

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์      เทคนิคทางโครมาโทกราฟีในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์

เครื่องสำอางจากพืชในสกุลเคอร์คูมา

ผู้เขียน      นางสาวกฤษณา พูลพานิชอุบลัมภ์

ปริญญา      วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. ชฎารัตน์ อัมพะเสวต

ประธานกรรมการ

รศ.ดร. ญานี พงษ์ไพบูลย์

กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาเทคนิคทางโครมาโทกราฟี 3 วิธี ได้แก่ thin layer chromatography

(TLC), high performance liquid chromatography (HPLC) และ gas chromatography

(GC) เพื่อช่วยจำแนกชนิดของพืชในสกุลเคอร์คูมาที่มีการใช้ค่อนข้างมากเพื่อเป็นยาและ

ส่วนประกอบในเครื่องสำอางในประเทศไทย ได้แก่ ว่านชักมดลูก (*Curcuma elata*) ว่านนางคำ

(*Curcuma aromatica*) ขมิ้นขม (*Curcuma amarissima*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.)

และขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) โดยได้ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์และนำพืชแต่ละชนิดมาจาก

แหล่งปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ที่ต่างกัน 2 แหล่ง จากสภาวะ 2 สภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ normal

phase TLC ได้รูปแบบขององค์ประกอบทางเคมี (fingerprints) ของสารสกัดเอทานอลจากเหง้า

ของพืชทั้งห้า โดยทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเคอร์คิวมินอยด์ ซึ่งประกอบด้วย curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin พบว่าสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่มีสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ ยกเว้นสารสกัดจากว่านชักมดลูก อีกทั้งยังพบว่า TLC chromatographic fingerprints ของว่านนางคำและขมิ้นขม มีรูปแบบเฉพาะตัวทำให้สามารถจำแนกพืช 2 ชนิดนี้ได้ แต่ไม่สามารถจำแนก TLC fingerprints ของขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยออกจากกันได้ เนื่องจากมีลักษณะใกล้เคียงกัน เมื่อนำสารสกัดมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค RP-HPLC โดยใช้คอลัมน์ Inertsil® ODS-3 C<sub>18</sub> ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็นส่วนผสมของอะซิโตนในไตรล์ กับ 0.25 % กรดอะซิติก แบบ gradient elution และทำการตรวจวัดสารที่แยกได้ด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร (0-13 นาที) และ 250 นาโนเมตร (13-35 นาที) พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดมี curcumin เป็นองค์ประกอบหลักยกเว้นสารสกัดว่านชักมดลูก ซึ่งพืชที่พบปริมาณ curcumin มากที่สุดคือ ขมิ้นชัน ตามด้วย ขมิ้นอ้อย, ว่านนางคำ และขมิ้นขม ตามลำดับ ความแตกต่างระหว่างสารสกัดว่านนางคำและขมิ้นขมแยกได้จากรูปแบบขององค์ประกอบรองที่ไม่เหมือนกัน แต่อย่างไรก็ตาม RP-HPLC ไม่สามารถบอกความแตกต่างของขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยได้ เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยที่ถูกสกัดด้วยไอน้ำมาวิเคราะห์ห้องค์ประกอบโดยเทคนิค GC ซึ่งมี

เครื่องตรวจวัดเป็น Flame-Ionization Detector (FID) ผ่านคอลัมน์ชนิดซิลิกาแคปปีลารี DB-1 ยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร และมีตัวพาเป็นแก๊สไนโตรเจน พบว่า พืชในสกุลเคอร์คูมาทั้ง 5 ชนิดมี GC fingerprints ของน้ำมันหอมระเหยที่มีลักษณะแตกต่างกัน โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยสามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน ดังนั้นการ

วิเคราะห์โดยเทคนิคทั้ง 3 ร่วมกัน สามารถช่วยจำแนกชนิดของพืชในสกุลเคอร์คูมาได้ นอกจากนั้น

