ว.วิทย. มข. 32(4) 270-277 (2547) KKU Sci. J. 32(4) 270-277 (2004)

ความสัมพันธ์ระหว่างสีของเนื้อเหง้ากระชายดำ กับฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ

เสริมสกุล พจนการุณ[1] และ ไชยยง รุจจนเวท[2]

บทคัดย่อ

ใช้เหง้ากระชายดำที่มีความเข้มของสีเนื้อแตกต่างกัน 4 ระดับซึ่งได้จากการแบ่งกลุ่มตามค่าสีในระบบ a*L*b* ด้วยวิธี unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) จากแหล่งปลูกการค้าในจังหวัดเลย (สายพันธุ์ 'บ่อเหมืองน้อย-2') พิษณุโลก (สายพันธุ์ 'ร่มเกล้า' และ 'น้ำจวง') และเพชรบูรณ์ (สายพันธุ์ 'เข็กน้อย-2') เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระในรูปเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันจากสมองหนูขาวใหญ่โดยวิธี thiobarbituric acid (TBA) ระหว่างสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำ 4 สายพันธุ์กับวิตามินอีและพืชสกุลอื่นในวงศ์ Zingiberaceae พบว่า สารสกัดกระชายดำทุกสายพันธุ์ ที่ทุกความเข้มข้นของสารสกัด (0.98, 1.95, 3.91 และ 7.81 มก./มล.) ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันจากสมองหนู โดยสารสกัดกระชายดำสายพันธุ์ 'ร่มเกล้า' (ซึ่งเนื้อเหง้ามีสีเข้มที่สุด) มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันสูงกว่าสารสกัดกระชายดำสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม สารสกัดกระชายดำทุกสายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันต่ำกว่าวิตามินอีและสารสกัดจากเหง้าของพืชสกุลอื่นในวงศ์ Zingiberaceae ที่ศึกษาอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยที่สารสกัดขิงและขมิ้นชันมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุด (88.85 และ 85.06%) สารสกัดเอทานอลกระชายดำทุกสายพันธุ์สามารถแสดงฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ โดยที่กลุ่ม ซึ่งเหง้ามีสีของเนื้อเข้ม มีแนวโน้มแสดงฤทธิ์สูงกว่ากลุ่มที่เหง้ามีสีของเนื้อจาง

Abstract

Rhizomes of *Kaempferia parviflora* with four different intensity of internal color as grouped by the a*L*b* system according to the unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) were collected from production areas in Loei (cv. Bohmuangnoi #2), Phitsanulok (cvs. Romklao and Namjuang) and Phetchabun (cv. Khegnoi #2) provinces. The ethanolic extracts of four cultivars of *K. parviflora*, vitamin E and other Zingiberaceous plants were evaluated for their anti-oxidant activity in the form of percent inhibition of lipid peroxidation as determined by the thiobarbituric acid (TBA) method. It was found that all *K. parviflora*

[1] *ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัญญาการผลิตเลย 2 อ.เมือง จ.เลย 42100*

[2] *ห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ศูนย์วิจัย ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200*

extracts at all concentrations used (0.98, 1.95, 3.91 and 7.81 mg/ml) inhibited lipid peroxidation in polyunsaturated fatty acids obtained from Sprague-Dawley rats' brain. The extract of cv. Romklao, which had the darkest internal color, was highest in percent inhibition of lipid peroxidation. However, the values for the extracts of *K. parviflora* were significantly lower ($p < 0.05$) than those for vitamin E and other Zingiberaceous plants. The extracts of *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* had the highest percentages of lipid peroxidation (88.85 and 85.06%). All cultivars of *K. parviflora* exhibited an anti-oxidant activity. Those with darker internal color tended to have a higher anti-oxidant activity than those with lighter internal color.

