

การพัฒนาวิธีพิสูจน์เอกลักษณ์ curcumin ในผงขมิ้นชันด้วยเทคนิค TLC และ ion trap mass spectrometer

สุนันท์ กิตติจารวัฒนา ชูศักดิ์ อาจสูงเนิน งามอาจ บุญบรรลุ ศศิกานต์ วุฒิกานต์นันท์

บทคัดย่อ

ทำการพัฒนาวิธีพิสูจน์เอกลักษณ์สารสำคัญ curcumin ในผงขมิ้นชัน โดยดัดแปลงวิธีจาก Thai Herbal Pharmacopoeia (2016) เปลี่ยนชนิด TLC plate ชนิด silica gel G เป็น silica gel 60 เปลี่ยนขนาด TLC plate จาก 10 x 20 เซนติเมตร เป็นขนาด 10 x 10 เซนติเมตร เปลี่ยน mobile phase จาก benzene เป็น toluene และเปลี่ยน chloroform เป็น dichloromethane และไม่ใช้สารเคมีในการ derivatization วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจพบสารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชัน โดยตำแหน่งของ band ระหว่างสารมาตรฐาน และ band ที่พบสารสำคัญในตัวอย่าง มีค่า Rf ต่างกันไม่เกิน ± 0.01 รวมทั้งได้มีการยืนยันด้วยเครื่อง ion trap mass spectrometer สามารถตรวจพบ mass spectrum ที่ 367, 217, 175, 173 และ 149 m/z ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ curcumin

คำสำคัญ : ขมิ้นชัน พิสูจน์เอกลักษณ์ TLC, ion trap mass spectrometer

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพยาสัตว์และวัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์
กรมปศุสัตว์

The identification method for curcumin in turmeric powdered by TLC and ion trap mass spectrometer

Sunan Kittijaruwattana Chusak Ardsoongnearn Ongart Boonbanlu Sasikan Wutthikannon

Abstract

The developed method for identification of curcumin in turmeric powdered samples was modified from Thai Herbal Pharmacopoeia (2016). TLC Silica gel G was changed to TLC silica gel 60, changed 10 x 20 cm TLC plate to 10 x 10 cm TLC plate, the constituent of the mobile phase was modified from benzene and chloroform to toluene and dichloromethane and the derivatization was not required for detection. The results showed that curcumin can be detected in turmeric powder samples. The difference of Rf values between the band of reference material and the band of curcumin found in the sample was not more than ± 0.01 and the presence of mass spectrum at 367, 217, 175, 173 and 149 m/z, which is the characteristic of curcumin was confirmed by an ion trap mass spectrometer.

Keywords: curcumin, turmeric powdered, identification, TLC, ion trap mass spectrometer

Veterinary Drugs and Hazardous Substances Assay Division, Bureau of Quality Control of Livestock Products, Department of Livestock Development

บทนำ

ขมิ้นชัน (*Curcuma Longa* L.) เป็นสมุนไพรที่ได้รับการบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ในส่วนของบัญชียาจากสมุนไพร ปรับปรุงล่าสุด เรื่องบัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 2) พศ..2555 (ยาพัฒนาจากสมุนไพร ยารักษาอาการของระบบทางเดินอาหาร) ซึ่งมีสรรพคุณทางยาอยู่ในกลุ่มยาขับลม บรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ โดยมีสารสำคัญที่ใช้ในการรักษาเช่น curcumin, bisdesmethoxycurcumin, desmethoxycurcumin เป็นต้น

จากการศึกษาฐานข้อมูลพบว่า สารสำคัญ curcumin มีสรรพคุณในทางรักษาหลากหลาย เช่น ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร ทางผิวหนัง เป็นต้น สมุนไพรมีราคาถูก และหาได้ง่ายในท้องตลาด

1. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว (fingerprints) ในผงขมิ้นชัน ด้วยเทคนิค TLC และ ion trap mass spectrometer

2. ขอบข่าย

ตรวจสอบเอกลักษณ์ของสมุนไพรขมิ้นชัน ให้มีความเหมาะสมในการนำไปทดสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยเทคนิค TLC และ ion trap mass spectrometer

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของขมิ้นชันในผงขมิ้นได้

4. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์

4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 4.1.1 เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo
- 4.1.2 ชุดวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารโดยหลักการ HPTLC พร้อมอุปกรณ์ ยี่ห้อ CAMAG
- 4.1.3 เครื่องถ่ายภาพพร้อมเก็บข้อมูลบนแผ่น TLC/HPTLC ยี่ห้อ CAMAG
- 4.1.4 Ion trap Mass spectrometer รุ่น HTC ยี่ห้อ BRUKER
- 4.1.5 TLC developing chamber
- 4.1.6 Vortex mixer
- 4.1.7 เครื่องเขย่าสารละลายอัตโนมัติ
- 4.1.8 TLC SCRAPER KIT

