



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชสวน

สาขา

พืชสวน

ภาควิชา

เรื่อง ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสารสำคัญบางชนิดของขมิ้นชัน

Genetic Diversity and Some Active Compounds of Turmeric (*Curcuma longa* L.)

นามผู้วิจัย นางสาวรัชฎาพร ไทยเกิด

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิภา หงษ์ตระกูล, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์พูนพิภพ เกษมทรัพย์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสารสำคัญบางชนิดของขมิ้นชัน

Genetic Diversity and Some Active Compounds of Turmeric (*Curcuma longa* L.)

โดย

นางสาวรัชฎาพร ไทยเกิด

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2552

รัฐภาพร ไทยเกิด 2552: ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสารสำคัญบางชนิดของ
ขมิ้นชัน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชสวน ภาควิชา
พืชสวน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา,
Ph.D. 73 หน้า

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้นชัน 63 ตัวอย่าง และขมิ้นขาว 1
ตัวอย่าง ที่รวบรวมจากประเทศไทยและประเทศลาว โดยใช้เทคนิค RAPD ด้วยไพรเมอร์ 19 ชนิด
พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 184 แถบหรือ markers เป็น polymorphic markers 89.83 เปอร์เซ็นต์
มีค่า PICs (Polymorphic Information Contents) อยู่ในช่วง 0.000-0.500 และมีค่า PICs เฉลี่ย
เท่ากับ 0.297 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมคำนวณตามวิธีของ Dice (1945) อยู่ระหว่าง 0.660-
0.957 เมื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรม NTSYS pc 2.20k พบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างทั้ง
64 ตัวอย่างได้เป็น 5 กลุ่มที่ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมประมาณ 0.736 ค่า Principal
Component Analysis (PCA) ได้ถูกคำนวณจาก 184 เครื่องหมายโมเลกุล RAPD เพื่อแสดงการ
กระจายตัวของตัวอย่างทั้งหมดพบว่าค่า PCA 1, PCA 2 และ PCA 3 ครอบคลุมประมาณ 54.466%
ของความแปรปรวนทั้งหมด และให้ผลการจัดกลุ่มไม่สอดคล้องกับ phylogenetic tree การศึกษา
ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 68 ตัวอย่างก่อนปลูกและหลังปลูกที่อายุ
การเก็บเกี่ยว 6 เดือน พบว่าตัวอย่างที่รวบรวมจากภาคกลางมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด
และตัวอย่างจากประเทศลาวมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุด นอกจากนี้ตัวอย่างจากภาคกลางมี
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($EC_{50} = 8.04 \pm 3.77$ mg/ml) และลดลงหลังปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6
เดือน โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์

Ratchadaporn Thaikert 2009: Genetic Diversity and Some Active Compounds of Turmeric (*Curcuma longa* L.). Master of Science (Agriculture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture. Thesis Advisor: Associate Professor Yingyong Paisooksantivatana, Ph.D. 73 pages.

The genetic diversity among 63 samples of *C. longa* L. and 1 sample of *C. mangga* collected from Thailand and Laos, P.D.R. was studied using 19 RAPD primers. A total of 184 bands or markers were generated. Polymorphic markers were 89.83%. Polymorphic Information Contents (PICs) range from 0.000-0.500 with an average PIC score of 0.297. Genetic similarity estimated by Dice (1945) ranged from 0.660-0.957. Cluster analysis using computer program NTSYSpc- 2.20k based on all RAPD data was determined and could classified all 64 samples into 5 distinct groups at 0.736 of genetic similarity. Principal Component Analysis (PCA) was calculated based on 184 RAPD markers to produce distribution pattern of all 64 samples. PCA 1, PCA 2 and PCA 3 accounted for 55.466 % of total variation. The scatter plot result was not consistent to the phylogenetic tree. The content of curcuminoids and antioxidant activity of 68 samples were analyzed before and after planting. The highest content of curcuminoids was found in the samples from the Central, while the lowest content was found in the samples from Laos, P.D.R. The antioxidant activities of the extracts were assayed with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) compare to ascorbic acid. In contrast, the highest antioxidant activity ($EC_{50} = 8.04 \pm 3.77$ mg/ml.) was found in the samples from the Central and antioxidant activity decreased after planting for 6 months. Moreover, antioxidant activity is positively correlated with the curcuminoids content.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้โอกาสในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ ให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ ตลอดจนสนับสนุนในด้านต่าง ๆ พร้อมทั้งให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนดำเนินไปได้ด้วยดี ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิภา หงษ์ตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้เสนอแนะแนวทางการแก้ไขปัญหาดังกล่าว ตลอดช่วงการทำวิทยานิพนธ์ ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ ประธานการสอบ และศาสตราจารย์ ดร. วัฒนา เสถียรสวัสดิ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ให้ข้อเสนอแนะและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น รวมทั้งอาจารย์ทุกท่านที่กรุณาให้ความเมตตา สั่งสอนให้วิชาความรู้ตลอดมา

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ สาขาพืชสวนทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้เสมอ ขอขอบคุณพี่น้องที่ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์ทุกคน สำหรับความรู้ คำปรึกษาและความเข้าใจที่มีให้กัน

สุดท้ายข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และน้องชาย สำหรับความรัก ความเข้าใจ กำลังใจที่เป็นพลังให้สู้กับอุปสรรคต่าง ๆ และให้โอกาสทางการศึกษากับข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

รัชฎาพร ไทยเกิด
มีนาคม 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	28
ผล	28
วิจารณ์	45
สรุป	50
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	51
ภาคผนวก	61
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	73

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างขมิ้นชันที่รวบรวมจากแหล่งที่มาต่าง ๆ	19
2	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยเทคนิค RAPD	23
3	จำนวนแถบดีเอ็นเอจากแต่ละไพรเมอร์ และแถบดีเอ็นเอที่ทำให้ polymorphism	31
4	ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และ EC_{50} ของตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 68 ตัวอย่างก่อนและหลังปลูก	38
5	ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของตัวอย่างจำนวน 68 ตัวอย่างก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค	41
6	ค่า EC_{50} ของตัวอย่างจำนวน 68 ตัวอย่าง ก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค	43
7	ค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขมิ้นชัน	44
ตารางผนวกที่		
1	ค่า Similarity Index โดยอาศัยข้อมูลจากเทคนิค RAPD ของตัวอย่างขมิ้นชันจำนวน 64 ตัวอย่าง	62

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids)	9
2 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ขมิ้นชันด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ OPA-15	32
3 Phylogenetic tree ของขมิ้นชันสร้างโดยอาศัยข้อมูลจากเทคนิค RAPD โดยใช้ UPGMA ในโปรแกรม NTSYSpc 2.20k	33
4 Principal component analysis (PCA) ของขมิ้นชันที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.20k	34
5 การกระจายตัวของข้อมูลตัวอย่างขมิ้นชันจากเทคนิค RAPD ในการจัดกลุ่มมีค่า Cophenetic correlation (R) = 0.76161	35
6 Standard curve ของสารเคอร์คิวมิน วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร	37
7 ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค	42
8 ค่า EC_{50} ก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค	44
ภาพผนวกที่	
1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มย่อยที่ 1 จาก phylogenetic tree จำนวน 27 ตัวอย่าง	69
2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มย่อยที่ 2 จาก phylogenetic tree จำนวน 21 ตัวอย่าง	70
3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 2 จาก phylogenetic tree จำนวน 8 ตัวอย่าง	71
4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 3 จาก phylogenetic tree จำนวน 1 ตัวอย่าง จากเวียงจันทน์ ประเทศลาว	71

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 4 จาก phylogenetic tree จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก อ. เมือง จ. สงขลา	72
6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 5 จาก phylogenetic tree จำนวน 6 ตัวอย่าง	72

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสารสำคัญบางชนิดของขมิ้นชัน

Genetic Diversity and Some Active Compounds of Turmeric (*Curcuma longa* L.)

คำนำ

ปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายสนับสนุนการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในการดูแลสุขภาพประชาชน ทั้งการพัฒนาสมุนไพรเป็นยาแผนปัจจุบัน และการนำไปใช้ในการสาธารณสุขมูลฐาน อีกทั้งประชาชนให้ความสนใจดูแลสุขภาพตนเองด้วยการใช้สมุนไพรมากขึ้น เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและมีความปลอดภัย

ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีคุณสมบัติเฉพาะตัว ส่วนของเหง้ามีสีเหลืองเข้ม กลิ่นหอม ใช้ในการปรุงแต่งอาหารเพื่อให้มีสี กลิ่น และรสชาติที่น่ารับประทานมากขึ้น ใช้เป็นสีย้อมผ้า และใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนัง ขับลม ปัจจุบันมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขมิ้นชันหลายรูปแบบ เช่น ขมิ้นชันแคปซูล ขมิ้นชันลูกกลอน ผงขมิ้นชันขัดผิว และแชมพูขมิ้นชัน สารสำคัญที่พบอยู่ในส่วนเหง้าประกอบด้วย น้ำมันหอมระเหย (volatile oil) มีสีส้ม-เหลือง ให้กลิ่นหอมที่เกิดจากส่วนผสมของ turmerone และ *ar-turmerone* (Bainiam, 1985) และสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) โดยสารในกลุ่ม curcuminoids มีสารเคอร์คิวมิน (curcumin) เป็นสารประกอบหลักประมาณ 77% ส่วนที่เหลือประมาณ 20-25% เป็น demethoxy curcumin และ bisdemethoxy curcumin คุณสมบัติของสารเคอร์คิวมินใช้ในการรักษาโรค เช่น มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบในกระเพาะอาหาร (Rafatullah *et al.*, 1992) มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Ruby *et al.*, 1995; Wan *et al.*, 1998) ด้านการอักเสบ (Masuda *et al.*, 1993; Ramsewak *et al.*, 2000) และยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ (Toda *et al.*, 1985; Soudamini, 1989; Ammon *et al.*, 1993; Selvam *et al.*, 1995; Masuda *et al.*, 1999) ซึ่งขมิ้นชันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยมีค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ 50% (EC₅₀) เป็น 9.7 µg/ml (Zaeoung *et al.*, 2005)

ขมิ้นชันมีฐานทางพันธุกรรมแคบ เนื่องจากขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ การคัดเลือกพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงจึงเป็นเรื่องยาก ทำให้ผลผลิตไม่ได้มาตรฐานเท่าที่ควร เนื่องจากปริมาณสารสำคัญของยาแคปซูลสมุนไพรในผลิตภัณฑ์ขมิ้นชันมีปริมาณสารสำคัญส่วนใหญ่น้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐาน

ของ Thai Herbal Pharmacopoeia (THP) และสัดส่วนของ curcuminoids ไม่มีความสม่ำเสมอ เนื่องจากวัตถุดิบที่นำมาเตรียม (ปรีชา และคณะ, 2549)

ปัจจุบันการศึกษา และการจำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชันในประเทศไทยยังมีน้อย ส่วนใหญ่เป็น การศึกษาฤทธิ์ทางด้านเภสัชวิทยา ซึ่งเมื่อพิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาขมิ้นชันมีความใกล้เคียงกันจนไม่สามารถจำแนกความแตกต่างของขมิ้นชันด้วยสายตาได้ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรมีอยู่หลายวิธีทั้งการศึกษาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ การศึกษาโดยใช้เทคนิคทางอณูชีวโมเลกุล ซึ่งสามารถจำแนกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้โดยใช้ ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ เช่น เทคนิค RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) เป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดความยาวของดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ประยุกต์มาจาก เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) จะเห็นได้ว่าเทคนิคการจำแนกสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตมีการพัฒนาขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้เทคนิค AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) สามารถใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต การตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม และ แสดงระดับความสัมพันธ์หรือความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชแต่ละชนิดได้ เพื่อแก้ปัญหาในการจำแนกชนิดพันธุ์ให้ถูกต้องยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในการช่วยจำแนกสายพันธุ์ ซึ่งเป็นงานที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์พืช และช่วยในการคัดเลือกลูกผสมภายในชนิด (intraspecific hybridization)

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิค RAPD ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับ ชนิด (species) และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญบางชนิดของขมิ้นชันที่มาจากแหล่งต่าง ๆ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้นชัน
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสาร curcuminoids ของขมิ้นชันที่มาจากแหล่งต่าง ๆ
3. เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขมิ้นชันที่มาจากแหล่งที่มาต่าง ๆ

การตรวจเอกสาร

ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรอย่างหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในทุกภาคของประเทศ มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปลูกกันมากในอินเดีย จีน อินโดนีเซีย ประเทศไทย และประเทศในเขตร้อนอื่น ๆ ขมิ้นชันเป็นพืชเก่าแก่ที่รู้จักกันมานานและนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่าง ๆ มากมาย ทั้งในรูปยา ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม และเครื่องสำอาง ขมิ้นชันมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* L. ชื่อพ้อง *C. domestica* Valetton วงศ์ Zingiberaceae ชื่อสามัญ Turmeric, Curcuma, Indian saffron และ Yellow root ชื่อท้องถิ่น ขมิ้น (ทั่วไป) ขมิ้นแกง ขมิ้นหยวก ขมิ้นหัว (เชียงใหม่) ขมิ้น หมิ้น (ใต้) (นิจศิริ, 2542) ขมิ้นชันเป็นที่รู้จักและมีการนำมาใช้ประโยชน์กันมานาน ทั้งการนำไปทำเป็นยาสมุนไพร เช่น เหง้าใช้รักษาโรคผิวหนัง ผื่นคัน ท้องอืด ท้องเฟ้อ เป็นส่วนประกอบของอาหาร (รุ่งรัตน์, 2540)

ขมิ้นชันมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจหลายประการ ได้แก่ ฤทธิ์ขับลม (Rose and Brain, 1977) ฤทธิ์ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร และรักษาอาการอาหารไม่ย่อย (Gujral *et al.*, 1953) ฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ (Permpiphat *et al.*, 1990) ฤทธิ์ฆ่าเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Misra and Sahu, 1977) ฤทธิ์ขับน้ำดี สมานแผล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Sharm, 1976) ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (antimutagenic activity) ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Polasa *et al.*, 1991) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ป้องกันยุง (อภิวิทย์ และคณะ, 2544)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ขมิ้นชันเป็นพืชล้มลุกอายุหลายฤดู ลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า (rhizome) มีทั้งลำต้นหลักที่เจริญชูตั้ง รูปไข่ หรือรูปไข่แกมรี บางครั้งเรียกเหง้าหลัก (mother rhizome) ว่า หัว ลักษณะจุดกำเนิดของแขนงในลำต้นที่หนึ่ง (primary finger) และลำต้นที่สอง (secondary finger) เหง้าแขนงรูปทรงกระบอก หรือคล้ายนิ้วมือ ตรงหรือโค้งเล็กน้อย บางครั้งเรียกเหง้าแขนงว่า แง่ง เนื้อเหง้าสีเหลืองจนถึงสีส้ม และมีกลิ่นเฉพาะ เหง้ามีตาอยู่ทั่วไป ลักษณะปลายแหลม สีน้ำตาลอ่อน เจริญเป็นลำต้นและใบต่อไป ลำต้นเหนือดินเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) ที่มีกาบใบเรียงซ้อนอัดแน่น ใบ 6-10 ใบต่อดัน ใบเดี่ยวออกสลับถี่ กาบใบยาว 40-60 เซนติเมตร แผ่นใบรูปรี หรือรีแกมขอบขนาน กว้าง 10-20 เซนติเมตร ยาว 30-70 เซนติเมตร มีเส้นกลางใบชัดเจน โคนใบสอบแคบหรือมน ปลายใบแหลม ช่อดอกรูปทรงกระบอก กว้าง 5-9 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตร มีใบประดับจำนวนมาก รูปรีแกมขอบขนาน เรียงเวียนถี่รอบแกนช่อดอก ใบประดับที่อยู่บริเวณโคนช่อดอกสีเขียวอ่อนหรือ

สีขาวแกมเขียว ยาว 5-6 เซนติเมตร กว้าง 2-3 เซนติเมตร ขอบโคนใบประดับประกบติดกับใบประดับที่อยู่ใกล้เคียงและติดกับแกนช่อดอกเกิดเป็นชอกคล้ายกะเปาะ ใบประดับที่อยู่บริเวณปลายช่อดอกมีสีขาวแกมเขียวอ่อน ปลายใบประดับมีแถบสีเขียวอ่อนหรือแถบสีชมพูอ่อน โคนใบประดับไม่ประกบติดกันเป็นกะเปาะ ดอกออกที่ซอกใบประดับ 3-5 ดอกต่อชอก และทยอยบาน ดอกยาว 5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงสีขาวใส ติดกันเป็นหลอดสั้น ปลายหยักไม่เท่ากัน กลีบดอกสีขาว โคนติดกันเป็นหลอดยาว ปลายผายและแยกเป็น 3 กลีบ เกสรเพศผู้ที่เป็นหมันแผ่เป็นกลีบขนาดใหญ่ 3 กลีบ กลีบกลางรูปไข่กลับ สีเหลืองอ่อนและมีแถบสีเหลืองเข้มบริเวณกลางกลีบ สองกลีบข้างรูปรีแกมขอบขนานสีเหลืองอ่อน เกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์ มีก้านสั้น อับเรณูเล็กเรียวและมีงอຍ โอบรอบก้านชูยอดเกสรเพศเมีย รังไข่ 3 ห้อง ผลกลมหรือรี แต่มักไม่ติดผล

ขมิ้นชันมีจำนวนโครโมโซม $2n = 3x = 63$ (อรพินท์, 2543) มีโครโมโซม 3 ชุด ซึ่งเป็นหมัน แต่จากการสังเกตช่อดอกของตัวอย่างขมิ้นชันที่เก็บรวบรวมจำนวน 129 ตัวอย่างไม่พบตัวอย่างใดเลยที่มีการติดเมล็ด (นันทวรรณ, 2549) อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษา พบว่าขมิ้นชันสามารถขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดได้ แต่มักพบได้น้อยเนื่องจากการติดเมล็ดยาก (กรมวิชาการเกษตร, 2544) การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดนั้นจะทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงในขมิ้นชัน (Shamina *et al.*, 1998)

ประวัติความเป็นมา แหล่งกระจายพันธุ์ และสภาพแวดล้อม

ขมิ้นชันมีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณเอเชียใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และหมู่เกาะอินเดียตะวันออก และแพร่กระจายไปสู่แถบต่าง ๆ มีหลักฐานพบว่าชาวแอสซีเรียน (Assyrian) นำขมิ้นชันมาใช้เป็นพืชที่ให้สีเหลืองตั้งแต่ 600 ปีก่อนพุทธศักราช สีของขมิ้นชันเป็นสีที่มีความน่าูชาจึงได้ถูกนำมาใช้ในการบวงสรวงพระอาทิตย์ตั้งแต่ครั้งโบราณกาล ในภาษามลายูเรียกขมิ้นชันว่า Kunyit แปลว่า สีเหลือง ชื่อ Curcuma อาจเกิดขึ้นจากภาษาอารบิก ซึ่งเรียกขมิ้นชันว่า Kurkum (Burkill, 1966; Brierley, 1994; Govindarajan, 1980) มีบันทึกไว้ว่ามาร์โค โปโล ได้นำขมิ้นชันไปปลูกในจีนเมื่อ พ.ศ. 1280 จากนั้นจึงแพร่เข้าสู่ยุโรปและส่วนอื่น ๆ ของโลก (บัญญัติ, 2538) ปัจจุบันมีเขตกระจายพันธุ์ปลูกทั่วไปในภูมิภาคที่มีอากาศร้อนหรือร้อนชื้นทั่วโลก แหล่งที่ปลูกขมิ้นชันเป็นการค้าขนาดใหญ่ที่สุดของโลก คือ อินเดีย มีแหล่งอื่นบ้างแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งเป็นทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค

ขมิ้นชันเจริญได้ดีในสภาพอากาศค่อนข้างร้อน และมีความชุ่มชื้นในเวลากลางคืน นอกจากนี้ขมิ้นชันสามารถปลูกได้ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงระดับความสูงประมาณ 1,350 เมตร ชอบดินร่วนซุยที่ระบายน้ำได้ดี (Govindarajan, 1980) ขมิ้นชันเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิดที่มีอินทรียวัตถุอุดมสมบูรณ์ ร่วนซุย มีความชื้น และมีการระบายน้ำได้ดี ไม่ทนทานต่อสภาพน้ำท่วม ขัง เติบโตดีในดิน pH 5-7 ในสภาพดินที่มีความเป็นด่างจัด ดินเหนียวหรือดินลูกรัง ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโต หรือการพัฒนาของเหง้า โดยทั่วไปปลูกได้ดีในพื้นที่เขตนํ้าฝน ควรเริ่มปลูกในช่วงต้นฤดูฝน ประมาณเดือนพฤษภาคม-เดือนกรกฎาคม และเก็บเกี่ยวในช่วงฤดูหนาวที่พืชแก่และมีการพักตัว เมื่อลำต้นเหนือดินเปลี่ยนสภาพเป็นสีเหลืองแห้งหรือนํ้าตาลและยุบตัวประมาณเดือนมกราคม-เดือนมีนาคม เมื่อขมิ้นชันได้รับความชื้นและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงขึ้น ขมิ้นชันจะมีการเจริญเติบโตอีกครั้งในช่วงต้นฤดูฝน การขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ โดยการแยกเหง้า ต้นที่ได้จะมีลักษณะคงเดิมเหมือนต้นแม่พันธุ์ เรียกว่า clone วิธีปลูกใช้เหง้าแก่ ที่อายุ 11-12 เดือน เป็นท่อนพันธุ์ เก็บในช่วงอายุ 9-10 เดือน อย่างไรก็ตามในการปลูกขมิ้นชันที่ อ.กระเสสินธุ์ จ.สงขลา พบว่าขมิ้นชันที่มีอายุปลูก 6 เดือน ให้ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และนํ้ามันหอมระเหยสูง (Wongvarodom, 2004)

โดยทั่วไปเหง้าขมิ้นชันที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีจำนวนหัวตอก่อนน้อยกว่าแง่ง ผลผลิตจากการปลูกด้วยเหง้ามากกว่าการปลูกด้วยแง่ง ผลการทดลองที่สถานีวิจัยปากช่องใช้ระยะปลูกระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 30 เซนติเมตร โดยใช้หัวพันธุ์หนัก 15-20 กรัม/หัว ซึ่งใช้นํ้าหนักหัวพันธุ์รวม 155 กิโลกรัม/ไร่ ได้ผลผลิต 3.3 ตัน/ไร่ เปรียบเทียบกับการใช้แง่งพันธุ์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 เซนติเมตร ยาว 8-12 เซนติเมตร แ่งหนัก 15-30 กรัม/หัว ซึ่งใช้แง่งพันธุ์ 140 กิโลกรัม/ไร่ ได้ผลผลิต 2.8 ตัน/ไร่ (องอาจ และคณะ, 2539) และผลการปลูกด้วยหัวพันธุ์ที่มีนํ้าหนัก 50 กรัมขึ้นไป ให้ผลผลิตตอกอไม่แตกต่างกัน ที่ปลูกในระยะห่างระหว่างต้น 30, 40 และ 50 เซนติเมตร แต่การปลูกด้วยหัวพันธุ์ที่มีนํ้าหนักน้อยกว่า 45 กรัม ให้ผลผลิตตอกอน้อยลงเป็นลำดับ เมื่อปลูกในระยะห่างระหว่างต้น 50, 40 และ 30 เซนติเมตร (องอาจและฉลองชัย, 2536)

พันธุ์และการคัดเลือกพันธุ์

ขมิ้นชันที่ดีในตลาดโลกมีมากกว่า 50 สายพันธุ์ ส่วนมากมาจากอินเดีย ซึ่งจำแนกสายพันธุ์โดยใช้คุณสมบัติต่าง ๆ ทางด้านรูปร่าง ลักษณะ สี กลิ่น และอายุที่สมบูรณ์พร้อมเก็บเกี่ยว (maturity of rhizome) มีทั้งสายพันธุ์อายุพร้อมเก็บเกี่ยวสั้น 7 เดือน สายพันธุ์อายุพร้อมเก็บเกี่ยว 9 เดือน และสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีมีปริมาณสารสำคัญสูง (Atal and Kapur, 1989) สำหรับประเทศไทยงาน

รวบรวมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ปลูกยังมีผู้ดำเนินการน้อย ส่วนใหญ่ยังคงใช้พันธุ์ที่มีอยู่ในท้องถิ่น หรือแหล่งขายวัตถุดิบ ในปี พ.ศ. 2543 มีรายงานผลการรวบรวมพันธุ์ไว้ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง ของ กรมวิชาการเกษตร จำนวน 10 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ชุมพร 10018801 ให้ผลผลิต 4.5 ตันต่อไร่ ใกล้เคียงกับสายพันธุ์อื่น ๆ ที่ปลูกไว้ทั้ง 9 สายพันธุ์ (กรมวิชาการเกษตร, 2544)

อย่างไรก็ตามผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในขมิ้นชันที่เก็บจากแหล่งปลูกต่าง ๆ ในประเทศไทย จำนวน 44 ตัวอย่าง ที่ไม่ได้ระบุสายพันธุ์ และอายุการเก็บเกี่ยว พบว่ามีการแปรผัน สูงมากระหว่างภูมิภาคของประเทศ โดยพบปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ มีค่าแปรผันระหว่าง 3.81-15.32% และปริมาณน้ำมันหอมระเหยระหว่าง 4.70-16.14% ตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งปลูกภายใน จังหวัดเดียวกันมีความแปรผันสูง (Chavalittumrong and Dechatiwongse, 1988; สมภพ และคณะ, 2543)

องค์ประกอบทางเคมี

น้ำมันหอมระเหย (volatile oil) มีสีส้ม-เหลือง ให้กลิ่นหอมที่เกิดจากส่วนผสมของ turmerone และ *ar*-turmerone (Bainiam, 1985) และสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองสะสมอยู่ในเซลล์พาราไคมะของชั้นคอร์เท็กซ์ในเหง้า ประกอบด้วยสาร curcumin, demethoxy curcumin และ bisdemethoxy curcumin (Tang and Eisenbrand, 1992) ตามมาตรฐานของ THP กำหนดให้วัตถุดิบขมิ้นชัน (ผงแห้ง) มีปริมาณ volatile oil ไม่น้อยกว่า 6% v/w และมีปริมาณ curcuminoids ไม่น้อยกว่า 5% w/w (Thai Herbal Pharmacopoeia, 1995)

องค์ประกอบทางเคมีในเหง้าของขมิ้นชันแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มสารประกอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoid compounds) หรือเทอร์ปีน (terpenes)

สารประกอบเทอร์ปีนอยด์ (terpenoid compounds) หรือเทอร์ปีน (terpenes) เป็นกลุ่มสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ซึ่งมีทั้งที่เป็นชนิดโมโนเทอร์ปีน (monoterpene) ไดเทอร์ปีน (diterpene) (ขวัญใจ, 2535; นาฏศิริ และคณะ, 2542) และสารกลุ่มเซสควิเทอร์ปีน คีโตน (sesquiterpene ketone) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยหลักที่พบในขมิ้นชัน (Rao and Reddy, 1977) สารกลุ่ม sesquiterpene ketone ได้แก่ turmorone และ *ar*-turmorone (Rupe *et al.*, 1934; Shivashankar *et al.*, 1976)

น้ำมันหอมระเหย (volatile oil หรือ essential oils) เป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มียอยู่ในพืช พบน้ำมันหอมระเหยได้ในเซลล์พิเศษ ต่อมน้ำหรือท่อ (รวิชัย, 2531) ตามส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล เปลือก ผิวของผล และเหง้า (อุคมลักษณ์, 2534) น้ำมันหอมระเหยสามารถระเหยได้ที่อุณหภูมิปกติ มีกลิ่นเฉพาะตัว ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์เบาหรือน้ำหรือน้ำหนักกว่าน้ำก็ได้ มีจุดเดือดอยู่ในช่วง 150-300 องศาเซลเซียส เมื่อกลั่นได้ใหม่ ๆ จะมีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้จะออกซิไดส์ (oxidize) มีสีคล้ำลง

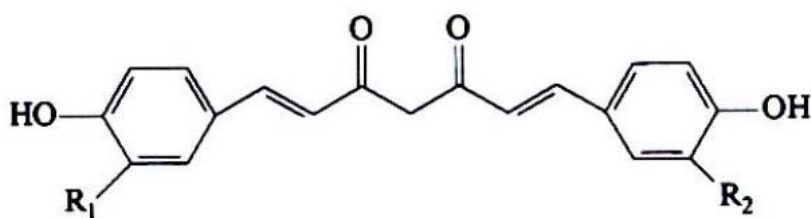
2. สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids)

สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) หรือเรียกว่า diaryl heptanoid coloring material เป็นสารจำพวก diferuloylmethane ซึ่งมีลักษณะเป็นสารสีเหลือง (crystalline yellow substance) สะสมอยู่ในเซลล์พารენไคมาของชั้นคอร์เท็กซ์ในเหง้า เป็นสารที่มีกลิ่นและคุณสมบัติเฉพาะ ซึ่งเมื่อเติมด่างจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดง (reddish-brown) ประกอบด้วยสารฟีนอลิก 3 ชนิด ได้แก่

2.1 เคอร์คิวมิน (curcumin, diferuloyl methane) มีชื่อเรียกตามโครงสร้างทางเคมีว่า 1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl) 1, 6-heptadiene 3,5 dione มีสูตรโครงสร้างเป็น CHO และมีน้ำหนักโมเลกุล 368.4 ลักษณะเป็นผลึกขนาดเล็ก สีส้มปนน้ำตาล (orange-brown) ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ จุดหลอมเหลวประมาณ 183 องศาเซลเซียส เคอร์คิวมินเป็นองค์ประกอบหลักในกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์

2.2 เดสเมโทกซีเคอร์คิวมิน (desmethoxycurcumin, monodesmethoxycurcumin) จุดหลอมเหลว 172.5-174.5 องศาเซลเซียส ลักษณะเป็นผลึก สีคล้ายเคอร์คิวมิน และการละลายเช่นเดียวกับเคอร์คิวมิน

2.3 บิสเดสเมโทกซีเคอร์คิวมิน (bidesmethoxycurcumin, didesmethoxycurcumin) หรือ bis-(4-hydroxycinnmoyl) methane น้ำหนักโมเลกุล 308.1 จุดหลอมเหลว 224 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม และแอลกอฮอล์ (Tang and Eisenbrand, 1992)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids)

curcumin : $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

desmethoxycurcumin : $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3$

bisdesmethoxycurcumin : $R_1 = R_2 = \text{H}$

ที่มา: Thai Herbal Pharmacopoeia (1995)

3. สารอื่นๆ

สารพบในเหง้าขมิ้นชัน เช่น โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ซึ่งประกอบด้วย starch grains ขนาดประมาณ 30-60 ไมโครเมตร มีลักษณะยาว พบน้ำตาลที่เป็นชนิด arabinose และ fructose

การศึกษาปริมาณสารสำคัญในขมิ้นชัน

ปรีชา และคณะ (2549) ศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในขมิ้นชันแคปซูลและฟ้าทะลายโจรแคปซูล จังหวัดอุบลราชธานี และกรุงเทพฯ โดยวิเคราะห์หาปริมาณ curcuminoids curcumin ในแคปซูลขมิ้นชันด้วยวิธีโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีอัลตราไวโอเลต (UV-spectrophotometry) พบว่าปริมาณ curcumin ที่ตรวจพบในขมิ้นชันแคปซูลทั้ง 9 ตัวอย่างเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ curcuminoids ปริมาณของ curcuminoids และ curcumin ที่พบในแต่ละตัวอย่างมีปริมาณที่แตกต่างกันมาก ตั้งแต่ 1.37 - 10.53 % w/w และตั้งแต่ 0.57 - 6.18 %w/w ตามลำดับ ทำให้มีเพียง 5 จากทั้งหมด 9 ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน THP (1995)

สมภพ และคณะ (2543) พบว่าขมิ้นชันสายพันธุ์จากภาคใต้มีปริมาณสารเคอร์คิวมินมากกว่าขมิ้นชันสายพันธุ์จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ขมิ้นชันสายพันธุ์จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าขมิ้นชันสายพันธุ์ภาคใต้

Pothitirat and Gritsanapan (2006) ศึกษาปริมาณ essential oil และสารกลุ่ม curcuminoids จากผงขมิ้นชันจำนวน 13 ตัวอย่าง จากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน 2549 พบว่าปริมาณ essential oil สูงสุดเป็นตัวอย่างจากภาคเหนือ ($8.20 \pm 1.66\%$ v/w) และตัวอย่างจากภาคใต้มีปริมาณ essential oil ต่ำสุด ($7.00 \pm 0.00\%$ v/w) ส่วนปริมาณสารกลุ่ม curcuminoids สูงสุดเป็นตัวอย่างจากภาคใต้ ($8.99 \pm 0.83\%$ w/w) และตัวอย่างจากภาคเหนือมีปริมาณสารกลุ่ม curcuminoids ต่ำสุด ($4.80 \pm 1.83\%$ w/w) ปริมาณสารกลุ่ม curcuminoids พบจากตัวอย่างทั้งหมดมีค่าระหว่าง 3.07 ± 0.09 ถึง $9.58 \pm 0.20\%$ ของน้ำหนักแห้ง ค่าเฉลี่ยของปริมาณ essential oil $7.77 \pm 1.20\%$ w/w และสารกลุ่ม curcuminoids $6.24 \pm 1.95\%$ w/w

เครื่องหมายโมเลกุล

ในการศึกษาที่เกี่ยวกับความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต หรือการบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิต จำเป็นต้องมีสิ่งที่ใช้ในการจำแนกความแตกต่าง ซึ่งก็คือเครื่องหมาย (marker) สมบัติของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ดี คือ เป็นรูปแบบของดีเอ็นเอที่มีความแปรผันทางพันธุกรรมสูง หรือมีพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) สูง มีรูปแบบของการถ่ายทอดสู่รุ่นต่อไปอย่างง่าย (อมรา, 2542)

ปัจจุบันเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ได้ถูกนำมาใช้ศึกษาพันธุกรรมของพืชและสัตว์กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นการศึกษาที่ลงไปในระดับโมเลกุล อันเป็นตัวกลางที่ควบคุมให้เกิดลักษณะต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต เครื่องหมายดีเอ็นเอมีหลายชนิด ทั้งที่เป็น dominant markers ได้แก่ RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNAs) และ AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms) ซึ่งเป็น markers ที่ใช้ศึกษาโดยไม่มีความจำเป็นต้องรู้ข้อมูลของจีโนมของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ มาก่อนและศึกษาได้ครั้งละหลายตำแหน่ง และ co-dominant markers ได้แก่ RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms) , SSRs (Simple Sequence Repeats) หรือ MS (Microsatellites) และ SSCP (Single Strand Conformation Polymorphisms) ซึ่งจำเป็นต้องมีข้อมูลจีโนมของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ มาพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ โดยจะมีความจำเพาะกับตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งในจีโนม markers เหล่านี้ได้ถูกนำมาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืช

และสัณฐาน และสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprints) ที่แสดงความจำเพาะกับพันธุ์แต่ละพันธุ์ SSCP และ SSR markers เป็น multi-allelic marker ที่ให้รูปแบบของยีน (allele) หรือชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ (DNA fragments) หลายรูปแบบ (highly polymorphic) จึงทำให้เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบันในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม การทำแผนที่จีโนม (genome mapping) และใช้ระบุความจำเพาะของพันธุ์ SSR markers เป็น marker ที่ครอบคลุมส่วนของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำ ๆ (repeat sequences) ซึ่งพบกระจายทั่วไปในจีโนมพืชและสัตว์ และสามารถถูกเพิ่มปริมาณเพื่อนำมาตรวจ สอบได้ด้วยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) โดยใช้ primers ที่จำเพาะกับลำดับเบสรอบข้าง (flanking sequence) ของลำดับเบสซ้ำ ๆ จากนั้นนำผลผลิต PCR ที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ด้วย denaturing polyacrylamide gel electrophoresis ส่วน SSCP maker เป็น marker ที่นิยมพัฒนาขึ้นมาให้จำเพาะกับยีน โดยอาศัยลำดับเบสของยีนจากสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ มาเป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาตำแหน่งของ specific primers และใช้ primers เพื่อเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR จากนั้นนำผลผลิต PCR ที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ด้วย non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis ในการศึกษาพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอนี้ สามารถศึกษาได้ในขณะที่ต้นพืชยังเป็นต้นกล้า หรือจากส่วนของเซลล์จากอวัยวะต่าง ๆ โดยใช้ปริมาณดีเอ็นเอเพียงเล็กน้อย

เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

RAPD เป็นเครื่องหมายทางโมเลกุลที่ใช้เทคนิค PCR แบบหนึ่ง คิดค้นโดย William และคณะ (1990) RAPD อาจมีชื่อเรียกอื่นได้อีก เช่น Arbitrary-Primed PCR (AP-PCR) และ DNA Amplification Fingerprint (DAF) ซึ่งมีหลักการคล้าย ๆ กัน คือ ใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้น ๆ ประมาณ 10 คู่เบสเพียงชนิดเดียว แล้วใช้ปฏิกิริยา PCR เพิ่มปริมาณอย่างสุ่มทั้งจีโนม การเกิดแถบดีเอ็นเอจะเกิดเมื่อไพรเมอร์สามารถจับกับดีเอ็นเอต้นแบบในทิศทางที่เข้าหากัน ในระยะห่างที่ไม่มากนัก (ประมาณ 3,000 คู่เบส, bp) polymorphism ของ RAPD เกิดจากระยะห่างของไพรเมอร์ 2 ไพรเมอร์มากเกินไปจนจะเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ หรือจากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของดีเอ็นเอต้นแบบ บริเวณที่ไพรเมอร์จับ อาจเป็นผลของการเพิ่มหรือขาดหายไปของเบสบางชนิด ทำให้ไพรเมอร์ไม่สามารถจับกับดีเอ็นเอต้นแบบได้จึงไม่มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในบริเวณนั้น

RAPD มีข้อที่ได้เปรียบเครื่องหมายโมเลกุลอื่น ๆ คือ ทำได้ง่าย รวดเร็ว ให้ข้อมูลมากพอสมควร และไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอต้นแบบ จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในงานวิจัยสิ่งมีชีวิตที่ยังไม่ได้ศึกษามากนัก RAPD จะให้ข้อมูลพื้นฐานได้ในระดับหนึ่ง แต่ RAPD มีข้อด้อยอยู่ เนื่องจากการสุ่มเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของทั้งจีโนม และ RAPD เป็นเทคนิคที่ไวต่อ

การเปลี่ยนแปลงสภาวะต่าง ๆ มาก บางครั้งจึงทำซ้ำไม่ได้ผลเหมือนเดิม นอกจากนี้ RAPD ยังเป็นเครื่องหมายชนิด dominant marker ซึ่ง polymorphism จะเป็นลักษณะการเกิดและไม่เกิดแถบดีเอ็นเอเท่านั้น ทำให้ไม่สามารถแยกลักษณะโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสออกจากกันได้ (สุรินทร์, 2545; William *et al.*, 1990)

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกพืชสกุลขมิ้นชัน

นันทวรรณ (2549) จำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชันจากแหล่งต่าง ๆ ภายในประเทศไทยจำนวน 129 ตัวอย่าง โดยใช้ microsatellite markers จำนวน 13 คู่ไพรเมอร์ สามารถจำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชันได้จำนวน 34 สายพันธุ์ เมื่อศึกษาร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ได้เป็น 3 กลุ่ม

พิษณุ (2538) จำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชันจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของขมิ้นจำนวน 4 แหล่งพันธุ์ คือ 15118701, 10018801, 13038801 และ 01038801 โดยพิจารณาจากความยาวของกาบใบ ความยาวของก้านใบ ความยาวและความกว้างของแผ่นใบ ความยาวจากฐานใบถึงส่วนที่กว้างที่สุดของใบ ความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางปล้องที่ 5 ของแง่งที่ 1 จำนวนแง่งต่อกอ ความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวหลัก จำนวนหัวหลักต่อกอ สีภายในเหง้า ลักษณะทิศทางการขึ้นของแง่งที่ 1 ผลการศึกษาพบว่าสามารถจำแนกกลุ่มขมิ้นได้ 3 กลุ่ม คือ แหล่งพันธุ์ 13038801 จัดเป็นขมิ้นชนิด *C. longa* L. ส่วนแหล่งพันธุ์ 15118701 จัดอยู่ในกลุ่ม *C. sp.1* แหล่งพันธุ์ 10018801 และ 01038801 จัดอยู่ในกลุ่ม *C. sp.2*

วรรณภา และอดิสร (2540) รวบรวมพืชสกุลกระเจียวจำนวน 10 ชนิด โดยรวบรวมจากจังหวัดนครราชสีมา 2 ชนิด ได้แก่ กระเจียวอ่างทอง (*C. sessilis* Gang.) และกระเจียวสูงเนิน (*Curcuma* sp.) จากจังหวัดชัยภูมิ 4 ชนิด ได้แก่ กระเจียวบัวชัยภูมิ (*C. alismatifolia* Gannep.) ขมิ้นชัน (*C. domestica* Valetton) บัวชัน (*Curcuma* sp.) และเทพรำลึก (*C. parviflora* Wall.) จากจังหวัดแม่ฮ่องสอน 3 ชนิด ได้แก่ กระเจียวส้ม (*C. roscoeana* Wall.) กระเจียวแดง (*Curcuma* sp.) และขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria* Roscoe) และจากตลาดนัดสวนจตุจักร 1 ชนิด คือ บัวโกเมน (*Curcuma* sp.) พบว่าพืชสกุลกระเจียวทั้ง 10 ชนิด มีความแตกต่างของขนาด ลักษณะดอก และลำต้น จากการนับจำนวนโครโมโซม พบว่ามีจำนวนโครโมโซมระหว่าง 24 - 63 แท่ง นอกจากนี้ได้ใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟเรซิส เพื่อศึกษาความผันแปรของไอโซไซม์ esterase และ peroxidase พบว่า

ไอโซไซม์ esterase มีความผันแปรทำให้สามารถจำแนกความแตกต่างของพืชสกุลกระเจียวได้ทั้งหมด

หทัยรัตน์ (2545) แบ่งพืชสกุลขมิ้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ไม่มีจงอยบนอับเรณู แต่มี anther crest เหนืออับเรณู โดยใช้ลักษณะการเชื่อมติดกันของใบประดับและสีของใบประดับเป็นเกณฑ์ กลุ่มที่ 2 อับเรณูมีจงอยยื่นออกมา โดยใช้ลักษณะการเกิดช่อดอก ลำต้นใต้ดิน และสีเนื้อของลำต้นใต้ดินเป็นเกณฑ์ เมื่อวิเคราะห์และจัดกลุ่มโดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) สามารถแบ่งพืชสกุลขมิ้นได้ 2 กลุ่มหลัก โดยไม่สามารถแยกพืชสกุล *Smithatris* ออกจากพืชสกุลขมิ้นได้อย่างชัดเจน โดยกลุ่มที่ 1 อยู่ในสกุลย่อย *Paracurcuma* กลุ่มที่ 2 อยู่ในสกุลย่อย *Eucurcuma* (Valeton, 1918) เมื่อศึกษาความผันแปรของรูปแบบไอโซไซม์ สามารถแบ่งพืชสกุลขมิ้นเป็น 3 กลุ่มหลัก ซึ่งจำแนกพืชสกุล *Smithatris* ออกจากพืชสกุลขมิ้นได้ แต่ไม่สามารถจำแนกพืชสกุลขมิ้นเป็น 2 สกุลย่อยได้

