Published online: 20 July 2018

การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระชายเหลือง กระชายแดง และกระชายดำ

Comparison in antioxidant activites of *Boesenbergia rotunda*, *Boesenbergia pandurate* and *Kaempferia parviflora*

พิชญา ฤทธิ์เจริญ

อีเมล์: 5951701276@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. วิทยาพันธ์ นันติตานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล์: witayapan.nan@mfu.ac.th

ดร. ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

อีเมล์: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางเครื่องสำอางของสารสกัดกระชายเหลือง กระชายแดง และกระชายดำ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ น้ำปราศจากไอออน เมทานอล เอทานอล เอทิล อะซิเตท และเฮกเซน พบว่า สารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 394.19 ± 0.31 มิลลิกรัมสมมูลของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด และสารสกัดจากกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 208.54 ± 0.08 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้สารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 17.43 ± 0.14 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ขณะที่การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) พบว่า สารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ค่าเท่ากับ 58.66 ± 0.05 มิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าสารสกัดกระชายต่างชนิดกันมีปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกันซึ่งสารสกัดดังกล่าวมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางต่อไปได้

คำสำคัญ: กระชายดำ/กระชายแดง/กระชายเหลือง/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/สารประกอบฟีนอลิก

Mae Fah Luang University

The purpose of this research was to compare phenolic antioxidants of *Boesenbergia rotunda (B. rotunda)*, *Boesenbergia pandurate (B. pandura)* and *Kaempferia parviflora (K. parviflora)* prepared by 5 different solvents ,i.e., DI water, methanol, ethanol, ethyl acetate and hexane. The result showed that the highest flavonoid contents of 394.2 ±0.3 mg QE per g extract was obtained from *B. pandura* using ethanol as solvent, while the highest phenolic content (208.54 ± 0.08 mg GAE per g extract) was present in *B. pandura* extracted with ethyl acetate. Antioxidant capacity assayed by DPPH radical scavenging activity of 17.43 ± 0.14 mg TEAC per g extract was obtained from *B. pandura* using ethyl acetate as solvent, while ferric reducing antioxidant power (FRAP) of 58.66 ± 0.05 mg TEAC per g extract which was obtained from ethanolic *Boesenbergia pandurate* extracted. This emphasize that *B. rotunda*, *B. pandura* and *K. parviflora* contain different phenolic content and antioxidabt capacity. The obtained extracts have potential that could be further applied in cosmetics.

Keywords: Antioxidant/*B. pandurate*/*B. rotunda*/*K. parviflora*/Phenolics

บทนำ

กระชายเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจัดอยู่ในวงศ์ Zingberaceae มีแหล่งกำเนิดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบมากในเขตป่าและภูเขาของประเทศไทย และลาวเป็นพืชที่มีเหง้าอยู่ใต้ดิน ในยามีการใช้กระชายเพื่อเป็นยาอายุวัฒนะ ในตำรายาโบราณ ใช้บำรุงกำลัง บำรุงหัวใจ เป็นยาเจริญอาหาร บำรุงธาตุ แก้ใจสั่น แก้ลมวิงเวียนแน่นหน้าอก แก้ฝีอักเสบ แก้กลากเกลื้อน แก้โรคปาก เช่น ปากเปื่อย ปากแตกระแหง ปากเป็นแผล ใช้บำรุงประสาท ปรับความสมดุลของโลหิต ขจัดไขมันในเส้นเลือด รักษาโรคหัวใจ โรคเบาหวาน รักษาโรคกระเพาะ โรคลำไส้อักเสบ แก้โรคบิด ปวดท้อง ใช้รักษาโรคตกขาวในสตรี โรคริดสีดวงทวาร เป็นต้น (พวงเพ็ญ ศิริรักษ์, 2536) ในประเทศแบ่งกระชายออกเป็น 3 ชนิด คือ กระชายเหลือง, กระชายแดง และกระชายดำ ซึ่ง จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาพบว่ากระชายมี ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส (anti-viral activity) ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (anti-mutagenicity) ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (anti-viral activity) ฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า (adaptogenic acitivity) ฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์ (sexual behavior) และฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (anti-oxidant activity) เป็นต้น ซึ่งสรรพคุณดังกล่าวสามารถใช้กระชายเพื่อบำรุงกำลังเช่นเดียวกับโสมเกาหลีและบำรุงสมรรถภาพทางเพศของผู้ชายได้ (เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้วรักษ์, 2546)

Mae Fah Luang University

ปัจจุบันมนุษย์มีความสนใจในเรื่องสุขภาพและความงามมากขึ้น ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาสารสำคัญที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเสริมสุขภาพที่ดีของร่างกายและผิวพรรณ โดยเฉพาะงานวิจัยที่เกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระอันเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดริ้วรอยและความชรา ซึ่งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางส่วนใหญ่ จะประกอบด้วยสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในรูปของสารประกอบ โพลีฟีนอล เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก เคอร์เซติน แอนไท-ไซยานิน และแทนนิน เป็นต้น ต้น (Klimczak, Malecka, Szlachta & Gliszczynska-swiglo, 2007; Rupasinghe & Clegg, 2007) จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าผักผลไม้และสมุนไพรมีโพลีฟีนอลเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่และมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกระชายเป็นพืชสมุนไพรหนึ่งที่น่าสนใจเพื่อประยุกต์ใช้ทางด้านเครื่องสำอาง เนื่องจากมีการกล่าวอ้างถึงสรรพคุณทางยา มีความปลอดภัย ประกอบหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ในเรื่องการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านระบบร่างกายอย่างชัดเจน แต่เนื่องจากยังขาดข้อมูลเชิงวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางสนับสนุน ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นว่า กระชายทั้ง 3 ชนิด คือ กระชายเหลือง, กระชายแดง และกระชายดำ น่าจะมีสารและองค์ประกอบที่น่าสนใจสามารถนำใช้ในผลิตภัณฑ์ทางเครื่องสำอางได้หลากหลาย โดยเฉพาะเครื่องสำอางต่อต้านริ้วรอย ซึ่งยังไม่มีการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อประโยชน์ทางเครื่องสำอางที่เด่นชัด และยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ที่สำคัญทางเครื่องสำอางระหว่างกระชายทั้ง 3 ชนิด ดังนั้นการศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางเครื่องสำอางจากกระชาย 3 สายพันธ์ ได้แก่ กระชายเหลือง, กระชายแดง และกระชายดำ น่าจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรที่หาได้ในประเทศไทย และพัฒนาเป็นสารสกัดของไทยให้เป็นที่ยอมรับในตลาดอุตสาหรรมไทยและต่างประเทศต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเตรียมสารสกัดจากกระชายเหลือง สารสกัดจากกระชายแดง และสารสกัดจากกระชายดำ

2. เพื่อประเมินและเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดกระชายทั้ง 3 ชนิด

Mae Fah Luang University

ขอบเขตการวิจัย

ทำการเตรียมสารสกัดจากกระชายเหลือง, สารสกัดจากกระชายแดง, และสารสกัดจากกระชายดำที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำปราศจากไอออน, เมทานอล, เอทานอล, เอทิล อะซิเตท และเฮกเซน จากนั้นวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ และตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging acitivety และ Ferric reducing actioxidant power (FRAP) โดยทำการประเมินเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่เตรียมได้

การทบทวนวรรณกรรม

กระชายเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจัดอยู่ในวงศ์ Zingberaceae มีแหล่งกำเนิดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบมากในเขตป่าและภูเขาของประเทศไทย ในประเทศไทยแบ่งกระชายออกเป็น 3 ชนิด คือ

1. กระชายเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf., มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Fingerroot ,Chinese ginger ,Chinese keys ,Galingale สรรพคุณของกระชายเหลือง ใช้เหง้าและรากของกระชาย หมอยาพื้นบ้านในประเทศไทยใช้เหง้าและรากของกระชายเหลืองแก้ปวดมวนในท้อง แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้จุกเสียด รักษาแผลในปาก แก้โรคกระเพาะ แก้ตกขาว ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำลัง (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ, 2535) จากการศึกษาของ ธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว, ศศิพร จันทนาวรางกูร, และวรรณี จิรภาคย์กุล (2551) พบว่า กระชายเหลืองที่สกัดด้วยอะซีโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด และมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่ากระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 และอะซีโตน มีประสิทธิภาพสูงสุด

2. กระชายแดงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr.,สรรพคุณของกระชายแดง มีฤทธิ์แก้ปวดมวนในท้อง แก้ท้องอืดเฟ้อ มีฤทธิ์ขับปัสสาวะในเด็ก หรือถ้าใช้ร่วมกับกะทิจะสามารถเป็นมีฤทธิ์รักษาโรคพยาธิ (anti-anthelmintic) มีรายงานว่าการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาในการป้องกันและลดการดำเนินไปของโรคต่างๆที่เกี่ยวข้อง เช่น ฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย (antibacterial acitivity), ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory acitivity) ฤทธิ์การต้านมะเร็ง (anti-cancer acitivity) เป็นต้น (Chahyadi, Hartati & Wirasutisna 2014) จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระชายแดง พบว่าสาร panduratin A (compound 24) ในสารประกอบฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Sohn, Han, Lee, & Hwang, 2005)

Mae Fah Luang University

3. กระชายดำมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker. มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Black galingale จากการศึกษาเชิงวิทยาศาสตร์ยืนยันว่าสารสกัดกระชายดำมีฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัชวิทยาที่สำคัญหลายประเภท ได้แก่ ต้านจุลชีพ ต้านการกลายพันธุ์ ยับยั้งการไหลกลับของยาที่ลำไส้เล็ก ต้านการอักเสบ มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันและอาการภูมิแพ้ มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงหลายชนิด ลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด มีผลต่อสมรรถภาพทางเพศ ขยายหลอดเลือดและเพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือด เป็นต้น (บังอร ศรีพานิชกุลชัย, 2553) และจากการศึกษาของ พิชญา ลักษณะวิลาศ, ศิริพร แสงสุธรรม, และพลกฤษณ์ แสงวณิช (2556) พบว่าสารสกัดโปรตีนจากเหง้ากระชายดำมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระชนิด DPPH และ ABTS มากที่สุดในเดือนธันวาคม และยังพบอีกว่าองค์ประกอบทางเคมีในกระชายดำ เป็นสารประกอบประเภท ฟลาโวนอยด์ โดยมี 5,7 -dimethoxyflavone เป็นสารหลัก (Yenjai, Prasanphen, Daodee, Wongpanich Kittakoop, 2004)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมจัดซื้อจากกระชายเหลือง กระชายแดง และกระชายดำ

นำกระชาย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ กระชายเหลือง, กระชายแดง และกระชายดำ จากร้านรังค์ว่าน อ.เมืองตาก จ.ตาก โดยนำเหง้าสดกระชายทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำความสะอาด ด้วยน้ำสะอาด และผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นหั่นส่วนของเหง้าทั้ง 3 สายพันธุ์ เป็นชิ้นเล็กๆ ให้ได้ขนาดใกล้เคียงกัน และทำให้แห้งด้วยตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่จากนั้นนำกากที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด เก็บไว้ในถุงซิปที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดลองต่อไป

2. การเตรียมสกัดสารจากกากกระชายเหลือง กระชายแดง และกระชายดำ

ผงจากกากกระชายทั้ง 3 สายพันธุ์ จากหัวข้อ 1 มาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆได้แก่ น้ำ ปราศจากไอออน เมทานอล เอทานอล เอทิล อะซิเตท และเฮกเซน โดยใช้อัตราส่วนระหว่างผลแห้งกับตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แช่ลงในขวดรูปชมพู่ ปิดฝาด้วยอลูมิเนียม แล้วนำไปตั้งบน Hotplate stirrer กวนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็ก ความเร็วรอบระดับที่ 5 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 ส่วนใสที่กรองได้นำไปเป็นสารสกัดหยาบ แล้วนำไปเข้าเครื่องทำระเหยแบบหมุนชั่งน้ำหนักสารที่ได้ เก็บตัวอย่างสารสกัดไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะมีการนำสารสกัดมาใช้ทดสอบ

Mae Fah Luang University

3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu ตามวิธีของ Chan, et al. (2008)

นำสารสกัดกระชายที่ได้จากข้อ 2 ที่ทำการเจือจางแล้ว เติมด้วยน้ำปราศจากไอออน และสารละลาย Folin-Ciocalteu แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ตามลำดับ ทำการผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีและนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

4. การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (total flavonoids content) ตามวิธีของ Zahra, Kartika, Darusman and Maddu (2016)

นำสารสกัดกระชายที่ได้จากข้อ 2 ที่ทำการเจือจางแล้ว เติมน้ำปราศจากไอออน และสารละลายโซเดียมไนไตรด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 จากนั้นจึงเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น ร้อยละ 10 เก็บไว้ 5 นาที และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 4 ตามลำดับ ทำการผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด

5. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ตามวิธีของ Chan et al. (2008)

นำสารสกัดกระชายที่ได้จากข้อ 2 ที่ทำการเจือจางแล้ว เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และสารละลาย DPPH ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณร้อยละการยับยั้ง และคำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด

6. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ตามวิธีของ Benzie and Strain (1996)

นำสารสกัดกระชายที่ได้จากข้อ 2 ที่ทำการเจือจางแล้ว เติมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ค่าความเป็นกรดด่าง 3.6 สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมล และสารละลาย FRAP reagent ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ซึ่งในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคิดเป็นค่าเฉลี่ย (± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) คำนวณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด

Mae Fah Luang University

7. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ทดสอบค่าความแตกต่างของการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากนั้นเปรียบเทียบหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยวิธี Duncan' Multiple Range test

ผลการวิจัย

1. การสกัดสารออกฤทธิ์จากกระชาย 3 สายพันธุ์

จากภาพที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากกระชายเหลือง สารสกัดจากกระชายแดง และจากกระชายดำ ที่ได้จากเหง้าจะมีสีเหลือง-สีเหลืองอมน้ำตาล ส่วนสารสกัดจากกระชายดำที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำจะได้สีม่วงเข้ม ลักษณะข้นหนืด ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 พบว่าสารสกัดกระชาย 3 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำได้ร้อยละผลผลิตสารของสกัดที่สูงที่สุด

(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 1 ลักษณะทางกายภาพสารสกัดหยาบของกระชายเหลือง (ก) กระชายแดง (ข) และกระชายดำ (ค) ที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำ เมทานอล เอทานอล เอทิล อะซิเตท และเฮกเซน

Maejo Luang University

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากกระชายเหลือง กระชายแดง และกระชายดำ

พืชตัวอย่าง	Solvent	%Yield crude Extract
Boesenbergia rotunda	DI Water	15.67 ± 0.50^{Eb}
	Methanol	$6.68 \pm 3.73B^{Ca}$
	Ethanol	3.73 ± 0.35^{ABa}
	Ethyl acetate	6.27 ± 1.37^{BCa}
	Hexane	3.50 ± 0.87^{ABa}
Boesenbergia pandurata	DI Water	12.37 ± 0.31^{Dd}
	Methanol	6.68 ± 0.88^{BCc}
	Ethanol	4.57 ± 1.62^{ABb}
	Ethyl acetate	4.57 ± 0.42^{ABb}
	Hexane	2.77 ± 0.12^{Aa}
Kaempferia parviflora	DI Water	15.80 ± 1.39^{Fb}
	Methanol	6.41 ± 0.32^{BCa}
	Ethanol	7.73 ± 0.50^{Ca}
	Ethyl acetate	7.70 ± 3.84^{Ca}
	Hexane	3.97 ± 1.72^{ABa}

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
โดยตัวอักษรตัวใหญ่ที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์และตัวอักษรตัวเล็กที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์แต่ละตัวอย่างพืช หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

จากตารางที่ 1 พบว่า สารสกัดจากกระชายเหลืองที่สกัดด้วยน้ำ จะให้ผลผลิตสูงที่สุด ส่วนสารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเฮกเซน มีปริมาณร้อยละปริมาณสารสกัดต่ำที่สุด ทั้งนี้คาดว่าสารสกัดที่ได้จากกระชายเหลืองจะมีขั้วสูงกว่ากระชายแดงและกระชายดำ จึงทำให้มีผลผลิตที่มากกว่าสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น จากผลการทดลองที่ได้ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของ บังอร ศรีพานิชกุลชัย, ฉวี เย็นใจ, แคทรียา สุทธานุช และนาถธิดา วีระปรียากูร (2548) พบว่า การสกัดแยกส่วนหยาบกระชายดำด้วยวิธีการกลั่นอย่างต่อเนื่อง เพื่อแยกเป็นสารสกัดหยาบในตัวทำละลายด้ายเฮกเซน เอทานอล และน้ำ พบว่า มีปริมาณร้อยละสารสกัดหยาบในเอทานอลสูงที่สุด รองลงมาเฮกเซน และน้ำ