4.2 วัสดุวิทยาศาสตร์

- 4.2.1 Methanol (CH₃OH) AR grade
- 4.2.2 Chloroform Reagent grade
- 4.2.3 Ethanol Absolute
- 4.2.4 Dichloromethane AR grade
- 4.2.5 Toluene AR grade
- 4.2.6 Curcumin
- 4.2.7 Beaker แก้ว ขนาด 50 และ 100 mL
- 4.2.8 Volumetric flask ขนาด 10 และ 100 mL class A
- 4.2.9 Volumetric pipette ขนาด 3 mL class A
- 4.2.10 Amber glass vial ขนาด 16 mL
- 4.2.11 Vial HPTLC สีใส พร้อมฝา ขนาด 2 mL
- 4.2.12 Syringe membrane filter ชนิด nylon ขนาด 0.45 µm 13 mm
- 4.2.13 Disposable syringe 3 mL
- 4.2.14 Cylinder ขนาด 25 และ 100 mL
- 4.2.15 Centrifuge tube ขนาด 50 mL
- 4.2.16 กรวยกรอง
- 4.2.17 กระดาษซังสาร
- 4.2.18 กระดาษกรอง เบอร์ 4
- 4.2.19 TLC plate silica gel 60 ขนาด 10 x 10 เซนติเมตร

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีการใช้ชันชันเป็นส่วนประกอบในตำรับยาพื้นบ้านซึ่งประกอบไปด้วยสมุนไพรหลายชนิด ประกอบไปด้วย ชันชัน หมากสง เมล็ดข้าวเหนียว เปลือกมังคุด Chusri et al., (2017) ได้ทำการวิเคราะห์สูตรยาพื้นบ้านพบว่ามีส่วนประกอบของ catechin α -mangostin และ curcumins และมีฤทธิ์ต้านเชื้อ coagulase positive และ coagulase negative staphylococci ซึ่งแยกได้จากโคที่มีอาการเต้านมอักเสบ ในปี 2019 Pornanek and Chirasak ได้ทำการศึกษาโดยให้ curcumin ที่เพิ่มการละลาย (curcumin with increased solubility) เป็นสารเสริมในอาหารไก่กระทอง พบว่าทำให้ plasma total cholesterol (TC) และ low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ลดลง ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างของ plasma triglyceride (TG) high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-C) ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ทั้งนี้ total cholesterol (TC) และปริมาณไขมันในกล้ามเนื้อของกุ่มทดลองมีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Thai Herbal pharmacopoeia (2016) ได้ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาสารสำคัญ curcumin ในสมุนไพร ขมิ้นชัน (KHAMIN CHAN) โดยการพิสูจน์เอกลักษณ์ (identification) ด้วยวิธี Thin layer chromatography

Ashraf และคณะ (2015) ได้ศึกษาการหาปริมาณ curcuminoids ใน *Curcuma Longa* Linn ด้วยเทคนิค UPLC/ Q-TOF-MS: ในการหาพื้นที่เพาเชปลูกที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารสำคัญในปริมาณสูงสุด

Jiang และคณะ (2006) ได้ศึกษาการแยกสารสำคัญหลัก 3 ตัว ใน curcuminoids ได้แก่ bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin และ curcumin ทั้งแบบ positive และ negative mode ด้วยเทคนิค ESI - LC MS/MS

6. วิธีดำเนินการ

6.1. ชั่งสารมาตรฐาน curcumin ปริมาณ 10 mg ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL ละลายและปรับปริมาตรด้วย methanol ผสมให้เข้ากัน จะได้ความเข้มข้น 1.0 mg/mL

6.2. เตรียมตัวอย่างดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงวิธีการเตรียมตัวอย่าง

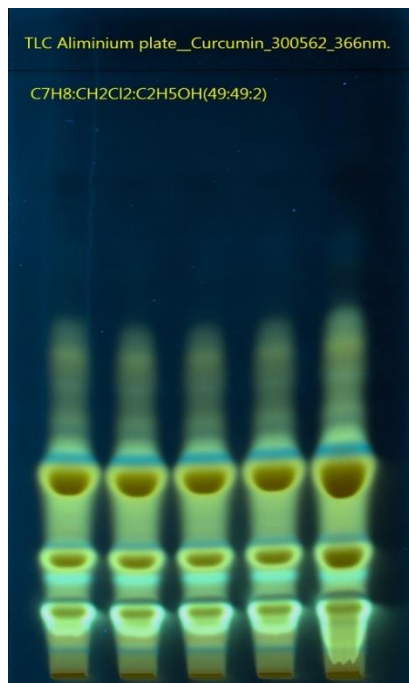
ขั้นตอน	Sample (ขมิ้นชันแบบผง)	6.2.1 Sample (ขมิ้นชันแบบผง)	6.2.2 Sample (ขมิ้นชันแบบผง)
Reference	Thai Herbal Pharmacopoeia (2016)	ดัดแปลงจาก Thai Herbal Pharmacopoeia (2016)	ดัดแปลงจาก Thai Herbal Pharmacopoeia (2016)
weight	1 กรัม	1 กรัม / 1.5 กรัม	0.2 และ 0.5 กรัม
การสกัดและการกรอง	- ใส่ลงใน centrifuge tube แก้วขนาด 50 มิลลิลิตร - ละลายด้วย methanol 3 มิลลิลิตร - นำไปแช่ 15 นาทีตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง - กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 กรองด้วย syringe membrane filter nylon 0.45µm. 13 mm.		
TLC plate	TLC plate Silica gel G ขนาด 20 x 20 เซนติเมตร	TLC plate Silica gel 60 ขนาด 10 x 20 เซนติเมตร / TLC plate Silica gel 60 ขนาด 10 x 10 เซนติเมตร	TLC plate Silica gel 60 ขนาด 10 x 10 เซนติเมตร
Mobile phase	benzene: chloroform: absolute ethanol (49:49:2, v/v)	toluene: dichloromethane: absolute ethanol (49:49:2, v/v)	1. toluene: dichloromethane: absolute ethanol (49:49:2, v/v) 2. toluene: dichloromethane: absolute ethanol (54:44:2, v/v) 3. toluene: dichloromethane: absolute ethanol (44:54:2, v/v) 4. toluene: dichloromethane: absolute ethanol (39:59:2, v/v)
Injection volume	5 ไมโครลิตร	10 ไมโครลิตร	1, 2 และ 5 ไมโครลิตร