อรพินท์ (2543) แบ่งพืชสกุลขมิ้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่มีลำต้นใต้ดินเจริญยืดยาว แตกแขนงมากไม่เป็นระเบียบ โดยจำแนกจากการเจริญของเหง้าสีของลำต้นใต้ดิน กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่มีลำต้นใต้ดิน แตกแขนงน้อย เหง้าสีเป็นระเบียบ โดยจำแนกจากลักษณะการเกิดช่อดอก การมีขนบนแผ่นใบ และสีของใบประดับ พบว่าขมิ้นชันจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 เมื่อศึกษาเซลล์วิทยาจากการนับจำนวนโครโมโซมปลายราก สามารถแบ่งพืชสกุลขมิ้นเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีจำนวนโครโมโซม $2n = 63$ ส่วนกลุ่มที่ 2 มีจำนวนโครโมโซม $2n = 10 - 20$ เมื่อนำข้อมูลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยา มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของพืชสกุลขมิ้น ด้วยวิธี UPGMA สามารถแบ่งพืชสกุลขมิ้นได้ 3 กลุ่ม พบว่าขมิ้นชันจัดอยู่ใน subgenus *Eucurcuma*

Apavatjirut *et al.* (1999) จำแนกพืชสกุลขมิ้นในระยะก่อนออกดอกจำนวน 7 ชนิด เพื่อยืนยันผลการศึกษานุกรมวิธาน โดยใช้เครื่องหมายโปรตีนชนิด isozyme จำนวน 21 ชนิด พบว่าเกิด polymorphism จำนวน 8 ชนิด เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA สามารถแบ่งกลุ่มพืชสกุลขมิ้นได้ 3 กลุ่ม

Baker (1894) แบ่งพืชสกุลขมิ้นในแถบเอเชียออกเป็น 3 กลุ่ม คือ *Exantha* เป็นกลุ่มที่มีช่อดอกเกิดจากเหง้าใกล้ลำต้นเทียม กลุ่มที่ 2 คือ *Mesantha* เป็นกลุ่มที่มีช่อดอกเกิดกลางลำต้นเทียม มีใบประดับเชื่อมกับบริเวณที่ใกล้กับฐานใบของช่อดอก ส่วนปลายแยกเป็นอิสระ กลุ่มที่ 3 คือ *Hitcheniopsis* เป็นกลุ่มที่มีช่อดอกเกิดตรงกลางลำต้นเทียม แต่ใบประดับส่วนล่างเชื่อมติดกัน ใบประดับส่วนปลายแยกเป็นอิสระ

Chandra *et al.* (1998) ศึกษาลักษณะ 10 ลักษณะของขมิ้นชันจำนวน 25 สายพันธุ์ที่รวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศอินเดีย โดยศึกษาในตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ พบว่า ความสูง น้ำหนักสด และความยาวของ primary rhizome มีความสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิต ขณะที่ น้ำหนักแห้งมีความสัมพันธ์ทางลบกับผลผลิต สายพันธุ์ PCT-13 และพันธุ์ Lakadong ให้ผลผลิตปานกลาง สายพันธุ์พื้นเมืองของตะวันออกเฉียงเหนือ (พันธุ์ Sonajuli local -1 และ Sonajuli local -2) ให้ผลผลิตต่ำถึงปานกลาง ส่วนพันธุ์ทางตอนใต้ของประเทศให้ผลผลิตค่อนข้างสูง

Paisooksantivatana *et al.* (2001) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระเจียว (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) พันธุ์ปลูกและพันธุ์ป่าของประเทศไทย โดยใช้เครื่องหมายโปรตีนชนิด allozyme จำนวน 7 loci พบว่ากระเจียวพันธุ์ปลูกและพันธุ์ป่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง มี polymorphism ระหว่าง 3.14 - 3.5 และ 2.86 - 4 ตามลำดับ และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรระหว่าง 0.586 - 0.611 และ 0.621 - 0.653 ตามลำดับ ทั้ง 2 พันธุ์มีความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.833

Schumann (1904) แบ่งพืชสกุลขมิ้นเป็น 2 สกุลย่อย (subgenus) คือ สกุลย่อย *Hitcheniopsis* เป็นสกุลย่อยที่ช่อดอกเกิดกลางลำต้นเทียม โคนอับเรณูไม่มีจอย ขอบใบประดับส่วนล่างเชื่อมติดกับด้านหลังของใบประดับที่อยู่ถัดขึ้นไปเกือบตลอดขอบความยาว ปลายแยกเป็นอิสระ และโค้งลง สกุลย่อย *Eucurcuma* เป็นสกุลย่อยที่โคนอับเรณูมีจอย ขอบใบประดับเชื่อมติดกันบริเวณโคน

Syamkumar and Sasikumar (2007) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Curcuma* จำนวน 15 ชนิด โดยใช้เทคนิค ISSR และ RAPD พบว่าจากการศึกษาโดยใช้ RAPD primer จำนวน 39 ชนิด ปรากฏแถบดีเอ็นเอ 376 แถบ เป็น polymorphic bands 352 แถบ ส่วนการใช้เทคนิค ISSR โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 8 ชนิด ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่เป็น polymorphic bands 87 แถบ สามารถแบ่งพืชสกุล *Curcuma* ทั้ง 15 ตัวอย่าง ออกได้เป็น 7 กลุ่ม

Valeton (1918) ใช้ลักษณะเกสรเพศผู้และลักษณะของช่อดอก ร่วมกับสีของส่วนต่าง ๆ เพื่ออธิบายพืชสกุลขมิ้น สามารถแบ่งพืชสกุลขมิ้นเป็น 2 สกุลย่อย (subgenus) คือ Eucurcuma เป็นกลุ่มย่อยที่มีฐานใบเรียวแหลม (acuminate) อับเรณูมีจอยเชื่อมอยู่ทางด้านหลัง เกสรเพศผู้สีเหลือง เหน้งมีการแตกแขนงชัดเจน และสกุลย่อย Paracurcuma เป็นกลุ่มย่อยที่ช่อดอกเป็นทรงกระบอก มีใบประดับจำนวนมาก ใบประดับส่วนล่างสั้นกว่าส่วนบน อับเรณูไม่มีจอย มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน สีม่วงแดง เหน้งมีขนาดสั้น และพบส่วนปลายรากมีรากสะสมอาหาร (tuberous root)

จากการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าการจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตโดยการศึกษาอนุกรมวิธาน การเปรียบเทียบทางกายวิภาค (anatomy) สัณฐานวิทยา (morphology) การศึกษาเอ็มบริโอ (embryo) และสรีรวิทยา (physiology) (สุรินทร์, 2543) เพื่อบอกถึงสายพันธุ์พืชนั้น บางครั้งยังไม่เพียงพอต่อการแยกความแตกต่างให้ชัดเจน และแม่นยำได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยวิธีการทางด้านโมเลกุล มาช่วยแยกความแตกต่างของพืชแต่ละสายพันธุ์ในระดับโมเลกุล ซึ่งปัจจุบันเป็นที่นิยม และยังสามารถนำไปศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

สารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ หมายถึง โมเลกุลซึ่งอิเล็กตรอนวงนอกมีสภาพอิสระไม่จับคู่ อนุมูลอิสระจึงมีความไวมากต่อการทำปฏิกิริยา (สุพร, 2549) ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารชีวโมเลกุล มีผลกระทบต่อการทำงานของโปรตีน ไขมัน ดีเอ็นเอ เกิดความเสื่อมสภาพของร่างกาย และโรคหลายชนิด เช่น มะเร็ง เอชดี การเสื่อมสภาพของเซลล์ ความชรา โรคไขข้ออักเสบ ฯลฯ อนุมูลอิสระเกิดจากสารมลพิษ สารเคมี และรังสี ร่างกายสามารถใช้สารแอนติออกซิแดนซ์ที่ซึ่งพบมากในพืช ผัก ผลไม้ ธัญพืช น้ำมันพืช และมีฤทธิ์ในการต่อต้านหรือลดอนุมูลอิสระและออกซิเดชันได้ จึงสามารถป้องกันการเสื่อม การตายของเซลล์ และการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องได้ แอนติออกซิแดนซ์ที่เป็นสารจำเป็นต่อชีวิต ได้แก่ เบต้าคาโรทีน วิตามินอี วิตามินซี สังกะสี เซลีเนียม ไบโอฟลาโวนอยด์ และโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นสารที่มีรสฝาดในพืชผักทั่วไปและพืชสมุนไพร

อนุมูลอิสระมีทั้งประโยชน์และโทษ ประโยชน์ คือ ทำให้เกิดสารพลังงานสูง ถ้ามีมากเกินไปจะมีอันตรายและโทษต่อร่างกาย เกิดการทำลายโมเลกุลชีวภาพอย่างต่อเนื่องทำให้เซลล์ของร่างกายทำหน้าที่ผิดปกติไปซึ่งเป็นผลเสียต่อสุขภาพ อนุมูลอิสระก่อให้เกิดผลเสียกับสุขภาพ ได้แก่ การกระตุ้นหรือเพิ่มฤทธิ์ของสารก่อมะเร็ง เพิ่มความเป็นพิษของสารเคมีแปลกปลอมทั้งหลาย

ทำให้มีการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อ เกิดความชราของร่างกาย การทำลายดีเอ็นเอ ทำให้เกิดโรค มะเร็ง ดังนั้นการสะสมสารพิษ สารที่ให้อนุมูลอิสระ อาจเป็นสาเหตุของการเกิดการเปลี่ยนแปลง สารพันธุกรรม การเกิดโรค มะเร็ง การลุกลามหรือความรุนแรงของการติดเชื้อไวรัส รวมทั้งเชื้อ HIV และการเกิดโรคเอดส์ นอกจากนี้ยังพบว่าอนุมูลอิสระก่อให้เกิดโรคหลายโรค เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคหัวใจ โรคเบาหวาน ความดันโลหิตต่ำ และกลภาวะเกล็ดเลือดต่ำ

แอนติออกซิแดนซ์

แอนติออกซิแดนซ์ คือ สารประกอบที่ต่อต้านออกซิเดชันโดยตรงและทางอ้อม ส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ สารอินทรีย์เล็กน้อยที่ช่วยในการทำงานของเอนไซม์แอนติออกซิแดนซ์ โดยอาศัยที่แอนติออกซิแดนซ์มีความสามารถในการรับอิเล็กตรอนมาให้อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปได้ สารแอนติออกซิแดนซ์เป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระ (free-radical scavengers) ธรรมชาติ เป็นสารสกัดที่ได้จากพืช ทำให้ผิวพรรณและใบหน้าผ่องใส ผิวหนังไม่มีรอยย่น กระฝ้าดำต่าง

ในร่างกายมีสารแอนติออกซิแดนซ์ที่สามารถสร้างขึ้นเองเพียง 3-4 ชนิด ที่ทำหน้าที่เป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ในรูปแบบของเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) คะตะเลส (catalase) และกลูตาไธโอน เปอร็อกซิเดส (glutathione peroxidase) เอนไซม์เหล่านี้ทำหน้าที่อัตโนมัติ พร้อมทั้งจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำลายสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมาในเซลล์ตลอดเวลา บางครั้งสารแอนติออกซิแดนซ์ไม่เพียงพอในการต่อสู้กับอนุมูลอิสระที่มีปริมาณมาก ๆ จึงต้องอาศัยแอนติออกซิแดนซ์จากแหล่งภายนอก (ไมตรี และศิริวรรณ, 2545)

แอนติออกซิแดนซ์ในพืช และอาหาร

ในธรรมชาติ พืชเป็นแหล่งใหญ่ของแอนติออกซิแดนซ์ ในพืชและอาหารมีแอนติออกซิแดนซ์ทั้งหมด 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่

1. สารแอนติออกซิแดนซ์ที่ทำหน้าที่เป็นวิตามิน (antioxidant vitamins)

พบวิตามินอี ในถั่วธัญพืช รำ ข้าวกล้อง งา เมล็ดพืช ข้าวที่ยังไม่ขัดสี น้ำมันงา และน้ำมันพืชอื่น ๆ วิตามินซีในผัก ผลไม้สด ฝรั่ง มะขามป้อม พริกสด

2. สารแอนติออกซิแดนซ์ที่ไม่ใช่วิตามิน (non-vitamin antioxidants)

2.1 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งเป็นสารโพลีฟีนอล (polyphenols) โพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) กรดแกลลิก (gallic acid) และไกลโคไซด์ (glycosides) หรือแทนนิน (tannin) พบในยอดผัก ใบชา ผลไม้ที่มีรสฝาด เช่น มะขามป้อม ลูกหว้า องุ่นแดง

2.2 คาโรทีนอยด์ (carotenoids) ในธรรมชาติมีมากกว่า 600 ชนิด ได้แก่ เบต้า-คาโรทีน ทำหน้าที่เป็นสารเริ่มต้นของวิตามินเอ ผักใบสีเขียว ส้ม หรือสีแดง แดง มะละกอ แครอท ฟักทอง ไลโคปีน (lycopene) และลูทีน (lutein) ในมะเขือเทศ สตรอเบอร์รี่ และซานโทฟิลล์ (xanthophyll) ในข้าวโพด

2.3 กลุ่มแอนติออกซิแดนซ์ที่เป็นสารมีสีในพืช ได้แก่ สารสีแดง สีส้ม สีเหลือง ซึ่งเรียกว่า คาโรทีนอยด์ เบต้า-คาโรทีน ที่พบในพืชใบเขียวแครอท มะละกอ และฟักทอง สารสีแดง ซึ่งเรียกว่า ลูทีน (lutein) และไลโคปีน (lycopene) ในมะเขือเทศ

2.4 สารอาหารและสารเมแทบอลิท์ที่เกิดภายในร่างกาย เช่น โพรตีน กรดอะมิโนซิสเตอีน และกรดยูริก

3. แร่ธาตุ (Minerals)

แร่ธาตุทำหน้าที่เป็นสารตัวเร่งการทำงานร่วมกับเอนไซม์ที่เป็นแอนติออกซิแดนซ์ เช่น เซเลเนียม ทำงานร่วมกับเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส และสังกะสี ทำงานร่วมกับเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในขมิ้นชัน

Ungphaiboon *et al.* (2005) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) assay และฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิด (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans*) โดยวิธี disc diffusion และวิธี agar dilution ของสารสกัดขมิ้นชันด้วยเอทานอล และสบู่เหลวใสที่มีสารสกัดขมิ้นชัน 0.5 % v/w พบว่าสารสกัดขมิ้นชันมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) เท่ากับ 11.26 $\mu\text{g/ml}$. และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis*, *S. aureus*, *C. neoformans* และ *C. albicans* แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa*

Zaeoung *et al.* (2005) นำสารสกัดเมทานอล น้ำ และน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าสดของพืชวงศ์ขิง 5 ชนิด คือ ข่า (*Alpinia galanga*) กระชาย (*Boesenbergia pandurata*) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) เปราะหอม (*Kaempferia galanga*) และขิง (*Zingiber officinale*) มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านม MCF7 (breast adenocarcinoma) และมะเร็งลำไส้ LS174T (colon adenocarcinoma) พบว่าสารสกัดเมทานอลจากเหง้าขมิ้นชันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า EC_{50} (effective concentration) ความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ 50% เป็น 9.7 $\mu\text{g/ml}$. สารสกัดน้ำและน้ำมันหอมระเหยมีค่าต่ำมาก การทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าพืชทั้ง 5 ชนิด และสารสกัดเมทานอลจากเหง้าขมิ้นชันมีฤทธิ์ดี การแยกองค์ประกอบทางเคมีด้วย GC/MS (gas chromatography/mass spectrophotometer) พบว่าสารที่มีปริมาณมากที่สุดในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่า กระชาย ขมิ้นชัน เปราะหอม และขิง คือ *trans*-3-acetoxy-1,8-cineole, camphor, ar-turmerone, ethyl cinnamate และ geranial (E-citral) ตามลำดับ จากการทดสอบพบว่า curcumin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า EC_{50} เป็น 2.0 $\mu\text{g/ml}$. ส่วน demethoxycurcumin มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ LS174T ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} (inhibitive concentration) 0.8 $\mu\text{g/ml}$. ในขณะที่ 6-shogaol มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านม MCF7 ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} 1.7 $\mu\text{g/ml}$.

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แหล่งที่มาและการเก็บตัวอย่าง

รวบรวมขมิ้นชันจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ จำนวน 67 ตัวอย่าง และขมิ้นขาว 1 ตัวอย่าง โดยรวบรวมจากแหล่งปลูกของเกษตรกร แหล่งขายท้องถิ่นและวัตถุดิบนำมาปลูกในกระถางที่แปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร ม.เกษตรศาสตร์ บางเขน เพื่อนำไปอ่อนนาศักดิ์ดีเอ็นเอ จำนวน 64 ตัวอย่าง และศึกษาปริมาณสารสำคัญจากเหง้าก่อนปลูกและหลังปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน โดยกำหนดชื่อตัวอย่างที่รวบรวม ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างขมิ้นชันที่รวบรวมจากแหล่งที่มาต่าง ๆ

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	รหัส		แหล่งที่มา	รหัส
		ตัวอย่าง	ตัวอย่าง		ตัวอย่าง
1	อ.เมือง จ.ชุมพร	S1	16	อ.เมือง จ. นครศรีธรรมราช	S8
2	อ. อัมพวง จ.ตาก	W1	17	อ.บาเจาะ จ.นราธิวาส	S9
3	อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช	S2	18	อ.เจาะไอร้อง จ.นราธิวาส	S10
4	อ. กระบุรี จ.ระนอง	S3	19	อ.เมือง จ.สงขลา	S11
5	อ. แม่สาย จ.เชียงใหม่	N1	20	อ.ยี่งอ จ.นราธิวาส	S12
6	อ.เมือง จ.สงขลา	S4	21	เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ	C3
7	อ. กะเปอร์ จ.ระนอง	S5	22	อ.สายบุรี จ.ปัตตานี	S13
8	อ. แม่สาย จ.เชียงใหม่	N2	23	อ.ยะรัง จ.ปัตตานี	S14
9	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	S6	24	อ.เรณูนคร จ.นครพนม	NE3
10	อ.โพธิ์พิสัย จ.หนองคาย	NE1	25	เขตหลักสี่ กรุงเทพฯ	C4
11	เวียงจันทน์ ประเทศลาว	Laos	26	อ. กำแพงแสน นครปฐม	C5
12	อ.อ้อมน้อย จ.สมุทรปราการ	C1	27	อ.พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี	S15
13	อ.หลังสวน จ.ชุมพร	S7	28	เขตดอนเมือง กรุงเทพฯ	C6
14	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	NE2	29	อ.เมือง จ.ปัตตานี	S16
15	เขตบางมด กรุงเทพฯ	C2	30	เขตบึงกุ่ม กรุงเทพฯ	C7

ตารางที่ 1 (ต่อ)

		รหัส		รหัส	
ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	ตัวอย่าง	ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	ตัวอย่าง
31	อ.ควนโดน จ.สตูล	S17	50	อ.เขียงคาน จ.เลย	NE11
32	อ.ยะหริ่ง จ.ปัตตานี	S18	51	อ.วังทอง จ.พิษณุโลก	N3
33	อ.เมือง จ.สุรินทร์	NE4	52	อ.พรหมพิราม จ.พิษณุโลก	N4
34	อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	W2	53	อ.ศรีสัชนาลัย จ.สุโขทัย	N5
35	อ.ชัยบุรี จ.สุราษฎร์ธานี	S19	54	อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่	N 6
36	ขมิ้นขาว อ.เมือง จ.นครสวรรค์	Out	55	อ.นิคมคำสร้อย จ.มุกดาหาร	NE12
37	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	S20	56	อ.คาหลวง จ.มุกดาหาร	NE13
38	อ.เมือง จ.อำนาจเจริญ	NE5	57	อ.เมือง จ.มุกดาหาร	NE14
39	อ.โคกโพธิ์ จ.ปัตตานี	S21	58	อ.โพธิ์นาแก้ว จ.สกลนคร	NE15
40	อ.บันนังสตา จ.ยะลา	S22	59	อ.เมือง จ.พิษณุโลก	N7
41	จ.มหาสารคาม	NE6	60	อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	N8
42	อ.เสนางคนิคม จ.อำนาจเจริญ	NE7	61	อ.บาเจาะ จ.นราธิวาส	S27
43	อ.พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี	S23	62	อ.เมือง จ.สตูล	S28
44	อ.กาญจนดิษฐ์ จ.สุราษฎร์ธานี	S24	63	อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	S29
45	อ.เมือง จ.อำนาจเจริญ	NE8	64	อ.ศรีสวัสดิ์ จ. กาญจนบุรี	W3
46	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	NE9	65	อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ *	N9
47	อ.สะเดา จ.สงขลา	S25	66	เขตมิ้นบุรี กรุงเทพฯ *	C8
48	ต.ห้วยนาง อ.ห้วยยอด จ.ตรัง	S26	67	อ.เขียงคาว จ.เชียงใหม่ *	N10
49	อ.ชานุมาน จ.อำนาจเจริญ	NE10	68	อ.ภูเรือ จ.เลย *	NE16

* ตัวอย่างที่ไม่ได้ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

2. การเก็บตัวอย่างใบขมิ้นชันเพื่อสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างใบบนสุดของต้น เนื่องจากเป็นใบอ่อนทำให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณมากและคุณภาพสูง สามารถดัดด้วยไนโตรเจนเหลวได้ง่าย นำใส่ในถุงพลาสติกมัดปากถุงให้แน่น แช่น้ำแข็ง แล้วนำไปสกัดดีเอ็นเอ หากยังไม่สกัดให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพของดีเอ็นเอ

3. การเตรียมดีเอ็นเอจากใบอ่อนของขมิ้นชัน

3.1 วิธีการสกัดดีเอ็นเอ

วิธีการสกัดดีเอ็นเอดัดแปลงวิธีการมาจาก Doyle and Doyle (1990) โดยมีวิธีการดังนี้

3.1.1 นำใบอ่อนขมิ้นชันประมาณ 0.2-0.5 กรัม มาบดด้วยโกร่งในไนโตรเจนเหลวจนละเอียดเป็นผงแป้ง จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่บดได้ใส่ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม extraction buffer [2% CTAB, 0.5 M NaCl, 1% PVP, 20mM EDTA (pH 8), 100 mM Tris-HCl (pH 8), 0.1% sodium metabisulfite] 600 ไมโครลิตร และ 20% sodium dodecyl sulfate (SDS) 20 ไมโครลิตร จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ประมาณ 45-60 นาที นำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 5 นาที

