

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การระบุชนิดพืชสมุนไพรในวงศ์ขิงด้วยวิธีบาร์โค้ด ดีเอ็นเอไอริโซลูชันเมลดิ้งอะนาไลซิส
ผู้เขียน	นายศราวุฒิ อุ่นใจ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
อาจารย์ที่ปรึกษา	อ. ดร. มัสลิน โอสถานันต์กุล

### บทคัดย่อ

ประเทศไทยจัดอยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงทั้งพืชและสัตว์ มีพืชสมุนไพรจำนวนมาก ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรค ปัจจุบันอุตสาหกรรมทางด้านสมุนไพรมีการขยายตัวทางตลาดเพิ่มมากขึ้นในทุกๆ ปี ในขณะที่อุตสาหกรรมสมุนไพรมีความก้าวหน้าขึ้น ความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นปัจจัยหนึ่งที่ไม่อาจมองข้าม พืชส่วนใหญ่ในวงศ์ขิงมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากมักจะถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ มากมาย ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรในวงศ์ขิงวางขายอยู่ตามท้องตลาดทั่วไป โดยที่ผลิตภัณฑ์เหล่านั้นมักจะถูกแปรรูปให้อยู่ในสภาพอื่น เช่น ผงแป้ง ใบแห้ง ยาเม็ด แคปซูล หรือลูกขี้ ทำให้ยากต่อการจำแนกและระบุพืชสมุนไพรแต่ละชนิด อีกทั้งพืชวงศ์ขิงมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายกันมาก ด้วยปัญหาที่กล่าวมาข้างต้น จึงจำเป็นที่จะต้องมียูบิวิธินำเชื่อถือในการตรวจสอบ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อพัฒนาเทคนิค Bar-HRM ที่จะสามารถนำมาใช้ในการระบุและจำแนกพืชสมุนไพรไทยในวงศ์ขิงจำนวน 8 ชนิดที่เป็นสมุนไพรที่เป็นที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) กระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) กระชาย (*Boesenbergia rotunda*) ไพล (*Zingiber montanum*) ข่า (*Alpinia galanga*) และกระวาน (*Amomum uliginosum*) จากการทดสอบบาร์โค้ดทั้ง 7 ตำแหน่ง ตำแหน่ง ITS2 ได้ถูกเลือกให้นำมาใช้ในการออกแบบไพรเมอร์สำหรับการทำ HRM เพื่อเป็นฐานข้อมูลสนับสนุนในการระบุพืชแต่ละชนิด และได้ทำ HRM เพื่อจำแนกความแตกต่างของผลิตภัณฑ์สมุนไพรในวงศ์ขิงทั้ง 8 ชนิด ที่วางขายตามท้องตลาดในประเทศไทย จากการวิเคราะห์ HRM โดยใช้ไพรเมอร์ ITS2 พบว่าสามารถใช้แยกความแตกต่างของพืชแต่ละชนิดออกจากกันได้อย่างชัดเจนจากการทดลอง 3 ซ้ำ จึงได้ประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ในการจัดจำแนกผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปผงแห้ง โดยผลจากการทดลองสามารถใช้ระบุพืชแต่ละชนิดที่

นำมาใช้ทดสอบได้ ดังนั้นถึงแม้ว่าตัวอย่างพีชจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันมาก หรือ ตัวอย่างพีชที่ถูกแปรรูปก็สามารถใช้เทคนิค Bar-HRM ในการตรวจสอบและจำแนกพีชได้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

<b>Thesis Title</b>	Identification of Medicinal Plants in Zingiberaceae by Barcode DNA High-Resolution Melting Analysis (Bar-HRM) Method
<b>Author</b>	Mr. Sarawut Ounjai
<b>Degree</b>	Master of Science (Biology)
<b>Advisor</b>	Dr. Maslin Osathanunkul

### ABSTRACT

Thailand is a country with high biodiversity of both flora and fauna. A vast number of medicinal plants currently used as key ingredients in herbal medicines. The economic importance of the herbal and natural supplement industry is increasing every year. As the herbal industry grows, consumer safety is one issue that cannot be overlooked. Most of the species of Zingiberaceae family are economically important, since they are being used in the treatment of various ailments. Many Zingiberaceae plant products have now been commercialized throughout markets. These products are commonly sold in processed forms such as powders, dried material, tablets, capsules and tea bags, making it almost impossible to accurately identify the constituent species. In addition, the external appearance of several plants in this family exhibit morphological similarities. Due to these issues, a reliable method to authenticate products is needed. The main objective of this research is to develop a technique called Bar-HRM to be used for identification of eight commonly used Zingiberaceae herbs in Thailand including *Zingiber officinale*, *Curcuma longa*, *Curcuma zedoaria*, *Kaempferia parviflora*, *Boesenbergia rotunda*, *Zingiber montanum*, *Alpinia galangal* and *Amomum uliginosum*. Out of seven tested barcode regions, the ITS2 barcode was selected for use in primers design for HRM analysis to produce standard melting profiles of the selected species. Local products made from these eight species were purchased from Thai markets and authentication by HRM analyses. Melting data from the HRM assay using the designed ITS2 primers showed that the eight chosen species could be easily distinguished from each other. The melting profiles of the ITS2 amplicons of each species are clearly separated in all three replicates. The method was then applied to authenticate local products in powdered form. HRM curves of all test samples could be used to indicate plant species of the tested products. Morphological similarity among the species of interest

is not a problem in identifying with the developed Bar-HRM. Thus, the method developed here proved useful in aiding in the identification and authentication of herbal species in processed samples.

Keywords: DNA barcoding, HRM, identification, Zingiberaceae, medicinal plant



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved