



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชสวน

พืชสวน

สาขา

ภาควิชา

เรื่องฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสำคัญของพืชสกุลขมิ้นบางชนิดในประเทศไทย

Antioxidant Activity and Active Compounds of Some *Curcuma* Species in Thailand

นามผู้วิจัย นางสาวจุฑามาศ ส่องแสง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รongศาสตราจารย์อึ้งยง ไพสุขสานติวัฒนา, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์เบญญา มะโนชัย, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐ พิชกรรม, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รongศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Arg.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสำคัญของพืชสกุลขมิ้นบางชนิดในประเทศไทย

Antioxidant Activity and Active Compounds of Some *Curcuma* Species in Thailand

โดย

นางสาวจุฑามาศ ส่องแสง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จุฬามาศ ต่องแสง 2554:ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสำคัญของพืชสกุลขมิ้นบางชนิดในประเทศไทย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา, Ph.D. 63 หน้า

พืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) มีการนำไปใช้ประโยชน์เป็นอาหาร เครื่องเทศ และพืชสมุนไพรอย่างแพร่หลาย มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา แบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ต้านการอักเสบ เป็นต้น การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์รวม สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ทั้ง 3 ชนิดด้วยเครื่อง HPLC และปริมาณสารฟีนอลิกรวม ของพืชสกุลขมิ้น 9 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน (*C. longa* L.) ขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria* Roscoe) ว่านนางคำ (*C. aromatica* Salisb.) ว่านมหาเมฆ (*C. aeruginosa* Roxb.) ว่านชักมดลูก 1 (*Curcuma* 'Waanchakmodluk 1') ว่านชักมดลูก 2 (*Curcuma* 'Waanchakmodluk 2') ว่านห้าร้อยนาง (*Curcuma* 'Haroinang') ขมิ้นดำ (*Curcuma* 'Khamindum') และขมิ้นขาว (*C. mangga* Valetton&Zipp.) เพื่อคัดกรองศักยภาพในเบื้องต้น ทำการศึกษา ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน และ Department of Biological and Environmental Science, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Japan. พบว่า ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) อยู่ในช่วง 240 ± 20.00 ถึง 3.16 ± 0.27 mg/ml ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์รวม อยู่ในช่วง 0.012 ± 0.09 ถึง 13.164 ± 0.44 mg/g (DW) เมื่อวิเคราะห์สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ พบว่า ปริมาณ Curcumin, Demethoxycurcumin และ Bisdemethoxycurcumin อยู่ในช่วง 0.003 ถึง 87.551 ± 9.19 , 0.004 ถึง 20.229 ± 2.29 และ 0.004 ถึง 74.261 ± 6.87 mg/g ตามลำดับ และ ปริมาณสารฟีนอลิกรวม อยู่ในช่วง 6.71 ± 0.36 ถึง 58.62 ± 5.81 mg/g DW มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสำคัญที่ศึกษามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก จากผลการทดลองพบว่า ขมิ้นชัน (*C. longa*) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารเคอร์คิวมินอยด์ ปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับพืชสกุลขมิ้นชนิดอื่น

Jutamas Songsang 2011: Antioxidant Activity and Active Compounds of Some *Curcuma* Species in Thailand. Master of Science (Agriculture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture. Thesis Advisor: Associate Professor Yingyong Paisooksantivatana, Ph.D. 63 pages.

Several species of *Curcuma* have been widely used as food, spice, health supplement and traditional folk medicine in many countries of Asia, including Thailand. Pharmacologically, its extracts have been tested against bacteria and fungal, antioxidant, anticancer, and antiinflammation activity. In the present study, 9 species i.e. *C. longa* L., *C. zedoaria* Roscoe, *C. aromatica* Salisb., *C. aeruginosa* Roxb., *Curcuma* 'Waanchakmodluk 1', *Curcuma* 'Waanchakmodluk 2', *Curcuma* 'Haroinang', *Curcuma* 'Khamindum' and *C. mangga* Valetton&Zijp. were used for screening bioactivity and antioxidant activity. The experiments had been done at Laboratory of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Thailand and Department of Biological and Environmental Science, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Japan. The antioxidant activities of the extracts were assayed with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) compare to ascorbic acid. The IC_{50} values vary within the range of 3.16 ± 0.27 to 240 ± 20.00 mg/ml. The total curcuminoids content vary from 0.012 ± 0.09 to 13.164 ± 0.44 mg/g DW. The content of curcumin, bis-demethoxycurcumin and demethoxycurcumin analyzed by HPLC vary within range of 87.551 ± 5.31 to 0.003 ± 0.00 , 74.261 ± 6.87 to 0.004 ± 0.00 and 20.229 ± 2.29 to 0.004 ± 0.00 mg/g DW, respectively. The results suggested that the contents of three major curcuminoids in different herbs varied significantly. Furthermore the total phenolic content was found in the range of 6.71 ± 0.36 to 58.62 ± 5.81 (mg/g DW). *C. longa* has the highest contents of curcuminoids and natural antioxidants among other species studied in this work.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ยิ่งยง ไพสุขสานติวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก เป็นอย่างยิ่งที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำที่มีประโยชน์ ตรวจสอบแก้ไข
วิทยานิพนธ์เล่มนี้เป็นอย่างยิ่ง ตลอดจน การสนับสนุนในด้านต่าง ๆ จนงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี
ขอขอบพระคุณ อาจารย์เบญญา มะโนชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ทรงคุณวุฒิในการ
สอบ ศาสตราจารย์วัฒนา เสถียรสวัสดิ์ และประธานการสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐ พิษกรรม ที่
กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ รัฐบาลญี่ปุ่น Professor Naoki Yamauchi และ Professor Masayoshi Shigyo
มหาวิทยาลัย Yamaguchi เพื่อนๆ พี่ๆ คนไทย และต่างชาติทุกคนที่ให้การดูแล อนุเคราะห์สถานที่
เครื่องมือ คำปรึกษา การวิเคราะห์ข้อมูลด้าน HPLC และสารฟีนอลิก

ขอขอบคุณเพื่อนๆ สนิท KU 64 ทุกคนที่ช่วยเหลือทั้งแรงงาน และแรงใจแก่ผู้วิจัยจนงาน
เสร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ ในห้องปฏิบัติการกลางพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และกำลังใจในการทำงาน

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และพี่ชาย ที่คอยเป็นกำลังใจ และช่วยเหลือผู้วิจัยตลอด
มาจนวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดีตามความมุ่งหมาย

จุฬามาศ ส่องแสง

กันยายน 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	13
ผลและวิจารณ์	19
ผล	19
วิจารณ์	39
สรุป	45
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	46
ภาคผนวก	52
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	63

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) ของพืชสกุลขมิ้น (<i>Curcuma</i>) ที่วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	20
2	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของพืชสกุลขมิ้น (<i>Curcuma</i>) วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร	23
3	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ของพืชสกุลขมิ้น (<i>Curcuma</i>) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร	27
4	ค่าเฉลี่ยปริมาณฟีนอลิกรวมของพืชสกุลขมิ้น (<i>Curcuma</i>) วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร	35
5	ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ และสารฟีนอลิกรวม ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด	38
ตารางผนวกที่		
1	ปริมาตรของสารสกัด และปริมาตรของเอทานอลที่ใช้ในการเจือจางปริมาตร รวม 2 มิลลิลิตรในการทดลองหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	53

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำต้น และใบของพืชสกุลขมิ้น	5
2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของช่อดอก และดอกของพืชสกุลขมิ้น	5
3	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์	6
4	กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอล	7
5	กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล	8
6	กราฟมาตรฐานของวิตามินซี วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	21
7	กราฟมาตรฐานของสารเคอร์คิวมิน วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร	24
8	โครมาโตแกรมของสารละลายบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และเคอร์คิวมินมาตรฐาน วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร	28
9	โครมาโตแกรมของ ขมิ้นชัน (<i>Curcuma long L.</i>) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร	29
10	โครมาโตแกรมของ ขมิ้นอ้อย (<i>Curcuma zedoaria</i> Roscoe.) และว่านนางคำ (<i>Curcuma aromatica</i> Salisb.) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตรตามลำดับ วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร	30
11	โครมาโตแกรมของ ว่านมหาเมฆ (<i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.) และว่านห้าร้อยนาง (<i>Curcuma 'Haroinang'</i>) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 40 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร	31
12	โครมาโตแกรมของ ว่านชักมดลูก 1 (<i>Curcuma 'Waanchakmodluk 1'</i>) และว่านชักมดลูก 2 (<i>Curcuma 'Waanchakmodluk 2'</i>) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 40 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร	32
13	โครมาโตแกรมของ ขมิ้นดำ (<i>Curcuma 'Khamindum'</i>) และขมิ้นขาว (<i>Curcuma mangga</i> Valetton & Zijp.) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 40 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร	33

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	กราฟมาตรฐานของสาร Pyrocatechol วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร	36
ภาพผนวกที่		
1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นชัน (<i>Curcuma longa</i>)	54
2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นอ้อย (<i>Curcuma zedoaria</i>)	55
3	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ว่านนางคำ (<i>Curcuma aromatica</i> Salisb.)	56
4	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ว่านชักมดลูก 1 (<i>Curuma</i> 'Waanchakmodluk 1')	57
5	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ว่านชักมดลูก 2 (<i>Curuma</i> 'Waanchakmodluk 2')	58
6	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ว่านมหาเมฆ (<i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.)	59
7	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ว่านห้าร้อยนาง (<i>Curcuma</i> 'Haroinang')	60
8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นดำ (<i>Curcuma</i> 'Khamindum')	61
9	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นขาว (<i>Curcuma mangga</i> Valetton & Zijp.)	62

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

μg	=	microgram
DPPH	=	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DW	=	Dry weight
EC ₅₀	=	Half maximal effective concentration
<i>et al.</i>	=	et. alli (Latin), other
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography
IC ₅₀	=	The half maximal inhibitory concentration of sample required to scavenge 50% of DPPH radicals
i.e.	=	id est
ml	=	millilitre
Na ₂ CO ₃	=	Sodium carbonate
UV	=	Ultraviolet
w/w	=	weight by weight

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสำคัญของพืชสกุลขมิ้นบางชนิดในประเทศไทย

Antioxidant Activity and Active Compounds of Some *Curcuma* Species in Thailand

คำนำ

พืชสกุลขมิ้นมีถิ่นกำเนิดแถบอินโดจีน และมีการแพร่กระจายพันธุ์ในเขตอากาศร้อนชื้นของเอเชียถึงแอฟริกา และออสเตรเลีย (Sasikumar, 2005) สำหรับประเทศไทยมีกระจายอยู่ทั่วทุกภาคตั้งแต่ที่ความสูงระดับน้ำทะเลจนถึงความสูงประมาณ 1,000 เมตร พืชสกุลขมิ้นมีมากกว่า 130 ชนิดทั่วโลก พบในประเทศไทยประมาณ 50 ชนิด (พวงเพ็ญ, 2544) พืชสกุลขมิ้นเป็นที่รู้จักกันมาอย่างยาวนานสำหรับชาวไทย เช่น ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย ขมิ้นขาว ว่านชักมดลูก ว่านมหาเมฆ เป็นต้น ซึ่งจัดว่าเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์มาก นอกจากนี้ยังเป็นที่รู้จักกันดีในทางด้าน เครื่องเทศ และ ผักพื้นบ้าน เช่น มีการนำขมิ้นชันมาใช้เป็นส่วนประกอบของ การทำเครื่องแกงอาหารชนิดต่าง ๆ บริโภคเป็นผักรับประทานกับน้ำพริก ทำเครื่องเทศ แต่งกลิ่น

นอกจากนี้ยังใช้เป็นยารักษาโรค เป็นสีย้อมอาหาร และเครื่องสำอาง โดยใช้ส่วนเหง้าซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี น้ำมันหอมระเหย (curcuminoids, eugenol) มีสรรพคุณที่ปลอดภัยในเครื่องสำอาง เช่น สีย้อมสติก สีแต่งหน้า สีย้อมผม รักษาผิว สรรพคุณช่วยปรับสภาพผิว ป้องกันการเกิดริ้วรอยบนผิวหนัง พืชสกุลขมิ้นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย เช่น ขมิ้นชัน มีสรรพคุณในการใช้เป็นยาได้ดีมาก อาทิเช่น ใช้บรรเทาอาการอาหารไม่ย่อย รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ขับลม ลดการบีบตัวของลำไส้ ฆ่าเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย ด้านการอักเสบ ขับน้ำดี ด้านอนุมูลอิสระ ด้านการก่อกลายพันธุ์ และต้านมะเร็ง นอกจากนี้ ได้มีการนำพืชสกุลขมิ้นมาใช้ในด้านอื่น ๆ เช่น การนำขมิ้นชันไปใช้ในอุตสาหกรรมด้านอาหารสัตว์ (นพอร์และสาโรช, 2550)

นพอร์และสาโรช (2550) รายงานผลของการใช้ขมิ้นชันผงโดยศึกษาผลที่มีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตคุณภาพซาก และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรคในไก่ พบว่าการเสริมขมิ้นชันผงที่ระดับ curcuminoid 150 ppm ของอาหารมีอัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดชีวิตดีกว่ากลุ่มอื่นๆ

พืชสกุลขมิ้นถือว่าเป็นพืชที่สำคัญในทางด้านการใช้เป็นยา เช่น สามารถใช้ในก ารด้านการ อักเสบ ฤทธิ์ต้านโรคหิวาตโรค ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ไวรัส จุลินทรีย์ สามารถใช้เป็นยากำจัดแมลง ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน และป้องกันการเกิดโรคมะเร็งได้ นอกจากนี้ยังมีการนำ น้ำมันหอม ระเหยของขมิ้นชัน มาใช้ในทางบำบัดโดยใช้กลิ่นเพื่อช่วยให้รู้สึกผ่อนคลาย มี การจดบันทึกไว้ว่า ชาวอินเดียแดง และชาวจีนมีการใช้ขมิ้นเป็นยารักษาโรคมายาวช้านาน (Sasikumar, 2005) ซึ่ง ขมิ้นชัน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีโดยมีค่าความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50}) เป็น 9.7 $\mu\text{g/ml}$ (Zaeoung *et al.*, 2005) นักวิจัยไทยได้ทดลองทางคลินิก และรับรองผลโดยองค์การอนามัย โลกให้ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการบรรเทาอาการอาหารไม่ย่อย และรักษาแผลใน กระเพาะอาหาร คณะกรรมการแห่งชาติด้านยาได้คัดเลือกขมิ้นชันเป็นสมุนไพรในบัญชียาหลัก แห่งชาติ เพื่อใช้ในการรักษาอาการแน่น จุกเสียดจากอาการอาหารไม่ย่อย (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2544) และพืชสกุลขมิ้นเป็นพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ในทุกส่วนของพืชโดยเฉพาะลำต้นใต้ดิน หรือเหง้ามีน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด (พวงเพ็ญ, 2539)

จากรายงานพบว่ามนุษย์ได้มีการนำพืชสกุลขมิ้นมาประ โยชน์หลายด้านทั้งรับประทาน ย้อม สีผ้า อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และใช้เป็นยารักษาโรคตั้งแต่อดีตเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน

มีการนำพืชสกุลขมิ้นมาใช้ประโยชน์เป็นไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และไม้ประดับแปลง เช่น กระเจียวส้ม กระเจียวขาว ปทุมมา เป็นต้น เพราะมีลักษณะดอกที่แปลกตา มีความหลากหลายของ ช่อดอก และสีอันสวยงาม ตลอดจน การบานของดอกภายในช่อดอกเดียวกันที่ทยอยกันบานทีละ ดอก สร้างความประหลาดใจแก่ผู้พบเห็น รวมไปถึงอายุการใช้งานที่ยาวนาน พืชสกุลขมิ้นเป็นที่ นิยมในตลาดต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์เดนมาร์ก สหรัฐอเมริกา อิสราเอล และอังกฤษ เป็นต้น

เนื่องจากพืชสกุลขมิ้นในประเทศไทยมีความหลากหลายทางด้านชนิด ถึง 50 ชนิด (พวงเพ็ญ, 2544) สันนิษฐานว่า สารเคมีที่พบในพืชสกุลนี้จะมี ความหลากหลายทั้งด้านชนิดและ ปริมาณรวมถึงความหลากหลายของฤทธิ์ทางชีวภาพด้วย การศึกษาปริมาณสารสำคัญในพืชสกุล ขมิ้นชนิดต่าง ๆ จึงอาจจะมีประโยชน์ต่อการนำไปใช้ในการแพทย์แผนปัจจุบัน และแผนโบราณ อาหารเสริมสุขภาพ เครื่องสำอาง และ ทางด้านเภสัชกรรมต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารสำคัญบางชนิดในพืชสกุลขมิ้นที่ต่างชนิดกัน
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสำคัญบางชนิดในพืชสกุลขมิ้นที่ต่างชนิดกัน



การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

พืชสกุลขมิ้น *Curcuma* จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ลำต้นใต้ดินพืชสกุลขมิ้นมีลักษณะอวบน้ำ ทำหน้าที่สะสมน้ำ และอาหาร เรียกว่า เหง้า (rhizome) เหง้าแขนงรูปทรงกระบอกหรือคล้ายนิ้วมือตรง หรือโค้งเล็กน้อย บางครั้งเรียกเหง้าแขนงว่า แง่ เจริญเติบโตตามแนวนอน มีการแตกแขนงพบส่วนของเกล็ดในเป็นวงรอบบริเวณเหง้า รากเป็นรากอวบน้ำมีรากแขนงเล็ก ๆ จำนวนมากที่เกิดจากส่วนของเหง้า ปลายรากพองออกคล้ายหยดน้ำ ลำต้นเทียม (pseudostem) ซึ่งเกิดจากการอัดตัวกันของกาบใบ เกิดจากตายอดของเหง้า ความสูงของลำต้นประมาณ 0.3-2 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวรูปหอก (lanceolate) หรือรูปไข่ (ovate) ขอบใบเรียบ ปลายใบมนถึงแหลม โคนใบป้านถึงเรียวแหลม บางครั้งพบแถบม่วงแดงบริเวณกลางใบ เส้นใบแบบขนนก (pinnately parallel vein) ลิ้นใบ (ligule) มีลักษณะเป็นเยื่อบางๆ คั่นระหว่างฐานของแผ่นใบกับส่วนปลายของกาบใบ ปลายสองข้างเชื่อมติดกับเนื้อเยื่อบางๆ ของกาบใบ ช่อดอกเกิดจากส่วนปลายยอดของลำต้นเทียมหรือเกิดจากเหง้าโดยตรง ใกล้กับลำต้นเทียม ช่อดอก ประกอบด้วยใบประดับ (bract) จำนวนมาก มีขนาด สี สัน และรูปร่างแตกต่างกันตามชนิด ใบประดับจัดเรียงอยู่รอบแกนช่อดอกรูปทรงกระบอก โดยเรียง เวียนเป็นวงหรือเรียงซ้อนกันเป็นแถวในแนวตั้ง แบ่งเป็น 2 ส่วนคือใบประดับส่วนบนมี 2-3 ชั้น เรียกว่า coma bract มีขนาดใหญ่ และสี สัน แตกต่างกันไป เช่น ขาวอมเขียว ขาวอมชมพู ชมพูเข้ม ม่วง เป็นต้น ใบประดับส่วนนี้ไม่มีดอกหรือมีดอกลดรูปในซอกใบประดับส่วนบน ใบประดับส่วนล่างมีขนาดเล็กกว่าใบประดับส่วนบน มีสี สัน แตกต่างจากใบประดับส่วนบนหรือมีสีเดียวกัน และมีจำนวนมากกว่าใบประดับส่วนล่างเรียงซ้อนกันหรือเชื่อมกับบริเวณส่วนฐานเกิดเป็นหุ้ม (hooded bract) น้ำจึงขังได้ดี ดอกเกิดในซอกของใบประดับมีดอกเดี่ยว หรือเป็นกลุ่มที่มี 2-7 ดอก ดอกเป็นหลอดยาวรูปกรวย วงกลีบเลี้ยง (calyx) มี 3 กลีบ แต่ละกลีบขนาดไม่เท่ากันเชื่อมกันตรง โคนปลายแยกเป็นหยัก วงกลีบดอก (corolla) มี 3 กลีบ ลักษณะเป็นหลอดทางด้านล่างส่วนด้านบนแยกกันมีสีขาวนวลหรือชมพูถึงม่วง เกสรเพศผู้ไม่มีเรณู มี 2 กลีบ รูปร่าง สี สัน สวยงามแตกต่างกันแล้วแต่ชนิด สดมีโนดอีก 1 กลีบเปลี่ยนรูปเป็นปาก (labellum) ลักษณะเว้าปลายมน มีแถบสีเหลืองตรงกลาง มีเกสรเพศผู้ที่มีอับละอองเรณูเพียง 1 อัน บางครั้งจะพบส่วนของเดือย (spur) บริเวณ โคน ก้านชูเกสรเพศผู้สั้น และกว้างปลายคอด และติดกับอับละอองเรณูทางด้านหลัง เกสรเพศเมียมีรังไข่อยู่ใต้วงกลีบดอก (inferior ovary) ประกอบด้วย 3 carpel ก้านชูเกสรเพศเมียเป็นทรงกระบอกยาว

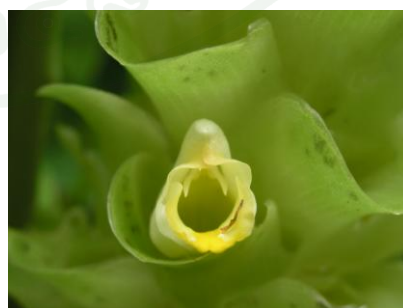
4-8 มิลลิเมตร ผลรูปไข่ผนังบาง ผลแก่แตก และปล่อยเมล็ดในซอกของใบประดับที่ปกคลุมด้วยเมือกอยู่ภายใน (Holtum, 1950) ตัวอย่างพืชสกุลขมิ้นที่พบในประเทศไทย เช่น *Curcuma aeruginosa*, *C. aurantiaca*, *C. ecomata*, *C. thorellii*, *C. harmandii*, *C. rhabdota*, *C. roscoeana*, *C. rubescens*, *C. sparganifolia*, *C. xanthorrhiza* และ *C. zedoaria* (พวงเพ็ญ, 2544)



ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำต้น และใบของพืชสกุลขมิ้น



A

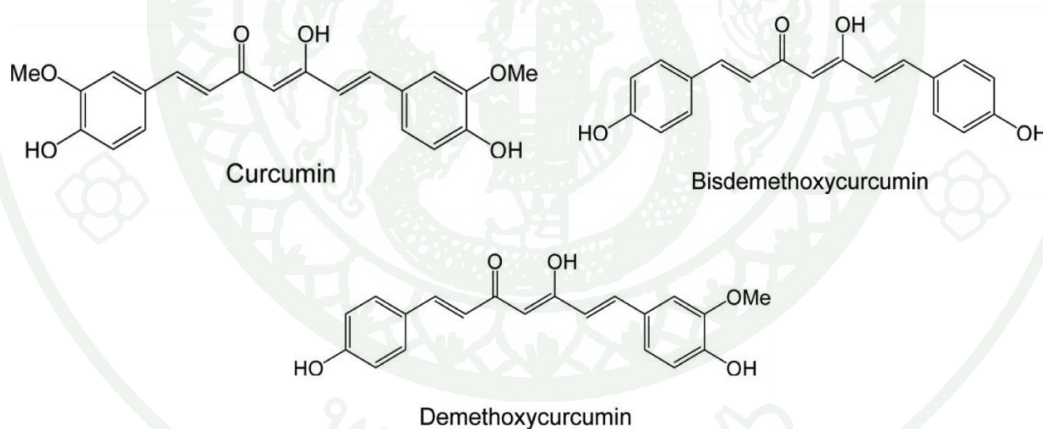


B

ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของช่อดอก (A) และดอกของพืชสกุลขมิ้น (B)

องค์ประกอบทางเคมี

เหง้าพืชสกุลขมิ้น ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ร้อยละ 3-4 มีกลิ่นเฉพาะตัว สีเหลืองปนส้มถึงสีเหลืองอ่อน ในน้ำมันมี เซสควิเทอร์ปีน (sesquiterpenes ketone) ส่วนใหญ่เป็น tumerone อยู่ร้อยละ 60 นอกจากนี้มี ar-turmerone, α -atlantone, γ -atlantone และ zingiberene รวมกันอีกเป็นร้อยละ 25 สีเป็นสารจำพวก diferuloylmethane ชื่อว่า เคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) เป็นผลึกสีเหลืองถึงแดง (ภาพที่ 3) เมื่อละลายในกรดกำมะถันที่เข้มข้นให้สีแดงปนเหลือง มีคุณสมบัติที่สำคัญหลายประการ เช่น ด้านการอักเสบ ด้านแผลมีหนอง ด้านมะเร็ง ด้านการกลายพันธุ์ และมีคุณสมบัติเป็นยาสมานแผล (ทรงยศ, 2545) ได้มีการวิจัยทั้งในคน และสัตว์ทดลองพบว่า เคอร์คิวมินออกฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์บำรุงรักษาดำ ช่วยป้องกันมะเร็ง ฤทธิ์ในการลดระดับโคเลสเตอรอล และมีฤทธิ์ในการป้องกันสมองเสื่อม สาร curcumin มีฤทธิ์ช่วยลดอาการบวม (oedema) ในหนู และหนูถีบจักร



ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids)

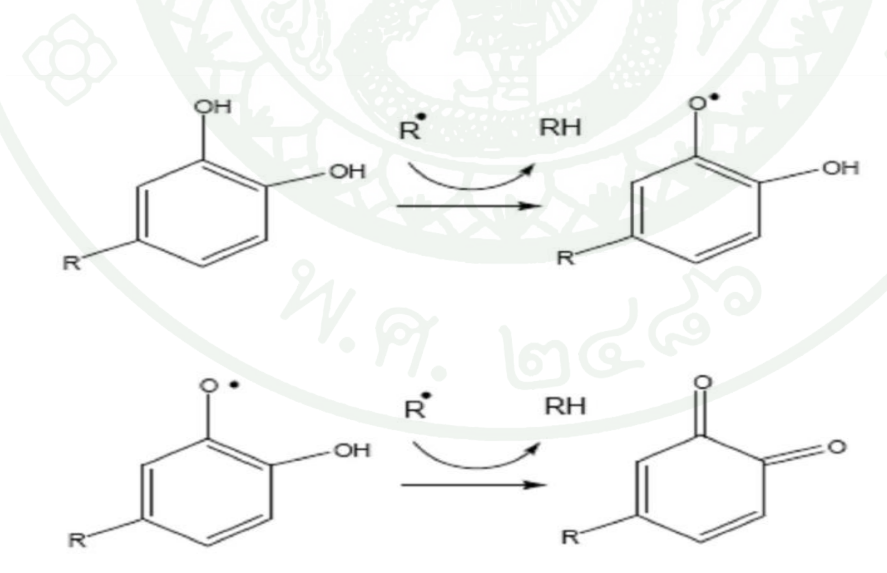
curcumin : demethoxycurcumin : bisdemethoxycurcumin

