

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original article

การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ Hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography

ภิทรภรณ์ ศรีมงคล ภ.บ. (บริหารทางเภสัชกรรม)*

กนกวรรณ มุจรินทร์ ภ.บ.**

* กลุ่มคุ้มครองผู้บริโภคด้านสาธารณสุข ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น

** กลุ่มงานยา สมุนไพรและเครื่องสำอาง ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี

วันรับ:	25 ก.ย. 2562
วันแก้ไข:	19 ส.ค. 2563
วันตอบรับ:	29 ส.ค. 2563

บทคัดย่อ การศึกษาวิจัยเชิงทดลองครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย โดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) และใช้วิธีนี้ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผสมสมุนไพรจำนวน 15 ตัวอย่าง ผลจากการศึกษา ในการทวนสอบวิธีวิเคราะห์แต่ละหัวข้อพบ hederagenin มีค่าดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ 210 นาโนเมตร โดยมีระยะเวลาในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ (retention time) เฉลี่ยที่ 5.10 นาที ปริมาณต่ำที่สุดที่สามารถตรวจพบสารนี้ได้ (limit of detection; LOD) เท่ากับ 0.01% w/w %RSD ของค่าการทดสอบซ้ำ (repeatability) เท่ากับ 0.11% ซึ่งผลผ่านเกณฑ์การทวนสอบทุกข้อ การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผสมสมุนไพรมะคำดีควาย 15 ตัวอย่าง ด้วยวิธีข้างต้นพร้อมกัน โดยในกระบวนการตรวจวิเคราะห์มีการควบคุมโดยการเติม hederagenin ในทุกๆ ตัวอย่าง พบว่ามีตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผสมสมุนไพรมะคำดีควายที่พบ hederagenin จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก 15 ตัวอย่างเท่านั้น (ร้อยละ 6.70) และพบสาร hederagenin ในตัวอย่างควบคุมทุกตัวอย่าง จึงสรุปได้ว่า วิธีการตรวจเอกลักษณ์ hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย โดยวิธี HPLC สามารถใช้ได้จริง และเครื่องสำอางส่วนใหญ่ไม่พบส่วนผสมของสารสำคัญของมะคำดีควาย ซึ่งมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย เช่น ความไม่คงตัวของสารสำคัญและสารสกัดเหล่านี้มักสลายตัวได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน สารจำพวกกรดหรือด่างเข้มข้น กระบวนการได้มาซึ่งสารสกัดและการใช้สารสกัดในการตั้งตำรับที่ไม่เหมาะสม ตลอดจนการเก็บรักษาวัตถุดิบ สารสกัดและผลิตภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสม เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ อาจทำให้สารสำคัญ hederagenin สลายไป การพัฒนาวิธีการเพื่อตรวจเอกลักษณ์นี้จึงใช้เป็นวิธีมาตรฐานของหน่วยงาน เพื่อช่วยสนับสนุนให้ผู้ผลิตมีการทำผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพต่อไป

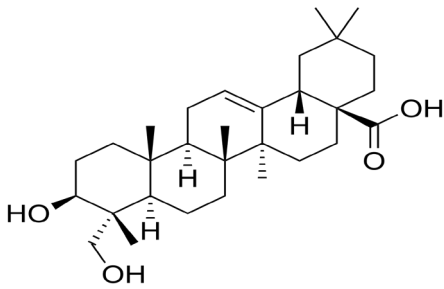
คำสำคัญ: สาร hederagenin; มะคำดีควาย; เครื่องสำอางผสมสมุนไพร

บทนำ

Hederagenin เป็นสารสกัดสำคัญในกลุ่ม Saponins มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 1 ที่พบในมะคำดีควายทำให้เกิด

ฟอง^(1,2) ในอดีตจึงนิยมนำส่วนผลผ่าเมล็ดดอกและใช้ส่วนเนื้อติดกับน้ำให้เกิดฟองและนำไปสระผม โดยผลแก้มีสรรพคุณทางยาในการต้านเชื้อรา เช่น รักษาชันนะตุบน

ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้าง Hederagenin(3)



