

*Original Article***Determination of Flavonoids in *Kaempferia parviflora* by Gas Chromatographic Method**Supawadee Daodee<sup>\*</sup>, Chavi Yenjai, Cattareya Suttanut and Suganya Supattanapong

---

*Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002**\* Corresponding author. Tel: 043-362095***Abstract**

*Kaempferia parviflora* is a herbal plant which is commercially popular at the present time. These products are available in several dosage forms, e.g. capsule and powder for decoction. This study aimed to determine the constituents in 17 samples of *Kaempferia parviflora* products. Gas chromatograph equipped with flame ionization detector was used in this study and could give reliable method for determination which was shown by accuracy, precision, linearity, limit of quantification and limit of detection. It was found that the amount of these constituents varied in many products. The guideline for quality control of these products should be established in order to protect the consumers.

**Key words**

*Kaempferia parviflora*, Gas chromatography, Determination.

## นิพนธ์ต้นฉบับ

# การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ในกระชายดำโดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี

สุภาวดี ดาวดี\*, จวี เย็นใจ, แคทรียา สุธาณูช และ สักัญญา สพัฒนะพงศ์

ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น ประเทศไทย 40002

\* ผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ โทรศัพท์: 043-362095

## บทคัดย่อ

กระชายดำเป็นพืชสมุนไพรที่มีจำหน่ายแพร่หลายมากในปัจจุบัน และได้ถูกวางจำหน่ายในรูปแบบต่างๆ อาทิเช่น ยาขง และ แคปซูล ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารสำคัญที่มีในกระชายดำในรูปแบบต่างๆ ที่มีจำหน่ายทั้งหมด 17 ตัวอย่าง เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีถูกนำมาใช้เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ โดยใช้ร่วมกับเครื่องตรวจวัดชนิด ฟลูออโรเมตริก ซึ่งพบว่าเทคนิคนี้ให้ความน่าเชื่อถือในการวิเคราะห์ โดยสามารถดูได้จากความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ความแม่นยำ ความเป็นเส้นตรง ชัดจำกัดในการวิเคราะห์หาปริมาณ และชัดเจนในการตรวจวัด จากการวิเคราะห์หาปริมาณพบว่า ปริมาณสารสำคัญที่พบในผลิตภัณฑ์กระชายดำจะแตกต่างกันไป ดังนั้นจึงควรต้องมีการหาแนวทางในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์เหล่านี้ เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค

## กุญแจคำ

กระชายดำ, แก๊สโครมาโทกราฟี, การหาปริมาณ

## บทนำ

ปัจจุบันพบว่าพืชสมุนไพรมีบทบาทมากในด้านสาธารณสุข กระชายดำ (*Kaempferia parviflora* Wall. ex Bak.) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งในวงศ์ Zingiberaceae ที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากสรรพคุณที่เชื่อกันว่าเป็นสมุนไพรสำหรับอายุวัฒนะชั้นหนึ่งของไทยมาตั้งแต่โบราณ และยังเป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญชนิดหนึ่งสำหรับชนเผ่าม้ง โดยมักพกติดตัวไว้ในยามแทบทุกคน เพื่อใช้กินแก้ปวดเมื่อย เหนื่อยหอบ หืดหอบ ที่สำคัญเชื่อว่าสามารถเพิ่มสมรรถภาพทางเพศได้เป็นอย่างดี

กระชายดำ (1, 2) เป็นสมุนไพรที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศเขตร้อน บริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งโดยธรรมชาติแล้วมักพบเห็นตามบริเวณป่าดิบร้อนชื้น กระชายดำเป็นพืชล้มลุก ใบเลี้ยงเดี่ยว มีลักษณะเป็นกอลคล้ายขมิ้น หรือ ข่า มีลำต้นใต้ดิน ใบมีลักษณะเหมือนใบกระชายทั่วไป ที่แตกต่างคือ ขอบใบมีสี