ที่มา: Ramirez-Ahumada *et al.* (2006)

สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) คือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่วงแหวนอะโรมาติก และหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่เป็นองค์ประกอบ สารประกอบฟีนอลส่วน

ใหญ่มีจุดกำเนิดมาจากพืช สารประกอบฟีนอล สามารถแบ่งออกเป็นหลายกลุ่มตามองค์ประกอบทางเคมี เช่น flavonoids, simple monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic acid, quinine, polyphenolics, lignin, melanin และ tannin เป็นต้น สารประกอบบางชนิดที่มีหมู่ฟีนอล (phenol unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน และอัลคาลอยด์ (Harborne, 1989)

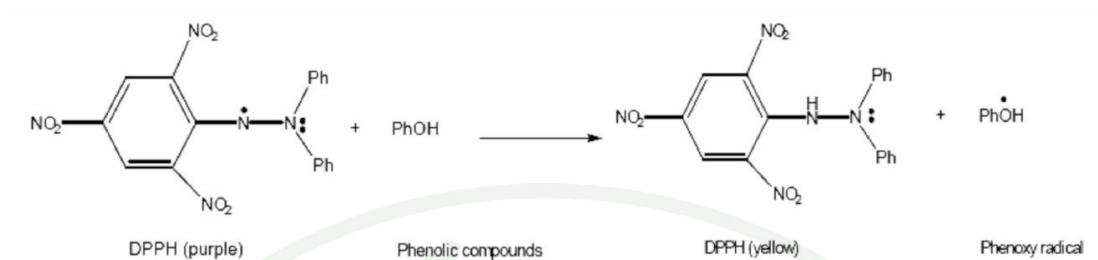
สารประกอบฟีนอลเป็นสารธรรมชาติที่มีอยู่ในพืช มีคุณสมบัติเป็นกรดเมื่อละลายน้ำโดยสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นได้ และสามารถทำปฏิกิริยากับพันธะเปปไทด์ของสารประกอบที่รวมอยู่กับโมเลกุลอื่น ส่วนมากพบในรูปไกลโคไซด์ (glucosides) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่เชื่อมต่อกับมอลโทสหรือไดแซคาไรด์ สารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอล คือ hydroxycinnamic acid โดยจะทำปฏิกิริยารวมตัวกับสารพวกกรดอินทรีย์ (organic acid) หมู่อะมิโน (amino group) ไขมัน (lipid) ฟีนอลิก (phenolics) และสารกลุ่มอื่นนอกเหนือจากน้ำตาล เป็นต้น การรวมตัวลักษณะนี้ภายในเซลล์จะมีโครงสร้างเป็นแบบมอนอฟีนอล (monophenols) และไดฟีนอล (diphenols) ซึ่งการรวมตัวของสารประกอบฟีนอลกับสารอื่นจะส่งผลทำให้เกิดความเป็นพิษกับพืช (phytotoxic) น้อยลง (Grayer, 1989) กลไกของสารจำพวกฟีนอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือเมื่อมีอนุมูลอิสระมาดิ่ง อิเล็กตรอนไป แต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป (Pietta, 2000)



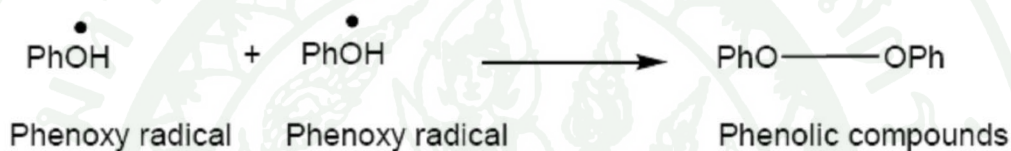
ภาพที่ 4 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอล

ที่มา: Amic *et al.* (2003)

ขั้นที่ 1



ขั้นที่ 2



ภาพที่ 5 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล

ที่มา: Amic *et al.* (2003)

สำหรับกลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ของสารจำพวกฟีนอลเกิดจากการให้อิเล็กตรอน แก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล โดยที่อนุมูลอิสระ DPPH ในสารละลายจะมีสีม่วง เมื่อสารจำพวกฟีนอลให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH จะได้เป็นสาร DPPH ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระต่อไป ซึ่งจะเห็นเป็นสีเหลืองนวล (ขั้นที่ 1) ส่วน phenoxy radical ที่เกิดขึ้นจะจับกัน ทำให้ปฏิกิริยาถูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหมดไป (ขั้นที่ 2) (Amic *et al.*,2003) (ภาพที่ 4 และ5)

สิงห์คำ (2549) ศึกษาชนิดของเคอร์คิวมินอยด์ ที่มีผลในการยับยั้งการแสดงออกของยีนไวรัสเมมเบอร์วันดีที่สุดในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด human erythroid leukemia (K562), human promyeloid leukemia (HL-60), human monocytic leukemia (U937) และ human lymphoblastic leukemia (Molt4) พบว่าการใช้สารสกัดเคอร์คิวมินอยด์ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ เป็น

ระยะเวลา 2 วัน มีฤทธิ์ในการยับยั้งระดับของวิตามินเออาร์เอ็นเอ ได้ดีที่สุด ในเซลล์ K562, U937, HL-60 และ Molt4 คือ 59, 43, 37 และ 17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Makboon (2000) รายงานองค์ประกอบทางเคมีของขมิ้นขาว (*C. mangga*) โดยวิธีโครมาโทกราฟี และส่วนที่ได้จากการกลั่นน้ำมันหอมระเหย สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีได้ 3 ชนิด ซึ่งเมื่อวิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธีสเปกโตรสโคปี พบว่ามีสารใหม่ 1 ชนิดในกลุ่มของ labdanediterpene คือ 15-ethoxy-8(17), 12-labdadien-15, 16-olide และสารอีก 2 ชนิดคือสารในกลุ่ม norlabdanediterpene คือ 15,16-bisnorlabda-8(17), 11-dien-13-one และของผสมในกลุ่ม steroid คือ beta-sitosterol และ stigmasterol สำหรับน้ำมันหอมระเหยซึ่งวิเคราะห์หาองค์ประกอบด้วยเครื่อง GC/MS พบองค์ประกอบทางเคมี 30 ชนิดประกอบด้วยสารกลุ่ม monoterpene ในปริมาณสูงสุดถึงร้อยละ 97.46 ซึ่งสารที่พบมากที่สุด คือ myrcene (ร้อยละ 84.61), beta-phellandrene (ร้อยละ 6.63) และ trans-ocimene (ร้อยละ 3.85) ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย พบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราโดยเฉพาะ *Staphylococcus aureus* และ *Microsporum gypseum*

Masuda *et al.* (2005) ได้สังเกตพืชบริเวณชายฝั่ง พบว่าการที่พืชได้รับแสงแดดเต็มที่จะมีอิทธิพลต่อการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้ง tyrosinase ในพืชได้สูง

Rusley *et al.* (2007) ศึกษาในว่านขมิ้นคุดู (*C. xanthorrhiza*) ซึ่งจัดว่าเป็นพืชที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย รายงานว่าสามารถนำมาชงดื่มต่างน้ำชา ช่วยรักษาอาการอาหารไม่ย่อย แน่นท้อง รักษาโรคไขข้อกระดูกอักเสบ มีการนำมาประยุกต์ใช้กับผู้หญิงที่เพิ่งจะคลอดบุตร เพื่อฟื้นฟูให้มดลูกแห้ง และเข้าอู่เร็วขึ้น

Chan *et al.* (2008) ศึกษา total phenolic content และ ascorbic acid equivalent antioxidant capacity ในใบพืชวงศ์ขิง 26 ชนิด นำมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการศึกษาในเหง้า 14 ชนิดพบว่าในพืชสกุลขมิ้นคือ *C. aeruginosa*, *C. longa*, *C. mangga* และ *C. xanthorrhiza* โดยส่วนมากจะพบปริมาณของ total phenolic content และ ascorbic acid equivalent antioxidant capacity ในใบมากกว่าในเหง้า อาจจะเป็นผลมาจากสิ่งแวดล้อมหรือปริมาณธาตุอาหารในดินซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Herrmann (1988) ซึ่งรายงานว่าในใบพืชจำพวกผักจะมีความเข้มข้นของสาร flavones และ flavonols อยู่มาก

Thaikert and Paisooksantivatana (2009) รายงานปริมาณของสารเคอร์คิวมินอยด์ในขมิ้นชันจำนวน 67 ตัวอย่าง และขมิ้นขาว 1 ตัวอย่าง ที่วิเคราะห์ปริมาณสารทั้งก่อนปลูกและหลังปลูก พบว่าตัวอย่างที่รวบรวมจากภาคกลางมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด และตัวอย่างจากประเทศลาวมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำสุด การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ซึ่งใช้วิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐาน พบว่าตัวอย่างจากภาคกลางมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($EC_{50} = 8.04 \pm 3.77$ mg/ml) และลดลงหลังปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์

จากการศึกษาข้างต้นพบว่า เหง้าของพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) ประกอบด้วย น้ำมันหอมระเหย และสารกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งจัดอยู่ในสารกลุ่ม Curcuminoid ประกอบด้วย curcumin, demethoxy curcumin และ bisdemethoxycurcumin เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมีคุณสมบัติมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยังยั้งการแสดงออกของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ฟันพุให้มดลูกแห้ง ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นต้น

อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว ซึ่งอยู่ในภาวะไม่คงตัว ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี สาเหตุการเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายทาง เช่น แสงแดด อากาศที่เราได้รับประทานทุกวัน ภาวะมลพิษรอบ ๆ ตัวเรา เช่นควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง สารเคมีจากผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านทั่วไป ในสภาวะปกติอนุมูลอิสระถูกจำกัด โดยระบบป้องกันของร่างกาย แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะถูกทำลาย อนุมูลอิสระเหล่านี้จะไปทำปฏิกิริยากับภูมิคุ้มกัน มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพ และการเกิดพยาธิสภาพของโรคต่าง ๆ เช่น ปวดเมื่อย โรคเกี่ยวกับหัวใจ โคเลสเตอรอลสูง แก่ก่อนวัย และเป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง

Antioxidant คือ สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งอนุมูลอิสระนี้เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดสิ่งผิดปกติในระดับโมเลกุลของเซลล์สิ่งมีชีวิต สารต้านออกซิเดชัน สามารถแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 2 กลุ่ม คือ สารต้านออกซิเดชันที่สังเคราะห์ขึ้น (synthetic antioxidant) และสารต้านออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติ (natural antioxidant) ซึ่งพบในพืชสมุนไพรบางชนิด เช่น กระเพรา กระจับปี่ กานพลู สะระแหน่ โหระพา ไพล ขมิ้น เป็นต้น ซึ่งล้วนแต่เป็นพืชที่มีน้ำมันหอมระเหย นอกจากนี้ยังมีสารเคมีบางชนิดที่น่าจะมีคุณสมบัติเป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันได้ ในขบวนการออกซิเดชัน เชื่อว่ามัก กิดกับสารไขมันที่มีโครงสร้างไม่อิ่มตัว (Larson, 1988) สามารถถูกเติมออกซิเจนในพันธะคู่ ทำให้โมเลกุล

เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากสารไขมันที่ไม่อิ่มตัว ถ้ามีสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ปฏิกริยาจะไม่เกิดการเติมอะตอมของออกซิเจน เพราะสารต้านออกซิเดชันจะมีความว่องไวต่อการทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้รวดเร็วกว่าอนุมูลอิสระ สามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลชนิดต่างๆ ในร่างกายได้จำนวนมาก ปฏิกริยาของอนุมูลอิสระเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) คือทำให้สารที่ถูกอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยาเสื่อมสภาพไป และสร้างสารอนุมูลอิสระใหม่ไปเร่งให้เกิดปฏิกิริยา oxidation และทำลายเนื้อเยื่อข้างเคียงหรือเนื้อเยื่ออื่น ๆ การทำให้เกิดพันธะที่ผิดปกติของ DNA มีการทำลายโปรตีน ไขมัน และสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ เกิดความเสียหายมาก ปฏิกริยา oxidation ของอนุมูลอิสระมักจะเกิดกับไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ ปกติร่างกายจะมีระบบการควบคุมและทำลายสารอนุมูลอิสระได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase และ glutathione ทำหน้าที่ต้านปฏิกิริยา oxidation และกำจัดอนุมูลอิสระได้ จึงทำให้เราทุกคนไม่เกิดโรคเมื่อได้รับสารในกลุ่มอนุมูลอิสระเข้าสู่ร่างกาย

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระหรือทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย ป้องกันเนื้อเยื่อหรือซ่อมแซมส่วนของเซลล์ที่ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ แหล่งที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ร่างกาย อาหารบางชนิด ซึ่งได้จากการรับประทานอาหาร เนื่องจากสิ่งแวดล้อมที่มีมลภาวะสูงทั้งใน และนอกบ้าน การรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม การสูบบุหรี่ เป็นสาเหตุที่ทำให้คนส่วนมากได้สารต้านอนุมูลอิสระจากร่างกาย และอาหารไม่เพียงพอจำเป็นต้องเพิ่ม สารต้านอนุมูลอิสระ เข้าไปในร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิด จะทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันออกไปสำหรับเคอร์คิวมินอยด์นั้นทำหน้าที่ทั้งป้องกัน และต่อต้านอนุมูลอิสระ

Ungphaiboon *et al.* (2005) รายงานว่าสารสกัดของขมิ้นชันด้วยด้วยเอทานอล และสับู่เหลวที่มีขมิ้นชันเป็นส่วนผสมมีฤทธิ์ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Cryptococcus neoformans* และ *Candida albicans*

Thongchai *et al.* (2009) ศึกษาปริมาณ total cucuminoids ด้วยวิธี Flow injection และปริมาณ total antioxidant capacity ด้วยวิธี DPPH (2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ในขมิ้นชัน (*C. longa* L.) พบว่าในขมิ้นชันที่ศึกษา มีปริมาณ total cucuminoids อยู่ในช่วง 0.9-4.3 w/w และมีค่า IC₅₀ (total antioxidant capacity) อยู่ในช่วง 10.0-66.8 µg/ml.

Srvidya *et al.* (2009) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*, *Kleselia pneumonia* และ *Candida albicans* ในเหง้าของ *Curcuma aromatica* และ *C. zedoaria*

พบว่า *C. aromatica* มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ที่ปริมาณ 15.625 µg/ml ยับยั้งเชื้อ *Kleselia pneumonia* ที่ปริมาณ 62.5 µg/ml และยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ที่ปริมาณ 125 µg/ml และ *C. zedoaria* มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ที่ปริมาณ 31.25 µg/ml ยับยั้งเชื้อ *Kleselia pneumonia* และ *Candida albicans* ที่ปริมาณ 125 µg/ml ผลของการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า *C. aromatica* และ *C. zedoaria* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Niumsakul *et al.* (2007) ศึกษาปริมาณปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ Cytotoxic Substance ใน *Curcuma comosa* Roxb. หรือชื่อไทยเรียกว่า ว่านชักมคลูก โดยจากการศึกษารายงาน ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) เท่ากับ 4.44 ± 0.85 µg/ml และยังมีฤทธิ์ในการต้านสารพิษที่จะ เกิดภายในเซลล์อีกด้วย

จากการศึกษาข้างต้นพบว่า อนุมูลอิสระคือปัจจัยที่เป็นสาเหตุในการเกิดโรคต่าง ๆ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำลาย และยับยั้งอนุมูลอิสระได้ จากรายงานพบว่า พืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ อีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แหล่งที่มาและการเก็บตัวอย่าง

รวบรวมพืชสกุลขมิ้นชนิดต่างๆ จำนวน 9 ชนิด นำมาปลูกในกระถาง ณ แปลงทดลองภาควิชา พืชสวน คณะเกษตรกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน เพื่อนำเห้งมาศึกษาปริมาณสารสำคัญต่างๆ

พืชสกุลขมิ้น ทั้ง 9 ชนิด ประกอบด้วย

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	แหล่งที่มา
<i>Curcuma. longa</i> L.	ขมิ้นชัน	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา
<i>C. zedoaria</i> Roscoe	ขมิ้นอ้อย	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
<i>C. aromatica</i> Salisb.	ว่านนางคำ	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
<i>Curcuma</i> . ‘Waanchakmodluk 1’	ว่านชักมดลูก 1	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
<i>Curcuma</i> ‘Waanchakmodluk 2’	ว่านชักมดลูก 2	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
<i>C. aeruginosa</i> Roxb.	ว่านมหาเมฆ	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
<i>Curcuma</i> ‘Haroinang’	ว่านห้าร้อยนาง	อ. เมือง จ.ราชบุรี
<i>Curcuma</i> ‘Khamindum’	ขมิ้นดำ	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
<i>C. mangga</i> Valetton&Zijp.	ขมิ้นขาว	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์

2. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

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

3.1.1 นำเหง้าสดพืชสกุลขมิ้นอายุประมาณ 7-8 เดือนล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง นำเหง้าสดจำนวน 1-15 กรัม บดให้ละเอียดจนเป็นผงด้วยไนโตรเจนเหลว

3.1.2 ละลายผงแห้งด้วย 95% เอทานอลกลั่นบริสุทธิ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง

3.1.3 เก็บสารละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี HPPD (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl)

(คัดแปลงจาก Thaikert and Paisooksantivatana, 2009)

3.2.1 เตรียมสารสกัดพืชสกุลขมิ้นที่สกัดด้วยเอทานอลกลั่นบริสุทธิ์ความเข้มข้น 50, 25, 16.67, 12.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 1) ใส่ในหลอดทดลองความเข้มข้นละ 500 ไมโครลิตร

3.2.2 เติม DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer เก็บให้พ้นแสงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที

3.2.3 วัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

คำนวณเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูลอิสระ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{517} \text{ control} - A_{517} \text{ sample}) / A_{517} \text{ control}] \times 100$$

โดยที่ $A_{517} \text{ control}$ คือค่าการดูดซับแสงของสารละลาย DPPH ในเอทานอลกลั่นบริสุทธิ์ 95% และ $A_{517} \text{ sample}$ คือค่าการดูดซับแสงของสารสกัดจากพืช

หาค่า IC_{50} (The half maximal inhibitory concentration of sample required to scavenge 50% of DPPH radicals) โดยวิเคราะห์จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ของการต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากตัวอย่างพืช โดยคำนวณจากกราฟเส้นที่ได้จาก linear regression analysis โดยเทียบให้ % inhibition หรือค่าในแกน y เป็น 50% โดยใช้วิตามินซี เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบผล

3. การทำผงพืชสมุนไพร (ดัดแปลงจาก ปรีชา และคณะ, 2549)

นำเหง้าสดของพืชสมุนไพรอายุ 7-8 เดือน ล้างให้สะอาดหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปผึ่งแดด เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาบดให้เป็นผงละเอียด เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ และปริมาณสารฟีนอลิกรวม

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ (ดัดแปลงจาก ปรีชา และคณะ, 2549)

4.1 การทำกราฟมาตรฐานของสารเคอร์คิวมิน

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

4.1.2 แยกชุดสารละลายมาตรฐาน 20, 40, 50, 60 และ 80 ไมโครลิตรใส่ลงใน volumetric flask เติมเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตรครบ 10 มิลลิตรเขย่าให้เข้ากัน

4.1.3 นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน

4.2 การวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง

4.2.1 นำผงพืชสมุนไพรจำนวน 100 มิลลิกรัม (0.1 กรัม) บรรจุในขวด volumetric flask ขนาด 10 มิลลิตร เติมเมทานอลกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตรครบ 10 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4.2.2 ดูดสารละลายของสารละลายตัวอย่างมาจำนวน 15 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในขวด

volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4.2.3 นำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

4.2.4 คำนวณหาค่าปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์จากน้ำหนักรวบรวม โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของเคอร์คิวมินมาตรฐาน

5. การหาปริมาณสารเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

(ดัดแปลงจาก Jadhav *et al.*, 2007)

เครื่อง HPLC (HITACHI series) ประกอบด้วย Pump: L-2130; Injector: auto sampler L-2200; detector: Diode Array Detector L-2450 UV/visible คอลัมน์คือ ซิลิกา (silica) ขนาด 250 mm x 4.6 mm, 5 mm

การเตรียม Mobile phase โดยใช้สารผสมระหว่าง สาร acetonitrile ผสมกับน้ำ กลั่น อัตราส่วน 50:50 (v/v) จากนั้นใช้ 0.05% trifluoro acetic acid ปรับค่าให้ได้ pH เท่ากับ 3.0 Flow rate เท่ากับ 1.5 ml/min ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร

5.1 การเตรียมสารละลายเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน มาตรฐาน

5.1.1 เตรียมละลายสารมาตรฐาน เคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน อย่างละ 1 มิลลิกรัม เติมน้ำ 50% Acetonitrile ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

5.1.2 นำไปเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

5.1.3 กรองสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ผ่าน milliporefilter

5.1.4 เจือจางสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด ความเข้มข้น 30 ไมโครลิตรต่อมิลลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

5.2 การเตรียมสารละลายจากพืชตัวอย่าง

5.2.1 ชั่งผงพืชสกุลขมิ้น จำนวน 0.1 กรัม จากนั้นเติมด้วย 50% Acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิตร

5.2.2. นำไปเขย่าเป็นเวลา 15 นาที ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสเก็บไว้

5.2.3 กรองสารละลาย ตัวอย่าง ที่เตรียม ผ่าน milliporefilter นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ปริมาตร 20 และ 40 ไมโครลิตร

5.2.4 คำนวณหาความเข้มข้นของสารเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ในตัวอย่าง *curcuma extract* โดยเทียบจากพื้นที่ใต้กราฟ ของสารละลายมาตรฐานจาก calibration curve

6. การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

6.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก Hang *et al.*, 2004)

6.1.1 นำผงพืชสกุลขมิ้นจำนวน 0.2 กรัม เติม 70% เอทานอล 50 มิลลิตร ลงในขวด volumetric flask ปริมาตร 100 มิลลิตร

6.1.2 จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นานประมาณ 15 นาที ตั้งไว้ในเย็นเป็นเวลา 15 นาที นำมากรองด้วยกระดาษกรองจนได้สารละลายใสของตัวอย่าง

6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (ดัดแปลงจาก Yaguchi *et. al*, 2009)

6.2.1 สารละลายส่วนใสของตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-

Ciocalteu reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (เจือจางอัตราส่วน 1:1 ระหว่างสารละลายและ น้ำกลั่น) เขย่าให้เข้ากันเติม 10% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที

6.2.2 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

6.2.3 ปริมาณฟีนอลสามารถวัด เทียบได้กับสารมาตรฐาน โดยใช้ Pyrocatechol เป็นสารมาตรฐาน

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการศึกษาในครั้งนี้ การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารสำคัญ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งต่อตัวอย่าง และรายงานผลในรูปของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย การวิเคราะห์ Duncan's new multiple range test (DMRT) และหาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารสำคัญต่าง ๆ โดยโปรแกรม Pearson product moment correlation coefficient

8. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

Department of Biological and Environmental Science, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Japan.

9. ระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลองระหว่างเดือน เมษายน 2552 ถึง เดือนพฤษภาคม 2553

ผลและวิจารณ์

ผล

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

พืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดที่นำมาศึกษาจัดได้ว่าเป็นสกุลที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย และมีการแพร่กระจายพันธุ์ในประเทศไทย มีการนำไปใช้ประโยชน์เป็นทั้งเครื่องเทศ และยาสมุนไพร การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) เป็นผลที่มาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย DPPH กับสารสกัดพืชสกุลขมิ้น และนำค่าที่ได้ไปคิดเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซึ่งในการทดลองนี้ใช้วิตามินซี

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเหง้าของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด ซึ่งแสดงโดยค่า IC_{50} ซึ่งค่าที่ได้มีความหมายว่า ค่า IC_{50} ที่น้อยจะแสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง พบว่าค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดเมื่อนำมาคำนวณปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารวิตามินซีที่วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (ภาพที่ 6) จะมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 240 ± 20.00 ถึง 3.16 ± 0.27 mg/ml (ตารางที่ 1) โดยผลการศึกษาค้นพบว่าค่า IC_{50} ในพืชสกุลขมิ้น 9 ชนิดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งพบว่าขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($IC_{50} = 3.16 \pm 0.27$ mg/ml) รองลงมาคือ ขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria* Roscoe) เป็นพืชสกุลขมิ้นอีกชนิดที่มีค่าของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ในปริมาณซึ่งถือว่าค่อนข้างสูง ($IC_{50} = 6.42 \pm 0.80$ mg/ml) ค่า IC_{50} ของวิตามินซี เท่ากับ 0.03 ± 0.03 mg/ml ในขณะที่ขมิ้นขาว (*C. mangga* Valetton & Zijp) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด ($IC_{50} = 240 \pm 20.00$ mg/ml) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนมีค่าเท่ากับ 10.18%

จากการศึกษาพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดสามารถแบ่งค่าของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 คือกลุ่มพืชสกุลขมิ้นที่มีค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง ประกอบด้วย ขมิ้นชัน (*C. longa* L.) ขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria* Roscoe) ว่านชักมดลูก 2 (*Curcuma* 'Waanchakmodluk 2') ว่านชักมดลูก 1 (*Curcuma* 'Waanchakmodluk 1') และว่านนางคำ (*C. aromatica* Salisb.) ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มพืชสกุลขมิ้นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างน้อย ประกอบด้วย ขมิ้นดำ

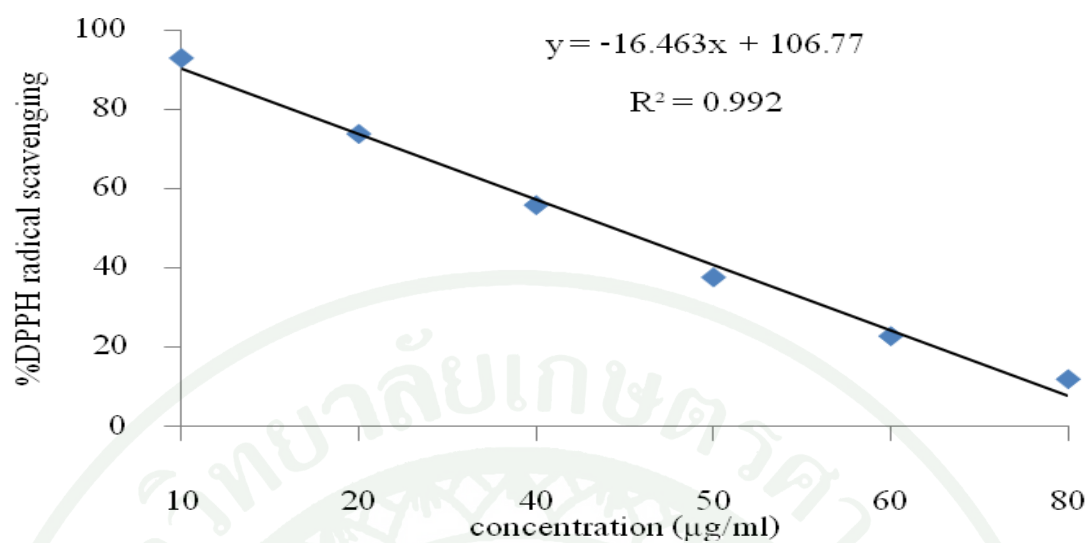
(*Curcuma* 'Khamindum') และว่านห้าร้อยนาง (*Curcuma* 'Haroinang') กลุ่มที่ 3 คือกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยมาก ประกอบด้วย ว่านมหาเมฆ (*C. aeruginosa* Roxb.) และ ขมิ้นขาว (*C. mangga* Valetton & Zijp)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) ของพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

<i>Curcuma</i> species	ค่า IC_{50} (mg/ml)
Vitamin C	0.03±0.03
ขมิ้นชัน (<i>C. longa</i> L.)	3.16a±0.27
ขมิ้นอ้อย (<i>C. zedoaria</i> Roscoe.)	6.42a±0.80
ว่านนางคำ (<i>C. aromatica</i> Salisb.)	22.04a±3.28
ว่านชักมดลูก 1 (<i>Curcuma</i> 'Waanchakmodluk 1')	20.04a±1.08
ว่านชักมดลูก 2 (<i>Curcuma</i> 'Waanchakmodluk 2')	14.62a±0.76
ว่านมหาเมฆ (<i>C. aeruginosa</i> Roxb.)	225.67c±28.92
ว่านห้าร้อยนาง (<i>Curcuma</i> 'Haroinang')	115.00b±5.00
ว่านขมิ้นดำ (<i>Curcuma</i> 'Khamindum')	106.67b±20.82
ขมิ้นขาว (<i>C. mangga</i> Valetton & Zijp.)	240.00c±20.00
F-test	*
CV	10.18%

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

¹ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 6 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ปริมาณเคอร์คิวมินอยด์

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์จากผงแห้งของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดโดยนำมาผงแห้งของพืชตัวอย่างมาสกัดด้วยเมทานอลกลั่น จากนั้นนำมาคำนวณหาปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของพืชตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารเคอร์คิวมินที่วัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร (ภาพที่ 7)

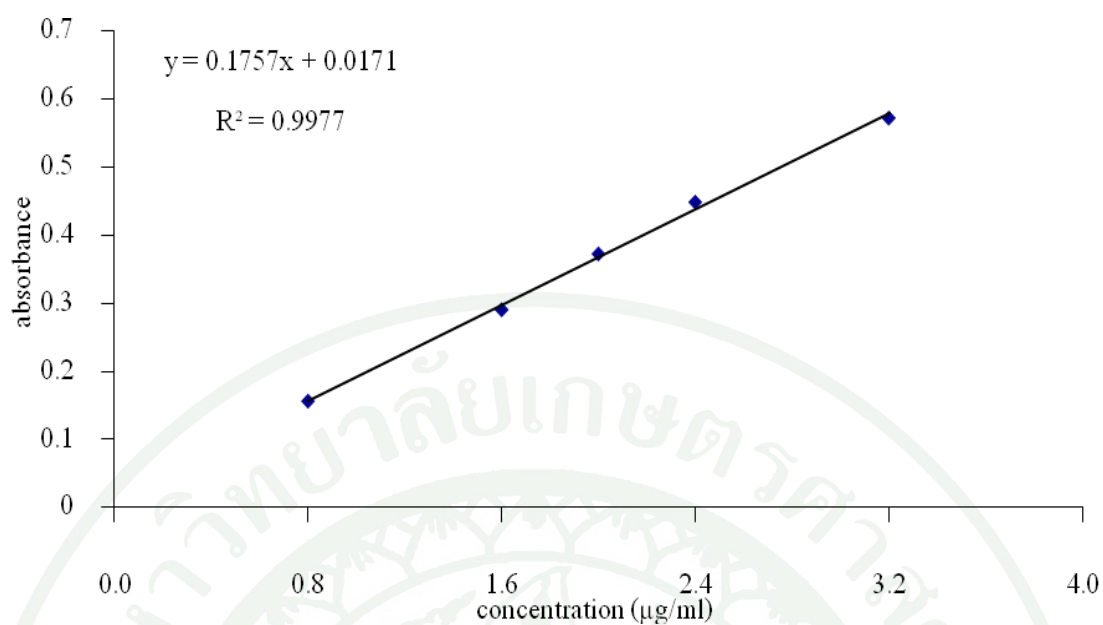
จากการศึกษาพบว่า ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.012 ± 0.09 ถึง 13.164 ± 0.44 mg/g DW จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของพืชสกุลขมิ้น 9 ชนิดที่ศึกษามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งพบว่า ขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุดเท่ากับ 13.164 ± 0.44 mg/g DW รองลงมาอันดับสองคือ ขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria* Roscoe.) ซึ่งมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์เท่ากับ 3.373 ± 0.34 mg/g DW และอันดับสามคือ ว่านนางคำ (*C. aromatica* Salisb.) มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์เท่ากับ 1.8 ± 0.11 mg/g DW ตามลำดับ ซึ่งพืชทั้ง 3 ชนิดจัดได้ว่ามีปริมาณเคอร์คิวมินอยด์อยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงกว่าชนิดอื่นๆ และขมิ้นดำ (*Curcuma* 'Khamindum') คือชนิดที่มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำที่สุด (0.012 ± 0.09 mg/g DW) (ตารางที่ 2) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนมีค่าเท่ากับ 0.19% เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) และปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ด้วยวิธี Pearson's correlation coefficient พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) และปริมาณเคอร์คิวมินอยด์ มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยมีค่า $r = 0.804$ (ตารางที่ 5) มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ของพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) วัดค่าการดูดกลืนคลิ่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

<i>Curcuma</i> species	ค่า Curcuminoids (mg/g DW)
ขมิ้นชัน (<i>C. longa</i> L.)	13.164a±0.44
ขมิ้นอ้อย (<i>C. zedoaria</i> Roscoe.)	3.373b±0.34
ว่านนางคำ (<i>C. aromatica</i> Salisb.)	1.800c±0.11
ว่านชักมดลูก 1 (<i>Curcuma</i> 'Waanchakmodluk 1')	0.013d±0.10
ว่านชักมดลูก 2 (<i>Curcuma</i> 'Waanchakmodluk 2')	0.014d±0.28
ว่านมหาเมฆ (<i>C. aeruginosa</i> Roxb.)	0.219d±0.05
ว่านห้าร้อยนาง (<i>Curcuma</i> 'Haroinang')	0.042d±0.03
ว่านขมิ้นดำ (<i>Curcuma</i> 'Khamindum')	0.012d±0.09
ขมิ้นขาว (<i>C. mangga</i> Valetton & Zijp.)	0.014d±0.19
F-test	*
CV	0.19%

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

¹ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 7 กราฟมาตรฐานของสารคลอโรฟิลล์ วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ผลการวิเคราะห์สารสกัดพืชสกุลขมิ้นโดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารตัวอย่าง ซึ่งมีส่วนประกอบหลายชนิด โดยสารแต่ละชนิดจะมีอัตราการเคลื่อนที่ (อัตราการกระจาย) ระหว่างเฟส 2 เฟส โดยเฟสหนึ่งเป็นตัวสำหรับดูดซับซึ่งอยู่กับที่ เรียกว่า stationary phase อีกเฟสจะเป็นตัวทำละลายที่ผ่านไปบนเฟสที่อยู่กับที่ เรียกว่า mobile phase หรือเฟสเคลื่อนที่ สำหรับการทดลองนี้คือ silica และเนื่องจากสารแต่ละชนิดมีอัตราการเคลื่อนที่ต่างกันเครื่องจะแสดงผลที่ได้เป็นกราฟ เรียกว่า โครมาโตแกรม (chromatogram) ในโครมาโตแกรมจะแสดงเป็นพีก (peak) ของสารแต่ละชนิดมีความกว้าง (band broadening) และระยะเวลาที่ใช้ในการแสดงผลต่างกัน ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการแสดงผลเรียกว่า retention time และจากพื้นที่ใต้กราฟของพีกต่าง ๆ สามารถนำมาคำนวณหาค่าปริมาณสารเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ของพืชสกุลขมิ้นได้โดยนำมาคิดเทียบกับสารมาตรฐาน