- 6.3 ทดสอบ condition โดยดัดแปลงจาก Thai Herbal Pharmacopoeia (2016) ในส่วนของ ชนิด plate ซึ่งตาม reference อ้างอิง จะใช้ เป็น TLC plate silica gel G (20 x 20 cm.) โดยปรับมาเป็น TLC plate silica gel 60 ขนาด 10 x 10 เซนติเมตร และเปลี่ยน mobile phase จาก benzene เป็น toluene และจาก chloroform เป็น dichloromethane
- 6.4 มีการทดสอบและยืนยันผลด้วย เครื่อง ด้วย mass spectrometer ชนิด ion trap ที่ 367, 217, 175, 173 และ 149 m/z ด้วยการชุบ plate ในตำแหน่งที่สงสัยไปละลายด้วย methanol 1 มิลลิลิตร vortex และ sonicate 5 นาที

ตารางที่ 2 conditions ที่ใช้ในการยืนยันสารสำคัญ curcumin ด้วย mass spectrometer

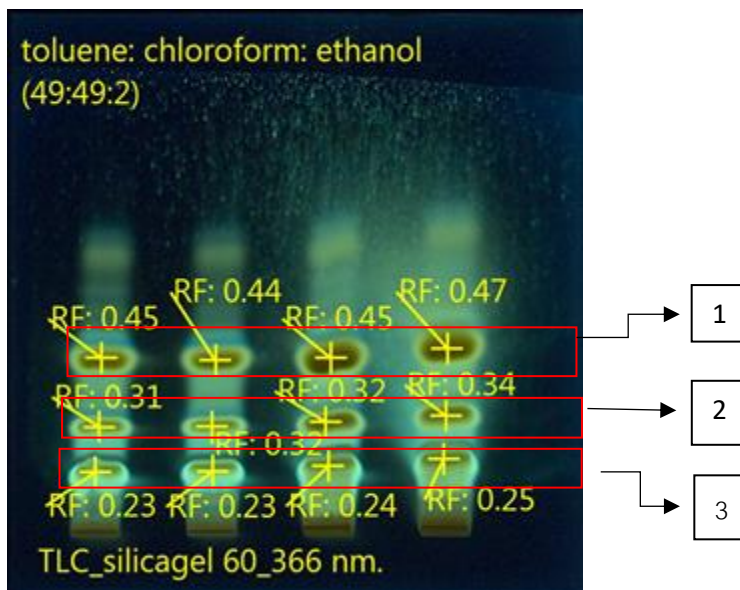
Tune Source		Trap	
Trap Drive	41.2	Rolling	on
Octopole RF Amplitude	120.8 Vpp	Rolling, Averages	5 cts
Lens 2	77.5 Volt	Scan Begin	50 m/z
Capillary Exit	-91.7 Volt	Scan End	500 m/z
Dry Temp (Set)	300 °C	Averages	8 Spectra
Nabulizer (Set)	30.00 psi	Max. Accu Time	200000 μ s
Dry Gas (Set)	6.00 l/min	(Smart ICC Target	50000
HV Capillary	4050 V	ICC	on
HV End Plate Offset	-500 V		

7. ผลการทดลอง



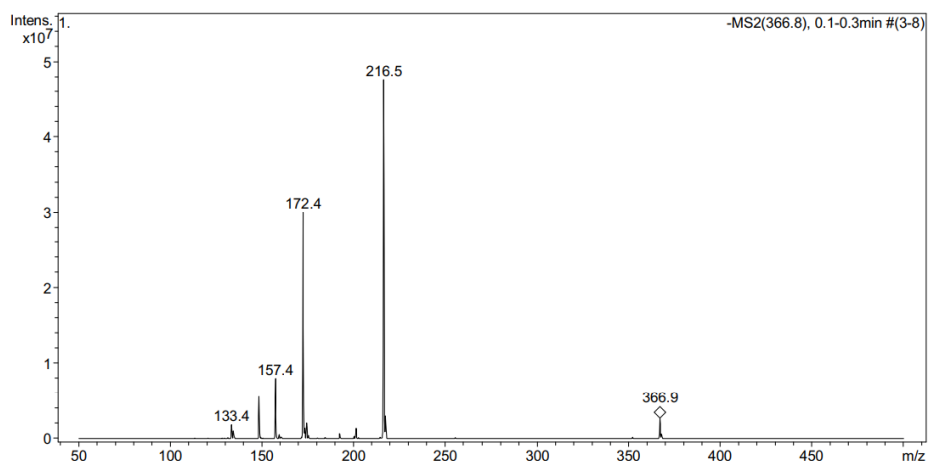
รูปที่ 1 ตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง ที่ 366 nm. บน TLC plate silica gel 60 ขนาด 10 x 20 เซนติเมตร

