวลา 30 นาที, 1 ชั่วโมง , 2 ชั่วโมง , 5 ชั่วโมง , 10 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง จากขวดที่ 1 2 3 4 5 และขวดที่ 6 ตามลำดับ ซึ่งในการเก็บแต่ละครั้งต้องทำการกรองด้วยกระดาษกรองแล้วนำสารละลายที่ได้ไปเข้าเครื่องเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาที
3. หลังจากนั้นปิเปตสารตัวอย่างจากข้อ (2) ในแต่ละชุดการทดลองมา 0.2 มิลลิลิตรโดยใช้ไมโครปิเปตใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นตวงตัวทำละลาย 99.8% เมทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ในบีกเกอร์ที่ใส่สารตัวอย่างไว้คนให้เข้ากันโดยใช้แท่งแก้วคนสาร
4. ปิเปตสารตัวอย่างแต่ละชุดการทดลองที่ได้จากข้อ (3) มา 0.2 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย 99.8% เมทานอลจนมีปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร
5. นำสารตัวอย่างแต่ละชุดการทดลองที่ได้จากข้อ(4)ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดได้โดยใช้เครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารสกัดโดยใช้ค่าความยาวคลื่นเท่ากับ 420 นาโนเมตร [โฆษิต, 2547]
6. นำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของแต่ละตัวอย่าง ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้ (จากแกน X)
7. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ (1) – ข้อ (6) แต่เปลี่ยนตัวทำละลายจาก 99.8% เมทานอลเป็น 99.7% เอทานอล
8. ทำการทดลองเหมือนกับข้อ (1) ถึงข้อ (7) ทุกประการแต่ให้ทำการทดลองเก็บสารตัวอย่างในขวดแก้วสีชาในข้อ (1)ไว้ในเครื่องอ่างน้ำ (water bath) ที่อุณหภูมิ 40 °C และ 50°C โดยในแต่ละอุณหภูมิใช้ชุดการทดลองอย่างละ 6 ชุด

การทดลองการยับยั้งเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ ด้วยสารสกัดเคอร์คูมินจากขมิ้นชันแห้ง

1. ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) ลงในจานเพาะเชื้อ (plate)

2. ทำการเจาะหลุมวงอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ(1)ที่ตำแหน่งตรงกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำแบบอย่างเดียวกันนี้ 16 จาน (plate)
3. เชียสปอร์ของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ ที่เลี้ยงไว้ด้วยลวดเขี่ยเชื้อ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) โดยทำการถ่ายสปอร์ลงในจานรอบหลุมวงที่เจาะไว้ รวม 4 ตำแหน่ง และในแต่ละตำแหน่งให้สปอร์ของเชื้อราอยู่ตรงกลางระหว่างขอบหลุมวงกับขอบของจานอาหารเลี้ยงเชื้อดังแสดงในรูปที่ 2 ทำแบบเดียวกันทั้ง 16 จาน
4. เติมสารที่เตรียมไว้ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ โดยการเติมแบ่งออกเป็น 4 แบบ ดังนี้
 - ชุด C_0 ไม่เติมสารใดๆลงในหลุมวงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - ชุด C_1 เติมตัวทำละลาย 99.7% เอทานอลปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในหลุมวงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - ชุด C_2 เติมสารละลายเคอร์คูมินมาตรฐาน 100 ไมโครลิตรลงในหลุมวงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
 - ชุด C_3 เติมสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากขมิ้นชันแห้งปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในหลุมวงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. ปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบรรจุในถุงพลาสติกมัดด้วยหนังยางแต่ไม่ต้องแน่นมากนักไปบ่มในตู้อบตั้งอุณหภูมิที่ 25°C ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วันแล้วนำออกจากตู้อบเพื่อสังเกตการณ์เจริญเติบโตของเชื้อรา



รูปที่ 2 แสดงตำแหน่งการวางของสปอร์เชื้อราและสารที่ใช้ในการทดสอบ

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ผลของชนิดของตัวทำละลายและระยะเวลาในการสกัดที่มีต่อการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชันแห้ง

จากการทดลองทำการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชันแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (25°C , 40°C และ 50°C) ด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ 99.8% เมทานอล และ 99.7% เอทานอลโดยใช้ระยะเวลาในการสกัดที่ต่าง ๆ กันและ เมื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้โดยวัดการดูดกลืนคลื่นแสง