ม่วง ใบมีความยาวประมาณ 20-30 ซม. ดอกสีม่วง กระชายดำขึ้นได้ดีและมีคุณภาพในพื้นที่ที่มีความสูงเหนือระดับน้ำทะเลประมาณ 600 เมตรขึ้นไป สามารถขยายพันธุ์ได้สองวิธี คือ โดยการใช้หัว หรือ เหง้าในการปลูก และโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การปลูกกระชายดำต้องเลือกฤดูการปลูกให้เหมาะสม ซึ่งอยู่ในช่วงเดือนมีนาคม ถึง พฤษภาคม และเก็บเกี่ยวเมื่อมีอายุได้ประมาณ 10 ถึง 12 เดือน โดยสังเกตได้จากใบและลำต้น ซึ่งจะเริ่มเหี่ยวแห้งและหลุดออกจากต้น

มีความเชื่อว่ากระชายดำมีสรรพคุณในการกระตุ้นกำหนด กระตุ้นประสาท บำรุงประสาทและสายตา สร้างความสมดุลของความดันโลหิต แก้โรคบิด ปวดท้อง สำหรับสตรีจะช่วยขยายหลอดเลือด ทำให้ผิวพรรณมีน้ำมีนวล แก้โรคกระเพาะ ความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ ปวดมวนในท้อง แก้อาการตกขาว เป็นต้น (1)

ในปัจจุบันจึงมีการผลิตกระชายดำจำหน่ายออกสู่ท้องตลาดอย่างแพร่หลายในรูปแบบต่างๆ กันเช่น แคปซูล ผงชง ทำเป็นแผ่นตากแห้ง ฯลฯ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์เหล่านี้ก่อนออกสู่ท้องตลาด เพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์ที่จะออกสู่ผู้บริโภคมีคุณภาพ และ ความปลอดภัย ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงได้ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์กระชายดำที่มีจำหน่ายในท้องตลาด โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (3, 4) ซึ่งผลที่ได้จะนำไปสู่การคุ้มครองผู้บริโภคต่อไป

## วัสดุ และ อุปกรณ์

ใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟียี่ห้อ Hewlett-Packard รุ่น HP 6890 ร่วมกับเครื่องตรวจวัดชนิด ฟลอมไอโอไนเซชันคอลัมน์ที่ใช้เป็นชนิด HP 50+ capillary เคลือบด้วย 50% phenyl และ 50% methylpolysiloxane ความยาว 30 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก 0.25 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมครอน แก๊สพาที่ใช้เป็นแก๊สไนโตรเจนชนิดที่มีความบริสุทธิ์สูง สารเคมีทุกชนิดที่ใช้เป็นชนิดสำหรับการวิเคราะห์

## สารมาตรฐาน

สารสำคัญทั้ง 10 ชนิด ที่พบในส่วนสกัดของชิ้นไตคลอโรมีเทนของกระชายดำ มีดังนี้คือ

1. 5-hydroxy-7-methoxyflavone
2. 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone
3. 5,7,4'-trimethoxyflavone
4. 5,7-dimethoxyflavone
5. 3,5,7-trimethoxyflavone
6. 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone
7. 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone
8. 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone
9. 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone
10. 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone

สารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิด ได้มาจากการสกัดแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีทางโครมาโทกราฟีและผ่านการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีการต่างๆ ดังนี้คือ TLC, NMR, IR และ MS โดยจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (7,8) พบว่าสารสำคัญชนิด

ที่ 3 มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย, เชื้อรา และเชื้อวัณโรคได้ ส่วนสารสำคัญชนิดที่ 9 มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อวัณโรค สารสำคัญชนิดที่ 10 มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย

## ผลิตภัณฑ์กระชายดำ

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระชายดำรวม 17 ตัวอย่าง โดยส่วนใหญ่เก็บในจังหวัดเลย เพชรบูรณ์ และ ขอนแก่น มีเพียง 1 ตัวอย่างที่เก็บในจังหวัดลำปาง ตัวอย่างที่ 1-13 มีลักษณะเป็นผงแห้งบรรจุซองสำหรับชง ตัวอย่างที่ 14 เป็นผงแห้งบรรจุแคปซูล ตัวอย่างที่ 15-17 เป็นหัวกระชายดำสดที่ปลูกในจังหวัดเพชรบูรณ์ (ตัวอย่างที่ 15 และ 16) และเลย (ตัวอย่างที่ 17)

## วิธีการทดลอง

### การพัฒนาวิธีวิเคราะห์

1. การทดลองแปรอุณหภูมิ เพื่อหาโปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมในการแยกของสารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิด รวมไปถึงการพิจารณาเลือกคอลัมน์ของแก๊สโครมาโทกราฟีที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารสำคัญทั้ง 10 ชนิด

2. การทดสอบหาสารมาตรฐานภายใน โดยสารมาตรฐานภายในที่ทำการเลือกจะต้องให้โครมาโทแกรม หรือเวลาในการคงไว้ (retention time) ที่เหมาะสม

3. การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ โดยพิจารณาจากพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้คือ การหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ภายในหนึ่งวันและระหว่างวัน สามารถทำได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีคส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ สำหรับการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ สามารถทำได้โดยการหาเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนจากค่าที่เป็นจริง โดยคำนวณจากอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นมา (0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ได้จากกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นมา สำหรับความจำเพาะในการวิเคราะห์สารแต่ละชนิด สามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบเวลาของการคงไว้ในการฉีดสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ความเป็น

เส้นตรงของวิธีวิเคราะห์สามารถหาได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี คำนวณอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน กับสารมาตรฐานภายใน นำไปสร้างกราฟมาตรฐาน คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดลีนใจ ในส่วนของขีดจำกัดการหาปริมาณ รวมทั้งขีดจำกัดการตรวจพบของวิธีวิเคราะห์ สามารถหาได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานทั้ง 10 ชนิดที่มีความเข้มข้นต่างๆ นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี แล้วนำมาคำนวณอัตราส่วนของสัญญาณของพีคสารมาตรฐานกับสัญญาณรบกวน ถ้ามีค่าประมาณ 10 จะแสดงถึงขีดจำกัดการหาปริมาณ และถ้าหากมีค่าประมาณ 2-3 จะแสดงถึงขีดจำกัดของการตรวจพบ

## การวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 1. การเตรียมตัวอย่าง

ถ้าตัวอย่างเป็นผลิตภัณฑ์กระชายดำชนิดผงซึ่งสำเร็จรูปไม่ต้องผ่านการเตรียมที่ยุ่งยาก เนื่องจากถูกแปรรูปให้อยู่ในลักษณะผงละเอียดที่พร้อมสำหรับการสกัดอยู่แล้ว ส่วนตัวอย่างที่เป็นหัวกระชายดำสด จะต้องผ่านขั้นตอนการล้างด้วยน้ำ แล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ทำการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาบดให้เป็นผง

### 2. การสกัด

นำตัวอย่างกระชายดำในรูปผงมาซึ่งให้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1 กรัม จากนั้นทำการสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรองแยกเอาสารสกัดออกมา นำไประเหยแห้งโดยใช้เครื่องระเหยแห้งภายใต้สภาวะลดความดันที่อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปทำให้แห้งในระบบสุญญากาศ ละลายสารสกัดที่ได้ด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม เติมน้ำมาตรฐานภายใน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

### 3. สภาวะของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

- คอลัมน์ที่ใช้เป็นชนิด HP50+ capillary เคลือบด้วย 50% phenyl และ 50% methylpolysiloxane
- อุณหภูมิทางเข้า: 250 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิของหัว: เริ่มตั้งต้นที่อุณหภูมิ 255 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จากนั้นเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเร็ว 1 องศาเซลเซียสต่อ