คำนำ

กระชายดำ เป็นพืชล้มลุกอยู่ในวงศ์ *Zingiberaceae* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Kaempferia parviflora Wall ex Baker* ซึ่งต่างจาก "กระชาย" ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia pandurata (Roxb.) Schltr.* [พ้องกับ *B. rotunda (L.) Mansf.*] และกระชายขาวที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า '*Globba laeta* K. Larsen' (เต็ม สมิตินันทน์, 2544) กระชายดำมีสรรพคุณรักษาโรคกามตายด้านหรือบำรุงกำหนัด ช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ และช่วยบำรุงกำลัง (อภิชาต ชิดบุรี, 2543) กระชายดำเป็นพืชสมุนไพรที่เริ่มปลูกในจังหวัดเลยและได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากขึ้นเป็นลำดับจนมีการขยายพื้นที่ปลูกกระชายดำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในทั่วทุกภาคของประเทศและเริ่มเข้ามาทดแทนการปลูกขิงอันเนื่องมาจากกระชายดำมีราคาที่สูงมากถึง 500-550 บาทต่อกิโลกรัม (โสภี ทุมลา, 2545) ปัจจุบันผู้บริโภค เกษตรกร ผู้ปลูก และผู้ประกอบการจำหน่ายผลิตภัณฑ์กระชายดำได้ใช้สีของเนื้อเหง้ากระชายดำเป็นเกณฑ์ในการคัดเกรดและกำหนดราคา (เสริม สกุล พจนการุณ และเชวง แก้วรักษ์, 2546ก, ข; Pojanagaroon and Kaewrak, 2003) โดยมีความเชื่อว่ายิ่งเนื้อของเหง้ากระชายดำยิ่งมีสีเข้มมากเท่าใดก็ยิ่งมีคุณสมบัติข้างต้นดีขึ้นเท่านั้นและให้ราคาเหง้ากระชายดำแพงกว่าสีจางเป็นเท่าตัว จึงเป็นประเด็นหลักในการวิจัยเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสีของเนื้อเหง้ากระชายดำและปริมาณของทุติยสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสำหรับใช้ประกอบการคัดเลือกพันธุ์กระชายดำที่เหมาะสมและมีสารออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสูงซึ่งได้รับความนิยมสูงสุดจากผู้ประกอบการและผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่ยืนยันฤทธิ์ต่างๆของกระชายดำ ประกอบกับมีรายงานว่าพืชในวงศ์ *Zingiberaceae* หลายชนิด เช่น ขิง (*Zingiber officinale*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) และกระชาย (*Boesenbergia pandurata*) มีฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ (นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนา เจนวิถีสุข, 2545) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเน้นศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสีของเนื้อเหง้ากระชายดำกับฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระในเชิงเปรียบเทียบกับพืชสกุลอื่นในวงศ์ Zingiberaceae อื่นๆ และวิตามินอี

วิธีการทดลอง

การรวบรวมเหง้ากระชายดำ

รวบรวมเหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ม่วงเข้ม ม่วง ม่วงอ่อน และม่วงอ่อนมาก โดยใช้ค่าสีในระบบ a*L*b* สำหรับการแบ่งกลุ่ม (Pojanagaroon and Kaewrak, 2003) คัดเลือกเหง้ากระชายดำจากแหล่งปลูกในจังหวัดพิษณุโลก เลย และเพชรบูรณ์ โดยใช้ชื่อของแหล่งที่รวบรวมเป็นชื่อสายพันธุ์กระชายดำ (ตารางที่ 1) คัดเลือกกระชายดำสำหรับทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากเหง้าที่มีสีเนื้อแตกต่างกัน 4 ระดับที่อยู่ในกลุ่มย่อยแตกต่างกันจากการแบ่งกลุ่มที่คล้ายคลึงกันโดยใช้

ค่าสีในระบบ a*L*b* ด้วยวิธี unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) ได้แก่ สายพันธุ์ 'ร่มเกล้า' (เนื้อมีสีม่วงเข้ม), สายพันธุ์'น้ำจวง' (สีม่วง), สายพันธุ์'บ่อเหมืองน้อย-2' (สีม่วงอ่อน) และ สายพันธุ์'เข็กน้อย-2' (สีม่วงอ่อนมาก) รายละเอียดสีของเนื้อเหง้ากระชายดำทั้ง 4 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2 รวบรวมเหง้าในขณะที่เกษตรกรกำลังเก็บเกี่ยวกระชายดำ เก็บรักษาโดยการผึ่งไว้กับพื้นในร่มที่มีอากาศถ่ายเทได้สะดวก ปลูกเหง้ากระชายดำในถุงพลาสติกเพื่อตรวจสอบลักษณะทางพฤษศาสตร์ โดย "นายจรัล มากน้อย" หอพรรณไม้ องค์การสวนพฤษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์และยืนยันว่าเป็นชื่อวิทยาศาสตร์ '*Kaempferia parviflora*' (หมายเลขตัวอย่าง QSBG C. Maknoi No. 467, 468, 470 และ 477)

ตารางที่ 1 ชื่อพันธุ์ รหัสและแหล่งปลูกของเหง้ากระชายดำ

พันธุ์	รหัส*	แหล่งปลูก
ร่มเกล้า	QSBG C.Maknoi 468	หมู่ 4 บ้านร่มเกล้า ตำบลบ่อภาค อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก
น้ำจวง	QSBG C.Maknoi 467	หมู่ 15 บ้านน้ำจวง ตำบลบ่อภาค อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก
บ่อเหมืองน้อย -2	QSBG C.Maknoi 477	หมู่ 5 บ้านบ่อเหมืองน้อย ตำบลแสงภา อำเภอนาแห้ว จังหวัดเลย
เข็กน้อย –2	QSBG C.Maknoi 470	หมู่ 8 บ้านชัยชนะ ตำบลเข็กน้อย อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

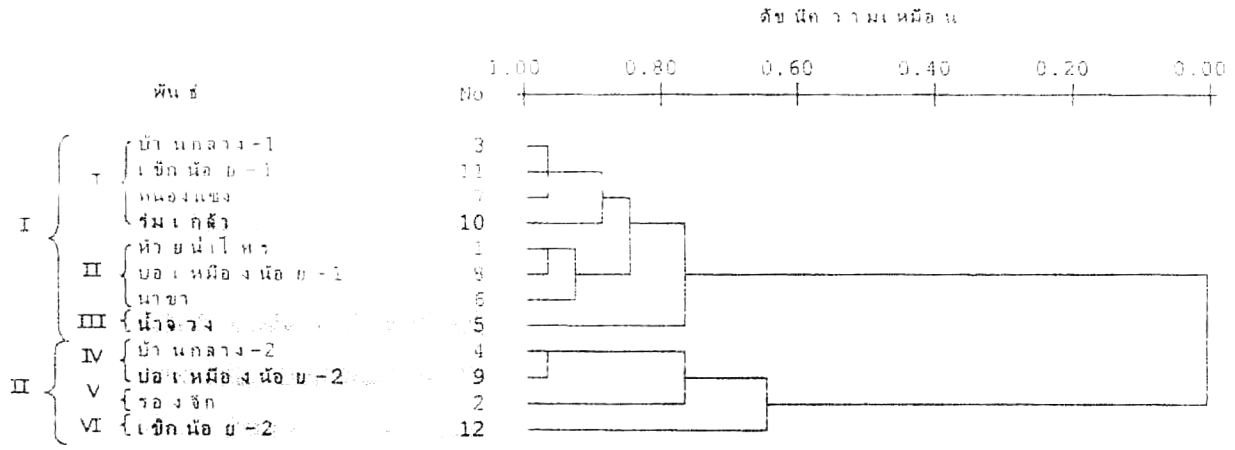
*รหัสตัวอย่างพืชที่ได้รับการเก็บรักษา ณ หอพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติฯ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

ตารางที่ 2 สีของเนื้อเหง้ากระชายดำ 4 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร

พันธุ์	สีของเนื้อเหง้ากระชายดำ (ระบบ a*L*b*)		
	L*	a*	b*
ร่มเกล้า	32.29 d	9.17 a	-3.57 d
น้ำจวง	37.12 c	8.48 b	-0.14 c
บ่อเหมืองน้อย –2	44.72 b	4.99 c	7.22 b
เข็กน้อย -2	47.27 a	3.86 d	9.46 a
Mean	**40.39**	**6.57**	**3.29**
SD	**6.47**	**2.51**	**5.76**