การศึกษาโดยเทคนิค GC-MS ยังสามารถยืนยันชนิดและจำแนกชนิดของพืชในสกุลเคอร์คูมาได้

โดยอาศัยความแตกต่างจากองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยของพืช นอกจากนั้นได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ของสารสกัดว่านนางคำในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางครีมและเจล ด้วยเทคนิค RP-HPLC รวมถึงได้ทำการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดและค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ความแม่นยำ และความถูกต้อง พบว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่วิเคราะห์ได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว มีค่าความแม่นยำ และความถูกต้องที่ยอมรับได้ สามารถนำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์เคอร์คิวมินอยด์ในงานประจำ โดยสามารถใช้ในการควบคุมคุณภาพได้ทั้งวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีองค์ประกอบสำคัญเป็นสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

**Thesis Title** Chromatographic Techniques for Quality Control of Raw Materials and Cosmetic Products from *Curcuma* spp.

**Author** Miss. Kitsana Poonpanitupatam

**Degree** Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

**Thesis Advisory Committee**

Asst. Prof. Dr. Chadarat Ampasavate

Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Yanee Pongpaibul

Member

**ABSTRACT**

Three chromatographic techniques i.e. thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC) were studied for supporting in the identification of plants in *Curcuma* species which are frequently used as medicinal and cosmeceutical agents in Thailand, i.e. “Wan chak motluk” (*Curcuma elata*); “Wan nang kham” (*Curcuma aromatica*.); “Khamin khom” (*Curcuma amarissima*); “Khamin chan” (*Curcuma longa* Linn.) and “Khamin oi” (*Curcuma zedoaria*). Each identified species was obtained from two different sources in Chiang Mai Province. Normal phase-TLC chromatographic fingerprints of five alcoholic extracts of the *Curcuma* spp. were demonstrated with two appropriate developing solvent systems. The components in five extracts were separated and compared with standard curcuminoids which consisted of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. The absence of curcuminoids could distinguish *C. elata* from the others. The fingerprints of *C. aromatica* and *C. amarissima* were distinguishable, while the fingerprints of *C. longa* and *C. zedoaria* are closely resembled. Fingerprints of the *Curcuma* spp. rhizome extracts were also obtained from the reversed phase-HPLC (RP-HPLC) (Inertsil® ODS-3 C<sub>18</sub>

column), using gradient elution with the acetonitrile and 0.25% acetic acid as a mobile phase at a flow rate of 1.0 ml/min, with the UV-detection at 425 nm (for 0-13 min) and 250 nm (for 13-35 min). Curcumin was found to be a major compound in all extracts, except the extract of *C. elata*. It was found that *C. longa* contained the highest content of curcumin followed by *C. zedoaria*, *C. aromatica* and *C. amarissima*, respectively. The fingerprints of the minor compounds were useful for the differentiation of *C. aromatica* from *C. amarissima*. Finally, GC analysis was carried out with DB-1 silica capillary column 30.0 m, i.d. 0.53 mm, flame ionization detector (FID) and nitrogen as a carrier gas. GC-FID can be used for distinguishing the volatile oils of five *Curcuma* spp., especially; the fingerprint of *C. longa* was clearly distinguished from that of *C. zedoaria*. Therefore, the combination of these three chromatographic techniques was able to aid in the identification of these five *Curcuma* plants. In addition, the GC-Mass Spectrometry (GC-MS) results had confirmed the analyses of the volatile oils for differentiating these plants. In addition, reversed-phase high performance liquid chromatographic procedure has been applied for determination of curcuminoids of *C. aromatica* extract in cream and gel cosmetic products. The method was also validated which included; limit of detection, limit of quantitation, linearity, repeatability, reproducibility and accuracy. The proposed method was simple, convenience, rapid, sensitive, precision and accurate. It is suitable for routine analysis of curcuminoids in raw materials and cosmetic products containing curcuminoids as their active components.