นาที จนถึงอุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราเร็ว 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 270 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราเร็ว 1 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 275 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

- อุณหภูมิของเครื่องตรวจวัด: 280 องศาเซลเซียส
- แก๊สพา: แก๊สไนโตรเจนชนิดบริสุทธิ์สูง
- เครื่องตรวจวัด: ชนิดเฟลมไอโอไนเซชัน
- ปริมาตรของการฉีดสารละลาย: 2 ไมโครลิตร

## 4. การสร้างกราฟมาตรฐาน

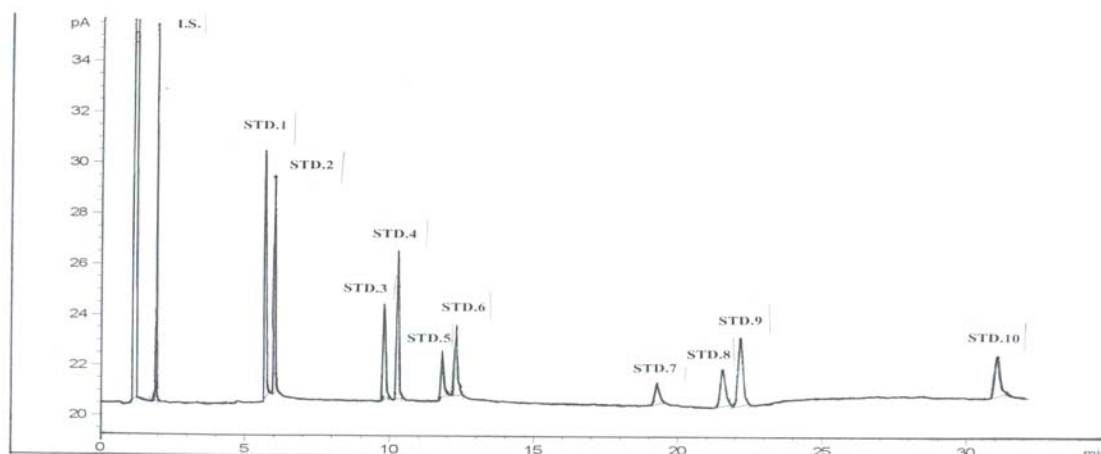
เตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย พร้อมทั้งเติมน้ำมาตรฐานของสารมาตรฐานภายในลงไปด้วย นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี คำนวณอัตราส่วนของพื้นที่ใต้พีคเทียบกับสารมาตรฐานภายใน แล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน พร้อมทั้งคำนวณหาสมการเชิงเส้นตรง เพื่อที่จะนำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารสำคัญทั้ง 10 ชนิดต่อไป

## ผลการทดลอง

จากสภาวะที่เหมาะสมที่ศึกษาได้ของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่าเวลาของการคงไว้ของสารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิดคือ 5-hydroxy-7-methoxyflavone, 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone, 5,7,4'-trimethoxyflavone, 5,7-dimethoxyflavone, 3,5,7-trimethoxyflavone, 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone, 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone และ 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone มีค่า 5.73, 6.03, 9.81, 10.28, 11.83, 12.31, 19.28, 21.59, 22.22 และ 31.12 นาที ดังแสดงในรูปที่ 1

สำหรับการทดสอบหาสารมาตรฐานภายในที่เหมาะสมพบว่า คลอเฟนิรามีน มาลีเอต เป็นสารที่เหมาะสมที่สุดในการถูกเลือกใช้เป็นสารมาตรฐานภายใน ซึ่งให้เวลาของการคงไว้ของเวลาที่ประมาณ 2 นาที

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์พบว่า ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ภายในหนึ่งวันของสารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิด



รูปที่ 1. โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิดที่พบในส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนของกระชายดำ

(std1 = 5-hydroxy-7-methoxyflavone, std2 = 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone, std3 = 5,7,4'-trimethoxyflavone, std4 = 5,7-dimethoxyflavone, std5 = 3,5,7-trimethoxyflavone, std6 = 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone, std7 = 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone, std8 = 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone, std9 = 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone, std10 = 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone)