ของสารที่สกัดได้ด้วยเครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ความยาวคลื่นแสง ($\lambda_{\max}$) ที่ 420 นาโนเมตรแล้วนำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารที่สกัดได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานจะได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 และผลการคำนวณปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดได้แสดงไว้ (ตัวเลขที่อยู่ในวงเล็บ) ในตารางที่ 1 เช่นกัน

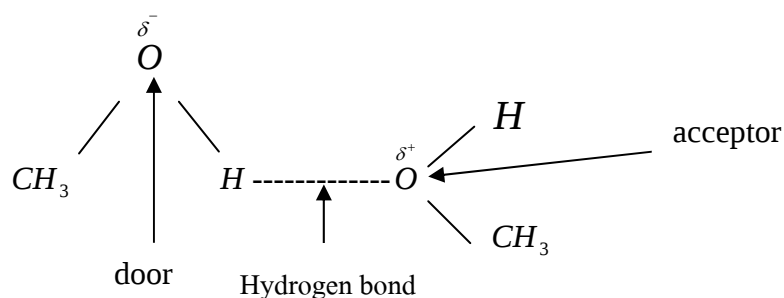
ระยะเวลา ในการสกัด	ความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้ (mg/l)					
	25°C		40°C		50°C	
	เมทานอล	เอทานอล	เมทานอล	เอทานอล	เมทานอล	เอทานอล
0.5 ชม.	1.520(65.87)	1.834(79.47)	1.447(62.70)	1.829(79.26)	1.314(59.94)	1.517(65.74)
1 ชม.	1.645(71.28)	1.991(86.28)	1.637(70.94)	1.827(79.17)	1.377(59.67)	1.643(71.20)
2 ชม.	1.681(72.84)	2.112(91.52)	1.650(71.50)	1.934(83.81)	1.401(60.71)	1.720(74.53)
5 ชม.	1.868(80.95)	2.081(90.18)	1.864(80.77)	1.918(83.11)	1.591(68.94)	1.688(73.15)
10 ชม.	1.924(83.37)	2.075(89.92)	1.869(80.99)	1.933(83.76)	1.579(68.42)	1.700(73.67)
24 ชม.	1.933(83.76)	2.151(93.21)	1.874(81.21)	1.925(83.42)	1.561(67.64)	1.687(73.10)

* ตัวเลขในวงเล็บคือปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดได้มีหน่วยเป็น (มิลลิกรัมสารเคอร์คูมิน / กรัมขมิ้นแห้ง)

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากขมิ้นชันแห้ง เมื่อใช้ตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอล ที่อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดต่าง ๆ

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลาในการสกัดที่เท่ากันเอทานอล จะเป็นตัวที่ละลายสารเคอร์คูมินได้ดีกว่าเมทานอลโดยที่การละลายเกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเอทานอล หรือเมทานอล กับสารเคอร์คูมิน (ดูโครงสร้างเคมีสารเคอร์คูมินในรูปที่ 1 ประกอบ) สารเคอร์คูมิน (น้ำหนักโมเลกุล = 368) เอทานอล (น้ำหนักโมเลกุล = 46) เมทานอล (น้ำหนักโมเลกุล = 32) ต่างก็เป็นสารประกอบอินทรีย์เหมือนกันจึงทำให้สารเคอร์คูมินสามารถละลายในเอทานอล หรือเมทานอล ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์โมเลกุลสั้น (low chain alcohol) [Chassagnez – Mendez et al., 2000] ได้ดีกว่าน้ำซึ่งไม่ใช่สารประกอบอินทรีย์ ตามหลักการละลายกันได้ดี (like dissolves like) นอกจากนี้ทั้งเอทานอลและเมทานอลต่างก็มีความสามารถในการสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ดีทั้งคู่ (strong hydrogen bonding) [Burke, 1984] แต่เนื่องจากโมเลกุลเมทานอลมีขนาดเล็กและเบาจึงสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่าง-OHโปรตรอนของเมทานอลโมเลกุลหนึ่งกับออกซิเจนอะตอมของเมทานอลอีกโมเลกุลหนึ่งได้ดังแสดงในรูปที่ 3 จึงส่งผลให้ความสามารถในการละลายสารเคอร์คูมินลดลงเมื่อเทียบกับเอทานอล [Stavroudis and Blank, 1989; Caduceus MCT, 2005] ผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมากขึ้นปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นไม่ว่าจะใช้เมทานอล หรือเอทานอลในการสกัดทั้งนี้เป็นเพราะว่ายิ่งเวลายาวนานขึ้นก็ทำให้ตัวทำละลายทั้งเมทานอลและเอทานอลสามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อของขมิ้นชันได้มากขึ้นทำให้ได้ปริมาณของสารเคอร์คูมินละลายออกมาได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลการทดลองจะแสดงให้เห็นว่าเมื่อระยะเวลาในการสกัดมากขึ้นทำให้ได้ปริมาณสารสกัดเคอร์คูมินมากขึ้นก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาในแง่ของเศรษฐศาสตร์แล้วระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดควรจะอยู่ในช่วง 5 ชั่วโมงแรกสำหรับการสกัดด้วยเมทานอลและ 2 ชั่วโมงสำหรับ