3.1.2 เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) 1 เท่าของสารละลายที่มีอยู่ ผสมให้เข้ากัน โดยพลิกกลับไปกลับมาประมาณ 200 ครั้ง

3.1.3 นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 10 นาที

3.1.4 ดูดส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่ ทำซ้ำ 3.1.2-3.1.3

3.1.5 ตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย isopropanol ปริมาตร 1 เท่าของสารละลายที่มีอยู่ นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

3.1.6 เทส่วนใสทิ้ง แล้วล้างดีเอ็นเอด้วย 70 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 600 ไมโครลิตร ประมาณ 3 ครั้ง

3.1.7 นำไปผึ่งจนแห้ง

3.1.8 ละลายดีเอ็นเอด้วย 1X TE buffer [10mM Tris-HCl (pH 8), 1mM EDTA (pH 8)] 25-50 ไมโครลิตร เพื่อละลายดีเอ็นเอ

3.1.9 เก็บรักษาสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ขั้นตอนต่อไป

3.2 วิธีการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ

3.2.1 วิธีวัดการเรืองแสงร่วมกับ ethidium bromide เตรียม เจลอะกาโรสเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และจัดอุปกรณ์สำหรับทำ electrophoresis แยกขนาดดีเอ็นเอด้วยความต่างศักย์ 100 โวลต์ในแนวนอน แล้วย้อมเจลด้วย ethidium bromide เข้มข้น 0.5 µg/ml นาน 20 นาที ส่องดูใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต วัดปริมาณดีเอ็นเอโดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน

4. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค RAPD

4.1 การคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสม

ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอมินันซ์ โดยใช้ไพรเมอร์ความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ (ตารางที่ 2) มาคัดเลือกด้วยเทคนิค PCR เพื่อตรวจสอบว่าไพรเมอร์ใดที่สามารถให้ผลผลิต PCR ที่ชัดเจน โดยในแต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย

DNA (25 ng/µl)	1.0 µl
dNTP (1mM)	2.0 µl
10x PCR buffer	2.0 µl
MgCl ₂ (25mM)	2.0 µl
primer (10 µM/µl)	1.0 µl
Taq DNA polymerase 5 unit/µl	0.2 µl
น้ำกลั่น เติมน้ำให้มีปริมาตรรวม 20 µl	

การทำ PCR จะเตรียมสารละลายรวมของ buffer, MgCl₂, dNTP, Taq polymerase และน้ำกลั่นในหลอดเดียวกัน (master mixture) และแบ่งใส่หลอด โดยแต่ละหลอดจะมี DNA template อยู่ จากนั้นผสมให้เข้ากัน นำไปใส่เครื่อง PCR โดยตั้งอุณหภูมิและเวลาสำหรับเพิ่มปริมาณ ดังนี้

- 1) อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที
 - 2) อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
 - 3) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
 - 4) อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
- ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2 ถึง 4 ทั้งหมด 34 รอบ
- 5) อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

ตารางที่ 2 ไพรมเมอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยเทคนิค RAPD

ชุดไพรมเมอร์	ลำดับเบส (5' to 3')
OPA-02	TGCCGAGCTG
OPA-03	AGTCAGCCAC
OPA-04	AATCGGGCTG
OPA-08	GTGACGTAGG
OPA-09	GGGTAACGCC
OPA-15	TTCCGAACCC
OPA-18	AGGTGACCGT
OPJ-09	TGAGCCTCAC
OPR-01	TGCGGGTCCT
OPR-02	CACAGCTGCC
OPR-07	ACTGGCCTGA
OPR-08	CCCGTTGCCT
OPR-13	GGACGACAAG
OPR-15	GGACAACGAG
OPS-11	AGTCGGGTGG
OPS-12	CTGGGTGAGT
OPT-05	GGGTTTGGCA
OPT-08	AACGGCGACA
OPT-20	GACCAATGCC

4.2 วิธีการตรวจสอบผลของการทำ PCR

ภายหลังปฏิกิริยา PCR เติม sequencing dye (98% formamide, 0.025% bromphenol blue, 0.025% xylene cyanol, 10mM EDTA) 3 µl นำผลผลิต PCR ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบโดยอิเล็กโตรโฟเรซิสใน agarose gel ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ใน 1x TAE buffer โดยใช้ 1 Kb ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบขนาด โดยใช้แหล่งกำเนิดไฟฟ้าที่ให้ความต่างศักย์ 50 โวลต์ และย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ถ่ายภาพได้แสง UV เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากผลการทดลองต่อไป

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกแถบดีเอ็นเอของขมิ้นชันที่ปรากฏ โดยอ่านแถบที่ปรากฏบนแผ่นเจลและบันทึกเป็นสัญลักษณ์ “1” กับการเกิดแถบดีเอ็นเอและ “0” กับการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมดโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Numerical Taxomy and Multivariate Analysis System (NTSYS) pc รุ่น 2.20k ซึ่งจะคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างขมิ้นชันแต่ละตัวอย่างและสร้างเป็น phylogenetic tree เพื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (cluster analysis) ด้วยวิธี Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Mean Analysis (UPGMA) และ Principal Component Analysis (PCA) คำนวณค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (genetic similarity) ตามวิธีการของ Dice (1945) ดังสมการ

$$S_{ij} = \frac{2a}{(2a+b+c)}$$

เมื่อ S_{ij} = ค่า similarity ระหว่างพันธุ์ i และพันธุ์ j

a = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้ง 2 พันธุ์

b = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในพันธุ์ i แต่ไม่พบในพันธุ์ j

c = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในพันธุ์ j แต่ไม่พบในพันธุ์ i

คำนวณค่า Polymorphic Information Contents (PICs) ของแต่ละแถบดีเอ็นเอ หรือแต่ละ markers จากสูตร

$$H = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2$$

โดย P_i คือความถี่ของแอลลีล i ซึ่ง P_i ประกอบด้วย P_A (absent allele) และ P_p (present allele) ค่า PICs ในกรณีของ dominant marker เป็นค่าที่บอกถึงโอกาสที่จะพบตัวอย่างที่เลือกแบบสุ่ม 2 ตัวอย่างที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ 1 ตัวอย่าง และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ 1 ตัวอย่าง (Ott, 1991)

6. การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมิน

คัดแปลงจาก ปรีชา และคณะ (2549) เหง้าสด ล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปผึ่งแดดเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียด

6.1 การทำ standard curve ของสารเคอร์คิวมิน

ละลายสารมาตรฐานเคอร์คิวมิน 2 มิลลิกรัม (0.002 กรัม) ด้วยเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์ ปรับปริมาตรให้เป็น 5 มิลลิตร ในขวด volumetric flask

6.1.1 แยกดูสารละลายมาตรฐาน 20, 40, 50, 60 และ 80 ไมโครลิตร ใส่ลงใน volumetric flask เติมนเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตรครบ 10 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากัน

6.1.2 นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มา plot standard curve

6.2 การวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง

6.2.1 นำผงขมิ้นชัน 100 มิลลิกรัม (0.1 กรัม) บรรจุในขวด volumetric flask ขนาด 10 มิลลิตร เติมนเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตรครบ 10 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากัน

6.2.2 คูณสารละลายไซของสารละลายตัวอย่างมา 15 ไมโครลิตรใส่ลงไปในขวด volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตรครบ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

6.2.3 นำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

6.2.4 คำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์จากน้ำหนักแห้ง (%w/w) โดยเทียบจาก standard curve ของเคอร์คิวมินมาตรฐาน

7. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

7.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง คัดแปลงจาก Chirangini *et al.* (2004)

เหง้าสด ล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง ลอกผิวหนังด้านนอกเหง้าออก นำเหง้าสด 1 กรัม บดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว ละลายผงแห้งด้วย 95% เอทานอลกลั่นบริสุทธิ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เทสารสกัดใส่หลอดขนาด 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง เก็บสารละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

7.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) คัดแปลงจาก Blois (1958)

เตรียมสารสกัดเข้มข้นที่สกัดด้วยเอทานอลกลั่นบริสุทธิ์ ความเข้มข้น 50, 25, 16.67, 12.5 และ 10 mg/ml ตามลำดับ ใส่ในหลอดทดลองความเข้มข้นละ 500 ไมโครลิตร เติม DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer เก็บให้พ้นแสงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูลอิสระ

$$\% \text{ DPPH radical scavenging} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{blank}})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} = ค่า absorbance ที่วัดได้ของสารละลายที่ผสมกับ DPPH

A_{blank} = ค่า absorbance ที่วัดได้ของ DPPH และตัวทำละลายที่ใช้

เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูลอิสระกับปริมาณความเข้มข้นของขมิ้นชัน แล้วใช้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่ได้หาค่าความเข้มข้นที่ให้ผลด้านออกซิเดชันครึ่งหนึ่ง (EC_{50}) โดยคำนวณจากกราฟเส้นที่ได้จาก linear regression analysis โดยเทียบให้ % inhibition หรือค่าในแกน y เป็น 50% โดยใช้วิตามินซี เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบผล

8. สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

9. ระยะเวลาในการทดลอง

ทำการทดลองระหว่างเดือน กันยายน 2549 ถึง เดือน กันยายน 2551

ผลและวิจารณ์

ผล

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค RAPD

การใช้เทคนิค RAPD เพื่อการวิเคราะห์พันธุกรรมของขมิ้นชัน โดยอาศัยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากปฏิกิริยา PCR จากการใช้ไพรเมอร์ขนาดความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 19 ไพรเมอร์ พบว่าสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอของขมิ้นชัน ได้ดีเกิดแถบดีเอ็นเอชัดเจน จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เข้มชัดเจนและเข้มปานกลางของแต่ละไพรเมอร์ พบอยู่ระหว่าง 6-13 แถบ (ตารางที่ 3) ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากการใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 19 ชนิดกับขมิ้นชัน 64 ตัวอย่าง ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 184 แถบ หรือ markers เฉลี่ย 9.68 แถบต่อชนิดไพรเมอร์ เป็น polymorphic markers จำนวน 166 แถบ คิดเป็น 89.83% ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด พบว่ามี 6 ไพรเมอร์ คือ OPA-04 OPR-07 OPR-08 OPS-12 OPT-20 และ OPT-08 ให้ polymorphic markers 100% ส่วนไพรเมอร์ OPA-15 ให้ polymorphic markers ต่ำสุดคิดเป็น 66.67% โดยไพรเมอร์ OPA-02 และ OPA-04 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด คือ 13 แถบ และไพรเมอร์ OPA-08 และ OPR-15 ให้แถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด คือ 6 แถบ ขนาดดีเอ็นเอที่พบอยู่ในช่วงประมาณ 0.2-2.5 กิโลเบส (ภาพที่ 2)

ค่า PICs สำหรับ dominant marker เช่น RAPD และ AFLP หมายถึง ค่าที่บอกโอกาสที่จะพบตัวอย่างที่เลือกแบบสุ่มจำนวน 2 ตัวอย่างที่มีความแตกต่างกัน จะมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.5 ซึ่งหมายถึงครึ่งหนึ่งของตัวอย่างปรากฏแถบดีเอ็นเอ และอีกครึ่งหนึ่งของตัวอย่างไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่แต่ละตำแหน่ง ผลการคำนวณค่า PICs มีค่าอยู่ในช่วง 0.000-0.500 โดยมีค่า PICs เฉลี่ยเท่ากับ 0.297 เมื่อคำนวณค่าความเหมือนทางพันธุกรรมโดยวิธีของ Dice (1945) พบว่ามีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (genetic similarity) ตั้งแต่ 0.660-0.957 (ตารางภาคผนวกที่ 1) เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์และสร้าง phylogenetic tree โดยใช้ Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Mean Analysis (UPGMA) ด้วยโปรแกรม NTSYSpc เวอร์ชัน 2.20k สามารถแบ่งตัวอย่างที่ศึกษาได้เป็น 5 กลุ่ม ที่ค่าความเหมือนทางพันธุกรรม 73.6% (ภาพที่ 3) ได้แก่

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างจำนวน 48 ตัวอย่าง สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่าง 0.750-0.957

กลุ่มย่อยที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างจำนวน 27 ตัวอย่าง เป็นกลุ่มขมื่นชันจากภาคเหนือ (N1, N2, N3, N5) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE1, NE2, NE3, NE6, NE9, NE11, NE14) ภาคตะวันตก (W1) ภาคกลาง (C2, C3, C4, C7) และภาคใต้ (S1, S2, S3, S5, S6, S7, S19, S23, S24, S28, S29) มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่าง 0.760-0.942 มีตัวอย่างภายในกลุ่มที่มีการกระจายทุกภูมิภาค ภาคเหนือ 4 ตัวอย่าง ภาคกลาง 4 ตัวอย่าง ภาคอีสาน 7 ตัวอย่าง ภาคตะวันตก 1 ตัวอย่าง และภาคใต้ 11 ตัวอย่าง

กลุ่มย่อยที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างจำนวน 21 ตัวอย่าง มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่าง 0.750-0.957 เป็นกลุ่มขมื่นชันจากภาคเหนือ (N4, N6, N8) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE12) ภาคตะวันตก (W3) และภาคใต้ (S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S20, S21, S22, S25, S26, S27) ส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างที่รวบรวมมาจากภาคใต้ เมื่อพิจารณาค่าความเหมือนทางพันธุกรรมที่มีค่าสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.957 เป็นตัวอย่าง S10 (อ.เจาะไอร้อง จ.นราธิวาส) และ S11 (อ.เมือง จ.สงขลา) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่รวบรวมมาจากภูมิภาคเดียวกัน

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างจำนวน 8 ตัวอย่าง เป็นกลุ่มขมื่นชันจากภาคเหนือ (N7) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE5, NE7, NE8, NE10, NE13, NE15) และขมื่นขาว ส่วนใหญ่มีแนวโน้มมาจากภาคอีสานจำนวน 6 ตัวอย่าง พบตัวอย่างจากภาคเหนือเพียง 1 ตัวอย่าง คือ N7 (อ.เมือง พิษณุโลก) ซึ่งมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมกับ NE15 (อ.โพธิ์นาแก้ว จ.สกลนคร) 89% เมื่อพิจารณาข้อมูลปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) จากตารางที่ 4 พบว่าตัวอย่างในกลุ่มนี้มีปริมาณสารสำคัญต่ำมาก โดยเฉพาะขมื่นขาว ซึ่งไม่สามารถวัดปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC_{50}) ได้

กลุ่มที่ 3 เป็นตัวอย่างขมื่นชันที่มาจากประเทศลาว

กลุ่มที่ 4 เป็นตัวอย่างขมื่นชันที่มาจาก อ. เมือง จ. สงขลา (S4)

กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วยตัวอย่างจำนวน 6 ตัวอย่างเป็นกลุ่มขมื่นชันจากภาคกลาง (C1, C5, C6) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE4) ภาคตะวันตก (W1) และภาคใต้ (S8)

ในการจัดกลุ่มตัวอย่างขมิ้นชันทั้ง 5 กลุ่ม พบว่ามีตัวอย่างภายในกลุ่มที่กระจายทุกภูมิภาค ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม (ภาพผนวกที่ 1-6) จากการวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี Principal Component Analysis (PCA) โดยใช้ข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD ทั้งหมด 184 แถบ ผลการวิเคราะห์สามารถจัดกลุ่มได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ (ภาพที่ 4)

กลุ่มที่ 1 สอดคล้องกับกลุ่มย่อยที่ 1 กลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 จาก phylogenetic tree

กลุ่มที่ 2 สอดคล้องกับกลุ่มที่ 2 จาก phylogenetic tree

กลุ่มที่ 3 สอดคล้องกับกลุ่มย่อยที่ 2 จาก phylogenetic tree

กลุ่มที่ 4 สอดคล้องกับกลุ่มที่ 3 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มาจากประเทศลาว จาก phylogenetic tree

ค่า PCA 1=27.534 เปอร์เซ็นต์ PCA 2=15.431 เปอร์เซ็นต์ PCA 3=11.501 เปอร์เซ็นต์ PCA 1 ถึง 3 ครอบคลุมประมาณ 54.466 เปอร์เซ็นต์ของความแปรปรวนทั้งหมด และการวิเคราะห์ค่า cophenetic correlation การจัดกลุ่มของขมิ้นชันถือว่าจัดกลุ่มได้ปานกลาง ซึ่งมีค่า cophenetic correlation หรือค่า R เท่ากับ 0.76161 (ภาพที่ 5) ค่า cophenetic correlation เป็นค่าที่บอกถึงการจัดกลุ่มที่ได้ว่าดีเพียงใด โดยต้องนำค่า R ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่า goodness of fit โดย

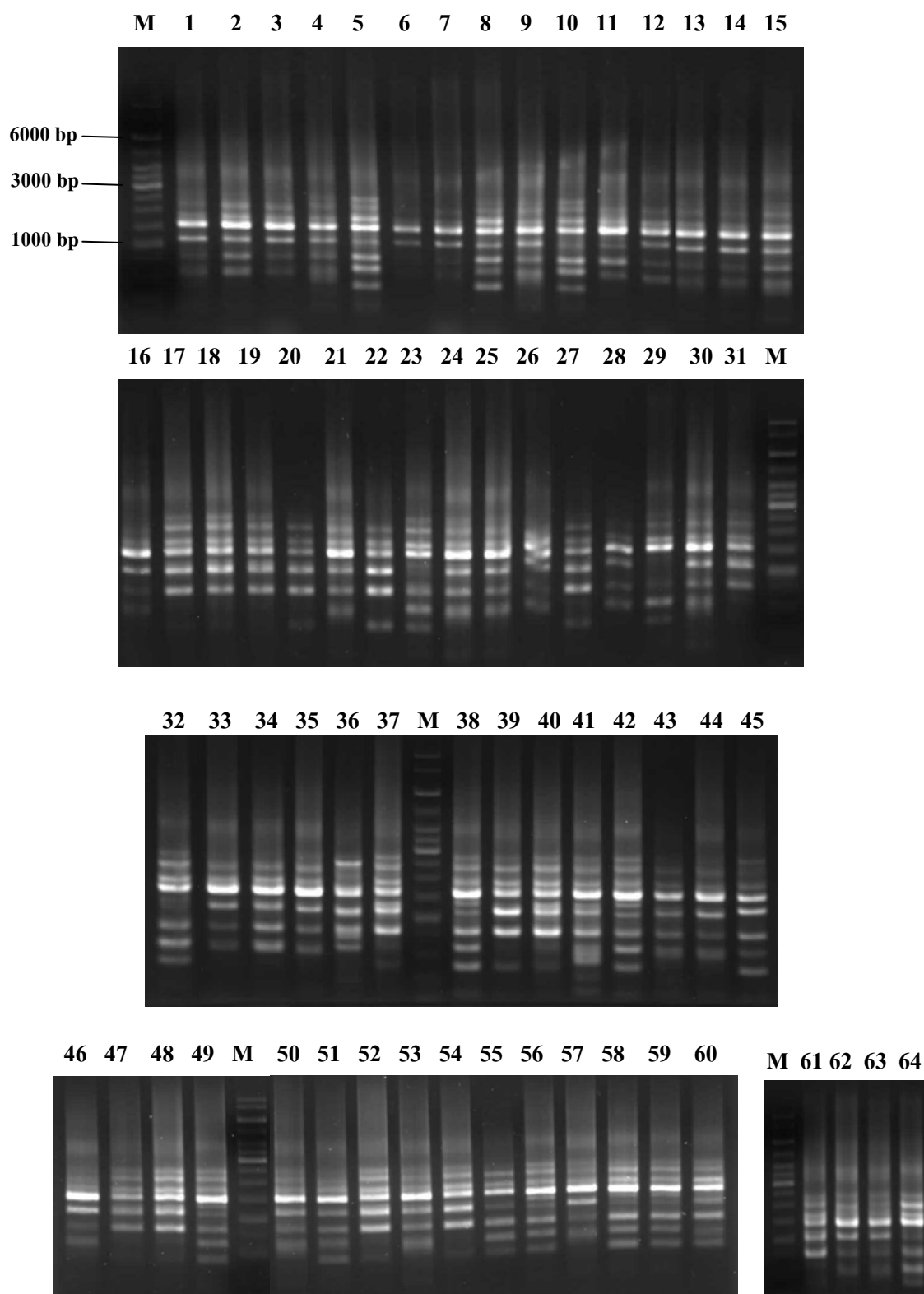
ค่า R มีค่ามากกว่า 0.9 ถือว่า การจัดกลุ่มได้ดีมาก

ค่า R มีค่าอยู่ระหว่าง 0.8 – 0.9 ถือว่าการจัดกลุ่มได้ดี

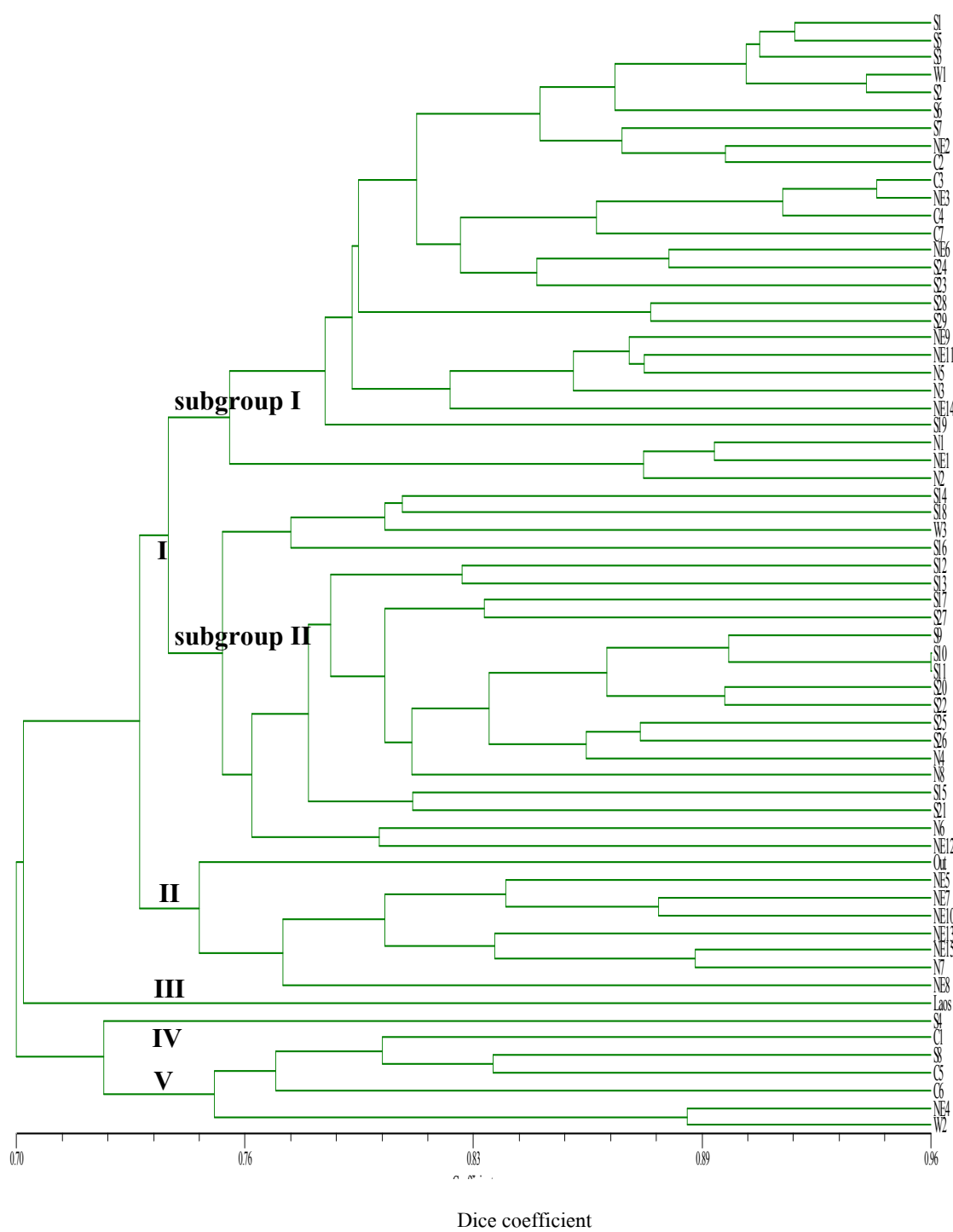
ค่า R มีค่าอยู่ระหว่าง 0.7 – 0.8 ถือว่าการจัดกลุ่มได้ปานกลาง

ตารางที่ 3 จำนวนแถบคลื่นจากแต่ละไพรมอร์ และแถบคลื่นเอที่ให้ polymorphism

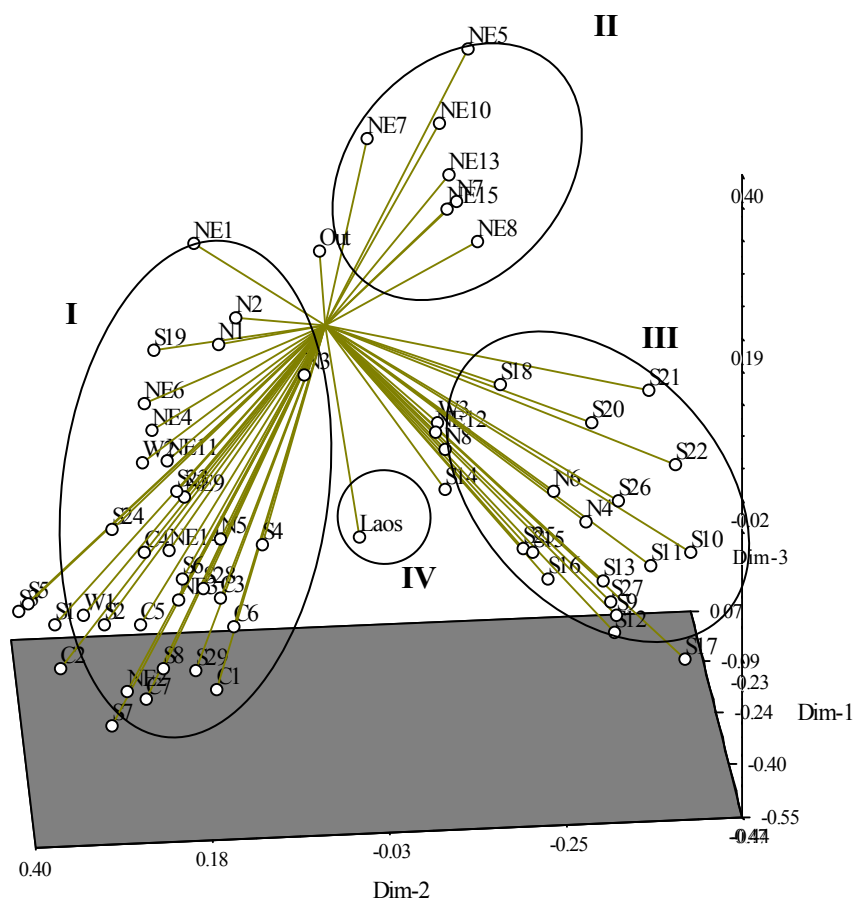
ลำดับที่	ไพรมอร์	จำนวนแถบคลื่นเอ		% Polymorphism
		ทั้งหมด	จำนวน polymorphic bands	
1	OPA-02	13	12	92.31
2	OPA-03	11	9	81.82
3	OPA-04	13	13	100.00
4	OPA-08	6	5	83.33
5	OPA-09	9	8	88.89
6	OPA-15	9	6	66.67
7	OPA-18	8	7	87.50
8	OPJ-09	10	9	90.00
9	OPR-01	11	9	81.82
10	OPR-02	12	10	83.33
11	OPR-07	11	11	100.00
12	OPR-08	8	8	100.00
13	OPR-13	10	9	90.00
14	OPR-15	6	5	83.33
15	OPS-11	9	8	88.89
16	OPS-12	10	10	100.00
17	OPT-05	9	8	88.89
18	OPT-08	11	11	100.00
19	OPT-20	8	8	100.00
รวม		184	166	89.83



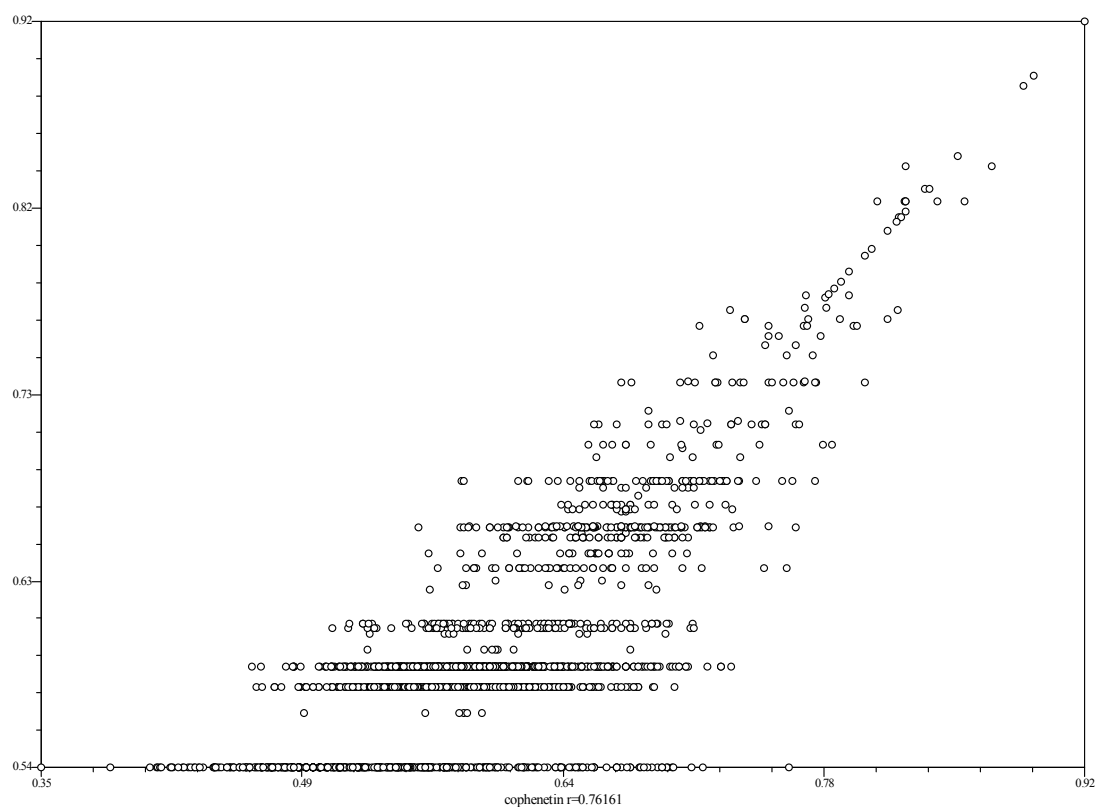
ภาพที่ 2 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอจากการวิเคราะห์ห้ำมันชั้นด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ OPA-15 (M = molecular DNA ladder)



ภาพที่ 3 Phylogenetic tree ของขมิ้นชันสร้างโดยอาศัยข้อมูลจากเทคนิค RAPD โดยใช้ UPGMA ในโปรแกรม NTSYSpc 2.20k



ภาพที่ 4 Principal Component Analysis (PCA) ของขมึ้นชั้นโดยอาศัยข้อมูลจากเทคนิค RAPD ที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.20k



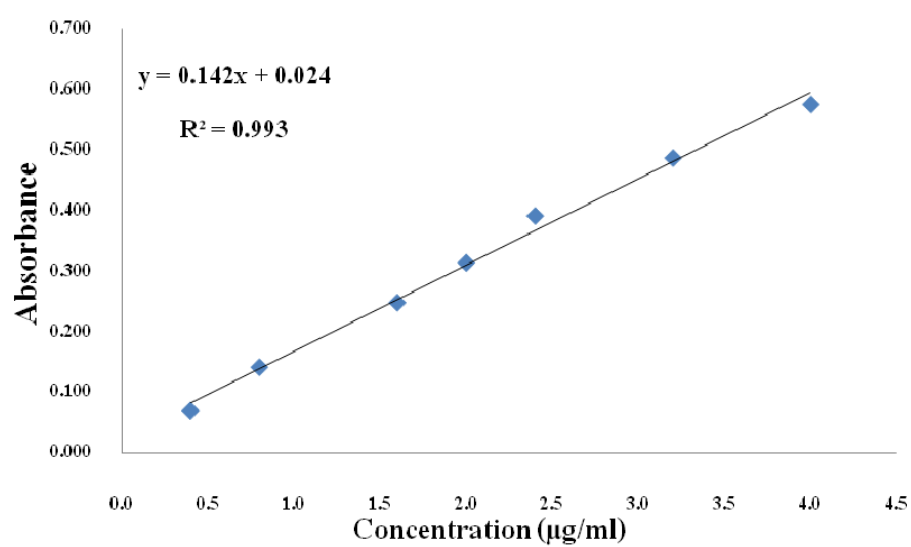
ภาพที่ 5 การกระจายตัวของข้อมูลตัวอย่างมีนชั้นจากเทคนิค RAPD ในการจัดกลุ่มมี
ค่า cophenetic correlation (R) = 0.76161

การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของตัวอย่างจำนวน 68 ตัวอย่างด้วยเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์และคำนวณปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารเคอร์คิวมินที่วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร (ภาพที่ 6) โดยศึกษาตัวอย่างก่อนนำมาปลูกและหลังการปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน พบว่า ก่อนปลูกมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ ระหว่าง 0.11 ± 0.05 ถึง $10.13 \pm 1.27\%w/w$ มีเพียง 40 ตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของ THP ที่กำหนดให้วัตถุบิขมันชั้น (ผงแห้ง) มีปริมาณ curcuminoids ไม่น้อยกว่า 5% w/w ตัวอย่าง S29 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มาจาก อ.รัตนภูมิ จ.สงขลา มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด ในขณะที่ตัวอย่าง NE5 เป็นตัวอย่างที่มาจาก อ.เมือง จ.อำนาจเจริญ และขมิ้นขาวมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุด (0.32 ± 0.44 และ $0.11 \pm 0.05\% w/w$ ตามลำดับ) หลังปลูก พบว่ามีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ ระหว่าง 0.05 ± 0.03 ถึง $12.39 \pm 0.73\%w/w$ มีเพียง 35 ตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของ THP ตัวอย่าง S20 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มาจาก อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด ตัวอย่าง NE8 เป็นตัวอย่างที่มาจาก อ.เมือง จ.อำนาจเจริญ และขมิ้นขาวมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุด (0.46 ± 0.08 และ $0.05 \pm 0.03\% w/w$ ตามลำดับ) (ตารางที่ 4)

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์โดยแบ่งตามภูมิภาคในประเทศไทยและประเทศลาวก่อนปลูกและหลังปลูก (ตารางที่ 5) ส่วนใหญ่ก่อนปลูกจะพบปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงในตัวอย่างจากภาคกลางและภาคใต้ โดยมีค่า 6.74 ± 0.93 และ 6.17 ± 1.95 ตามลำดับ และพบปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุดในตัวอย่างจากประเทศลาว และขมิ้นขาว ซึ่งมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ 1.09 ± 0.35 และ 0.11 ± 0.05 ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ในตัวอย่างที่เก็บมาจากแต่ละภูมิภาคในประเทศไทยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นตัวอย่างที่รวบรวมมาจากประเทศลาวและขมิ้นขาว อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์หลังปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าตัวอย่างจากภาคกลางและภาคตะวันตกมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด โดยมีค่า 5.79 ± 2.87 และ 5.49 ± 1.79 ตามลำดับ และยังคงพบว่าตัวอย่างจากประเทศลาวและขมิ้นขาวยังคงมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุด

อย่างไรก็ตามตัวอย่างจากภาคอีสานและประเทศลาว มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์แตกต่างจากภาคอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ก่อนและหลังปลูกของแต่ละภูมิภาคพบว่ามีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 7) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นตัวอย่างจากภาคอีสาน



ภาพที่ 6 Standard curve ของสารเคอร์คิวมิน วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

ตารางที่ 4 ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และ EC_{50} ของตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 68 ตัวอย่างก่อนและหลังปลูก

แหล่งที่มา	รหัสตัวอย่าง	ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์			
		(%w/w)		EC_{50} (mg/ml)	
		ก่อนปลูก	หลังปลูก	ก่อนปลูก	หลังปลูก
ภาคเหนือ	N1	1.68±0.42	1.95±0.34	14.55±5.15	26.11±7.90
	N2	2.60±0.33	2.46±1.02	13.10±4.10	13.86±4.82
	N3	6.15±1.59	4.83±1.24	7.29±2.04	13.42±1.17
	N4	6.37±0.47	4.42±1.02	9.84±2.36	18.40±2.14
	N5	6.81±1.35	2.97±0.94	10.20±3.44	13.28±1.06
	N6	4.87±0.93	3.33±1.02	9.83±1.46	12.83±0.78
	N7	4.95±0.84	3.68±1.86	13.61±1.49	17.53±5.51
	N8	7.38±1.27	6.05±2.38	9.23±2.93	11.38±6.51
	N9	4.03±0.55	6.88±2.67	19.03±13.48	16.30±6.73
	N10	4.14±0.62	5.26±1.24	6.80±3.09	19.90±4.14
	ค่าเฉลี่ย	4.94±1.94	4.18±1.99	11.39±5.61	16.30±5.82
ภาคอีสาน	NE1	3.8±0.26	2.44±1.09	8.03±2.99	23.81±5.05
	NE2	4.23±0.66	6.13±0.47	7.29±2.04	12.65±4.06
	NE3	5.99±0.48	5.02±2.62	19.28±10.84	8.53±1.37
	NE4	4.96±0.49	6.25±0.81	6.14±1.02	14.15±1.90
	NE5	0.32±0.44	0.73±0.21	43.82±1.97	75.67±40.79
	NE6	6.74±0.62	7.35±0.34	6.24±0.98	11.80±1.66
	NE7	0.92±0.59	0.76±0.25	63.78±23.15	77.23±37.29
	NE8	1.00±0.52	0.46±0.08	40.72±12.74	น้อย
	NE9	6.19±0.30	5.88±0.66	6.51±3.90	12.26±1.42
	NE10	0.5±0.54	0.92±0.31	34.71±10.05	66.67±47.14
	NE11	7.86±0.91	6.29±2.77	12.11±1.08	9.40±2.19
	NE12	5.72±3.77	5.52±1.07	10.24±2.00	13.65±2.92
	NE13	1.49±0.54	0.68±0.10	53.92±10.03	70.94±34.79
	NE14	1.03±0.81	0.84±0.36	29.69±3.25	น้อย

ตารางที่ 4 (ต่อ)

แหล่งที่มา	รหัสตัวอย่าง	ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์			
		(%w/w)		EC ₅₀ (mg/ml)	
		ก่อนปลูก	หลังปลูก	ก่อนปลูก	หลังปลูก
ภาคอีสาน	NE15	0.82±0.85	0.64±0.26	48.12±11.37	47.22±3.93
	NE16	0.64±0.49	0.56±0.25	67.00±29.50	110.58±20.40
	ค่าเฉลี่ย	3.36±2.77	3.15±2.81	28.60±23.42	31.98±36.29
ภาคกลาง	C1	5.40±0.18	1.68±1.44	9.23±6.64	22.18±2.17
	C2	6.89±0.65	6.37±0.97	11.14±2.39	9.88±1.33
	C3	6.98±1.34	5.25±0.48	6.78±2.69	15.05±3.50
	C4	7.05±0.38	5.16±1.72	6.88±4.28	9.58±2.45
	C5	6.56±0.07	6.72±1.53	7.73±3.07	10.3±1.87
	C6	8.01±1.15	5.54±1.44	7.16±5.74	15.61±12.12
	C7	6.57±0.39	10.23±4.99	5.57±0.084	10.35±2.03
	C8	6.41±0.60	5.36±1.15	9.86±2.99	10.28±5.51
	ค่าเฉลี่ย	6.74±0.931	5.79±2.35	8.04±1.86	12.91±6.02
ภาคตะวันตก	W1	5.04±0.48	7.37±0.51	9.17±0.70	9.04±1.07
	W2	4.68±0.70	5.16±1.55	8.89±3.56	8.89±1.22
	W3	6.64±1.18	3.93±1.03	19.45±5.27	21.79±4.48
	ค่าเฉลี่ย	5.46±1.16	5.49±1.79	12.50±6.11	13.24±6.84
ภาคใต้	S1	5.73±0.90	5.16±2.06	8.75±3.00	13.67±2.57
	S2	8.45±0.53	6.05±0.76	7.19±4.90	12.84±1.50
	S3	7.14±0.59	8.09±3.71	13.08±5.32	14.27±3.98
	S4	3.31±0.38	5.37±1.42	5.6±1.86	18.19±9.37
	S5	2.60±0.33	2.46±1.02	13.83±5.31	18.11±10.32
	S6	7.07±0.45	8.09±3.71	5.47±2.29	11.05±2.31
	S7	6.97±0.48	7.54±0.89	15.18±3.45	12.89±1.79
	S8	6.18±0.85	5.08±1.12	6.73±3.63	15.87±4.40
	S9	4.04±0.46	3.94±0.86	19.56±6.47	16.21±2.39
	S10	5.68±0.37	4.03±0.58	10.06±2.81	23.52±7.46

ตารางที่ 4 (ต่อ)

แหล่งที่มา	รหัสตัวอย่าง	ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์			
		(%w/w)		EC ₅₀ (mg/ml)	
		ก่อนปลูก	หลังปลูก	ก่อนปลูก	หลังปลูก
ภาคใต้	S11	6.14±0.39	3.91±0.51	9.19±4.39	17.34±1.60
	S12	4.58±0.54	3.92±0.29	10.94±8.67	21.24±2.35
	S13	4.32±0.42	8.53±0.63	16.38±7.57	14.50±4.10
	S14	9.19±0.32	5.86±.53	10.74±7.12	13.31±4.22
	S15	7.70±0.88	6.62±1.44	17.22±10.71	20.52±5.91
	S16	5.51±0.37	5.38±0.43	7.19±1.64	13.70±0.52
	S17	5.39±1.20	2.67±0.78	9.71±7.89	21.24±2.08
	S18	6.55±1.13	5.29±0.90	9.62±2.89	12.84±2.55
	S19	4.44±0.26	6.16±0.58	8.76±4.36	5.60±1.32
	S20	5.68±0.84	12.39±0.73	5.26±3.58	13.46±13.13
	S21	5.06±0.34	3.49±0.44	8.84±1.09	16.51±2.88
	S22	4.46±0.26	3.69±0.44	9.17±4.55	28.23±7.46
	S23	5.27±0.42	4.65±0.42	8.94±3.99	15.32±6.31
	S24	4.69±0.49	6.90±2.85	7.92±1.59	7.63±1.84
	S25	7.53±1.49	0.58±0.49	11.44±3.90	50.75±12.52
	S26	7.36±1.20	1.82±0.88	10.21±2.94	18.85±4.10
	S27	7.85±1.16	3.06±1.11	11.43±1.04	18.54±4.17
	S28	9.84±0.93	6.12±0.95	10.51±3.37	13.50±0.91
	S29	10.13±1.27	2.72±0.96	6.74±2.41	11.07±1.16
	ค่าเฉลี่ย	6.17±1.95	5.06±2.53	10.2±5.29	16.92±9.08
ประเทศลาว	Laos	1.09±0.35	1.20±0.38	12.88±4.29	33.36±3.56
<i>C. mangga</i>	Out	0.11±0.05	0.05±0.03	น้อย	น้อย

ตารางที่ 5 ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของตัวอย่างจำนวน 68 ตัวอย่างก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค

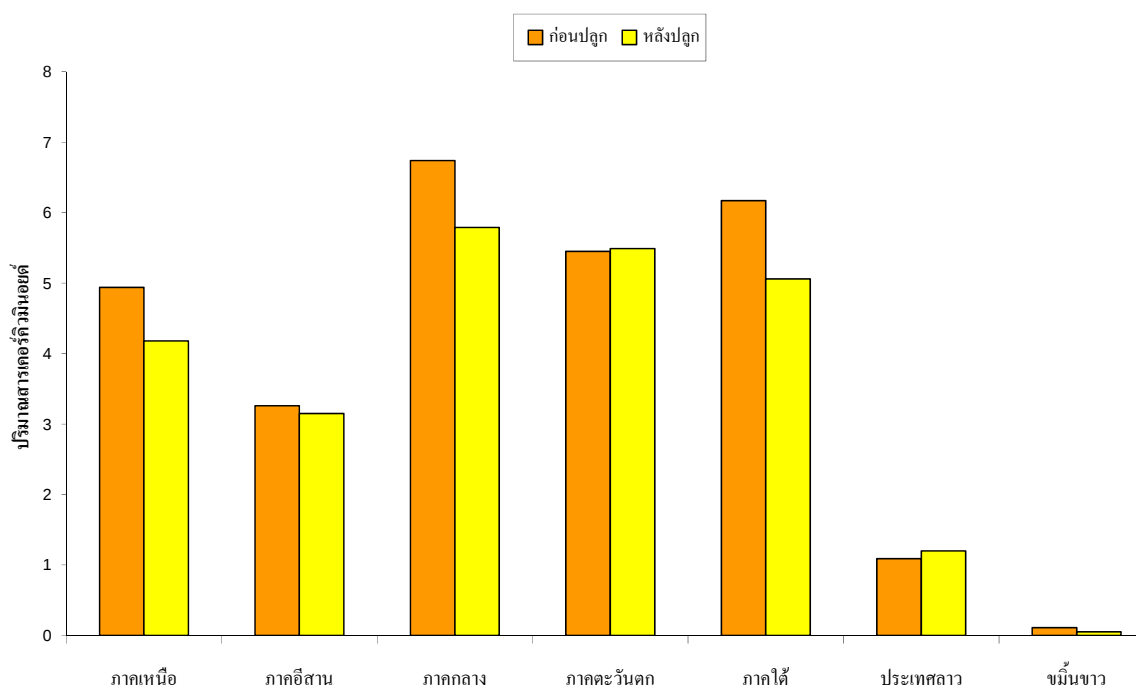
แหล่งที่มา	total curcuminoids (%w/w)	
	ก่อนปลูก	หลังปลูก
ภาคเหนือ (10 ตัวอย่าง)	4.94±1.84bcA	4.18±1.99bcA
ภาคอีสาน (16 ตัวอย่าง)	3.26±2.77bA	3.15±2.18abB
ภาคกลาง (8 ตัวอย่าง)	6.74±0.93cA	5.79±2.87cA
ภาคตะวันตก (3 ตัวอย่าง)	5.45±1.16cA	5.49±1.79cA
ภาคใต้ (29 ตัวอย่าง)	6.17±1.95cA	5.06±2.53bcA
ประเทศลาว (1 ตัวอย่าง)	1.09±0.35aA	1.20±0.38aA
ขมิ้นขาว (1 ตัวอย่าง)	0.11±0.05aA	0.05±0.06aA
F-test	*	*
% CV	46.67	59.56

ค่าตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี

Duncan's new multiple range test.