(ตารางที่ 1) มีค่าร้อยละของความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% relative standard deviation, % RSD) อยู่ในช่วงระหว่าง 3.65-8.87 (ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ 5.38-8.99 (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ระหว่างวัน (เวลา 3 วัน) ของสารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิด (ตารางที่ 1) จะมีค่าร้อยละของความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วงระหว่าง 4.87 - 16.37 ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์นั้น (ตารางที่ 1) พบว่าร้อยละความคลาดเคลื่อนของการคืนกลับจากค่าที่เป็นจริงของสารละลายมาตรฐานทั้ง 10 ชนิดที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะอยู่ในช่วงระหว่าง 0.012-3.525 ส่วนความจำเพาะในการวิเคราะห์สารมาตรฐานแต่ละชนิดทั้ง 10 ชนิด (ตารางที่ 1) พบว่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของเวลาของการคงไว้ (retention time) จะอยู่ในช่วงระหว่าง 0.032-0.118

จากการทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ พบว่าในช่วงของความเข้มข้นที่ทำการทดลอง ให้ความเป็นเส้นตรงดี ซึ่งสามารถดูได้จากค่าสัมประสิทธิ์การตัดเส้นใจมีค่าเข้าใกล้ 1 ในสารละลายมาตรฐานทั้ง 10 ชนิด ซึ่งสมการเชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด และค่าสัมประสิทธิ์การตัดเส้นใจจะแสดงดังในตารางที่ 1 นอกจากนี้ยังพบว่าขีดจำกัดของการหา

ปริมาณ และขีดจำกัดของการตรวจพบของสารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิด จะอยู่ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 1-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.5-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในตัวอย่างกระชายดำทั้ง 17 ตัวอย่าง ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างในเขตจังหวัดขอนแก่น เพชรบูรณ์ และ เลย แสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยแสดงถึงร้อยละของปริมาณสารสำคัญที่พบในตัวอย่างกระชายดำในรูปผงแห้งหนัก 1 กรัม ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น ตัวอย่างของโครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างกระชายดำ ดังรูปที่ 2

## วิจารณ์ และ สรุปผลการทดลอง

ปัจจุบันได้มีการส่งเสริมและสนับสนุนให้มีการใช้สมุนไพรกันอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้ยังได้สนับสนุนให้มีการผลิตสมุนไพรเพื่อการบริโภคทั้งภายในประเทศ และส่งออกไปยังต่างประเทศ นับเป็นรายได้ให้ประเทศอีกทางหนึ่ง แต่ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้การส่งออก หรือการจำหน่ายผลิตภัณฑ์สมุนไพรเหล่านี้เกิดปัญหาและอุปสรรคก็คือ ความมั่นใจในคุณภาพของสมุนไพรเหล่านี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทำการ

ตารางที่ 1. พารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการทดสอบวิธีวิเคราะห์ของสารมาตรฐานทั้ง 10 ชนิดที่พบในกระชายดำ

สารมาตรฐาน	ความเที่ยงภายใน วันเดียวกัน n=10 ความเข้มข้น 0.4 มก./มล., %RSD	ความเที่ยงภายใน วันเดียวกัน n=10 ความเข้มข้น 0.5 มก./มล., %RSD	ความเที่ยง ระหว่างวัน n=9 ความเข้มข้น 0.4 มก./มล., %RSD	ความแม่นยำ (%ความคลาดเคลื่อน จากค่าที่เป็นจริง n=10)
1	3.65	8.28	5.84	0.27
2	4.22	8.73	6.91	2.59
3	5.75	6.09	8.41	3.52
4	8.87	8.98	8.08	1.35
5	6.92	7.47	4.92	2.96
6	6.45	8.13	8.61	0.93
7	5.21	5.38	16.37	1.81
8	5.74	7.14	6.42	1.15
9	5.12	7.48	4.87	0.01
10	6.24	5.81	7.63	1.27