การสกัดด้วยเอทานอล เพราะวาระยะเวลาการสกัดที่ยาวนานกว่า 5 ชั่วโมง (สำหรับเมธานอล) หรือ 2 ชั่วโมง (สำหรับเอทานอล) นั้นปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้ไม่ได้เพิ่มขึ้นมากนักเมื่อเทียบกับระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ ที่ระยะเวลาในการสกัดหลังจาก 5 ชั่วโมง (สำหรับเมธานอล) หรือ 2 ชั่วโมง (สำหรับเอทานอล) อัตราเร็วในการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชันค่อนข้างช้า เมื่อเทียบกับในช่วงต้น ๆ ของระยะเวลาที่ทำการสกัด



รูปที่ 3 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างเมธานอล 2 โมเลกุล [Caduceus MCT, 2005]

ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชันแห้ง

จากตารางที่ 1 เมื่อพิจารณาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่อการสกัดพบว่าที่ระยะเวลาการสกัดที่เท่ากันแต่ถ้าอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้นความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จะมีแนวโน้มลดลงทั้งในกรณีเมื่อใช้เมธานอล หรือเอทานอล เป็นตัวสกัด แต่ปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดได้ โดยใช้เมธานอลหรือเอทานอลที่ 40°C จะต่ำกว่าที่ 25°C ไม่มากนักเมื่อเทียบกับที่ 50°C ปริมาณสารเคอร์คูมินที่ได้จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการสกัดที่ 25°C เช่น ที่ระยะเวลาการสกัด 2 ชั่วโมงใช้เมธานอลในการสกัด จะได้สารเคอร์คูมิน 72.84 มิลลิกรัม 71.50 มิลลิกรัม และ 60.71 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมขมิ้นแห้ง ที่อุณหภูมิ 25°C , 40°C และ 50°C ตามลำดับ ในขณะที่ใช้เอทานอลในการสกัดจะได้สารเคอร์คูมิน 91.52 มิลลิกรัม (ที่ 25°C) 83.81 มิลลิกรัม (ที่ 40°C) และ 74.53 มิลลิกรัม (ที่ 50°C) ต่อ 1 กรัมขมิ้น ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าที่อุณหภูมิสูงมาก ๆ เคอร์คูมินไม่เสถียรทำให้สารเคอร์คูมินเสื่อมสภาพไป [Chassagnez – Mendez et al., 2000] จึงทำให้ปริมาณสารเคอร์คูมินที่สกัดได้ลดลงที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นเมื่อพิจารณาในแง่ของชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัด อิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดแล้วสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชัน คือ ใช้เอทานอลเป็นตัวสกัดที่สภาวะอุณหภูมิ 25°C และ ระยะเวลาในการสกัด 2 ชั่วโมงจะได้สารเคอร์คูมิน 91.52 มิลลิกรัม ต่อ 1 กรัมขมิ้นแห้งหรือ คิดเป็นร้อยละ 9.15 โดยน้ำหนัก

ผลการใช้สารสกัดเคอร์คูมินในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์

ผลการทดลองการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4 - รูปที่ 7 โดยรูปที่ 4 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ บนจานเพาะเชื้อเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยไม่มีการเติมสารใด ๆ ลงในหลุมตรงกลางของจานอาหารเลี้ยงเชื้อจะเห็นได้ว่าเชื้อรา มีการเจริญเติบโตปกติหลังจากระยะเวลา 3 วัน สังเกตเห็นได้จากการเจริญเติบโตของเชื้อราจะมีการขยายออกไปทุกทิศทางจากตำแหน่งเดิมเริ่มต้นที่มีการถ่ายสปอร์ของเชื้อราลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ตำแหน่งในวันแรก และการเจริญเติบโตขยายออกไปเป็นวงจนไปถึงขอบของจาน และบริเวณหลุมตรงกลางจาน