อักษรตัวเล็ก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวดิ่ง

อักษรตัวใหญ่ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอน



ภาพที่ 7 ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขมิ้นชันในแต่ละภูมิภาคในประเทศไทยและประเทศลาวก่อนปลูกและหลังปลูก (ตารางที่ 6) ซึ่งค่าตัวเลขที่น้อยแสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ก่อนปลูกพบว่าตัวอย่างที่เก็บมาจากภาคกลางมีค่า EC_{50} สูงสุด (8.04 ± 3.77 mg/ml) มีค่าใกล้เคียงกับวิตามินซี (7.05 ± 1.05 mg/ml) และตัวอย่างจากภาคอีสานมีค่า EC_{50} ต่ำสุด (28.60 ± 23.42 mg/ml) โดยค่า EC_{50} ในแต่ละแหล่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นตัวอย่างจากภาคอีสาน เมื่อนำตัวอย่างหลังปลูกมาทำการวิเคราะห์ปริมาณ EC_{50} พบว่า ตัวอย่างจากภาคกลางมีค่า EC_{50} สูงสุด (12.91 ± 6.02 mg/ml) และตัวอย่างจากประเทศลาวมีค่า EC_{50} ต่ำสุด (33.36 ± 3.56 mg/ml) เมื่อเปรียบเทียบผลทางสถิติ พบว่าตัวอย่างจากภาคกลางและภาคตะวันตกมีความแตกต่างกันของค่า EC_{50} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากตัวอย่างที่เก็บจากภาคอีสานและประเทศลาว เมื่อนำค่า EC_{50} มาเปรียบเทียบก่อนและหลังปลูก พบว่ามีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 8) ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกัน ยกเว้นตัวอย่างจากภาคตะวันตกและภาคอีสาน นอกจากนี้พบว่าขมิ้นขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำมาก ซึ่งไม่สามารถวัดค่า EC_{50} ได้ ทั้งก่อนปลูกและหลังปลูก

ตารางที่ 6 ค่า EC_{50} ของตัวอย่างจำนวน 68 ตัวอย่าง ก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค

แหล่งที่มา	EC_{50} (mg/ml)	
	ก่อนปลูก	หลังปลูก
ภาคเหนือ (10 ตัวอย่าง)	11.35±5.61aA	16.30±5.82abB
ภาคอีสาน (16 ตัวอย่าง)	28.60±23.42bA	31.98±36.29bA
ภาคกลาง (8 ตัวอย่าง)	8.04±3.77aA	12.91±6.02aB
ภาคตะวันตก (3 ตัวอย่าง)	12.50±6.11aA	13.24±6.84aA
ภาคใต้ (29 ตัวอย่าง)	10.20±5.29aA	16.92±9.08abB
ประเทศลาว (1 ตัวอย่าง)	12.88±4.29aA	33.36±3.56bB
ขมิ้นขาว (1 ตัวอย่าง)	น้อย	น้อย
F-test	*	*
% CV	69.20	69.68

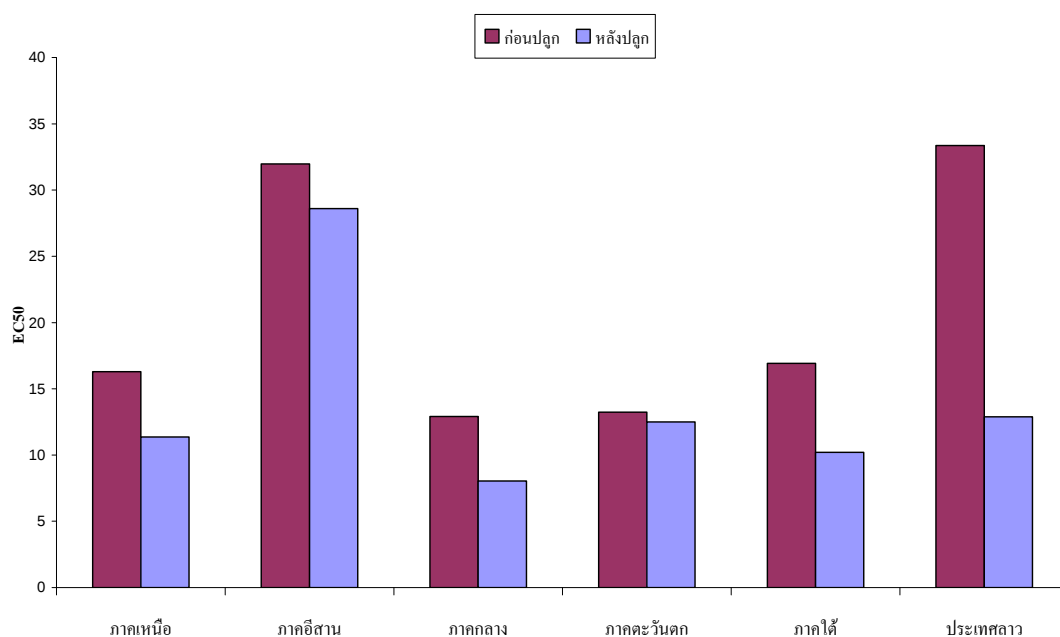
ค่าตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี

Duncan's new multiple range test.

อักษรตัวเล็ก เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง

อักษรตัวใหญ่ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอน

วิตามินซีมีค่า $EC_{50} = 7.05 \pm 1.05$ mg/ml



ภาพที่ 8 ค่า EC_{50} ก่อนปลูกและหลังปลูก แบ่งตามภูมิภาค

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Pearson's correlation coefficient พบว่าปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยมีค่า $r = 0.582$ ตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขมิ้นชัน

ตัวอย่าง	r	Sig. (2-tailed)
ขมิ้นชัน	0.582	0.000

วิจารณ์

การสกัดดีเอ็นเอและการตรวจสอบคุณภาพ

การประยุกต์การสกัดดีเอ็นเอของ Doyle and Doyle (1990) โดยใช้ใบอ่อนของขมิ้นชันในการสกัดดีเอ็นเอพบว่าภายในใบมีสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ พอลิฟีนอล และแอลคาลอยด์ ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการสกัดดีเอ็นเอ (Syamkumar *et al.*, 2003) ทำให้ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากใบอ่อนขมิ้นชันมีการปนเปื้อน และผลผลิตในการทำ PCR ปรากฏแถบดีเอ็นเอไม่ชัดเจน หรือไม่เกิดแถบดีเอ็นเอในบางตัวอย่าง จึงทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ด้วย 20% SDS (sodium dodesyl sulfate) และสกัดอีกครั้งด้วย chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ก่อนตกตะกอนด้วย isopropanol และล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol พบว่าดีเอ็นเอที่ได้มีความบริสุทธิ์ และมีคุณภาพของดีเอ็นเอดีขึ้น นอกจากนี้การสกัดขึ้นกับอายุและความสดของใบที่นำมาใช้ การกำจัดพอลิแซ็กคาไรด์ พอลิฟีนอล ซึ่งถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อเซลล์แตก โดยใช้ Tris-HCl และ NaCl เพื่อช่วยในการรักษาสภาพความเป็นกรดต่าง ใช้ CTAB ซึ่งอยู่ในรูปของสารที่ซับซ้อนและมีเสถียรภาพ สามารถละลายน้ำได้ ภายใต้สภาวะที่มีเกลือค่อนข้างสูง เมื่อความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่า 0.4 M NaCl การจับของ CTAB และกรดนิวคลีอิกจะตกตะกอน ซึ่งการปั่นเหวี่ยงทำให้ดีเอ็นเอสามารถแยกออกจากอาร์เอ็นเอและ CTAB ส่วน β -mercaptoethanol ช่วยในการทำลายพันธะไดซัลไฟด์ของโรโบนิวคลีเอส และป้องกันการ oxidize ของสารกลุ่มฟีนอลิก กำจัดปริมาณของอนุมูลอิสระที่เข้าจับกับสารฟีนอลิก และกรดนิวคลีอิก เพื่อลดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของกรดนิวคลีอิก

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค RAPD

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้นชันจำนวน 64 ตัวอย่าง โดยใช้ RAPD ไพรมเมอร์ทั้งหมด 19 ชนิด ให้แถบดีเอ็นเอลักษณะ polymorphic จำนวน 166 แถบ คิดเป็น 89.83% ของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด และ monomorphic เพียง 18 แถบ โดยแต่ละไพรมเมอร์ทำให้เกิดลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีลักษณะเฉพาะตัวของขมิ้นชันแต่ละแหล่ง นอกจากนี้พบว่า มีไพรมเมอร์ 6 ชนิดที่ให้ polymorphic bands สูงถึง 100% โดย polymorphic bands จากไพรมเมอร์ OPA-15 มีค่าต่ำสุดคิดเป็น 66.67% ซึ่งการศึกษานี้มีค่า polymorphic bands สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้นชันจำนวน 17 สายพันธุ์ของ Nayak *et al.* (2006) โดยเทคนิค RAPD จำนวนไพรมเมอร์ 20 ชนิด โดยไพรมเมอร์ PTS-51 ให้ polymorphic bands 35.6% และไพรมเมอร์ Acc-31 ให้ polymorphic bands 98.6%

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างขมิ้นชันแต่ละแหล่งโดยใช้ข้อมูลจาก RAPD พบว่า phylogenetic tree ให้ผลไม่สอดคล้องกับการจัดกลุ่มด้วยวิธี Principal Component Analysis (PCA) ซึ่ง phylogenetic tree สามารถจัดกลุ่มขมิ้นชันทั้ง 64 ตัวอย่างออกเป็น 5 กลุ่ม ในขณะที่ PCA สามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่ม โดยที่กลุ่มย่อยที่ 1 กลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 ใน phylogenetic tree รวมอยู่ในกลุ่มเดียวกันในกลุ่มที่ 1 ของ PCA และแยกกลุ่มย่อยที่ 2 ออกเป็นอีก 1 กลุ่มในการจัดกลุ่มด้วยวิธี PCA

การจัดกลุ่มตัวอย่างขมิ้นชันมีตัวอย่างภายในกลุ่มที่มีการกระจายทุกภูมิภาค ยกเว้นตัวอย่าง S10 และ S11 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่รวบรวมมาจากภูมิภาคเดียวกัน มีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อย สอดคล้องกับการศึกษาในการจำแนกพันธุ์ขมิ้นชัน 15 ตัวอย่างจากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศ อินเดียโดยใช้เทคนิคไอโซไซม์ พบว่าตัวอย่างที่รวบรวมจากภูมิภาคเดียวกัน มีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยกว่าตัวอย่างจากต่างภูมิภาค (Shamina *et al.*, 1998) ในขณะการศึกษาของ นันทวรรณ (2549) สามารถจำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชันจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทยจำนวน 129 ตัวอย่าง โดยใช้ microsatellite markers จำนวน 13 คู่ไพรเมอร์ ได้จำนวน 34 สายพันธุ์ และไม่พบความสัมพันธ์ในการจัดกลุ่มกับแหล่งที่มาของตัวอย่าง ซึ่งในการทดลองนี้ก็ไม่พบความสัมพันธ์ในการจัดกลุ่มกับแหล่งที่มาของตัวอย่าง (geographical origin) ที่รวบรวมมาจากจังหวัดเดียวกัน

การใช้เทคนิค RAPD ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และจำแนกกลุ่มขมิ้นชัน พบว่าตัวอย่างภายในกลุ่มมีการกระจายทุกภูมิภาค เนื่องจากขมิ้นชันเป็นพืชดั้งเดิมที่ปลูกในประเทศไทยเป็นระยะเวลายาวนาน อาจเป็นไปได้ที่มีการนำตัวอย่างจากภูมิภาคหนึ่งไปปลูกยังอีกภูมิภาคหนึ่ง นอกจากนี้การผสมข้าม (out crossing) ภายในชนิด (intraspecific) ของขมิ้นชัน อาจมีผลต่อความแตกต่างทางพันธุกรรมของขมิ้นชันได้ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศอาศัยกลไกการเกิด crossing over ทำให้ยีนเกิดการสลับที่หรือรวมตัวกันใหม่แล้วถูกถ่ายทอดไปสู่รุ่นต่อ ๆ ไปในประชากร อย่างไรก็ตามประชากรของสิ่งมีชีวิตใดชนิดหนึ่งจะรวมตัวเป็นกลุ่มและผสมพันธุ์กันภายในกลุ่มเผ่าพันธุ์เดียวกันทำให้เกิดการถ่ายทอดยีนเกิดขึ้นเฉพาะภายในประชากรของชนิดเดียวกัน กลุ่มยีนของประชากรสิ่งมีชีวิตเดียวกันเรียกว่า gene pool การถ่ายทอดยีนแต่ละรุ่นต้องประสบกับแรงกดดันทางวิวัฒนาการ (evolutionary forces) เช่น การคัดเลือกโดยธรรมชาติ การอพยพ ความผันแปรทางพันธุกรรม ทำให้โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรในแต่ละรุ่นเปลี่ยนแปลงไปก่อให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรต่าง ๆ ซึ่งจะมีลักษณะจำเพาะ (speciation) ในแต่ละพื้นที่มีสาเหตุจากความแตกต่างทางภูมิศาสตร์ (geographic isolation) อันเกิดจากการแยกกลุ่มประชากร (splitting) ของสิ่งมีชีวิตโดยสภาพทางภูมิศาสตร์มีสภาพ

ภูมิศาสตร์เป็นตัวสกัดกั้น (barrier) ทำให้สิ่งมีชีวิตมีพัฒนาการที่เฉพาะตัวขึ้นมาเป็นชนิด (species) ใหม่ โดยการผสมข้ามพันธุ์หรือผสมกันเองภายใต้ข้อจำกัดทางภูมิศาสตร์ทำให้มีความหลากหลายของพันธุกรรมขึ้น (Marsh and Grossa, 1996)

อย่างไรก็ตามตัวอย่างขมิ้นชันที่เก็บรวบรวมทั้งหมด 68 ตัวอย่าง ในการทดลองนี้ไม่พบตัวอย่างใดเลยที่มีการออกดอก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการปลูกในกระถางอาจเป็นสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการออกดอก จากรายงานการศึกษา พบว่าขมิ้นชันสามารถขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดได้ แต่มักพบได้น้อยเนื่องจากการติดเมล็ดยาก (กรมวิชาการเกษตร, 2544) การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดนั้นจะให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงในขมิ้นชัน (Shamina *et al.*, 1998) ในปี ค.ศ. 1994 Sasikumar และคณะ ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันพันธุ์ปลูกในประเทศอินเดีย โดยใช้วิธีการผสมข้าม (cross pollinated) ได้พันธุ์ Prabha และ Prathibra

ปัจจัยหลายประการที่มีผลกับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่างที่ศึกษา เช่น การกระจายของ markers ในจีโนมของตัวอย่าง และจำนวน markers ที่ใช้ในการศึกษาคือต้องใช้จำนวนไพรเมอร์มากเพียงพอ (Bowcock *et al.*, 1994) ดังนั้นหากมีการเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจสอบให้มากขึ้น เพื่อให้ครอบคลุมจีโนมทั้งหมดของขมิ้นชันอาจจะสามารถจำแนกขมิ้นชันได้ดียิ่งขึ้น และควรเพิ่มแหล่งพันธุกรรมเพราะตัวอย่างประชากรที่มาจากแหล่งต่างกันจะทำให้แยกความผันแปรทางพันธุกรรมได้ดีขึ้น เครื่องหมาย RAPD ถูกนำมาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างกว้างขวาง เนื่องจากวิธีการไม่ยุ่งยาก สามารถทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบค่อนข้างต่ำ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้มีไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR นั้น ไม่เฉพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใดบริเวณหนึ่งบนโครโมโซมของพืชที่ต้องการตรวจสอบ ดังนั้น RAPD จึงเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ไม่เฉพาะเจาะจงที่ตำแหน่งยีน และความแตกต่างหรือโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของ RAPD มักเกิดในลักษณะมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ โดยแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจะแสดงการข่มต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ซึ่ง dominant marker ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่าง homozygous และ heterozygous ได้ (Stuab *et al.*, 1996) การศึกษาในครั้งต่อไปอาจใช้ co dominant marker ซึ่งจะช่วยให้แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตระหว่างกลุ่มที่เป็น homozygous และ heterozygous ได้ นอกจากนี้การตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับลักษณะที่ควบคุมการสร้างสารเคอร์คิวมินอยด์ และการหาตำแหน่งของยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวบนแผนที่โครโมโซม การทำ mapping และ sequencing ในจีโนมพืช ซึ่งช่วยในการอธิบายถึงหน้าที่ของยีน, การควบคุมยีน และการแสดงออกของยีน ซึ่งจะสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเชื่อมโยงกับการศึกษาที่จะมีเพิ่มขึ้นในอนาคตได้

อย่างไรก็ตามเทคนิค RAPD สามารถใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ดีในพืชหลายชนิด เช่น การศึกษาในบวบเบอร์รี่ (Burgher *et al.*, 2002) โหระพาและแมงลัก (Viera *et al.*, 2003) ขมิ้นอ้อย (Islam *et al.*, 2007) พืชสกุล *Curcuma* (Syamkumar and Sasikumar, 2007) พืชกลุ่มกระเจียว (จรัสศรี, 2545; อุไรวรรณ, 2540) มะกอกโอลีฟ (จำลองลักษณ์, 2546) และปาล์มน้ำมัน (จักรกฤษ, 2549; อภิลักษณ์, 2549)

การศึกษาปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของตัวอย่างจำนวน 68 ตัวอย่างด้วยเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์และคำนวณปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารเคอร์คิวมินที่วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยศึกษาตัวอย่างก่อนนำมาปลูกและหลังการปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน พบว่าก่อนปลูกจะพบปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงในตัวอย่างจากภาคกลาง และพบปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุดในตัวอย่างจากประเทศลาว และขมิ้นขาว ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์หลังปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่ามีผลไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีผลสอดคล้องกับงานทดลองของ Chavalittumrong และ Jirawattanapong (1992) ซึ่งศึกษาความแปรปรวนของขมิ้นชันที่รวบรวมจาก จ.นครปฐม ภาคกลาง ซึ่งมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูง (10.12% w/w) อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Pothitirat and Gristanapan (2006) รายงานว่าตัวอย่างจากภาคใต้มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูง (8.99 ± 0.83 %w/w) ซึ่งเป็นภูมิภาคที่มีสภาพอากาศชื้น ในขณะที่ตัวอย่างจากภาคเหนือมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุด (4.80 ± 1.83 % w/w) ซึ่งเป็นภูมิภาคที่มีสภาพอากาศหนาวและแห้ง จากการศึกษาถ้าพิจารณาปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์จากตัวอย่างทั้งหมด 68 ตัวอย่างโดยไม่แยกพิจารณาตามภูมิภาค ซึ่งพบว่าตัวอย่าง S29 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มาจาก อ.รัตนภูมิ จ.สงขลา มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด (10.13 ± 1.27 %w/w) เมื่อศึกษาก่อนปลูก และหลังปลูกตัวอย่าง S20 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มาจาก อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด (12.39 ± 0.73 % w/w) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pothitirat and Gristanapan (2006) นอกจากนี้ยังมีรายงานปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของขมิ้นชันแดงสยามอยู่ในช่วง 10-12% w/w และการศึกษาของนันทวรรณ (2549) ตัวอย่างจากบุรีรัมย์มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุดเป็น 10.67% w/w

ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ก่อนและหลังปลูกของแต่ละภูมิภาคพบว่ามีความโน้มถ่วงลดลง อาจเนื่องมาจากตัวอย่างที่รวบรวมมาจากแต่ละแหล่งมีอายุเหง้าที่ไม่เท่ากัน โดยไม่ทราบอายุของท่อน

พันธุ์ ซึ่งตัวอย่างที่รวบรวมอาจมีอายุมากกว่า 6 เดือน ทำให้มีการสะสมของสารเคอร์คิวมินอยด์ในเหง้าสูง จึงส่งผลให้ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ก่อนปลูกสูงกว่าหลังปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน นอกจากนี้ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้มีจำนวนตัวอย่างที่ไม่เท่ากันในแต่ละภูมิภาค ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการคำนวณเมื่อพิจารณาเป็นภูมิภาค และตัวอย่างที่รวบรวมมาจากประเทศลาวมีเพียง 1 ตัวอย่างซึ่งไม่ครอบคลุมพื้นที่ทั้งหมดของประเทศลาว

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay เป็นวิธีที่มีการนำมาใช้ในงานทดลองอย่างกว้างขวาง เนื่องจากใช้เวลาไม่นาน และมีความไวในการทำปฏิกิริยา ซึ่งในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในขมิ้นชันรายงานผลในรูปค่า EC_{50} ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ 50% ซึ่งค่า EC_{50} ที่มีค่าต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการศึกษาก่อนปลูกและหลังปลูกพบว่าตัวอย่างที่รวบรวมมาจากภาคกลาง มีค่า EC_{50} สูงสุด มีค่าใกล้เคียงกับวิตามินซี ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน ซึ่งสอดคล้องกับผลของปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Pearson's correlation coefficient พบว่าปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก โดยมีค่า $r = 0.582$ ซึ่งให้ผลเหมือนกับการทดลองของ Kapoor and Priyadarsini (2001) ที่กล่าวว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารเคอร์คิวมิน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง total phenolic compounds และ antioxidant activity ด้วยวิธี FRAP และ ABTS มีค่า $r = 0.62$ และ 0.97 ตามลำดับ ซึ่งขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาใช้ในการสกัด ตัวอย่างและกลุ่มของ phenolic compound (Thaipong *et al.*, 2006) ในการศึกษาสารสกัดขมิ้นชันด้วยเอทานอลด้วยวิธี DPPH ของ Ungphaiboon *et al.* (2005) มีค่า EC_{50} เป็น $11.26 \mu\text{g/ml}$ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการทดลองนี้ อย่างไรก็ตามในการศึกษาของ Zaeoung *et al.* (2005) ด้วยสารสกัดเมทานอลจากเหง้าสดของขมิ้นชันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยมีค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50}) เป็น $9.7 \mu\text{g/ml}$. นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส้ม มีค่า EC_{50} ระหว่าง $0.10\text{--}1.59 \text{ mg/ml}$ (Su *et al.*, 2006) และการศึกษาในมันเทศ มีค่า EC_{50} ระหว่าง $0.7\text{--}6.4 \text{ mg/ml}$ ในตัวอย่างแห้ง และ $2.1\text{--}24.7 \text{ mg/ml}$ ในตัวอย่างสด (Rumbaoa *et al.*, 2009)

สรุป

1. การใช้เทคนิค RAPD ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างมันชัน 63 ตัวอย่าง และมันขาว 1 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์ 19 ชนิดได้แถบดีเอ็นเอเครื่องหมายทั้งหมด 184 แถบ เฉลี่ย 9.68 แถบต่อไพรเมอร์ 1 ชนิด ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมคำนวณโดยใช้วิธีของ Dice (1945) มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง โดยมีค่าระหว่าง 0.660 ถึง 0.957 เมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มโดยใช้ UPGMA ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.20k สามารถจัดกลุ่มมันชันได้เป็น 5 กลุ่ม ที่ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมประมาณ 0.736 และให้ผลไม่สอดคล้องกับการวิเคราะห์การกระจายแบบ PCA

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของตัวอย่างจำนวน 68 ตัวอย่างด้วยเมทานอล กลั่นบริสุทธิ์ ก่อนปลูกมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ ระหว่าง 0.11 ± 0.05 ถึง $10.13 \pm 1.27\%$ w/w ตัวอย่างจากภาคกลางมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด ตัวอย่างจากประเทศไทยและมันขาวมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุด หลังปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ระหว่าง 0.05 ± 0.03 ถึง $12.39 \pm 0.73\%$ w/w และพบว่ามีค่าลดลงหลังปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน

3. ก่อนปลูกตัวอย่าง S29 (อ.รัตนภูมิ จ.สงขลา) มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด หลังปลูก ตัวอย่าง S20 (อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา) มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด

4.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างจากภาคกลางมีค่าสูงสุด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2544. **ผลงานวิชาการประจำปี 2543**. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

ขวัญใจ กนกเมธากุล. 2535. **เคมีของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

จรัสศรี แก่นเมือง. 2545. **การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมในพืชกลุ่มกระเจียวโดยเทคนิคอาร์เอฟดี**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จักรกฤษ จันทรมุข. 2549. **การตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมัน โดยใช้เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จำลองลักษณ์ เรื่องวัชรภรณ์. 2546. **การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะกอกโอลีฟโดยเครื่องหมายโมเลกุล**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวัชชัย สันติสุข. 2531. **พันธุ์ไม้ป่าที่ให้น้ำมันหอมระเหยในประเทศไทย**. วารสารวิทยาศาสตร์ 32(2-3): 47-58.

นันทวรรณ ฉิมพลี. 2549. **การจำแนกสายพันธุ์มันชันในประเทศไทยโดยใช้ Microsatellite markers**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นาฏศิริ สุวรรณโรจน์, ศรีอัมพร ปรีเปรม, ดรเพชร กาญจนภูมิ และวราภรณ์ ภูตะดุน. 2542. **คู่มือปฏิบัติการเภสัชเวท เล่มที่ 2**. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์และเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2542. **เครื่องเทศ**. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2538. ขมิ้น. ใกล้เคียง 9(5): 9-10.

ปรีชา บุญจุง, วิภาวี เสาหิน, วิรัตน์ จันทร์ตรี, บัณฑิต กิตติจารุจร, พรหมินทร์ ไกรยสินธุ์ และ
สุลักษณ์ มะลิทอง. 2549. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในแคปซูลขมิ้นชันและฟ้า
ทะลายโจรโดยใช้โครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง. **Thai Pharmaceutical and
Health Science Journal** 1(2): 45-55.

พิษณุ พุฒิเลทอง. 2538. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกเชื้อพันธุ์พืชสกุล
ขมิ้น. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไมตรี สุทธจิตต์ และศิริวรรณ สุทธจิตต์. 2545. แอนติออกซิแดนท์: สารป้องกันโรคและส่งเสริม
สุขภาพ. **วารสารมหาวิทยาลัยมหาสารคาม** 21(1): 57-62.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540. พืชเครื่องเทศและสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

วรรณภา วีระภักดี และอดิสร กระแสชัย. 2540. การรวบรวมและการศึกษาการเจริญของพืชสกุล
กระเจียวบางชนิด. **วารสารเกษตร** 13(2): 127-136.

สมภพ ประธานธูราษฎร์, วงศ์สถิต นั้วกุล, พร้อมจิต ศรีลัมพ์ และนพมาศ สุนทรเจริญนนท์. 2543.
คุณภาพวัตถุดิบขมิ้นชันจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย. ใน รายงานการสัมมนาเรื่อง
แนวทางการพัฒนาสมุนไพรของประเทศไทย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
บริษัท เฟื่องฟ้า พรินติ้ง จำกัด, กรุงเทพฯ.

สุพร นุชดำรง. 2549. อนุมูลอิสระ: คุณและโทษต่อมนุษย์. **วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัย
ขอนแก่น** 34(2): 97-102.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2543. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

_____. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ ปฏิบัติการอาร์เอฟดีและเอฟแอลพี. พิมพ์ครั้งที่
ที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- หทัยรัตน์ โชคทวีพาณิชย์. 2545. **การจัดกลุ่มพืชสกุลขมิ้น (วงศ์ขิง) โดยใช้ลักษณะทางลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรูปแบบไอโซไซม์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- องอาจ หาญชัยเลิศ และฉลองชัย แบบประเสริฐ. 2536. **ผลของหัวพันธุ์และระยะปลูกต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของขมิ้นชัน**. การสัมมนาผลการดำเนินงาน โครงการวิจัย KIP ประจำปี 2536. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- องอาจ หาญชัยเลิศ, ฉลองชัย แบบประเสริฐ และยิ่งยง ไพสุขสานต์วัฒนา. 2539. **การศึกษาต้นทุนและผลผลิตสดของขมิ้นชัน**. รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อมรา คัมภีรานนท์. 2542. **พันธุศาสตร์มนุษย์**. เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น, กรุงเทพฯ.
- อรพินท์ เทพเสน. 2543. **การระบุและจัดหมวดหมู่พืชสกุลขมิ้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเรณูวิทยาและเซลล์วิทยา**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อภิลักษณ์ มุสิกอินทร์. 2549. **การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันสายพันธุ์ดูราโดยใช้เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อภิวัฏ ธวัชสิน อุชาวดี ถาวรระ และเย็นจิตร เตชะดำรงสิน. 2544. **ขมิ้นชัน: ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดยุง**. งานมอบรางวัลคุณภาพสมุนไพรไทย ประจำปี 2544 และการประชุมวิชาการ ขมิ้นชัน. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์ (รสพ.), กรุงเทพฯ.
- อุดมลักษณ์ อุณจิตต์วรรณะ. 2534. **น้ำมันหอมระเหยจากพืชใช้เป็นวัตถุมีพิษ**. ข่าวสารวัตถุมีพิษ 18(3): 125-128.
- อุไรวรรณ อรัญวาสน์. 2540. **การวิเคราะห์พันธุกรรมของพืชกลุ่มกระเจียวโดยเทคนิค Random amplified polymorphic DNA**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- Ammom, H.P.T., H. Safayhi, T. Mack and J. Sabieraj. 1993. Mechanism of antiinflammatory actions of curcumin and boswellic acids. **J. Ethnopharm.** 38: 113-119.
- Apavatjirut, P., S. Anuntalabhochai, P. Sirirugsa and C. Alisa. 1999. Molecular markers in the identification of some early flowering *Curcuma* L. (Zingiberaceae) species. **Annals of Botany** 84: 529-534.
- Atal, C.K. and B.M. Kapur 1989. **Cultivation and Utilization of Aromatic Plants.** Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.
- Bainiam, N. 1985. **Effect of Potassium and Phosphorus on the Yield and Anti-infection Constituents of the Volatile oil of Curcuma Rhizome (*Curcuma longa* Linn., Family Zingiberaceae) and the Total Content and Ratio of the Curcuminoid Compounds.** Thesis Graduate School, Chaing Mai University.
- Baker, J.G. 1984. *Curcuma* Linn., pp. 209-216. In J.D. Hooker(ed.). **Flora of British India.** Vol. VI. L. Reeve. Co., Ltd., India.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. **Nature** 181: 1199-1200.
- Bowcock, A.M., A. Ruiz-Linares, J. Timföhrde, E. Minch, J.R. Kidd and L.L. Cavalli-Sforza. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. **Nature** 368: 455-7.
- Brierley, J. 1994. **Spices-The Story of Indonesia's Spice Trade.** Oxford University Press, Oxford.
- Burgher, K.L., A.R. Jamveson and X. Lu. 2002. Genetic relationship among lowbush blueberry genotype as determined by random amplified polymorphic DNA analysis. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 127(3): 98-103.

- Burkill, I.H. 1966. **A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula. Vol 1.** Ministry of Agriculture and Co-Operatives, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Chandra, R., A.R. Desai, S. Govind and P.N. Gupta. 1998. Metroglyph analysis in turmeric (*Curcuma longa* L.) germplasm in India. **Sci Hort.** 70: 221-222.
- Chavalittumrong, P. and T. Dechatiwongse. 1988. Quality evaluation of Turmeric. **Thai J. Pharm. Sci.** 13(3): 317-327.
- Chavalittumrong, P. and W. Jirawattanapong. 1992. Variation of active constituents of *Curcuma domestica* rhizomes at different ages. **Thai J. Pharm. Sci.** 16(2): 165-174.
- Chirangini, P., G.J. Sharma and S.K. Sinha. 2004. Sulfur free radical activity with curcumin as reference for evaluating antioxidant propoties of medicinal Zingiberales. **J. Env. Patho. Tox. Onco.** 23(3): 227-236.
- Dice, L. R. 1945. Measurement of the amount of ecological association between species. **Ecology** 26: 295–302.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** 12(1): 13-15.
- Govindarajan, V. 1980. **Turmeric-chemistry, Technology and Quality.** CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition. CRC Press. Inc, Boca Raton.
- Gujral, M.L., N.K. Chowdhury and P.N. Saxena. 1953. Effect of indigenous remedies on the healing of wounds and ulcers. **JIMA.** 22(7): 273-276.
- Islam, M.A., A. Meister, V. Schubert, K. Kloppstech and E. Esch. 2007. Genetic diversity and cytogenetic analyses in *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe from Bangladesh. **Genet. Resour. Crop Evol.** 54(1): 149-156.

- Kapoor, S. and K.I. Priyadarsini. 2001. Protection of radiation induced protein damage by curcumin. **Biophysical Chemistry** 92: 119-126.
- Marsh, W.M. and J.M. Jr. Grossa. 1996. **Environmental geography science, land use and earth systems**. John Wiley and Sons Inc., Canada.
- Masuda, T., A. Jitoe and J. Isobe. 1993. Anti-oxidative and anti-inflammatory curcumin-related phenolics from rhizomes of *Curcuma domestica*. **Phytochemistry** 32: 1557-1560.
- Masuda, T., K. Kidaka, A. Shinihara, T. Mackawa, Y. Takeda and H. Yamaguchi. 1999. Chemical studies on antioxidant mechanism of curcuminoid : Analysis of radical reaction products from curcumin. **J. Agric. Food Chem.** 47(1): 71-77.
- Misra, SK. and KC. Sahu. 1977. Screening of some indigenous plants for antifungal activity against dermatophytes. **Ind. J. Pharmacol.** 9(4): 269-272.
- Nayak, S., P. Naik, L. Acharya and A. Pattnaik. 2006. Detection and evaluation of genetic variation in 17 promising cultivars of turmeric (*Curcuma longa* L.) using 4C nuclear DNA content and RAPD markers. **Cytologia** 71(1): 49–55.
- Ott, J. 1991. **Analysis of Human Genetic Linkage**. John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Paisooksantivatana Y., S. Kako and H. Seko. 2001. Genetic diversity of *Curcuma alismatifolia* Gagnep. (Zingiberaceae) in Thailand as revealed by allozyme polymorphism. **Genet. Resour. Crop Evol.** 48: 459–465.
- Permpiphat, U., N. Kieatyingsulee, K. Anulakanapakorn, W. Jirajariyavech, S. Kittisiripornkul and A. Chuthaputthi. 1990. **Pharmacological study of *Curcuma longa***. Symposium of the Department of Medicinal Science, Bangkok Thailand.

- Polasa, K., T.C. Raghuram and T.P. Krishna. 1991. Turmeric (*Curcuma longa* L.) induced reduction in urinary mutagens. **Food Chem. Toxic.** 29(10): 699-706.
- Pothitirat, W. and W. Gritsanapan. 2006. Variation of bioactive components in *Curcuma longa* in Thailand. **Current Science** 9(10): 1397-1400.
- Rafatullah, S., M. Tariq, A.M. Ageel, J.S. Mossa and M.S. Al-Yahya. 1992. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa* L.) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. **J. Ethno-Pharmacol.** 29: 25-34.
- Ramsewak, R.S., D.L DeWitt and M.G. Nair. 2000. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumin I-III from *Curcuma longa*. **Phytomedicine** 7(4): 303-308.
- Rao, M. and V. Reddy. 1977. Effect of different levels of nitrogen, phosphorus and potassium on the yield of Turmeric (*Curcuma longa* L.). **J. Plantation Crops** 5(1): 60.
- Rose, M.S.F. and K.K. Brain 1977. **An Introduction to Phytopharmacy**. Pithman Medical Publishing Co. Ltd. London.
- Ruby, A.J., G. Kuttan and B.K. Dinesh. 1995. Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoid. **Cancer Letters** 94: 79-83.
- Rumbaoa, R., D. Cornago and I. Geronimo. 2009. Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine sweet potato (*Ipomoea batatas*) varieties. **Food Chemistry** 113: 1133-1138.
- Rupe, H., G. Clar., A. Pfau and P.I. Plattner. 1934. Volatile plant constituents II. Turmerone, the aromatic principle of turmeric oil (in German). **Helv. Chim. Acta.** : 372-389.
- Schumann, K. 1904. Zingiberaceae. In A. Engler, (ed.). **Pflanzenreich IV**. 46 Berlin, German.

- Selvam, R., L. Subramanian, R. Gayahtri and N. Angayarkanni. 1995. The anti-oxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.). **J. Ethnopharm.** 47(2): 59-67.
- Shamina, A., T.J. Zachariah, B. Sasikumar and K.G. Johnson. 1998. Biochemical variation in turmeric (*C. longa*) accessions based on isozyme polymorphism. **J. Hort Sci. Biotech.** 73: 479 – 483.
- Sharm, O.P. 1976. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. **Biochem. Pharmacol.** 25: 1811-1812.
- Shivashankar, S., Y. Lewis, C. Natarajan, N. Krishnamurthy, G. Mathew and E. Nambudiri. 1976. Oil and oleoresin of turmeric. Tropical Science. **Central Food Technological Research Institute. India** 18: 37-45.
- Soudamini, K.K. 1989. Inhibition of chemical carcinogenesis by curcumin. **J. Ethnopharmacol.** 27: 227-233.
- Staub, J.E., F.C. Serquen and M. Gupta. 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. **Hort. Sci.** 31: 729–741.
- Su, M., Y. Shyu and P. Chien. 2006. Antioxidant activities of citrus herbal extracts. **Food Chemistry** 111(4): 892-896.
- Syamkumar, S., B. Lowarence and B. Sasikumar. 2003. Isolation and amplification of DNA from rhizomes of turmeric and ginger. **Plant Molecular Biology Reporter** 21: 171a-171e.
- Syamkumar, S. and B. Sasikumar. 2007. Molecular marker based genetic diversity analysis of *Curcuma* species from India. **Sci. Hort.** 112: 235-241.

- Tang, W. and G. Eisenbrand. 1992. **Chinese Drugs of Plant Origin**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Thai Herbal Pharmacopoeia. 1995. Vol. 1. **Khamin Chan**. Bangkok, Prachachon.
- Thaipong, K., U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos and D. Hawkins. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis** 19: 669-675.
- Toda, S., T. Miyase, H. Arichi, H. Tanizawa and Y. Takin. 1985. Natural antioxidants III : antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L. **Chem. Phram. Bull.** 33(4): 1725-1728.
- Ungphaiboon, S., T. Supavita, P. Singchangchai, S. Sungkarak, P. Rattanasuwan and A. Itharat. 2005. Study on antioxidant and antimicrobial activities of turmeric clear liquid soap for wound treatment of HIV patients. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 27(2): 569-578.
- Valeton, T.H. 1918. New notes on the Zingiberaceae of Java and Malaya. **Bull. Jard. Bot. Buitenzorg Ser. 2**: 1-81.
- Viera, R.F., P. Goldsbrogh and J.E. Simon. 2003. Genetic diversity of basil (*Ocimum* spp.) based on RAPD markers. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 128(1): 94-99.
- Wan, J.S., C.S. Chien and J.D. Ming. 1998. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*. **Journal of Natural Product** 61: 1531-1534.
- William, J.G.K., A.R. Kuberlik, K.I. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucl. Acid. R.** 18: 6231-6235.

Wongvarodom, S. 2004. **Effect of Growth States and Storage Conditions on the Content of Active Constituents and Biological Activities of Turmeric and Zedoary Rhizomes.**

M.S. Thesis, Prince of Songkla University.