ศิระะ แก้วเชื้อรา แก้วผิวน้ำพุพองบนศิระะเด็ก เป็นต้น⁽⁴⁾

ปัจจุบันผู้บริโภคมีความสนใจเครื่องสำอางที่เป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากยิ่งขึ้น⁽⁵⁾ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาจึงส่งเสริมให้ผู้ประกอบการใช้สมุนไพรเป็นส่วนในเครื่องสำอางเพิ่มมากขึ้น⁽⁶⁾ และจากสรรพคุณของมะคำดีควายข้างต้น ผู้ประกอบการจึงนำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเช่น เป็นยาสระผม ครีมนวดผม เป็นต้น⁽⁷⁾

เพื่อส่งเสริมให้ผลิตภัณฑ์หลังการออกจำหน่ายมีคุณภาพและแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางนั้นมีมะคำดีควายหรือสารสกัดของสมุนไพรนั้นผสมอยู่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 อุบลราชธานี จึงได้เข้าร่วมโครงการในการพัฒนาการตรวจเอกลักษณ์สารสำคัญในเครื่องสำอางผสมสมุนไพรกับสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย โดยวิธี HPLC ให้เป็นวิธีการมาตรฐานของหน่วยงานขึ้น

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย โดยวิธี HPLC ดังนี้

1. สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน hederagenin ยี่ห้อ PhytoLab บริษัท PhytoLab GmbH & ประเทศอังกฤษ สารเคมีได้แก่ Methanol 99.9% (MeOH), Acetonitrile 99.9%

(ACN) HPLC grade และ Phosphoric acid 85% (H_3PO_4) Analytical grade Merck

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน hederagenin (stock) ให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลาย hederagenin 5 มิลลิกรัม ด้วย methanol 5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 1-5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ซึ่งตัวอย่างเครื่องสำอาง 1 กรัม ละลายด้วย methanol ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลายตัวอย่างควบคุม (spiked sample)

ซึ่งตัวอย่างเครื่องสำอาง 1 กรัม เติมสารละลายมาตรฐาน hederagenin (stock) 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายด้วย Methanol และปรับให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

5. สภาวะของเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

เครื่องมือ: HPLC Agilent RRLC 1200 series

Column: BSC Thermo C-18 (4.6 x 250 มิลลิเมตร 5 ไมครอน)

Mobile Phase: ACN: 0.1% H_3PO_4 (80:20)

Flow rate: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาทีอุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส

Injection volume: 20 ไมโครลิตร

Detector: 210 นาโนเมตร

6. ทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

ดำเนินการทวนสอบความถูกต้องตามแนวทาง ICH-Q2 (R1)⁽⁸⁾ ในการตรวจเอกลักษณ์ (identification) ตามหัวข้อดังนี้

6.1 ความจำเพาะเจาะจง (specificity)

เจือจางสารมาตรฐาน (stock) ที่ความเข้มข้น 1-5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย methanol นำไปตรวจ

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พิจารณา retention time และ UV spectrum ของพีคที่ปรากฏ ไม่พบการรบกวนของ peak อื่นๆ

6.2 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (limit of detection; LOD)

เจือจางสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 1-5 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ด้วย methanol นำไปนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พิจารณา signal to noise ของโครมาโทแกรมของ hederagenin ให้ได้ 3:1 หรือใกล้เคียง ซึ่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลายมาตรฐาน (stock) 125 ไมโครลิตร ในตัวอย่างและละลายด้วย methanol ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พิจารณาผลโครมาโทแกรมที่ปรากฏในสารละลายตัวอย่าง

6.3 ความเที่ยง (precision)

ชั่งตัวอย่าง 1 g เติมสารละลายมาตรฐาน(stock) 125 ไมโครลิตร ในตัวอย่างและละลายด้วย methanol ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปฉีดและตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ทำซ้ำ 10 ครั้ง จำนวน 5 วัน พิจารณาผลโครมาโทแกรมที่ปรากฏในสารละลายตัวอย่าง

7. ตัวอย่าง

นำตัวอย่างเครื่องสำอางที่ระบุ ผสมมะค่าตีควายที่เก็บโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ณ ห้างสรรพสินค้า ร้านค้าจำหน่ายเครื่องสำอางทั่วไป และตลาดนัด ในจังหวัดนนทบุรี และกรุงเทพฯ จำนวน 15 ตัวอย่าง จำแนกเป็น แชมพู จำนวน 12 ตัวอย่าง ครีมนวดผม จำนวน 2 ตัวอย่าง และครีมอาบน้ำ จำนวน 1 ตัวอย่าง ใช้ตัวอย่างทั้ง 15 ตัวอย่างในกระบวนการทวนสอบใน

