

วิธีตรวจสอบเบื้องต้นเพื่อหาปริมาณสารให้ความหวาน
(รูปสตีวิโอไซด์ และรีบาวดิโอไซด์ เอ) จากหญ้าหวาน
ต่างแหล่งปลูก

นางสาวปราง อินทฤทธิ์
นางสาววุฒิพร เอี่ยมกำแพง

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2555

SCREENING TEST FOR DETERMINATION OF
SWEETENING SUBSTANCE(AS STEVIOSIDE AND
REBAUDIOSIDE A) CONTENT IN *Stevia rebaudiane*
BERTONI FROM VARIOUS PLANTED

MISS PRANG INTHARIT

MISS WUTTIPORN LAMGAMPANG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFIMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR

THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY

FACULTY OF PHARMACY

MAHIDOL UNIVERSITY

2012

โครงการพิเศษ

เรื่อง วิธีตรวจสอบเบื้องต้นเพื่อหาปริมาณสารให้ความหวาน (รูปสตีวิโอไซด์ และรีบาวิตไอไซด์ เอ) จากหญ้าหวานต่างแหล่งปลูก

ลายเซ็น

.....

(นางสาวปราง อินทฤทธิ์)

ลายเซ็น

.....

(นางสาววุฒิพร เอี่ยมกำแพง)

ลายเซ็น

.....

(รศ.ดร.พิสมัย กุลกาญจนาวร)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ลายเซ็น

.....

(ผู้ช่วยอาจารย์สถินทิพย์ จารุสินธนากร)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

วิธีตรวจสอบเบื้องต้นเพื่อหาปริมาณสารให้ความหวาน (รูปสตีวิโอไซด์ และรีบาดิโอไซด์ เอ) จากหญ้าหวานต่างแหล่งปลูก

ปราง อินทฤทธิ์, วุฒิพร เขี่ยมกำแพง

อาจารย์ที่ปรึกษา: พิสมัย กุลกาญจนวรร, สลันทิพย์ จารุสินธนากร

ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: หญ้าหวาน, Thin Layer Chromatography, Stevioside, Rebaudioside A

โครงการพิเศษนี้ จัดทำขึ้นเพื่อพัฒนาวิธีตรวจสอบหาปริมาณสารให้ความหวานในรูปของ สตีวิโอไซด์ (Stevioside) และรีบาดิโอไซด์ เอ (Rebaudioside A) จากใบหญ้าหวานแห้ง ซึ่งต้อง เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว โดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบางและเครื่องเดนซิโตมิเตอร์ (Thin Layer Chromatography (TLC) - Densitometry) โดยเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการแยกสารคือ เอทิลอะซิเตท: เอทานอล: น้ำ ในอัตราส่วน 20:5:3 และใช้สารละลายอะนิลีนไฮโดรคลอไรด์ ในการตรวจสอบสารสตีวิโอไซด์และรีบาดิโอไซด์ เอ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ทำการประเมินความถูกต้อง พบว่าร้อยละของการคืนกลับของสตีวิโอไซด์และรีบาดิโอไซด์ เอ เท่ากับ 97.87 (ค่าสัมพันธการเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.18) และ เท่ากับ 97.93 (ค่าสัมพันธการเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.69) ตามลำดับ ความแม่นยำของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน และต่างวันกัน คำนวณได้จากค่าสัมพันธการเบี่ยงเบนมาตรฐาน พบว่า สตีวิโอไซด์มีค่าเท่ากับ 0.71-3.50 และ 2.51-2.93 ตามลำดับ และ รีบาดิโอไซด์ เอ มีค่าเท่ากับ 0.54-2.62 และ 2.36-3.34 ตามลำดับ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (สตีวิโอไซด์ $y = 561.15x + 2039.5$ $r^2 = 0.9916$; รีบาดิโอไซด์ เอ $y = 357.3x + 6616.5$ $r^2 = 0.9905$) เมื่อสกัดใบหญ้าหวานแห้งด้วยเอทานอล (95%) ที่มีอุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมงและนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณจากการทดลองพบว่า ใบหญ้าหวานที่นำมาสกัด มีปริมาณของสตีวิโอไซด์ 3.25 มิลลิกรัม และรีบาดิโอไซด์ เอ 3.60 มิลลิกรัม ซึ่งคิดเป็น 0.01% ของปริมาณใบหญ้าหวานแห้ง

Abstract

Screening test for determination of sweetening substances (as stevioside and rebaudioside A) content in *Stevia rebaudiana*Bertoni from various planted areas

Prang Intharit, Wuttipornlamgampang

Project advisor: Pisamai Kulkantanatom, Salinhip Jarusintanakorn

Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Key words: *Stevia rebaudiana* Bertoni, Thin Layer Chromatography, Stevioside, Rebaudioside A

The aim of this special project is to develop a simple and rapid method for determination the content of stevioside and rebaudioside A, the sweetening substances in dried leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. By using Thin Layer Chromatography-Densitometry (TLC-densitometry), the TLC conditions were composed of ethyl acetate: ethanol: water (20: 5: 3) as mobile phase, then reacted with anisaldehyde reagent for visualization and detected at 540 nm. This method was validated for accuracy (mean recovery of stevioside and rebaudioside A were 97.87% (%RSD 0.18) and 97.93% (%RSD 0.69) respectively), For Intra-day precision results were 0.71-3.50%RSD for stevioside and 0.54-2.62%RSD for rebaudioside A. For Inter-day precision results were 2.51-2.93 %RSD for stevioside and 2.36-3.34 for rebaudioside A . The linearity for stevioside was $y=561.15x + 2039.5$, which $r^2=0.9916$ and for rebaudioside A was $y = 357.3x+6616.5$ which $r^2=0.9905$. The extraction of active sweeteners was done by maceration with ethanol at 80°C for 4 hours, and the extract was identified and quantitated. The content of Stevioside and Rebaudioside A in dried stevia leaves were 3.25 mg and 3.60 mg, respectively, which were about 0.01% w/w.