Zaeoung, S., A. Plubrukarn and N. Keawpradub. 2005. Cytotoxic and free radical scavenging activities of Zingiberaceous rhizomes. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 27(4): 799-812.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ค่า Similarity Index โดยอาศัยข้อมูลจากเทคนิค RAPD ของตัวอย่างขมิ้นชัน
จำนวน 64 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	S1	W1	S2	S3	N1	S4	S5	N2	S6	NE1	Laos	C1
S1	1.000											
W1	0.892	1.000										
S2	0.901	0.939	1.000									
S3	0.908	0.901	0.901	1.000								
N1	0.773	0.814	0.797	0.814	1.000							
S4	0.777	0.722	0.763	0.744	0.660	1.000						
S5	0.918	0.912	0.920	0.909	0.804	0.771	1.000					
N2	0.747	0.812	0.812	0.771	0.868	0.673	0.802	1.000				
S6	0.868	0.846	0.846	0.895	0.827	0.730	0.879	0.792	1.000			
NE1	0.730	0.763	0.763	0.780	0.895	0.654	0.769	0.883	0.818	1.000		
Laos	0.702	0.766	0.776	0.731	0.765	0.689	0.726	0.747	0.727	0.739	1.000	
C1	0.804	0.818	0.827	0.800	0.728	0.744	0.807	0.754	0.814	0.721	0.787	1.000
S7	0.804	0.828	0.800	0.855	0.798	0.641	0.836	0.735	0.842	0.735	0.716	0.783
NE2	0.871	0.837	0.856	0.836	0.787	0.782	0.845	0.740	0.822	0.694	0.722	0.820
C2	0.860	0.863	0.846	0.888	0.817	0.715	0.871	0.782	0.867	0.766	0.714	0.804
S8	0.812	0.798	0.817	0.808	0.758	0.736	0.816	0.703	0.785	0.685	0.691	0.800
S9	0.727	0.751	0.760	0.736	0.750	0.631	0.740	0.774	0.807	0.735	0.718	0.718
S10	0.727	0.725	0.734	0.744	0.750	0.626	0.723	0.758	0.809	0.743	0.707	0.708
S11	0.747	0.753	0.762	0.763	0.769	0.650	0.742	0.769	0.819	0.753	0.710	0.728
S12	0.746	0.744	0.763	0.736	0.725	0.674	0.742	0.708	0.769	0.673	0.746	0.717
C3	0.793	0.815	0.815	0.831	0.781	0.641	0.830	0.780	0.859	0.757	0.716	0.750
S13	0.701	0.719	0.710	0.676	0.709	0.656	0.707	0.719	0.744	0.684	0.680	0.748
S14	0.741	0.731	0.765	0.765	0.780	0.618	0.763	0.779	0.787	0.756	0.688	0.740
NE3	0.814	0.826	0.818	0.850	0.776	0.644	0.833	0.775	0.863	0.768	0.719	0.753
C4	0.828	0.824	0.824	0.840	0.780	0.667	0.839	0.779	0.844	0.772	0.705	0.766
C5	0.774	0.761	0.781	0.762	0.673	0.737	0.798	0.667	0.749	0.657	0.660	0.802
S15	0.737	0.763	0.754	0.709	0.716	0.707	0.751	0.717	0.742	0.682	0.726	0.764
C6	0.711	0.710	0.720	0.712	0.670	0.663	0.727	0.626	0.670	0.625	0.645	0.721
S16	0.699	0.689	0.708	0.719	0.716	0.562	0.695	0.682	0.716	0.673	0.647	0.699
C7	0.818	0.788	0.797	0.831	0.777	0.656	0.813	0.726	0.828	0.718	0.698	0.789
S17	0.683	0.701	0.692	0.713	0.701	0.588	0.689	0.658	0.747	0.658	0.680	0.683
S18	0.730	0.702	0.737	0.747	0.753	0.639	0.735	0.745	0.769	0.720	0.682	0.720
NE4	0.708	0.746	0.746	0.718	0.686	0.719	0.744	0.660	0.676	0.660	0.652	0.727
W2	0.769	0.776	0.776	0.767	0.710	0.733	0.783	0.676	0.736	0.685	0.680	0.758
S19	0.790	0.795	0.795	0.803	0.760	0.732	0.802	0.784	0.776	0.769	0.702	0.712
Out	0.753	0.751	0.760	0.778	0.750	0.646	0.740	0.733	0.749	0.734	0.679	0.681

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่าง	S1	W1	S2	S3	N1	S4	S5	N2	S6	NE1	Laos	C1
S20	0.752	0.785	0.785	0.785	0.740	0.647	0.765	0.749	0.790	0.725	0.679	0.690
NE5	0.709	0.716	0.707	0.709	0.750	0.595	0.696	0.717	0.706	0.709	0.661	0.655
S21	0.710	0.762	0.753	0.702	0.708	0.677	0.733	0.752	0.751	0.693	0.718	0.682
S22	0.743	0.750	0.767	0.743	0.749	0.636	0.739	0.741	0.782	0.717	0.697	0.725
NE6	0.792	0.797	0.789	0.813	0.771	0.642	0.812	0.809	0.818	0.780	0.690	0.733
NE7	0.759	0.748	0.748	0.774	0.805	0.657	0.763	0.763	0.803	0.781	0.679	0.706
S23	0.821	0.789	0.780	0.789	0.715	0.717	0.787	0.725	0.768	0.708	0.696	0.735
S24	0.834	0.812	0.830	0.795	0.724	0.677	0.837	0.758	0.792	0.717	0.698	0.761
NE8	0.713	0.712	0.739	0.723	0.756	0.638	0.736	0.755	0.719	0.730	0.702	0.703
NE9	0.817	0.795	0.804	0.804	0.748	0.670	0.802	0.722	0.782	0.723	0.663	0.713
S25	0.734	0.777	0.768	0.734	0.758	0.642	0.730	0.732	0.774	0.724	0.705	0.742
S26	0.734	0.766	0.783	0.758	0.731	0.647	0.747	0.772	0.797	0.724	0.697	0.733
NE10	0.729	0.736	0.736	0.763	0.744	0.660	0.751	0.736	0.776	0.736	0.664	0.675
NE11	0.802	0.790	0.798	0.815	0.754	0.663	0.805	0.754	0.787	0.730	0.667	0.722
N3	0.755	0.734	0.752	0.735	0.733	0.707	0.778	0.742	0.750	0.743	0.667	0.698
N4	0.727	0.769	0.769	0.744	0.741	0.646	0.749	0.742	0.792	0.717	0.688	0.717
N5	0.829	0.833	0.833	0.824	0.779	0.701	0.823	0.753	0.821	0.729	0.720	0.782
N6	0.746	0.744	0.754	0.736	0.716	0.718	0.732	0.717	0.760	0.691	0.707	0.745
NE12	0.753	0.731	0.740	0.751	0.739	0.667	0.748	0.676	0.766	0.694	0.711	0.742
NE13	0.726	0.725	0.725	0.735	0.742	0.641	0.732	0.699	0.750	0.708	0.618	0.679
NE14	0.804	0.763	0.772	0.809	0.725	0.652	0.789	0.690	0.760	0.691	0.657	0.745
NE15	0.697	0.696	0.686	0.679	0.724	0.671	0.712	0.688	0.704	0.670	0.653	0.686
N7	0.735	0.724	0.706	0.752	0.768	0.685	0.749	0.733	0.775	0.725	0.638	0.706
N8	0.764	0.779	0.762	0.788	0.769	0.640	0.777	0.760	0.810	0.745	0.691	0.728
S27	0.730	0.747	0.747	0.730	0.718	0.634	0.726	0.711	0.735	0.676	0.700	0.710
S28	0.785	0.791	0.791	0.809	0.735	0.667	0.798	0.727	0.770	0.684	0.680	0.747
S29	0.785	0.782	0.773	0.800	0.727	0.667	0.780	0.710	0.788	0.693	0.680	0.728
W3	0.733	0.749	0.758	0.759	0.748	0.643	0.756	0.773	0.747	0.732	0.685	0.732

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่าง	S7	NE2	C2	S8	S9	S10	S11	S12	C3	S13	S14	NE3
S7	1.000											
NE2	0.841	1.000										
C2	0.897	0.899	1.000									
S8	0.810	0.862	0.831	1.000								
S9	0.732	0.728	0.763	0.719	1.000							
S10	0.713	0.708	0.728	0.689	0.899	1.000						
S11	0.725	0.730	0.757	0.720	0.900	0.957	1.000					
S12	0.743	0.739	0.729	0.759	0.830	0.861	0.853	1.000				
C3	0.809	0.762	0.826	0.789	0.841	0.820	0.837	0.791	1.000			
S13	0.696	0.701	0.704	0.701	0.797	0.789	0.764	0.824	0.716	1.000		
S14	0.729	0.725	0.768	0.725	0.810	0.803	0.805	0.773	0.822	0.758	1.000	
NE3	0.812	0.775	0.838	0.784	0.821	0.815	0.825	0.777	0.942	0.710	0.825	1.000
C4	0.809	0.780	0.844	0.798	0.802	0.787	0.805	0.764	0.901	0.696	0.790	0.929
C5	0.760	0.789	0.765	0.832	0.636	0.612	0.644	0.656	0.691	0.660	0.642	0.712
S15	0.683	0.728	0.720	0.749	0.759	0.741	0.771	0.802	0.739	0.784	0.738	0.734
C6	0.727	0.733	0.714	0.778	0.584	0.587	0.601	0.642	0.651	0.667	0.619	0.654
S16	0.724	0.677	0.720	0.729	0.724	0.761	0.754	0.774	0.723	0.697	0.784	0.735
C7	0.836	0.835	0.871	0.816	0.757	0.767	0.760	0.732	0.855	0.698	0.797	0.858
S17	0.737	0.681	0.724	0.691	0.800	0.830	0.832	0.808	0.752	0.740	0.724	0.738
S18	0.679	0.692	0.740	0.712	0.768	0.769	0.771	0.744	0.757	0.719	0.807	0.752
NE4	0.681	0.718	0.710	0.729	0.610	0.604	0.628	0.617	0.648	0.621	0.635	0.661
W2	0.736	0.742	0.751	0.784	0.682	0.661	0.682	0.677	0.725	0.680	0.696	0.737
S19	0.717	0.758	0.790	0.749	0.758	0.733	0.736	0.708	0.780	0.711	0.739	0.791
Out	0.704	0.699	0.737	0.727	0.723	0.722	0.750	0.732	0.762	S13	0.720	0.749
S20	0.722	0.698	0.762	0.689	0.830	0.867	0.868	0.785	0.794	0.679	0.793	0.797
NE5	0.639	0.660	0.675	0.679	0.698	0.739	0.724	0.713	0.721	0.724	0.728	0.741
S21	0.638	0.690	0.712	0.660	0.810	0.804	0.797	0.771	0.748	0.679	0.747	0.751
S22	0.703	0.717	0.736	0.698	0.855	0.884	0.885	0.813	0.802	0.755	0.826	0.805
NE6	0.755	0.735	0.808	0.761	0.792	0.769	0.779	0.730	0.874	0.760	0.797	0.877
NE7	0.711	0.725	0.743	0.734	0.761	0.762	0.764	0.756	0.806	0.732	0.798	0.802
S23	0.732	0.788	0.802	0.798	0.723	0.694	0.715	0.751	0.790	0.714	0.719	0.793
S24	0.759	0.813	0.816	0.794	0.765	0.722	0.741	0.750	0.836	0.705	0.753	0.823
NE8	0.660	0.693	0.706	0.703	0.727	0.753	0.764	0.737	0.743	0.697	0.741	0.712
NE9	0.767	0.814	0.807	0.774	0.728	0.718	0.721	0.738	0.778	0.683	0.725	0.807
S25	0.711	0.745	0.744	0.686	0.798	0.791	0.811	0.777	0.762	0.692	0.735	0.773
S26	0.712	0.735	0.744	0.688	0.853	0.864	0.866	0.793	0.808	0.770	0.792	0.795
NE10	0.679	0.701	0.713	0.692	0.742	0.733	0.744	0.697	0.764	0.759	0.747	0.759
NE11	0.782	0.770	0.819	0.742	0.744	0.735	0.754	0.718	0.831	0.682	0.749	0.842

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่าง	S7	NE2	C2	S8	S9	S10	S11	S12	C3	S13	S14	NE3
N3	0.712	0.737	0.747	0.727	0.714	0.712	0.724	0.712	0.747	0.676	0.702	0.759
N4	0.713	0.708	0.746	0.699	0.849	0.817	0.828	0.778	0.812	0.696	0.770	0.807
N5	0.791	0.808	0.811	0.789	0.760	0.760	0.762	0.763	0.823	0.780	0.798	0.835
N6	0.713	0.749	0.738	0.728	0.786	0.796	0.789	0.802	0.748	0.737	0.720	0.751
NE12	0.749	0.734	0.744	0.745	0.701	0.727	0.730	0.780	0.727	S13	0.734	0.739
NE13	0.693	0.707	0.728	0.707	0.678	0.712	0.733	0.712	0.738	0.775	0.728	0.741
NE14	0.792	0.810	0.813	0.780	0.696	0.685	0.706	0.703	0.774	0.731	0.720	0.786
NE15	0.660	0.706	0.709	0.717	0.648	0.664	0.676	0.691	0.694	0.667	0.664	0.697
N7	0.721	0.736	0.764	0.726	0.696	0.721	0.723	0.721	0.737	0.696	0.719	0.740
N8	0.762	0.730	0.791	0.711	0.783	0.793	0.821	0.789	0.837	0.694	0.797	0.825
S27	0.686	0.741	0.732	0.721	0.823	0.844	0.855	0.824	0.776	0.714	0.767	0.762
S28	0.763	0.810	0.785	0.820	0.760	0.715	0.735	0.734	0.826	0.736	0.748	0.821
S29	0.763	0.800	0.795	0.760	0.769	0.715	0.727	0.725	0.817	0.767	0.757	0.821
W3	0.720	0.734	0.770	0.705	0.771	0.763	0.774	0.738	0.769	0.670	0.802	0.772
	C4	C5	S15	C6	S16	C7	S17	S18	NE4	W2	S19	Out
C4	1.000											
C5	0.735	1.000										
S15	0.747	0.729	1.000									
C6	0.657	0.814	0.706	1.000								
S16	0.721	0.646	0.704	0.674	1.000							
C7	0.873	0.709	0.723	0.697	0.762	1.000						
S17	0.724	0.596	0.748	0.634	0.769	0.737	1.000					
S18	0.773	0.673	0.735	0.620	0.793	0.735	0.720	1.000				
NE4	0.692	0.787	0.670	0.694	0.595	0.653	0.522	0.647	1.000			
W2	0.750	0.817	0.697	0.731	0.647	0.698	0.589	0.720	0.888	1.000		
S19	0.787	0.704	0.726	0.673	0.637	0.734	0.658	0.745	0.745	0.809	1.000	
Out	0.778	0.699	0.694	0.647	0.648	0.705	0.689	0.760	0.693	0.744	0.775	1.000
S20	0.777	0.660	0.740	0.618	0.722	0.722	0.781	0.776	0.654	0.716	0.765	0.773
NE5	0.753	0.602	0.676	0.607	0.685	0.687	0.660	0.734	0.634	0.679	0.758	0.757
S21	0.747	0.650	0.810	0.605	0.696	0.661	0.738	0.762	0.663	0.670	0.735	0.723
S22	0.777	0.660	0.749	0.608	0.778	0.757	0.791	0.828	0.624	0.688	0.724	0.764
NE6	0.852	0.691	0.721	0.651	0.704	0.812	0.681	0.781	0.658	0.750	0.825	0.761
NE7	0.798	0.670	0.756	0.648	0.703	0.754	0.697	0.756	0.664	0.714	0.763	0.803
S23	0.798	0.697	0.742	0.663	0.654	0.787	0.687	0.706	0.670	0.726	0.777	0.785
S24	0.837	0.728	0.713	0.677	0.676	0.802	0.679	0.734	0.654	0.735	0.800	0.748

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่าง	C4	C5	S15	C6	S16	C7	S17	S18	NE4	W2	S19	Out
NE8	0.716	0.653	0.746	0.650	0.689	0.700	0.712	0.739	0.656	0.673	0.747	0.744
NE9	0.830	0.735	0.748	0.723	0.690	0.811	0.703	0.685	0.688	0.732	0.791	0.746
S25	0.778	0.667	0.796	0.633	0.692	0.775	0.773	0.723	0.670	0.667	0.706	0.693
S26	0.792	0.670	0.775	0.599	0.712	0.747	0.789	0.757	0.644	0.679	0.740	0.720
NE10	0.764	0.664	0.706	0.631	0.679	0.707	0.692	0.719	0.647	0.691	0.752	0.750
NE11	0.864	0.724	0.736	0.702	0.691	0.823	0.713	0.738	0.709	0.776	0.820	0.761
N3	0.790	0.739	0.751	0.695	0.673	0.741	0.687	0.706	0.712	0.755	0.812	0.740
N4	0.795	0.670	0.796	0.627	0.676	0.740	0.783	0.742	0.634	0.688	0.733	0.713
N5	0.832	0.732	0.772	0.720	0.708	0.832	0.711	0.746	0.726	0.785	0.795	0.742
N6	0.756	0.688	0.782	0.652	0.683	0.714	0.758	0.726	0.660	0.736	0.761	0.750
NE12	0.762	0.703	0.749	0.678	0.729	0.709	0.723	0.789	0.674	0.742	0.722	0.737
NE13	0.763	0.667	0.742	0.642	0.703	0.704	0.697	0.716	0.660	0.706	0.725	0.749
NE14	0.800	0.729	0.713	0.717	0.704	0.817	0.687	0.698	0.670	0.736	0.743	0.732
NE15	0.710	0.696	0.732	0.648	0.660	0.673	0.642	0.705	0.656	0.684	0.716	0.692
N7	0.745	0.697	0.731	0.674	0.722	0.712	0.696	0.760	0.650	0.705	0.759	0.748
N8	0.813	0.664	0.762	0.640	0.754	0.769	0.776	0.805	0.628	0.710	0.760	0.741
S27	0.749	0.619	0.755	0.624	0.736	0.735	0.830	0.737	0.590	0.631	0.737	0.697
S28	0.817	0.711	0.696	0.688	0.706	0.807	0.700	0.709	0.663	0.718	0.788	0.733
S29	0.800	0.660	0.705	0.635	0.657	0.817	0.680	0.700	0.632	0.680	0.779	0.670
W3	0.802	0.647	0.757	0.663	0.749	0.773	0.724	0.802	0.610	0.657	0.756	0.728

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่าง	S20	NE5	S21	S22	NE6	NE7	S23	S24	NE8	NE9	S25	S26
S20	1.000											
NE5	0.755	1.000										
S21	0.819	0.750	1.000									
S22	0.898	0.755	0.828	1.000								
NE6	0.768	0.769	0.722	0.784	1.000							
NE7	0.760	0.862	0.764	0.785	0.820	1.000						
S23	0.721	0.722	0.704	0.730	0.822	0.781	1.000					
S24	0.704	0.748	0.714	0.738	0.883	0.778	0.868	1.000				
NE8	0.743	0.771	0.756	0.761	0.742	0.810	0.708	0.753	1.000			
NE9	0.727	0.718	0.720	0.709	0.7848	0.812	0.794	0.818	0.732	1.000		
S25	0.790	0.684	0.776	0.816	0.7355	0.7607	0.729	0.729	0.752	0.791	1.000	
S26	0.854	0.712	0.800	0.854	0.775	0.759	0.702	0.737	0.751	0.743	0.875	1.000
NE10	0.775	0.810	0.752	0.749	0.747	0.880	0.733	0.707	0.800	0.766	0.740	0.807
NE11	0.802	0.727	0.711	0.751	0.829	0.790	0.780	0.803	0.731	0.875	0.786	0.775
N3	0.757	0.703	0.742	0.739	0.754	0.772	0.750	0.767	0.745	0.861	0.738	0.729
N4	0.841	0.704	0.839	0.841	0.753	0.762	0.712	0.730	0.735	0.782	0.853	0.864
N5	0.767	0.734	0.762	0.785	0.805	0.807	0.789	0.821	0.748	0.868	0.813	0.775
N6	0.804	0.722	0.810	0.813	0.712	0.747	0.722	0.741	0.737	0.748	0.796	0.793
NE12	0.726	0.746	0.739	0.755	0.717	0.762	0.748	0.746	0.733	0.774	0.706	0.707
NE13	0.766	0.804	0.742	0.739	0.737	0.798	0.721	0.712	0.783	0.766	0.748	0.773
NE14	0.703	0.694	0.676	0.722	0.773	0.756	0.781	0.815	0.699	0.845	0.720	0.685
NE15	0.701	0.779	0.733	0.711	0.711	0.783	0.690	0.721	0.736	0.727	0.680	0.682
N7	0.764	0.802	0.759	0.764	0.745	0.805	0.711	0.712	0.735	0.745	0.719	0.754
N8	0.800	0.741	0.779	0.826	0.811	0.805	0.769	0.776	0.738	0.766	0.802	0.824
S27	0.778	0.734	0.783	0.805	0.740	0.731	0.705	0.734	0.758	0.731	0.770	0.813
S28	0.688	0.715	0.688	0.714	0.798	0.757	0.762	0.824	0.738	0.806	0.713	0.740
S29	0.670	0.652	0.698	0.705	0.773	0.722	0.762	0.805	0.701	0.796	0.759	0.749
W3	0.762	0.763	0.757	0.788	0.792	0.785	0.728	0.781	0.769	0.798	0.789	0.803

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ตัวอย่าง	NE10	NE11	N3	N4	N5	N6	NE12	NE13	NE14	NE15	N7	N8
NE10	1.000											
NE11	0.771	1.000										
N3	0.751	0.870	1.000									
N4	0.759	0.795	0.776	1.000								
N5	0.753	0.876	0.835	0.812	1.000							
N6	0.725	0.755	0.790	0.833	0.809	1.000						
NE12	0.730	0.742	0.758	0.737	0.779	0.800	1.000					
NE13	0.842	0.771	0.769	0.740	0.762	0.761	0.768	1.000				
NE14	0.706	0.827	0.790	0.722	0.819	0.753	0.739	0.732	1.000			
NE15	0.781	0.726	0.792	0.721	0.734	0.742	0.770	0.822	0.742	1.000		
N7	0.821	0.761	0.777	0.766	0.751	0.789	0.786	0.844	0.731	0.890	1.000	
N8	0.769	0.822	0.778	0.828	0.814	0.798	0.796	0.787	0.752	0.752	0.813	1.000
S27	0.700	0.712	0.725	0.789	0.747	0.775	0.701	0.696	0.706	0.704	0.705	0.800
S28	0.744	0.782	0.752	0.742	0.800	0.734	0.740	0.714	0.754	0.714	0.723	0.780
S29	0.700	0.782	0.752	0.769	0.818	0.725	0.700	0.667	0.754	0.683	0.685	0.789
W3	0.791	0.785	0.747	0.7895	0.793	0.738	0.763	0.756	0.766	0.728	0.755	0.800
	S27	S28	S29	W3								
S27	1.000											
S28	0.833	1.000										
S29	0.794	0.877	1.000									
W3	0.796	0.795	0.767	1.000								



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มย่อยที่ 1 จาก phylogenetic tree
จำนวน 27 ตัวอย่าง



ภาพผนวกที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มย่อยที่ 2 จาก phylogenetic tree
จำนวน 21 ตัวอย่าง



ภาพผนวกที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 2 จาก phylogenetic tree
จำนวน 8 ตัวอย่าง



ภาพผนวกที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 3 จาก phylogenetic tree
จำนวน 1 ตัวอย่าง จากเวียงจันทน์ ประเทศลาว



ภาพผนวกที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 4 จาก phylogenetic tree
จำนวน 1 ตัวอย่าง จาก อ. เมือง จ. สงขลา



ภาพผนวกที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้าขมิ้นชันในกลุ่มที่ 5 จาก phylogenetic tree
จำนวน 6 ตัวอย่าง

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวรัชฎาพร ไทยเกิด
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 28 พฤศจิกายน 2525
สถานที่เกิด	สุราษฎร์ธานี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ทรัพยากรเกษตรชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-