หัวข้อ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้และความเที่ยง พร้อมตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างตามวิธีข้างต้น วิเคราะห์ผลการทวนสอบวิธีตามแต่ละหัวข้อดังตารางที่ 1 และรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเป็นจำนวนร้อยละ โดยดำเนินการศึกษาในช่วง 1 ตุลาคม 2559 ถึง 30 กันยายน 2560

ผลการศึกษา

ผลการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

1. ความจำเพาะเจาะจง (specificity)

พบโครมาโทแกรมและสเปกตรัมของสารละลายมาตรฐาน hederagenin, hederagenin ในสารละลายตัวอย่าง และในสารละลายตัวอย่างที่เติม hederagenin ดังภาพที่ 2 และ 3 โดยพบโครมาโทแกรมของ hederagenin ที่ retention time เฉลี่ย 5.11 และไม่พบการรบกวนของโครมาโทแกรมอื่นๆ และมีสเปกตรัมที่ตรงกันทั้งในสารละลายมาตรฐาน สารละลายตัวอย่างที่พบ hederagenin และสารละลายตัวอย่างที่มีการเติม hederagenin

2. ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (limit of detection; LOD)

พบความเข้มข้นของ hederagenin ต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่างเท่ากับ 0.01%w/w โดยมี Signal to noise เฉลี่ยเท่ากับ 3.78 ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 2 และ 3

3. ความเที่ยง (Precision)

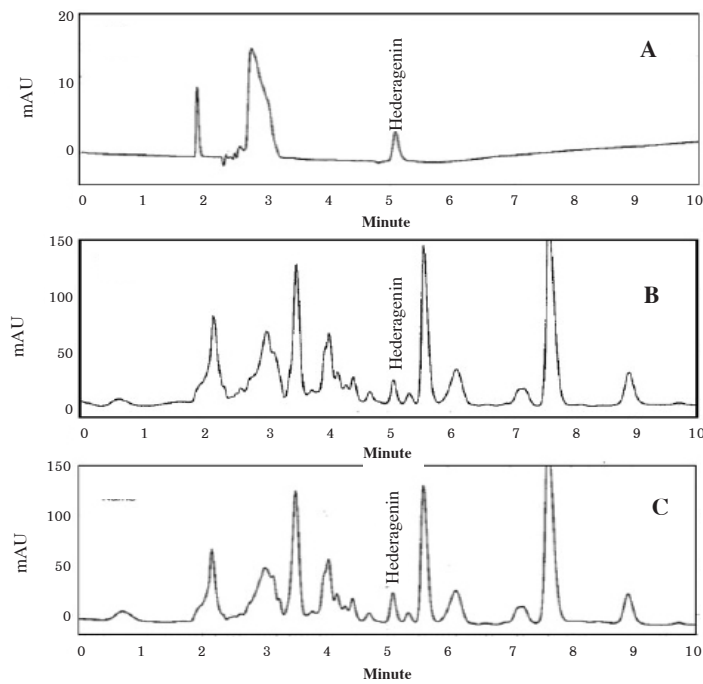
เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน hederagenin ซ้ำ 10 ครั้งเป็นเวลา 5 วัน พบว่าตัวอย่างทั้ง 10 ซ้ำ ตรวจพบ hederagenin ทุกตัวอย่างที่ retention time เฉลี่ย 5.10 นาที และมีร้อยละการเบี่ยงเบนทั้ง 5 วันเท่ากับ 0.11 ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 1 การทวนสอบวิธีวิเคราะห์ และเกณฑ์การยอมรับ