จากรูปที่ 1 จะเป็นการเตรียมตัวอย่างตามข้อที่ 6.2.1 โดยชั่งน้ำหนัก 1 กรัม ใช้ TLC plate ขนาด 10 x 20 เซนติเมตร และ run mobile phase 19 เซนติเมตร จากการทดสอบ condition พบว่า band ของสารตัวอย่างเคลื่อนที่ไม่เกิน 12 เซนติเมตร อาจเป็นเพราะมีการเปลี่ยนชนิด mobile phase จึงทำให้สารเคลื่อนที่ได้น้อยกว่าใน reference จึงเปลี่ยนขนาดของ plate เป็น TLC plate silica gel 60 ขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ตามรูปที่ 2

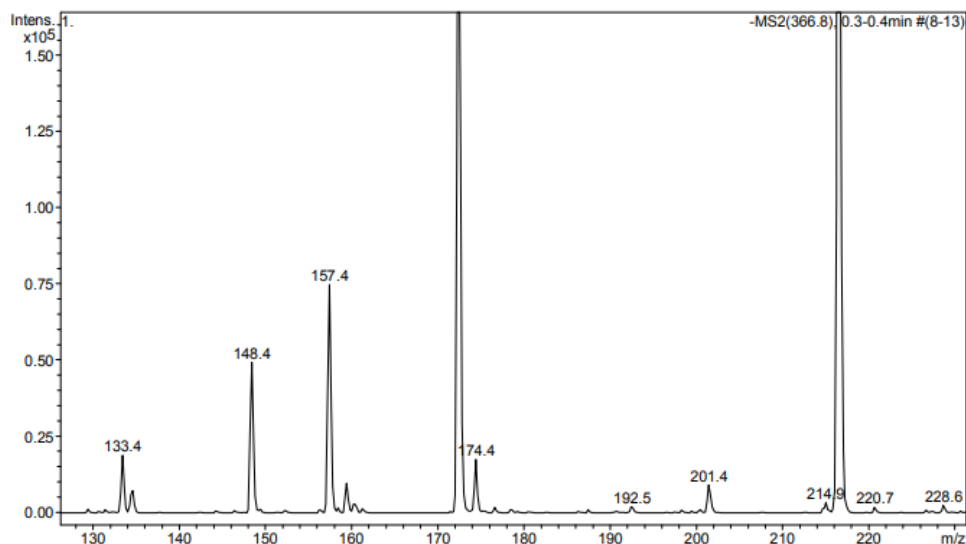


รูปที่ 2 ตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง ที่ 366 nm. บน TLC plate silica gel 60 run mobile phase 9 cm.

แต่เนื่องจากยังไม่ได้รับสารมาตรฐาน ทำให้ไม่สามารถยืนยันได้ว่า band ที่สงสัยในตำแหน่งที่ 1 - 3 เป็นสารสำคัญ curcumin หรือไม่ จึงทำการขูด plate และนำไปฉีดด้วยเครื่อง mass spectrometer ชนิด ion trap ที่ 367, 217, 175, 173 และ 149 m/z เพื่อยืนยันสารสำคัญ แต่จากการทดสอบไม่พบ m/z ของ curcumin จึงได้เตรียมตัวอย่างตามข้อ 6.2.2 และพบว่าตำแหน่งที่ 1 เป็นสารสำคัญ curcumin ดังรูปที่ 4

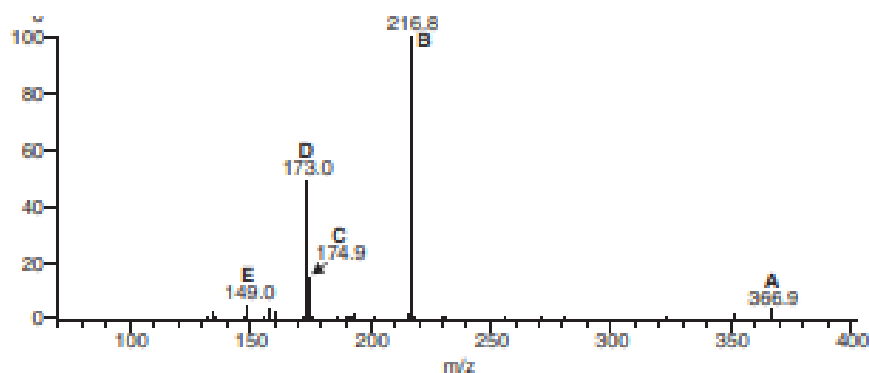


รูปที่ 4 การวิเคราะห์หาสารสำคัญ curcumin ในผงขมิ้นชันตามวิธี 6.2.2 ด้วย mass spectrometer ที่ 367, 217, 175, 173 และ 149 m/z



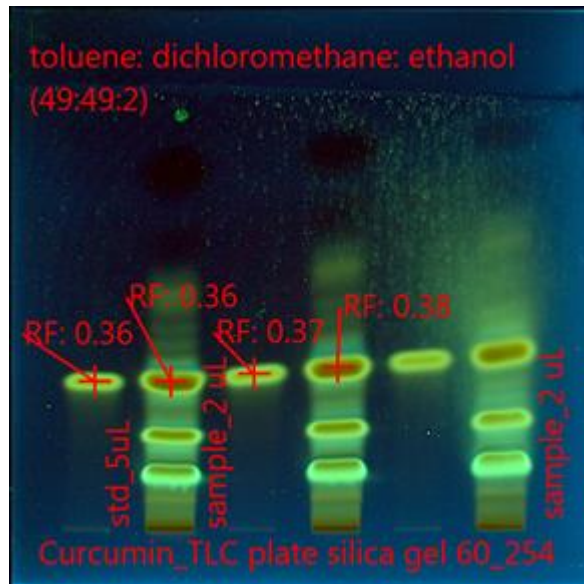
รูปที่ 5 ขยาย mass spectrum การวิเคราะห์หาสารสำคัญ curcumin ในผงขมิ้นชัน ตามวิธี 6.2.2 ด้วย mass spectrometer ที่ 367, 217, 175, 173 และ 149 m/z

จากรูปที่ 4 - 5 จะพบสารสำคัญ curcumin ที่ 367, 217, 175, 173 และ 149 m/z ซึ่งใกล้เคียงกับ reference ของ Jiang และคณะ (2006) ดังรูปที่ 6

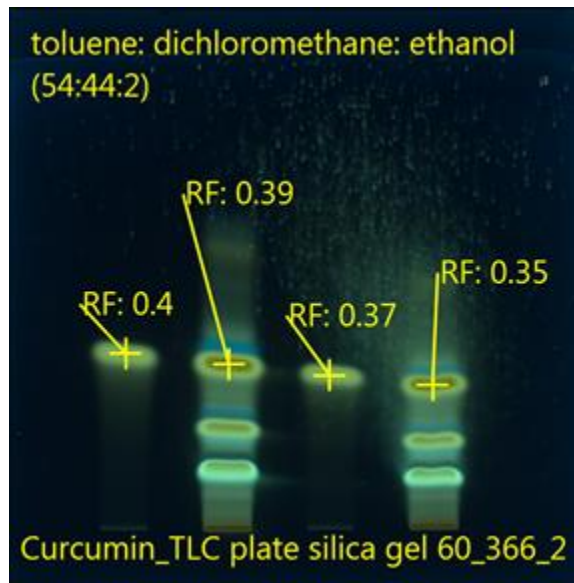


รูปที่ 6 Product ion spectra of curcuminoids from negative ion LC/ (-) ESI MS/MS measurements. Jiang และคณะ (2006)

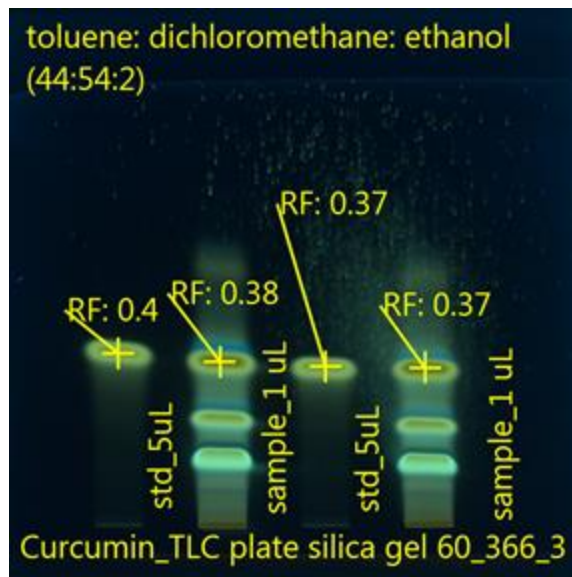
เมื่อได้รับสารมาตรฐานแล้วนำมาทดสอบพบว่า band ตำแหน่งที่ 1 ที่นำไปยืนยันผลด้วยเครื่อง mass spectrometer กับ band ของสารมาตรฐาน curcumin ขึ้นที่ตำแหน่งเดียวกัน จากนั้นได้ปรับ condition ของ mobile phase โดยการเตรียมแบบวิธีที่ 6.2.2 โดยชั่งตัวอย่างที่ 0.5 กรัม และมีการทดลอง mobile phase อัตราส่วนต่างๆ ดังนี้