รูปที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ หลังจากระยะเวลา 3 วันโดยที่หลุมตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติมเอทานอลบริสุทธิ์ 99.7% พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อราไม่ค่อยดีเท่าที่ควร ทั้งนี้เพราะเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าเอทานอลเป็นสารที่มีคุณสมบัติฆ่าเชื้อโรคได้ระดับหนึ่ง ดังนั้นจะสังเกตได้ว่าบริเวณใกล้ ๆ หลุมตรงกลางจานและบริเวณใกล้เคียงจะไม่มีเชื้อราเกิดขึ้น ทั้งนี้เพราะบริเวณดังกล่าวเป็นบริเวณที่เอทานอลแพร่กระจายไปถึงและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา



รูปที่ 4 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ เมื่อไม่มีการเติมสารใด ๆ ลงในหลุมตรงกลางจาน



รูปที่ 5 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ไนเจอร์ เมื่อมีการเติมเอทานอลลงในหลุมตรงกลางจาน



รูปที่ 6 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ในเจอร์ เมื่อมีการเติมสารเคอร์คูมินมาตรฐานลงในหลุมตรงกลางจาน



รูปที่ 7 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ในเจอร์เมื่อมีการเติมสารสกัดเคอร์คูมินจากขมิ้นลงในหลุมตรงกลางจาน

รูปที่ 6 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ในเจอร์ หลังจากระยะเวลา 3 วัน โดยที่หลุมตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติมสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อราไม่ค่อยดีเท่าที่ควรเช่นกันโดยเฉพาะตรงกลางหลุมจะไม่มี การเจริญเติบโตของเชื้อราแสดงว่าสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมินยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้

รูปที่ 7 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา แอสเพอร์จิลลัส ในเจอร์เป็นระยะเวลา 3 วัน โดยที่หลุมตรงกลางจานเพาะเชื้อมีการเติมสารสกัดเคอร์คูมินจากขมิ้นชัน ที่ใช้ 99.7% เอทานอลเป็นตัวสกัด (ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) และหลังจากการสกัดเสร็จแล้วได้ทำการระเหยเอทานอลออกจากสารเคอร์คูมินให้เหลือน้อยที่สุดก่อนที่จะนำสารเคอร์คูมินมาเติมลงในหลุมตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคอร์คูมินที่ระเหยเอทานอลออกไปแล้วจะมีลักษณะเหลืองและข้น จากรูปที่ 7 จะสังเกตเห็นว่าการเจริญเติบโตของเชื้อราจะไม่ค่อยเต็มที เมื่อเทียบกับผลที่แสดงในรูปที่ 4 โดยเฉพาะบริเวณหลุมตรงกลางจานและบริเวณใกล้ๆ หลุมที่มีสารเคอร์คูมินอยู่ในปริมาณค่อนข้างมากกว่าบริเวณอื่นจะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนว่าไม่มีเชื้อราเกิดขึ้นแต่บริเวณที่อยู่ห่างจากหลุมตรงกลางมากๆ เชื้อรายังสามารถเจริญเติบโตได้ ทั้งนี้เพราะสารเคอร์คูมินที่เติมลงไป ในหลุมตรงกลางจานมีความหนืดค่อนข้างสูง จึงไม่สามารถแพร่กระจายไปได้ไกลจากหลุมตรงกลางมากนักเมื่อเทียบกับเอทานอล 99.7% แต่จะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนว่าในรัศมีมีห่างจากขอบหลุมตรงกลางประมาณ 3-4 มิลลิเมตรจะไม่มีเชื้อราเกิดขึ้นเลย ดังนั้นแสดงว่าสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากขมิ้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแอสเพอร์จิลลัส ในเจอร์ได้

สรุปผลการทดลอง

1. ปริมาณเคอร์คูมินที่สกัดได้จากขมิ้นชันแห้งจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการสกัดโดยระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสมสำหรับการสกัดที่อุณหภูมิห้อง (25°C) คือ 5 ชั่วโมงและ 2 ชั่วโมงเมื่อใช้เมทานอลและเอทานอลเป็นตัวสกัดตามลำดับและเอทานอลเป็นตัวทำลายที่เหมาะสมในการสกัดสารเคอร์คูมินมากกว่า เมทานอล