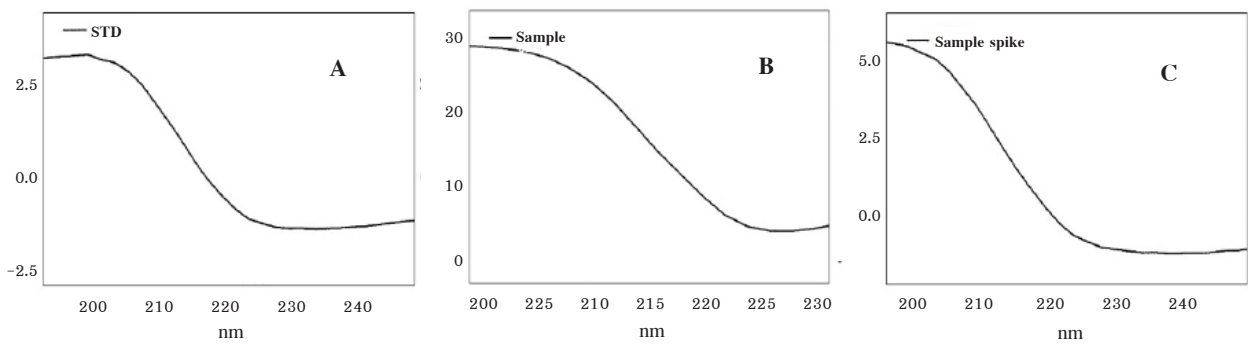
หัวข้อทดสอบ	เกณฑ์การยอมรับ
1. Specificity	ไม่พบการรบกวนจาก peak อื่นๆ
2. Limit of detection	Signal to noise >3:1
3. Precision	%RSD <2

การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ Hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะค่าดีควายโดยวิธี HPLC

ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของ Hederagenin (A) สารละลายมาตรฐาน hederagenin (B) สารละลายตัวอย่างที่ตรวจพบ Hederagenin และ (C) สารละลายตัวอย่างที่เติมสาร Hederagenin



ภาพที่ 3 สเปกตรัมของ Hederagenin (A) สารละลายมาตรฐาน hederagenin (B) สารละลายตัวอย่างที่ตรวจพบ hederagenin และ (C) สารละลายตัวอย่างที่เติมสาร hederagenin



ตารางที่ 2 ข้อมูลความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้แต่ละความเข้มข้น

Hederagenin (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร)	Retention time (นาที)	Signal to noise
1.06	5.100	0.128
2.11	5.107	0.928
3.17	5.107	1.623
4.22	5.107	2.697
5.28	5.120	3.280

ตารางที่ 3 ข้อมูลความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เมื่อทำการตรวจวัดซ้ำ (limit of detection; LOD)

ครั้งที่	Hederagenin 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (0.01%w/w)	
	Peak area	Signal to noise
1	63281	3.28
2	67556	3.44
3	63142	3.58
4	61637	3.19
5	61911	3.75
6	63083	3.93
7	62303	4.56
8	63050	4.15
9	62692	4.23
10	58325	3.78
Mean	62698	3.78
%RSD	3.58	11.55

และจากข้อมูลการทวนสอบข้างต้น สามารถประเมินผลการทวนสอบวิธีวิเคราะห์นี้ได้ดังตารางที่ 5

ผลการตรวจวิเคราะห์

เมื่อพัฒนาวิธีได้ตามกระบวนการข้างต้น จึงนำมาตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผสมสมุนไพรมะค่าดีควาย 15 ตัวอย่าง พร้อมเตรียมตัวอย่างควบคุม (spiked sample) โดยการผสม hederagenin ลงในตัวอย่าง พบว่ามีตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผสมสมุนไพรมะค่าดีควายที่พบ hederagenin จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.70 ผลิตภัณฑ์ผสมสมุนไพรมะค่าดีควายที่ไม่พบ hederagenin จำนวน 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 93.30 และในตัวอย่างควบคุมที่ได้ดำเนินการตรวจวิเคราะห์พร้อมกัน พบสาร hederagenin ในทุกตัวอย่าง ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 4 ข้อมูล retention time ของโครมาโทแกรมสารละลายตัวอย่างที่เติมสาร hederagenin 10 ซ้ำ จำนวน 5 วัน

ครั้งที่	Retention time				
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
1	5.100	5.093	5.087	5.127	5.140
2	5.100	5.093	5.087	5.127	5.140
3	5.093	5.093	5.093	5.133	5.140
4	5.100	5.093	5.087	5.133	5.147
5	5.107	5.093	5.093	5.127	5.147
6	5.100	5.093	5.093	5.120	5.147
7	5.100	5.093	5.093	5.127	5.153
8	5.107	5.093	5.093	5.133	5.153
9	5.107	5.093	5.093	5.113	5.16
10	5.100	5.087	5.093	5.113	5.153
Mean	5.101	5.092	5.091	5.125	5.148
Mean (5 วัน)			5.11		
%RSD (5 วัน)			0.11		

การพัฒนาวิธีการตรวจเอกลักษณ์ Hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควายโดยวิธี HPLC