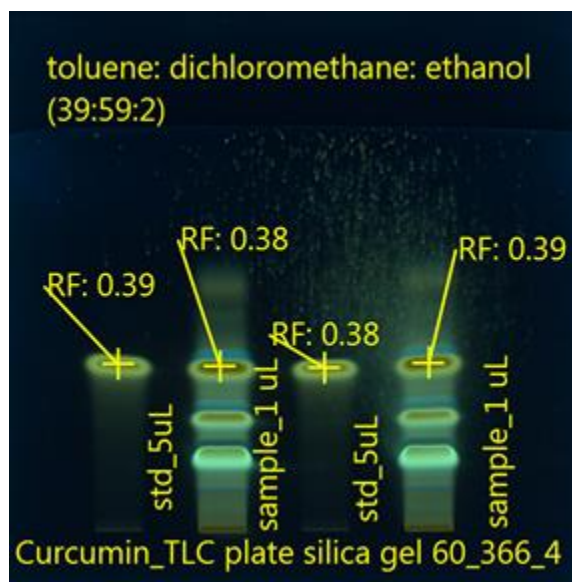
รูปที่ 7 TLC plate หลังจาก run mobile phase ส่องดูที่ 366 นาโนเมตร
1) MP: toluene: dichloromethane: ethanol (49:49:2)



รูปที่ 8 TLC plate หลังจาก run mobile phase ที่ 366 นาโนเมตร
2) MP: toluene: dichloromethane: ethanol (54:44:2)



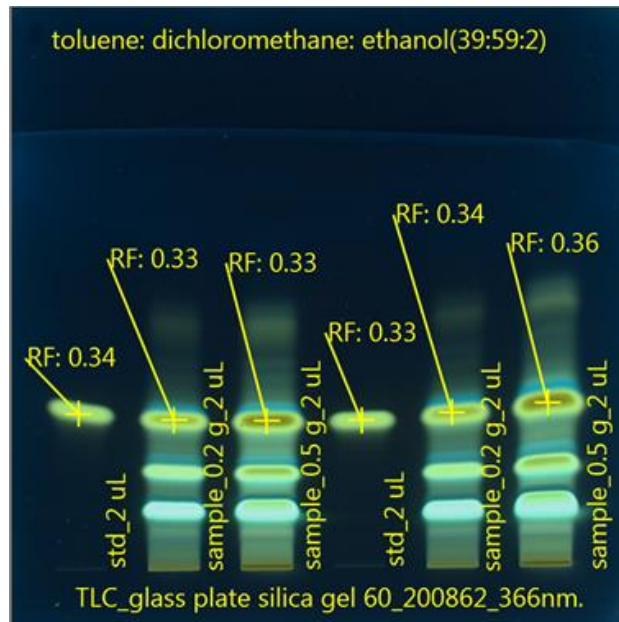
รูปที่ 9 TLC plate หลังจาก run mobile phase ส่องดูที่ 366 นาโนเมตร
3) MP: toluene: dichloromethane: ethanol (44:54:2)



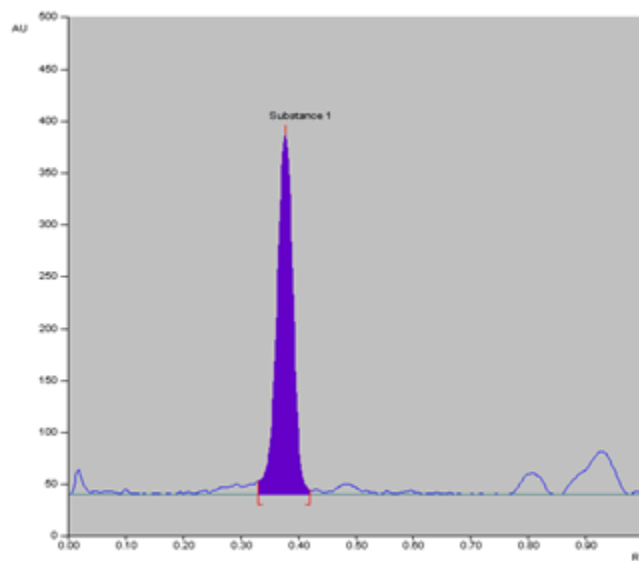
รูปที่ 10 TLC plate หลังจาก run mobile phase ส่องดูที่ 366 นาโนเมตร
4) MP: toluene: dichloromethane: ethanol (39:59:2)

จากการปรับ condition ดังรูปภาพที่ 7-10 พบว่าค่า Rf ของสารสำคัญ curcumin ต่างกันไม่เกิน 0.01 จึงควรเลือกใช้ mobile phase ที่อัตราส่วน toluene : dichloromethane : ethanol (39:59:2) เนื่องจากใช้ toluene ที่มีความเป็นพิษมาก ในปริมาณน้อยกว่า

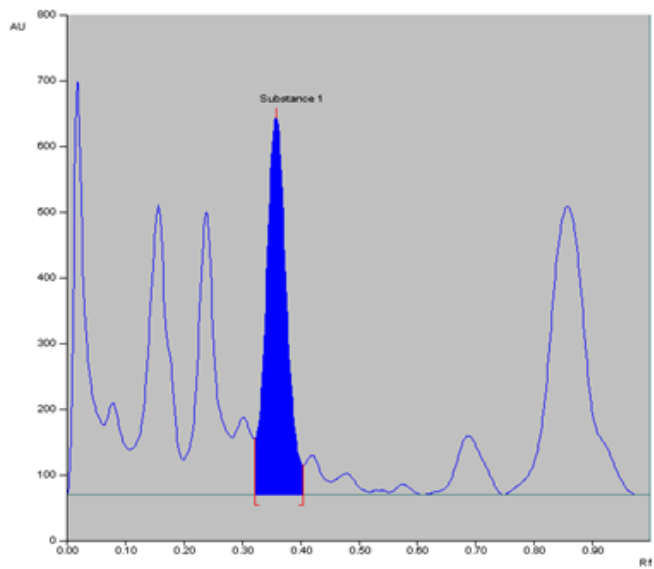
และได้ทดสอบโดยลดปริมาณตัวอย่างเหลือ 0.2 กรัม และได้เตรียมตัวอย่างตามวิธีที่ 6.2.2 โดยใช้ mobile phase condition ที่ 4