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของกระชาย 3 สายพันธุ์ พบว่า สารสกัดจากกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท จะให้ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 208.54 ± 0.08 mg GAE/g extract อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระชาย

Mae Fah Luang University

แดง และกระชายดำ จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า การใช้น้ำในการสกัดทำให้ได้ปริมาณสารฟีนอลิกต่ำกว่าการใช้ตัวทำละลายอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของธนศักดิ์ และ คณะ (2551) พบว่า กระชายเหลืองที่สกัดด้วย อะซิโตน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมา ได้แก่ การสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 80 เมทานอล ร้อยละ 80 และน้ำ ตามลำดับ

3. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่า สารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล จะให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 394.19 ± 0.31 mg QEAC/g extract อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระชายเหลืองและกระชายดำ จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า การใช้น้ำในการสกัดทำให้ได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ต่ำกว่าการใช้ตัวทำละลายอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของธนศักดิ์ และ คณะ (2551) พบว่า กระชายเหลืองที่สกัดด้วย อะซิโตน มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมา ได้แก่ การสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 80 เมทานอล ร้อยละ 80 และน้ำ ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าสารที่มีสมบัติคล้ายคลึงกันย่อมละลายกันได้ ตัวทำละลายควรมีความสามารถในการละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด และไม่ละลายหรือละลายในองค์ประกอบอื่นได้น้อย (โอภา วัชระคุปต์, 2549) และจากผลการศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีในกระชาย 3 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นอนุพันธุ์ของ ฟลาโวนอยด์ จากรายงานของ Atun, Handayani and Frindryani (2017) พบว่า สารหลักเป็นสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ กลุ่มของฟลาวาโนน (flavanones) โดยมี pinostrobin (5-hydroxy-7-methoxy-flavanones)

4. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

4.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด เท่ากับ 17.43 ± 0.14 mg TEAC/g extract อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกระชายเหลือง และกระชายดำ จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า การใช้น้ำในการสกัดทำให้มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ต่ำกว่าการใช้ตัวทำละลายอื่น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบทางเคมีในกระชาย 3 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นอนุพันธุ์ของฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 - C6) (Suttana, 2013) ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาด

Mae Fah Luang University

ใหญ่ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีอนุมูลอิสระ DPPH มีอิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนไตรและอนุมูลอิสระ DPPH มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะ หรือจัดอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงได้ (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

4.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

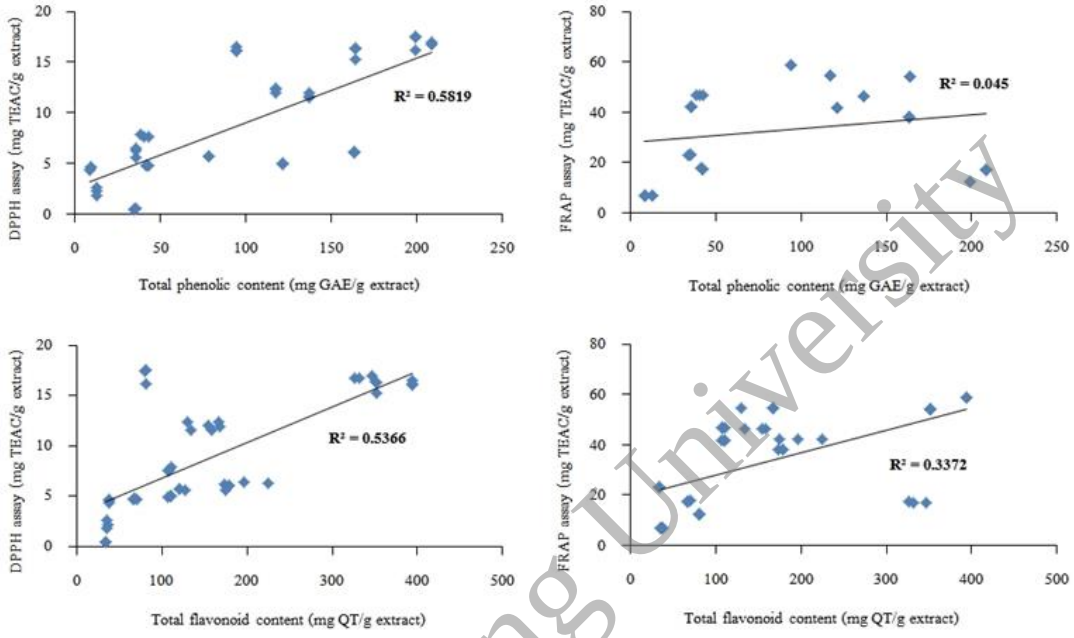
จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่า กระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล FRAP สูงที่สุด เท่ากับ 58.66 ± 0.05 mg TEAC/g extract และสารสกัดจากกระชายเหลืองที่สกัดด้วยน้ำ มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล FRAP ต่ำที่สุด เท่ากับ 6.75 ± 0.01 mg TEAC/g extract อย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองที่ได้ พบว่า การใช้เฮกเซนในการสกัดกระชายดำ แสดงให้เห็นว่า ไม่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล FRAP และจากการศึกษาของ Salama, AlRashdi, Abdulla, Hassandarvish and Bilgen (2013) พบว่า สาร panduratin A ในเหง้ากระชายแดงที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับไซลิมาริน (Silymarin)

5. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้ผลดัง ภาพที่ 2 มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 58.19% และความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH เท่ากับ 53.63% ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันและความสัมพันธ์ปานกลาง และความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้ผลดัง ภาพที่ 2 มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล FRAP เท่ากับ 4.50% และความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล FRAP เท่ากับ 33.72% ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์น้อย และจากการศึกษาของ Wan-Ibrahim, Sidik and Kuppusamy (2010) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ FRAP ที่พบในพืชที่สามารถรับประทานได้ 20 ชนิดจากประเทศมาเลเซีย โดยทำการสกัดด้วยน้ำ พบว่า เหง้ากระชายเหลืองการสกัดด้วยน้ำมีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH และ FRAP เท่ากับ 6.30 ± 1.10 % และ 7.80 ± 2.20

Mae Fah Luang University

ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างพืชที่ใช้ทดสอบ แสดงให้เห็นว่า เหง้ากระชายเหลืองมีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH และ FRAP ได้น้อย



ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกระชาย 3 สายพันธุ์ที่ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด

อภิปรายผลการทดลอง

1. ร้อยละปริมาณสารสกัดของสารสกัดจากกระชายทั้ง 3 ชนิด ผ่านการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด พบว่า สารสกัดจากกระชายเหลืองที่สกัดด้วยน้ำ มีปริมาณร้อยละปริมาณสารสกัดสูงที่สุด

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่า สารสกัดจากกระชายเหลืองที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท จะให้ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกสูงที่สุด และสารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล จะให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด

3. การเปรียบความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และ FRAP แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระชายแต่ละสายพันธุ์ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน มีกลไกการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันออกไป โดยในวิธี DPPH สารสกัดที่ให้ไฮโดรเจนอะตอมในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดี คือ สารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทิล อะซิเตท ส่วนในวิธี FRAP สารสกัด

Mae Fah Luang University

ที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ดี เพื่อเปลี่ยนรูปให้อยู่ในสภาวะที่เสถียรที่สูงที่สุด คือ สารสกัดจากกระชายแดงที่สกัดด้วยเอทานอล

4. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และ FRAP แสดงให้เห็นว่า ความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันและมีความสัมพันธ์ในช่วงปานกลาง-น้อย จากการศึกษานี้จัดว่าเป็นสารสกัดหยาบ ซึ่งอาจจะประกอบด้วยสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมกันอยู่แต่สารออกฤทธิ์ที่เป็นหลักในการต้านอนุมูลอิสระน่าจะเป็นกลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์ ดังนั้นเพื่อพัฒนาสารจากกระชายทั้ง 3 สายพันธุ์มาใช้ในทางเครื่องสำอางจึงควรมีการศึกษาต่อยอด เพื่อทราบถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้ในครั้งนี้เป็นผลมาจากสารสำคัญชนิดใด รวมทั้งศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของพืชต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์หลักในสารสกัดกระชาย 3 สายพันธุ์ โดยใช้เทคนิค High performance chromatography (HPLC)

2. ศึกษาวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดกระชาย 3 สายพันธุ์