ตารางที่ 1. (ต่อ)

สารมาตรฐาน	ความจำเพาะเจาะจง (% ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ ของเวลาของการคงไว้ n=10)	ความเป็นเส้นตรง (สมการเชิงเส้น และค่าสัมประสิทธิ์ การตัดสินใจ, $r^2$ )	ขีดจำกัดการตรวจพบ (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)	ขีดจำกัดการหาปริมาณ (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)
1	0.12	$Y=0.3095x-0.0469$ $r^2=0.9975$	0.5	1
2	0.07	$Y=0.2615x-0.0001$ $r^2=0.9959$	0.5	1
3	0.06	$Y=0.1675x-0.0182$ $r^2=0.9943$	30	100
4	0.05	$Y=0.2609x+0.0258$ $r^2=0.9968$	10	40
5	0.07	$Y=0.1196x+0.0390$ $r^2=1.0000$	8	20
6	0.05	$Y=0.1621x+0.0296$ $r^2=0.9989$	30	100
7	0.04	$Y=0.0962x-0.0002$ $r^2=0.9992$	10	40
8	0.03	$Y=0.1326x+0.0423$ $r^2=0.9996$	40	100
9	0.04	$Y=0.2344x+0.0653$ $r^2=0.9998$	25	50
10	0.04	$Y=0.1904x+0.0183$ $r^2=0.9934$	50	100

ตารางที่ 2. ร้อยละของปริมาณสารสำคัญที่มีในตัวอย่างกระชายดำในรูปผงแห้ง 1 กรัมทั้งหมด 17 ตัวอย่าง

สารสำคัญ	ตย.1	ตย.2	ตย.3	ตย.4	ตย.5	ตย.6	ตย.7	ตย.8	ตย.9
1	0.1725	0.1104	0.1676	0.3386	0.1185	0.1332	0.2377	0.1230	0.0987
2	0.3000	0.1609	0.2464	0.4604	0.2012	0.1704	0.3820	0.1728	0.1642
3	2.1255	0.8702	0.8595	2.1915	1.1743	0.8310	3.7562	0.9728	1.8543
4	0.4303	0.1265	0.2884	0.3259	0.2858	0.1165	0.6794	0.1438	0.2254
5	0.1944	0.1520	0.1727	0.4298	0.1518	0.1727	0.1823	0.1537	0.0918
6	0.4607	0.2547	0.4115	0.7177	0.3059	0.2612	0.3499	0.2484	0.1249
7	0.1299	0.0868	0.0585	0.1718	0.0587	0.0800	0.0053	0.0500	0.0283
8	2.1949	1.5748	1.1587	3.4954	0.9956	1.1963	2.0865	1.5675	1.1431
9	0.7919	0.3540	0.5405	0.8741	0.6178	0.2859	0.8426	0.3385	0.2261
10	1.3371	0.9869	0.6646	1.8885	0.6220	0.6980	0.9734	0.8939	0.3903

ตารางที่ 2. (ต่อ)

สารสำคัญ	ตย.10	ตย.11	ตย.12	ตย.13	ตย.14	ตย.15	ตย.16	ตย.17
1	0.0968	0.1119	0.1186	0.1128	0.1104	0.0551	0.1274	0.1234
2	0.1623	0.1953	0.1764	0.1523	0.1545	0.1226	0.1643	0.1461
3	1.5418	2.1265	0.8552	1.2397	0.8692	2.2065	0.7090	0.6116
4	0.2121	0.2820	0.1952	0.1629	0.1374	0.2888	0.1136	0.1024
5	0.0975	0.1076	0.1397	0.1192	0.1542	0.0265	0.1750	0.1786
6	0.1588	0.1491	0.2712	0.1732	0.3011	0.0314	0.2263	0.2502
7	0.0273	0.0264	0.0835	0.0659	0.0718	0.0046	0.0728	0.0806
8	1.2215	1.4149	1.1436	1.2530	1.3293	0.9860	1.0794	0.9002
9	0.2852	0.3265	0.5108	0.2679	0.3996	0.1878	0.2706	0.1823
10	0.5289	0.5803	0.8720	0.6641	0.9434	0.0857	0.5511	0.5687