ตารางที่ 5 ผลการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ 3 หัวข้อ

หัวข้อทดสอบ	ผลการทวนสอบ	เกณฑ์การยอมรับ	ประเมินผลการทวนสอบ
1. Specificity	- Retention time 5.10 - ไม่พบการรบกวนของโครมาโท- แกรมอื่น ๆ และมีสเปกตรัมที่ตรงกัน	ไม่พบการรบกวนจาก peak อื่น	ผ่าน
2. Limit of detection	- 0.01% w/w - Signal to noise 3.78	Signal to noise $\geq 3:1$	ผ่าน
3. Precision	- Retention time 5.10 - %RSD 0.11 (Sample spike solution)	%RSD ≤ 2	ผ่าน

ตารางที่ 6 ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผสมสมุนไพรมะคำดีควาย 15 ตัวอย่าง

รายการ	จำนวน	ผลการตรวจเอกลักษณ์ hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย			
		ตรวจพบ		ตรวจไม่พบ	
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
ตัวอย่าง	15	1	6.70	14	93.30
ตัวอย่างที่เติมสาร hederagenin	15	15	100.00	0	0.00

วิจารณ์

จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการตรวจเอกลักษณ์สาร hederagenin หรือเป็นการหาปริมาณสารกลุ่ม saponin ในผลของมะคำดีควาย การตรวจเอกลักษณ์สาร hederagenin ในเครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย ครั้งนี้จึงเป็นการพัฒนาวิธีการตรวจครั้งแรกของหน่วยงาน

ผลการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ในหัวข้อความจำเพาะเจาะจงพบว่า วิธีวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงต่อสาร hederagenin ไม่พบการรบกวนจากตัวทำละลายและสารต่างๆ ในตัวอย่าง

การทวนสอบวิธีวิเคราะห์ในหัวข้อความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ มีค่าเท่ากับ 0.01% w/w

การทวนสอบวิธีวิเคราะห์ในหัวข้อความเที่ยงทำการทดสอบโดยเติมสาร hederagenin ในสารละลายตัวอย่าง เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ทั้งหมด 10 ซ้ำ ระยะเวลา 10 วัน สารมาตรฐานตรวจพบ hederagenin ในตัวอย่างทุก ๆ ตัวอย่าง โดย

พบโครมาโทแกรมของ hederagenin ในทุก ๆ ตัวอย่างที่ retention time เฉลี่ย 5.10 นาที

เมื่อนำตัวอย่างที่สุ่มเก็บโดยคณะกรรมการอาหารและยา จำนวน 15 ตัวอย่าง ที่มีการระบุว่าไม่มีมะคำดีควายในฉลาก มาตรวจวิเคราะห์หาสาร hederagenin พบเครื่องสำอางที่มีสาร hederagenin เป็นส่วนประกอบอยู่ 1 ตัวอย่างจาก 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.70

จากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่า วิธีการตรวจเอกลักษณ์ hederagenin ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสมสมุนไพรมะคำดีควาย โดยวิธี HPLC นี้ ที่พัฒนาขึ้น สามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ได้จริง และผลิตภัณฑ์ผสมมะคำดีควายส่วนใหญ่ไม่พบสารสำคัญ hederagenin ซึ่งเป็นสารที่การศึกษานี้เลือกเป็นสารชี้บ่งถึงการมีมะคำดีควายเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเป็นสารที่ตรวจพบในมะคำดีควาย^(1,3,9) การตรวจไม่พบสารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์มีหลายปัจจัยที่ทำให้เกิดขึ้นได้

ตั้งแต่การคัดเลือกผลผลิตมะค่าดีควาย วิธีการใช้มะค่าดีควาย การสกัดให้ได้มาซึ่งสารสำคัญ และเนื่องจากในผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ไม่ได้ระบุปริมาณของมะค่าดีควายที่ผสมไว้ ทำให้ไม่ทราบถึงปริมาณของมะค่าดีควายที่ใช้ในเพียงพอที่จะทำให้ตรวจพบสารสำคัญหรือไม่ นอกจากนี้ยังมีข้อมูลสนับสนุนความไม่คงตัวของสารสำคัญว่าสารละลายตัวได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน กรดหรือด่างเข้มข้น⁽¹⁰⁾ ดังนั้นการตั้งตำรับและการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสมจึงเป็นอีกปัจจัยที่ทำให้สารสำคัญเหล่านี้สลายไปและไม่สามารถตรวจพบได้