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยวิธี DMRT

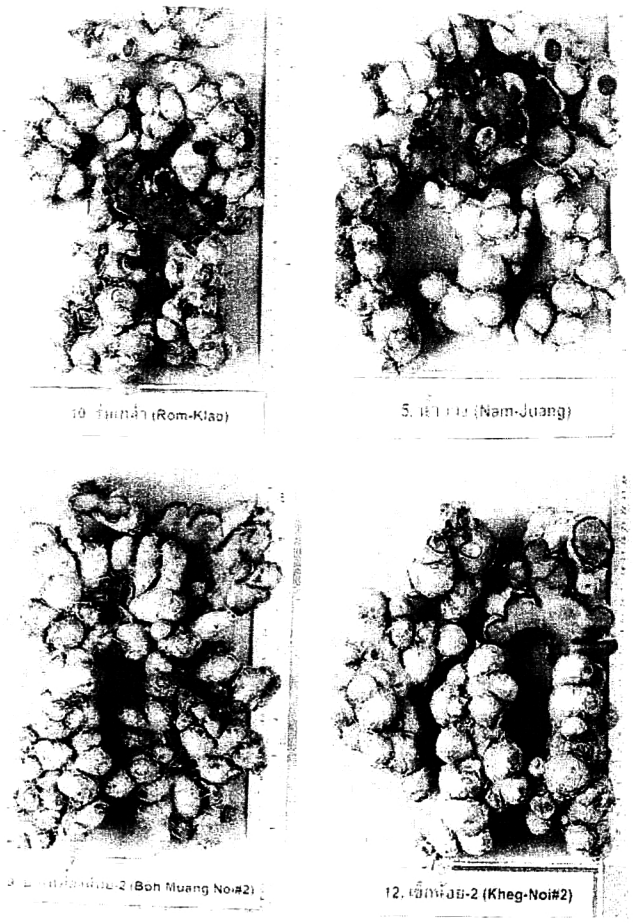
* การวัดสีในระบบ a*L*b* เป็นการแสดงตำแหน่งของสีในพิกัด 3 มิติระหว่าง 3 แกน คือ a*, L* และ b* โดยที่ a* และ b* แสดงถึงแกนในระนาบ (ทิศทาง) ของสี (chromaticity coordinates) : + a* แสดงทิศทางสีแดง -a* แสดงทิศทางสีเขียว +b* แสดงทิศทางสีเหลือง และ -b* แสดงทิศทางสีน้ำเงิน ขณะที่ L* แสดงถึงความสว่าง : +L* แสดงถึงความสว่างและสีขาว, -L* แสดงถึงความมืดและสีดำ



รูปที่ 1 Dendrogram การแบ่งกลุ่มสีของเนื้อเหง้ากระชายดำ 12 สายพันธุ์ที่สร้างจากค่าสี a*,L*และ b* ในระบบสี a*L*b* ด้วยวิธี unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) (Pojanagaroon and Kaewrak, 2003) โดยแบ่งกระชายดำได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ (6 กลุ่มย่อย) ได้แก่ กลุ่มใหญ่ที่หนึ่ง ประกอบด้วยกลุ่มย่อยที่ I, II และ III (กลุ่มที่มีเนื้อสีเข้ม) กลุ่มใหญ่ที่สอง ประกอบด้วยกลุ่มที่ IV, V และ VI (กลุ่มที่มีเนื้อสีจาง)

การสกัดเหง้ากระชายดำ

นำเหง้ากระชายดำซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45-50 วัน มาล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วสับเป็นชิ้นขนาดเล็ก โดยไม่ปอกเปลือก ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และบดให้ละเอียด หมัก (macerate) ผงเหง้ากระชายดำในเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 2 วันแล้วกรอง นำกากมาหมักซ้ำอีก 2 ครั้งในเอทานอล 95% เพิ่มความเข้มข้นส่วนที่กรองได้ในสภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ 55° ซ. และทำให้แห้งในสภาพเยือกแข็งโดยการระเหยเพื่อให้ได้สารสกัดแอลกอฮอล์ที่แห้ง [สารสกัดที่ได้คิดเป็น 5.7% (โดยน้ำหนัก) ของเหง้ากระชายดำที่ใช้เริ่มต้น] ละลายสารสกัดแห้งโดยใช้ Tween 5% ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



รูปที่ 2 เหง้าและสีของเนื้อเหง้ากระชายดำ

สัตว์ทดลอง

ใช้หนูขาว (Sprague-Dawley rat) ตัวผู้ที่มีน้ำหนัก 250-300 กรัม (อายุประมาณ 4-6 เดือน) ที่สั่งซื้อมาจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม เลี้ยงสัตว์ทดลองในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ (22 + 3° ซ.) และมีวัฏจักรแสงช่วงสว่างและมืดอย่างละ 12 ชั่วโมง โดยให้สัตว์ทดลองปรับตัวในสภาพดังกล่าวอย่างน้อย 7 วัน ให้อาหารสัตว์ทดลองของบริษัท S.W.T. Co., Ltd. จังหวัดสมุทรปราการ สัตว์ทดลองทุกตัวได้รับการดูแลด้วยความเมตตาตามจรรยาบรรณการวิจัยในสัตว์ทดลองของสภาวิจัยแห่งชาติ ปี พ.ศ 2542

การทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน

ฆ่าหนูขาว ดึงไขสันหลัง แยกสมองหนูทั้งหมด (ยกเว้น ซีรีเบลลัม) แล้วปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาณ 100 มก./มล. ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (0.1 M, pH 7.4) ที่แข็งเพื่อใช้เป็นแหล่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acids) สำหรับทดสอบการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน หมุนเหวี่ยงเนื้อเยื่อสมองที่ปั่นละเอียดให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วที่ 800xg เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4°ซ. นำส่วนใสที่ได้จากการเหวี่ยง (supernatant) ปริมาตร 25 ไมโครลิตรมาแช่ในน้ำอุ่นที่มีอุณหภูมิ 37°ซ. ร่วมกับการเติมและไม่เติมสารทดสอบ (test samples) ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันปริมาตร 25 ไมโครลิตร เป็นเวลา 40 นาที หลังจากนั้นเติมกรดอะซีติก 20% (v/v) ปริมาตร 30 ไมโครลิตรเพื่อหยุดปฏิกิริยา สำหรับตัวอย่างที่เวลา 0 (zero time sample) ได้จากการเติมกรดอะซีติก ลงไปในสารละลายก่อนเติมเนื้อเยื่อสมองที่ปั่นละเอียดแล้ว

เติม 0.5%TBA ในกรดอะซีติก 20% (v/v) ที่มี pH 3.5 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงในแต่ละตัวอย่าง นำหลอดไปแช่ที่ 85°ซ. เป็นเวลา 60 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วเติม sodium dodecyl sulfate (SDS) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเหวี่ยงที่ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance หรือ optical density, OD) ของส่วนใสที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลาย blank ที่เตรียมด้วยวิธีการเช่นเดียวกันแต่ไม่เติมเนื้อเยื่อปั่นละเอียด ทำการคำนวณโดยหักค่าที่เวลา 0 จากค่าที่ได้จากการทดลองตามสูตรการคำนวณค่า optical density ของตัวควบคุม (control) และตัวทดสอบ (test) และร้อยละการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation (% Inhibition)

OD of control (ODC)	=	OD of control(measured) - OD of zero time control
OD of test (ODC)	=	OD of test(measured) - OD of zero time test
% Inhibition	=	100 x [ODC-ODT]/ODC

เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ด้วยการทดสอบสองปัจจัยแบบแฟกทอเรียล ปัจจัยที่หนึ่ง คือ ชนิดของสารสกัดที่ใช้ 9 ชนิด ได้แก่ สารสกัดเอทานอลที่ได้จากเหง้ากระชายดำ 4 สายพันธุ์ ที่มีสีของเนื้อเหง้าแตกต่างกัน 4 ระดับ (KPE#1-#4) เปรียบเทียบกับสารสกัดเอทานอลที่ได้จากเหง้าขิง ข่า ขมิ้นชัน กระชาย และวิตามินอี ปัจจัยที่สอง คือ ความเข้มข้นที่ใช้ 4 ระดับ ได้แก่ 0.98, 1.95, 3.91

และ 7.81 มก./มล. รวมเป็น 36 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีใช้สมองหนูขาวใหญ่ 9 ตัว (n=9) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS for Windows version 8.0

ผลและวิจารณ์

ในระบบชีววิทยาของสิ่งมีชีวิตนั้น การเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันหรือการเกิดปฏิกิริยา oxidative degradation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนในเยื่อหุ้มเซลล์จะผลิตสารประกอบที่ได้จากการแตกสลายจำนวนมาก เช่น malondialdehyde (MDA) ซึ่งพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้เซลล์เสียหาย (Yoshikawa et al., 1997) จากการศึกษา (ตารางที่ 3) พบว่าสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำได้แสดงฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระหรือฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันจากสมองหนูขาวใหญ่ โดยคณะผู้วิจัยได้รายงานในรูปของเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน กล่าวคือ สารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำที่ศึกษาทั้ง 4 สายพันธุ์(ที่มีความเข้มสีของเนื้อเหง้าแตกต่างกัน 4 ระดับ) ในทุกความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ (0.98 , 1.95 , 3.91 และ 7.81 มก./มล.) มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน (มีค่าระหว่าง 19.33 ถึง 53.63%) มากกว่ากลุ่มควบคุม (ที่มีค่าเท่ากับ 0%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาในเชิงเปรียบเทียบชนิดของสารสกัดระหว่างสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำ 4 สายพันธุ์กับสารสกัดเอทานอลจากเหง้าของพืชสกุลอื่นในวงศ์ *Zingiberaceae* ซึ่งได้แก่ ขมิ้นชัน ข่า ขิง กระชาย และวิตามินอีโดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าสารสกัดเอทานอลของเหง้าขิงและขมิ้นชันมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันสูงที่สุด (88.85 และ 85.06% ตามลำดับ) รองลงมาคือสารสกัดของเหง้ากระชาย (58.06%) สารสกัดของเหง้าข่าและวิตามินอี (50.97 และ 49.12 % ตามลำดับ) สารสกัดของเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ 'ร่มเกล้า' (38.70%) และสารสกัดของเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ 'น้ำจวง' 'บ่อเหมืองน้อย-2' และ 'เข็กน้อย-2' (25.52, 24.18 และ 23.06% ตามลำดับ) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าต่ำสุด (0%) เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ 7.81 มก./มล. มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันสูงที่สุด (54.98%) รองลงมาคือ ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 3.91 และ 1.95 มก./มล. (45.05 และ 41.05%) และที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.98 มก./มล. (35.66%) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) สำหรับปฏิสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ พบว่าสารสกัดเอทานอลของเหง้าขิงที่ความเข้มข้นของสารสกัด 7.81 มก./มล. มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันสูงที่สุด (96.38%) ซึ่งไม่แตกต่างกับสารสกัดของเหง้าขมิ้นชันที่ความเข้มข้นสารสกัด 7.81 มก./มล. (95.63%) สารสกัดของเหง้าขิงที่ความเข้มข้นสารสกัด 3.91 , 1.95 และ 0.98 มก./มล. (8.13, 86.63 และ 84.78%) และสารสกัดของเหง้าขมิ้นชันที่ความเข้มข้นสารสกัด 3.91 มก./มล. (84.25%) รองลงมาคือสารสกัดของเหง้าขมิ้นชันที่ความเข้มข้นสารสกัด 0.98 มก./มล. (81.11%) ขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันต่ำที่สุดทุกความเข้มข้น (0%) รองลงมาคือสารสกัดของเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ 'เข็กน้อย -2' ที่ความเข้มข้นสารสกัด 0.98 มก./มล. (19.78 %) สารสกัดของเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ 'บ่อเหมืองน้อย -2' ที่ความเข้มข้นสารสกัด 1.95 และ 3.91 มก./มล. (21.25 และ 21.25%)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันจากสมองหนูขาวใหญ่ เปรียบเทียบกันระหว่างสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำ 4 สายพันธุ์(ที่มีสีของเนื้อเหง้าแตกต่างกัน 4 ระดับ) ขมิ้นชัน ข่า ขิง กระชาย และวิตามินอี ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดแตกต่างกัน 4 ระดับ

ชนิดสารสกัดเอทานอล	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน				
	ความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลที่ใช้ (มก./มล.)				ค่าเฉลี่ย
	0.98	1.95	3.91	7.81	
กระชายดำสายพันธุ์'ร่มเกล้า'	28.33 klm	32.00 jklm	42.13 ghijk	53.63 fg	**38.70 d**
กระชายดำสายพันธุ์'น้ำจวง'	19.78 m	25.50 lm	23.13 lm	34.38 ijklm	**25.52 e**
กระชายดำสายพันธุ์'บ่อเหมืองน้อย -2'	23.11 lm	21.25 m	21.25 m	31.25 jklm	**24.18 e**
กระชายดำสายพันธุ์'เข็กน้อย -2'	19.33 m	28.25 klm	22.13 lm	28.00 lm	**23.06 e**
ขมิ้นชัน	81.11 bcde	79.75 cde	84.25 abcd	95.63 ab	**85.06 a**
ข่า	31.22 jklm	47.75 ghi	51.88 gh	75.50 cde	**50.97 c**
ขิง	84.78 abcd	86.63 abc	88.13 abc	96.38 a	**88.85 a**
กระชาย	37.44 hijkl	48.38 ghi	69.63 de	79.38 cde	**58.06 b**
วิตามินอี	31.44 jklm	46.13 ghij	53.63 fg	67.50 ef	**49.12 c**
ตัวควบคุม	0.00 n	0.00 n	0.00 n	0.00 n	**0.00 f**
ค่าเฉลี่ย	**35.66 c**	**41.05 b**	**45.05 b**	**54.98 a**	