หมายเหตุ: ตัวอย่างที่ 1-6, 9-11 และ 13 มีลักษณะเป็นผงชงกิ่งสำเร็จรูปที่ผลิตจากจังหวัดเลย

ตัวอย่างที่ 7 มีลักษณะเป็นผงชงกิ่งสำเร็จรูปที่ผลิตจากจังหวัดเพชรบูรณ์

ตัวอย่างที่ 8 มีลักษณะเป็นผงชงกิ่งสำเร็จรูปที่ผลิตจากจังหวัดลำปาง

ตัวอย่างที่ 12 ไม่ระบุสถานที่ผลิต

ตัวอย่างที่ 14 มีลักษณะเป็นแคปซูล

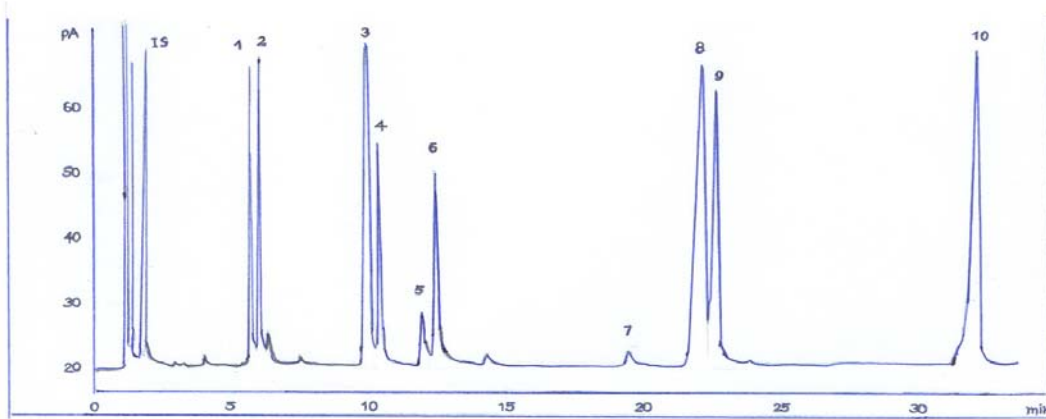
ตัวอย่างที่ 15 และ 16 มีลักษณะเป็นหัวกระชายดำสดที่ปลูกในจังหวัดเพชรบูรณ์

ตัวอย่างที่ 17 มีลักษณะเป็นหัวกระชายดำสดที่ปลูกในจังหวัดเลย

ควบคุมคุณภาพของสมุนไพร และผลิตภัณฑ์สมุนไพรต่างๆ ก่อนที่จะจำหน่ายออกสู่ผู้บริโภคทั้งภายในและต่างประเทศ

ผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่คณะผู้วิจัยให้ความสนใจในการศึกษาครั้งนี้คือ กระชายดำ ซึ่งในปัจจุบันเป็นสมุนไพรที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายมากในประเทศไทย จึงเห็นความสำคัญในการที่จะศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสม ซึ่งจะนำไปสู่แนวทางที่จะใช้ในการกำหนดมาตรฐานการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรชนิดนี้ และพบว่าวิธีวิเคราะห์โดยอาศัยเทคนิคของแก๊ส

โครมาโทกราฟี สามารถนำมาใช้ในการหาปริมาณสารสำคัญในตัวอย่างสมุนไพรกระชายดำเหล่านี้ได้เป็นอย่างดี มีความน่าเชื่อถือ โดยสามารถดูได้จากพารามิเตอร์ต่างๆ ที่นำมาใช้ในการทดสอบวิธีการวิเคราะห์ อาทิเช่น ความเป็นเส้นตรง จะให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดเส้นใจมีค่าเข้าใกล้ 1 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งจะให้ร้อยละของความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองภายในวันเดียวกัน และมีความแม่นยำสูง