รายการการอ้างอิง

ธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว, ศศิธร จันทนาวรางกูร และวรรณี จิรภาคย์กุล. (2551) ผลของตัวทำละลายต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง. *ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46* (หน้า 677). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บังอร ศรีพานิชกุลชัย, ฉวี เย็นใจ, แคทรียา สุทธานุช และนาถธิดา วีระปรียากูร. (2548).การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์หาปริมาณสาระสำคัญโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดกระชายดำ. *รายงานการวิจัยรับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ2547* สาขาวิชาเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

บังอร ศรีพานิชกุลชัย (บรรณาธิการ) (2553). *กระชายดำ : การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์* (เล่มที่ 1). ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

Mae Fah Luang University

พิชญา ลักษณะวิลาศ, ศิริพร แสงสุธรรม และพลกฤษณ์ แสงวณิช. (2556). การเปลี่ยงแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโปรตีนจากเหง้ากระชายดำในช่วงเวลาเก็บเกี่ยวที่ต่างกัน. *ในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 39* (หน้า 219-226). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ.

พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. (2536). *พรรณพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) : Tribe Hedychieae ในประเทศไทย* (พิมพ์ครั้งที่ 8). กรุงเทพฯ:นิวธรรมดาการพิมพ์.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2535). *พืชเครื่องเทศและสมุนไพร*. กรุงเทพฯ: ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ หน่วยศึกษานิเทศก์ กรมการฝึกหัดครู.

เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้วรักษ์. (2546, มกราคม). *ทัศนคติพฤติกรรมการบริโภคและปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพรกระชายดำของผู้บริโภค:กรณีศึกษาอำเภอภูเรือ จังหวัดเลย* เอกสารการสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546. (หน้า 653-669). ขอนแก่น:มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

โอภา วัชระคุปต์ (บรรณาธิการ). (2549). *สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ* (เล่มที่ 1). กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์.

Atun, S., Handayani, S., & Frindryani, L. F. (2017, August). Identification and antioxidant activity test of bioactive compound produced from ethanol extract of temukunci (Boesenbergia rotunda). *In AIP Conference Proceedings*, *1868*(1), 020007 AIP Publishing.

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power : the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, *239*(1), 70-76.

Chahyadi, A., Hartati, R., & Wirasutisna, K. R. (2014). Boesenbergia pandurata Roxb., an Indonesian medicinal plant: phytochemistry, biological activity, plant biotechnology. *Procedia Chemistry*, *13*, 13-37

Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, L. F., Lianto, F. S., . . . Lim, T. Y. (2008). Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry*, *109*(3), 477-483.

Mae Fah Luang University

Klimczak, I., Małecka, M., Szlachta, M., & Gliszczyńska-Świgło, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(3), 313-322.

Rupasinghe, H. V., & Clegg, S. (2007). Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources. *Journal of Food Composition and analysis*, *20*(2), 133-137

Salama, S. M., AlRashdi, A. S., Abdulla, M. A., Hassandarvish, P., & Bilgen, M. (2013). Protective activity of Panduratin A against Thioacetamide-induced oxidative damage: demonstration with in vitro experiments using WRL-68 liver cell line. *BMC complementary and alternative medicine*, *13*(1), 279.

Sohn, J. H., Han, K. L., Lee, S. H., & Hwang, J. K. (2005). Protective effects of panduratin A against oxidative damage of tert-butylhydroperoxide in human HepG2 cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *28*(6), 1083-1086.

Suttana, W. (2013). Anticancer Activities of Flavonoids: Mechanisms of Actions. *Srinagarind Medical Journal*, *28*(4), 567-582

Wan-Ibrahim, W. I., Sidik, K., & Kuppusamy, U. R. (2010). A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties. *Food chemistry*, *122*(4), 1139-1144.

Yenjai, C., Prasanphen, K., Daodee, S., Wongpanich, V., & Kittakoop, P. (2004). Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia*, *75*(1), 89-92.

Zahra, U. M. M. I., Kartika, Y., Batubara, I., Darusman, L. K., & Maddu, A. K. H. I. R. U. D. D. I. N. (2016). Screening the potency of Zingiberaceae leaves as antioxidant and antiaging agent. *Nusantara Bioscience*, *8*(2), 221-225.

Mae Fah Luang University