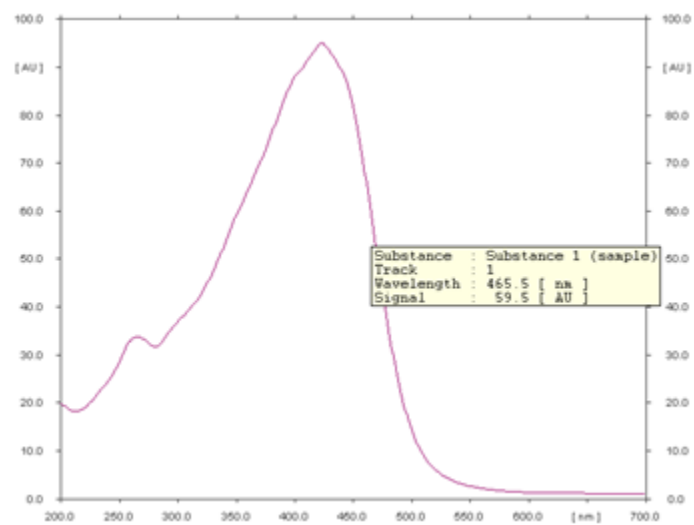
รูปที่ 11 ปรับลดปริมาณตัวอย่างเป็น 0.2 และ 0.5 กรัม ใช้ mobile phase condition ที่ 4



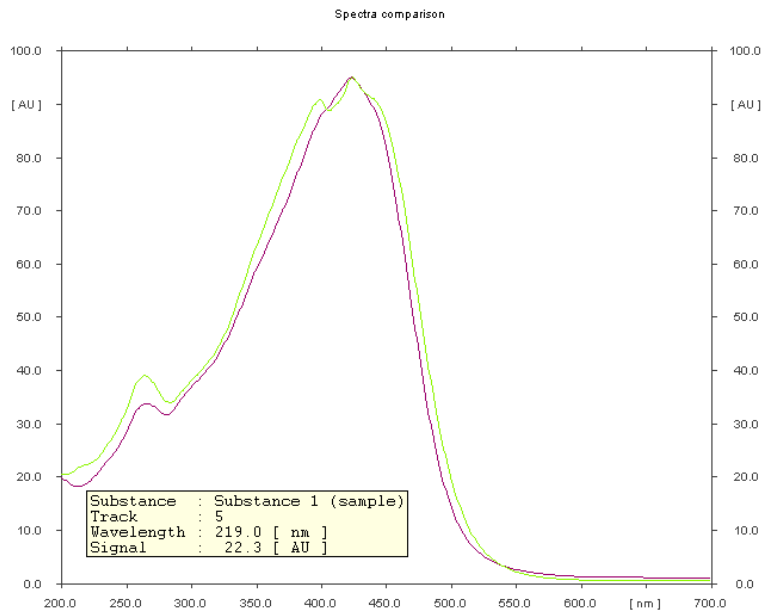
รูปที่ 12 peak ของสารมาตรฐาน curcumin



รูปที่ 13 peak ของสารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง

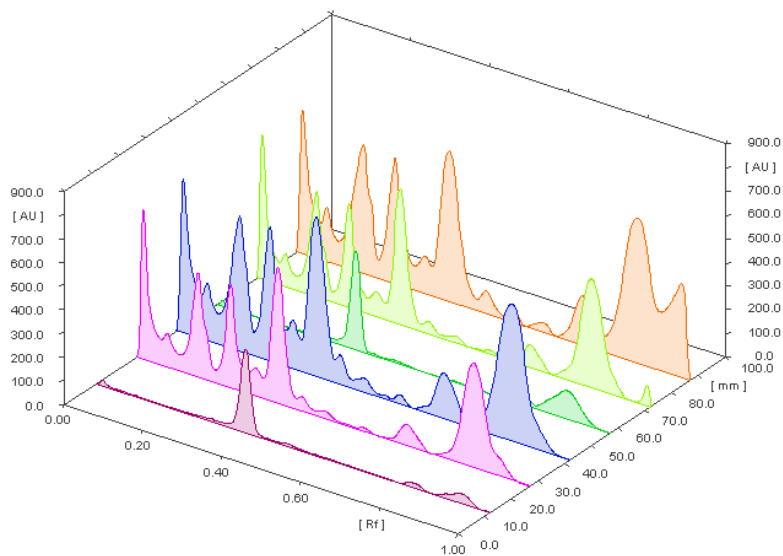


รูปที่ 14 Spectrum ของสารมาตรฐาน curcumin



รูปที่ 15 Spectrum ของสารมาตรฐาน curcumin และ Spectrum สารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง
 เส้นสีแดง เป็น Spectrum ของสารมาตรฐาน curcumin
 เส้นสีเขียว เป็น Spectrum สารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง

จากรูป spectrum ของสารมาตรฐาน และ sample มีความใกล้เคียงกัน แต่ sample อาจยังมีส่วนของอนุพันธ์อื่นรวมอยู่



รูปที่ 16 Peak สารสำคัญ curcumin ในสารมาตรฐาน และ ตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง
 สารมาตรฐาน curcumin (สีแดง และ สีเขียว) และตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง (สีชมพู สีนํ้าเงิน สีเขียวอ่อน สีส้ม)

จากรูป พิกของสารมาตรฐาน curcumin (สีแดง และ สีเขียว) และพิกของสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง (สีชมพู สีน้ำเงิน สีเขียวอ่อน สีส้ม) จะพบว่าฐาน peak ไม่เป็นเส้นตรงเรียบเหมือนสารมาตรฐาน อาจมีสารอนุพันธ์อื่นรวมอยู่ เนื่องจากในตัวอย่างขมิ้นชันมีอนุพันธ์และน้ำมันปนอยู่หลายชนิด ขั้นตอนการสกัดอาจไม่สามารถขจัดสิ่งรบกวนที่ไม่ต้องการออกไปได้หมด แต่จากการยืนยันสารสำคัญด้วยเครื่อง mass spectrometer ชนิด ion trap การเปรียบเทียบ spectrum ของสารมาตรฐานและตัวอย่าง และ ค่า Rf ของสารมาตรฐานกับสารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างที่ ต่างกันไม่เกิน 0.01 ทำให้ยืนยันได้ว่า พบสารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง รวมถึงสารอื่นซึ่งยังไม่ทราบชนิดในการศึกษาครั้งนี้

8. สรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์สารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชันแบบผง โดยดัดแปลงวิธีจาก Thai Herbal Pharmacopoeia (2016) เปลี่ยน TLC plate ชนิด silica gel G เป็นชนิด silica gel 60 เปลี่ยน mobile phase จาก benzene เป็น toluene และเปลี่ยน chloroform เป็น dichloromethane และไม่ใช่สารเคมีในการ derivatization

จากการพัฒนาวิธี ภายหลังจากการแยกตัวอย่างจนได้ fingerprint แล้ว สามารถตรวจพบสารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชัน โดยตำแหน่งของ band ระหว่างสารมาตรฐาน และ band ที่พบสารสำคัญในตัวอย่าง มีค่า Rf ต่างกันไม่เกิน ± 0.01 รวมทั้งได้มีการยืนยันด้วยเครื่อง ion trap mass spectrometer พบ mass spectrum ที่ 367, 217, 175, 173 และ 149 m/z m/z ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ curcumin

พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ โดยการปรับ condition เปลี่ยนชนิด mobile phase สามารถตรวจวัดสารสำคัญ curcumin ในตัวอย่างขมิ้นชันแบบผงได้ ทำให้สามารถลดขนาด plate จาก 10 x 20 เซนติเมตร เป็นขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ลดปริมาณการใช้สารเคมีที่มีความเป็นพิษลงได้ และสามารถใช้อิทธิในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ของขมิ้นชันได้โดยการเทียบ fingerprint

9. ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมชนิดของสารอนุพันธ์อื่นในขมิ้นชัน โดยวิธี TLC/HPTLC ร่วมกับ ion trap mass spectrometer โดยการฉีด direct infusion เพื่อให้ได้ข้อมูล mass spectrum มาเทียบกับข้อมูลที่มีการตีพิมพ์ในเอกสารวิชาการอื่น

10. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่พิจารณาให้ดำเนินการในปีงบประมาณ 2562 เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มตรวจสอบคุณภาพยาสัตว์ฯ ที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติงานให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

11. เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ Thai Herbal pharmacopoeia (2016) ขมิ้นชัน (KHAMIN CHAN) 145-151
- Ashraf, K., Mohd Mujeed, Altaf Ahmad, Niyaz Ahmad and Mohd Amir. (2015) Determination of Curcuminoids in curcuma longa Linn by UPLC /Q-TOF-MS: An Application in Turmeric Cultivation. Journal of Chromatographic Science Advance Access published April 1, 1-7
- Chusri, S., S. Tongrod, J. Saising, A. Mordmuang, S. Limsuwan, S. Sanpinit and S. Voravuthikunchai (2017) Antibacterial and anti-biofilm effects of a polyherbal formula and its constituents against coagulase-negative and -positive staphylococci isolated from bovine mastitis, Journal of Applied Animal Research, 45:1, 364-372
- Honglaing, J., S. Árpád, J. Neil E., T. Barbara N. and G. David R. (2006) Analysis of curcuminoids by positive and negative electrospray ionization and tandem mass spectrometry, rapid communications in mass spectrometry, 20: 1001-1012
- Pornanek, P., C. Phoemchalard (2019) Feed added curcumin with increased solubility on plasma lipoprotein, meat quality, and fat content in broiler chicks. Tropical Animal Health and Production, Accepted: 19 August 2019.