**รูปที่ 2.** ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสารละลายที่ได้จากการสกัดตัวอย่างกระชายดำ(ตัวอย่างที่ 2) ที่มีลักษณะเป็นผงชงกึ่งสำเร็จรูป

ซึ่งสามารถดูได้จากร้อยละของความคลาดเคลื่อนจากค่าที่แท้จริง มีค่าตั้งแต่ 0.012-3.525 เป็นต้น

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญชนิดที่ 1 ถึง 10 ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์กระชายดำที่ได้ทำการเก็บมาวิเคราะห์ทั้งหมด 17 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณของสารสำคัญแต่ละชนิดของแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันไป ซึ่งสารสำคัญที่พบมากในตัวอย่างกระชายดำที่ 5, 7, 9, 10, 11 และ 15 คือ 5,7,4'-trimethoxyflavone (สารที่ 3) โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมา (5, 6, 7, 8) พบว่าสารชนิดนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เมื่อทำการทดสอบในหลอดทดลอง คือ ต้านเชื้อมาลาเรีย เชื้อรา และเชื้อวัณโรคได้ สารชนิดนี้จึงน่าจะมีการพัฒนาและทดสอบการออกฤทธิ์ต่อไป แต่อย่างไรก็ตาม ในตัวอย่างกระชายดำที่ 4 พบปริมาณรวมสารสำคัญทั้ง 10 ชนิดในปริมาณที่มากที่สุด (ยกเว้นสารสำคัญที่ 3 และ 4) เมื่อเทียบกับตัวอย่างกระชายดำตัวอื่นๆ

จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ผลที่ได้พอที่จะแสดงให้เห็นถึงความไม่แน่นอนในปริมาณสารสำคัญของแต่ละตัวอย่าง ดังนั้นจึงควรต้องมีการควบคุมคุณภาพ ทั้งในด้านของแหล่งที่ได้มาของวัตถุดิบ และขบวนการผลิต ซึ่งก็จะนำไปสู่การคุ้มครองผู้บริโภคที่มีประสิทธิภาพนั่นเอง

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ

ในการหาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญ และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

## เอกสารอ้างอิง

1. กำพล กาทหลง. กระชายดำ สมุนไพรมหัศจรรย์จริงหรือ? *วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ* **12**: 17-23 (2545).
2. Atorn Tavornkricharat. Krachaidam. Available at [http://www.forest.go.th/rfd\\_pr/assemble/group 2.doc](http://www.forest.go.th/rfd_pr/assemble/group%202.doc). Accessed May 16, 2003.
3. J. Willett. *Gas Chromatography*, Biddles Ltd., Great Britain, 1987, pp. 106-133.
4. A. Braithwaite and F. J. Smith. *Chromatographic Methods*, Blakie Academic & Professional, London, 1996, pp. 165-257.
5. T. Jaipetch, V. Reutrakul, P. Tuntiwachwuttikul and T. Santisuk. Flavonoids in the black rhizomes of *Boesenbergia pandurata*. *Phytochemistry* **22**: 625-626 (1983).
6. A. Hirunsalee, O. Pancharoen and P. Tuntiwachwuttikul. Further studies of flavonoids of the black rhizomes of *Boesenbergia pandurata*. *J. Sci. Soc. Thailand* **13**: 119-120 (1987).
7. C. Yenjai, P. Kittakoop, S. Daodee and K. Prasanphen. Antituberculosis and antifungal activities of flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Third Symposium on the Family*



*Zingiberaceae*, Khon Kaen, Thailand, July 7-12, 2002.

8. C. Yenjai, K. Prasanphen, S. Daodee, V. Wongpanich and P. Kittakoop. Bioactive

flavonoids from *Kaempferia parviflora*.  
Submitted to *Fitoterapia*.