การสนับสนุนให้ผู้ผลิตมีการทำผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพต่อไป หน่วยงานภาครัฐจึงควรเป็นผู้สนับสนุนด้านการควบคุมคุณภาพในทุกการผลิต ตั้งแต่การคัดเลือกวัตถุดิบสมุนไพรที่เหมาะสม การสกัดให้ได้มาซึ่งสารสกัดที่มีสารสำคัญคงเหลืออยู่ และการตั้งตำรับโดยผสมสารสกัดและทำให้สารสำคัญยังคงเหลืออยู่ไม่สลายตัวไป

เอกสารอ้างอิง

1. Köse MD, Bayraktar O. Extraction of saponins from soapnut (*Sapindus Mukorossi*) and their antimicrobial properties. World Journal of Research and Review 2016;2(5):89-93.
2. Takagi K, Park EH, Kato H. Anti-inflammatory activities of hederagenin and crude saponin isolated from *Sapindus mukorossi* GAERTN. Chem Pharm Bull 1980;28(4):1183-8.
3. Wikipedia. Hederagenin [Internet]. 2014 [cited 2018 May 15]. Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hederagenin>
4. สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุขมูลฐาน กระทรวงสาธารณสุข. สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน. กรุงเทพมหานคร: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2541.
5. Positioning. เวชสำอาง: อิงกระแสผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ แนวโน้มที่น่าสนใจ [อินเทอร์เน็ต]. 2547 [สืบค้นเมื่อ 15 พ.ค. 2561]. แหล่งข้อมูล: <https://positioningmag.com/18251>
6. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. อย. ส่งเสริมการใช้สมุนไพรในเครื่องสำอาง มั่นใจกับ “FDA Thai Herb” [อินเทอร์เน็ต]. 2560 [สืบค้นเมื่อ 15 พ.ค. 2561]. แหล่งข้อมูล: <http://www.fda.moph.go.th/>
7. Thaifranchisedownload. เครื่องสำอางจากธรรมชาติและสมุนไพร, มะค่าดีควาย [อินเทอร์เน็ต]. [สืบค้นเมื่อ 15 พ.ค. 2561]. แหล่งข้อมูล: thaifranchisedownload.com/dl/I012.doc
8. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). Geneva: ICH Steering Committee; 2005.
9. Kanchanapoom T, Kasai R, Yamasaki K. Acetylated triterpene saponins from the Thai medicinal plant *Sapindus Emarginatus*. Chem Pharm Bull 2001;49(9):1195-7.
10. Apollo Scientific. Safety data sheet. Hederagenin [Internet]. 2015 [cited 2018 May 15]. Available from: www.apolloscientific.co.uk/downloads/msds/BIDF1006_msds.pdf

Abstract: Method Validation of Identification Hederagenin in Soapnut Cosmetic by High Performance Liquid Chromatography Technique

Pitragorn Srimongkon, Pharm.D.*; Kanokwan Mudjarin, B.Pharm.**

** Consumer Health Protection Section Regional Medical Science Center 7th Khonkaen; ** Drugs Herbs and Cosmetics section Regional Medical Science Center 10th Ubonratchathani Province, Thailand
Journal of Health Science 2021;30(4):760-7.*

The present study aimed to develop an HPLC method to identify hederagenin, the soapnut substance, in herbal cosmetics. The validation data revealed a maximum wavelength of 210 nm suitable for hederagenin at an average retention time of 5.10 min. Moreover, the repeatability study showed the percentage relative standard deviation (RSD) was 0.11% for the limit of detection (LOD) of 0.01% w/w. These parameters tested to meet the method verification criteria. Then, the verified method was also carried out in 15 samples of herbal cosmetics with soapnut. The result showed that only 1 sample (6.70%) exhibited hegeragenin content similar to the positive control samples. The current study demonstrated that this HPLC method was suitable for the identification of hederagenin and hederagenin of soupnut was not found in most samples due to many reasons including the susceptibility to high temperature, strong acid-base condition, as well as inappropriate storage and preparation procedure. The developed method was validated and proved to be selective and suitable for use as a standard method for the determination of hederagenin in herbal cosmetics product to further meet the quality requirement of manufacture.

Keywords: hederagenin; soapnut; herb in cosmetic