* ค่าเฉลี่ยแต่ละปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

+ ค่าเฉลี่ยของปัจจัย 'ชนิดของสารสกัดเอทานอล' เปรียบเทียบในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยของปัจจัย 'ความเข้มข้น' ของสารสกัดเอธานอลที่ใช้เปรียบเทียบในแนวนอน ซึ่งค่าเฉลี่ยในแนวตั้งหรือแนวนอนมีอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยวิธี DMRT

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดในส่วนที่เป็นการเปรียบเทียบกระชายดำทั้ง 4 สายพันธุ์ กับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ พบว่าสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ 'ร่มเกล้า' ที่ความเข้มข้นสารสกัด 7.81 มก./มล. มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันสูงที่สุด (53.63 %) โดยไม่แตกต่างกับที่ความเข้มข้น 3.91 มก./มล. (42.13 %) แต่มีความแตกต่างกับสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ 'น้ำจวง' 'บ่อเหมืองน้อย-2' 'เข็กน้อย-2 ' ที่ทุกความเข้มข้น และสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ 'ร่มเกล้า' ที่ความเข้มข้น 0.98 และ 1.95 มก./มล. อย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) ดังนั้น สามารถกล่าวได้ว่าสารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำทุกสายพันธุ์สามารถแสดงฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระหรือฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน โดยพบว่าสารสกัดกระชายดำสายพันธุ์ 'ร่มเกล้า' มีความสามารถแสดงฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้สูงกว่ากระชายดำสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$)แต่ต่ำกว่าวิตามินอีและสารสกัดจากเหง้าของพืชสกุลอื่นในวงศ์ Zingiberaceae (ขิง ข่า ขมิ้นชัน กระชาย) อย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$)

สรุป

สารสกัดกระชายดำทุกสายพันธุ์ที่ทุกความเข้มข้นของสารสกัดสามารถแสดงฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ โดยสารสกัดเหง้ากระชายดำกลุ่มที่มีเนื้อสีเข้มมีแนวโน้มแสดงฤทธิ์สูงกว่ากลุ่มที่มีเนื้อสีจาง แต่ต่ำกว่าวิตามินอีและสารสกัดจากเหง้าของพืชสกุลอื่นในวงศ์ Zingiberaceae ที่ใช้เปรียบเทียบ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ กองทุนสนับสนุนการวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย "รวบรวมศึกษาและคัดเลือกพันธุ์กระชายดำ" จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

นวลศรี รักอริยะธรรม และอัญชนา เจนวิถีสุข. (2545). แอนติออกซิแดนท์: สารต้านมะเร็งในผัก-สมุนไพรไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: นพบุรีการพิมพ์จำกัด.

เต็ม สมิตินันทน์. (2544). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัท ประชาชนจำกัด.

โสภี ทุมลา. (2545). ไวน์สมุนไพร...อาชีพเสริมทำเงิน พ่อพิมพ์-แม่พิมพ์เมืองสองแคว. เทคโนโลยีชาวบ้าน. 14(293):40-41.

เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้วรักษ์. (2546ก). ทัศนคติ พฤติกรรมการบริโภค และปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพรกระชายดำของผู้บริโภค: กรณีศึกษา อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย. ใน: การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546 มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 27-28 มกราคม 2546. ขอนแก่น. หน้า 653-669.

เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้วรักษ์. (2546ข). การผลิตและจำหน่ายกระชายดำของเกษตรกรจังหวัดเลย พิษณุโลก และเพชรบูรณ์. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 23-25 เมษายน 2546 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ. หน้า 160.

อภิชาต ชิดบุรี. (2543). ผลิตต้นพันธุ์กระชายดำ (โสมไทย) ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. เคหการเกษตร. 24(7):140-143.

Pojanagaroon, S. and Kaewrak, C. (2003). Varietal selection of collected krachai-dam (Kaempferia parviflora Wall.) rhizomes by using the preference of krachai-dam products' distributors and sellers. In: Proceedings of the International Conference on Biodiversity and Bioactive Compounds. July 17-19, 2003. Peach, Pattaya. p. 401-407.

Yoshikawa, T., Naito, Y. and Kondo, M. (1997). Food and diseases. In: Hiramatsu, M., Yoshikawa, T. and Inoue, M. (eds.). Free Radicals and Diseases. New York: Plenum Press. p.11-19.