2. ที่อุณหภูมิสูงปริมาณเคอร์คูมินที่สกัดได้จะลดลงทั้งในกรณีที่ใช้เมธานอลหรือเอทานอลเป็นตัวสกัด ดังนั้นการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชันจึงควรทำที่อุณหภูมิห้องมากกว่าที่อุณหภูมิสูง
3. สารสกัดเคอร์คูมินจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราแอสเพอร์จิลลัสในเจอร์ ได้

งานวิจัยที่คาดว่าจะทำต่อ

1. ทำการศึกษาวิเคราะห์เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากขมิ้นชันที่ได้จากแหล่งปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(ซึ่งเป็นพื้นที่นำมาใช้ในการทดลองนี้) กับขมิ้นจากแหล่งปลูกจากภูมิภาคอื่น ๆ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำแหล่งปลูกขมิ้นที่เหมาะสมในการนำมาสกัดหรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของขมิ้นต่อไป
2. ศึกษาตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ เช่น เฮกเซน ปีโตรเลียมอีเทอร์ เพื่อใช้ในการสกัดสารเคอร์คูมิน และเปรียบเทียบปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้จากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เพื่อจะได้ทราบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้สกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้น
3. ควรศึกษาการสกัดสารเคอร์คูมินโดยใช้เทคนิคการสกัดแบบอื่น ๆ เช่น เทคนิคการใช้ของไหลวิกฤตยิ่งยวดในการสกัด เพื่อเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้

เอกสารอ้างอิง

- โมษิต ประเสริฐสุต. 2547. อิทธิพลของระดับความสูงของพื้นที่และอายุการเก็บเกี่ยวต่อผลผลิต ปริมาณน้ำมันหอมระเหยและสารเคอร์คูมินในขมิ้นชัน.วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตศึกษา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2543. ขมิ้น. [ออนไลน์] [อ้างถึงเมื่อ 4 มกราคม 2548] เข้าถึงได้จาก: http://www.elib-online.com/docyors/herb_curcuma01.html
- สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข , ขมิ้นชัน **Curcuma longa L.** , ปี 2544 , หน้า 21-58.
- สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2543. สมุนไพรไทยที่ใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐาน : ขมิ้น. [ออนไลน์] [อ้างถึงเมื่อ 15 ธันวาคม 2547] เข้าถึงได้จาก : <http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/curcuma.html>
- Burke J. 1984. "Solubility Parameters: Theory and Application", *The Book and Paper Group Annual*, vol 3 : 13- 58.
- Caduceus MCT. 2005. **Alcohol properties**. [online] [cited 10 October 2005]. Available from : http://www.scientia.org/cadonline/Organic_Chem/alcohols/properties.ASP
- Chassagnez – Mendez A.L., Correa N.C.F., Franca L.F., Machado N.T. and Arujo M.E. 2000. **A mass transfer model applied to the supercritical extraction with CO₂ of curcumins from turmeric rhizomes**. Braz. J. Chem. Eng. 17 (13) : 1-19.
- Jayaprakasha G.K., Jagan Mohan Rao L. and Sakariah K.K. 2005. (article in press) **Chemistry and biological activities of C. longa**. Food sc. & tech.
- Pfeiffer E., Hohle S., Solyom A.M. and Metzler M. 2003. **Studies on the stability of turmeric constituents**. J. Food Eng. 56 : 257-259.
- Stavroudis C. and Blank T. 1989. **Solvent & sensibility**. Waac Newsletter. 11 (2) : 2-10.
- Tawasin A., Wratten S.D., Scott R.R., Thavara U. and Techadamrongsin Y. 2001. **Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors**. J. vector Ecology. 26 (1) : 76-82.
- Vudhivanich S. 2003. **Potential of some Thai herbal extracts for inhibiting growth of Ralstonia**

***solanacearum*, the causal agent of bacterial wilt of tomato.** Kamphaengsaen Acad. J. 1(2) : 70-76.

Wuthi-udomlert M., Grisanapan W., Luanratana O. and Caichompoo W. **Antifungal activity of *curcuma longa* grown in Thailand.** Presented as a poster at Joint international tropical medicine meeting. 4-6 August, 1999.