จากภาพโครมาโตแกรมของสารละลายเคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) มาตรฐาน ซึ่งวัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร แสดงให้เห็นว่าเมื่อนำสารมาตรฐานทั้ง 3 มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ภาพโครมาโตแกรมจะแสดงให้เห็นพีกจำนวน 3 พีกอย่างชัดเจน โดยกระบวนการแยกสารประกอบจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งสารต่างๆ จะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน จากการวิเคราะห์พบว่า พีกแรกที่สามารถวิเคราะห์ออกมาได้ คือสาร บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน พีกที่ 2 คือสารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และพีกสุดท้าย คือสารเคอร์คิวมิน (ภาพที่ 8) โดยแต่ละพีกที่แสดงออกมาจะใช้ระยะเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งค่าของเวลาเฉลี่ยที่ได้จากสารมาตรฐานจะนำไปเทียบกับพีกของโครมาโตแกรม ที่วิเคราะห์จากพืชตัวอย่างที่ทำการทดลอง จากนั้นจะนำพื้นที่ใต้พีกของพืชตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณสารทั้ง 3 ชนิด

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณสาร เคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด อยู่ในช่วงระหว่าง 0.003 ถึง 87.551 ± 9.19 , 0.004 ถึง 20.229 ± 2.29 และ 0.004 ถึง

74.261±6.87 mg/g ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณสารเคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) ของพืชสกุลขมิ้น 9 ชนิดที่ศึกษามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) พบว่า ขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ทั้ง 3 ชนิดมากที่สุด ต่อมาคือขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria* Roscoe.) ซึ่งมีปริมาณสารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน เป็นอันดับสองรองลงมาจากขมิ้นชัน สำหรับพืชสกุลขมิ้นที่มีปริมาณสารเคอร์คิวมินปริมาณมากเป็นอันดับสอง คือ ว่านนางคำ (*C. aromatica* Salisb.) และขมิ้นคำ (*Curcuma* 'Khamindum') คือพืชสกุลขมิ้นที่มีปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ทั้ง 3 น้อยที่สุด ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของการศึกษาสารเคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxy curcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) มีค่าเท่ากับ 2.61, 9.39 และ 28.27% ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

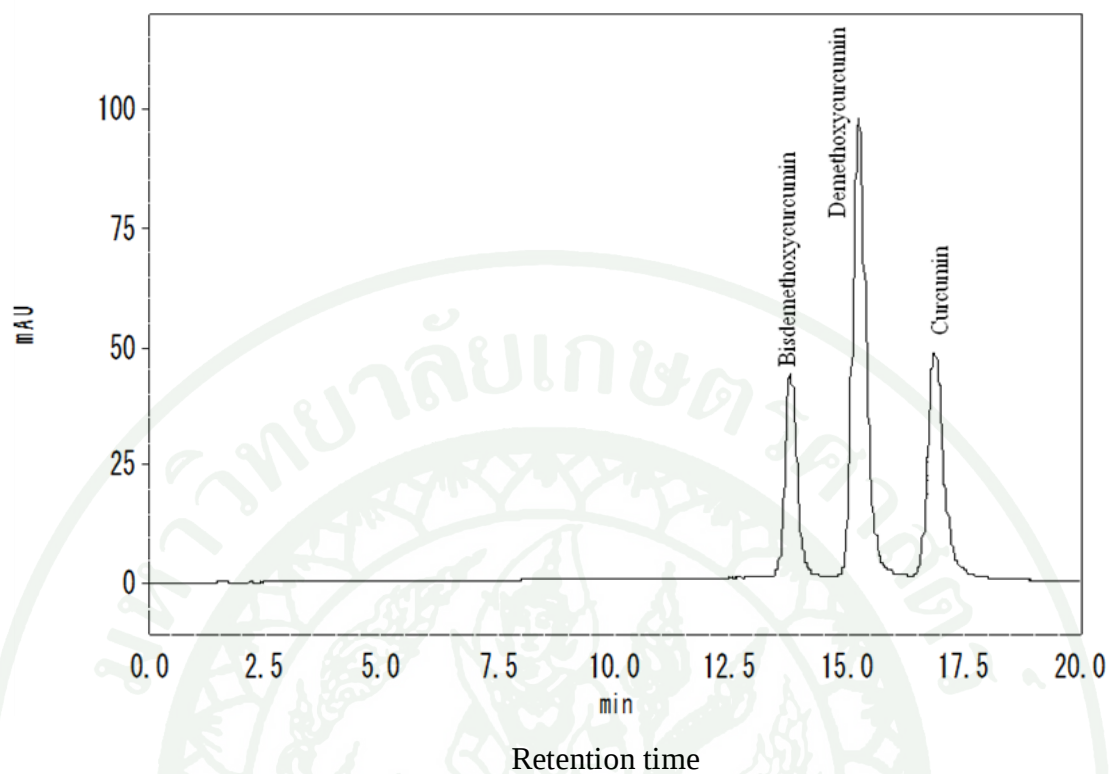
ซึ่งผลของการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ทั้ง 3 ด้วยเทคนิค HPLC มีแนวโน้มเป็นไปทางเดียวกันกับการวิเคราะห์หาปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ด้วยวิธีวัดการดูดกลืนคลื่นแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยปริมาณสารเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ของพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร

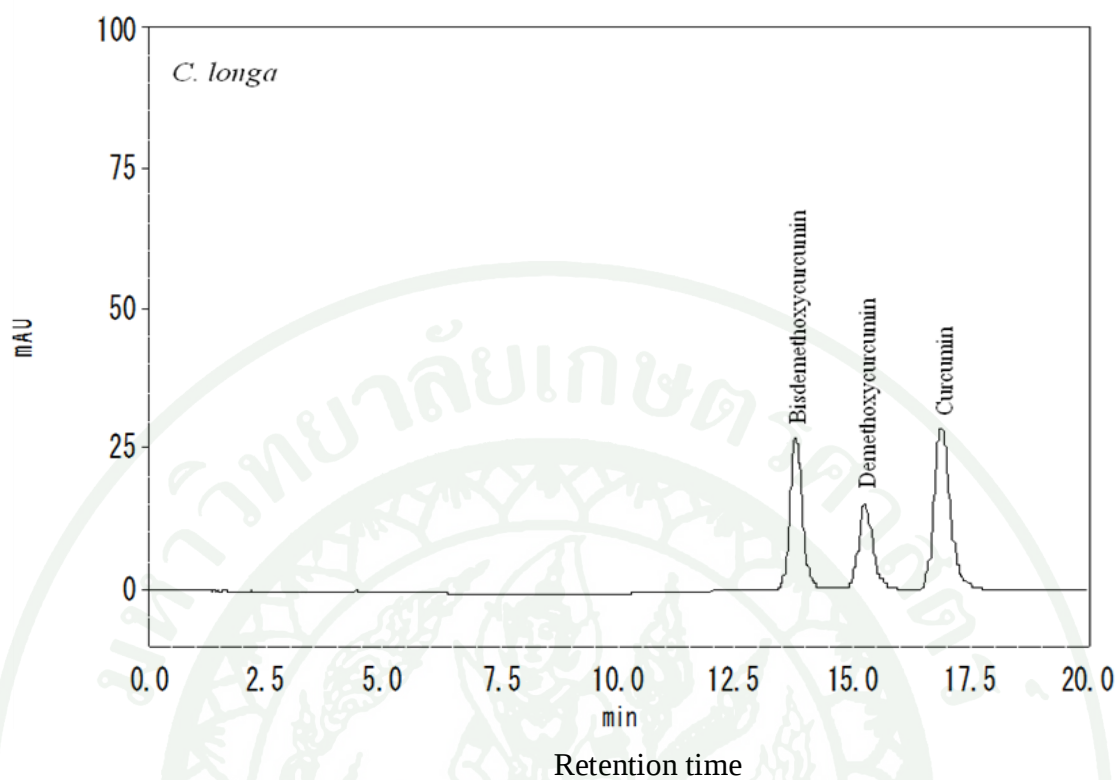
<i>Curcuma</i> species	Curcumin (mg/g)	Demethoxy curcumin (mg/g)	Bisdemethoxy curcumin (mg/g)
<i>C. longa</i> L.	87.551a±9.19	20.229a±2.29	74.261a±6.87
<i>C. zedoaria</i> Roscoe.	6.525c±0.29	9.060b±0.43	8.159b±1.20
<i>C. aromatica</i> Salisb.	15.410b±1.32	3.037c±0.48	0.885c±0.65
<i>Curuma</i> 'Waanchakmodluk 1'	0.006d±0.00	0.004d±0.00	0.010d±0.00
<i>Curuma</i> 'Waanchakmodluk 2'	0.025d±0.00	0.019d±0.01	0.025d±0.03
<i>C. aeruginosa</i> Roxb.	0.072d±0.00	0.083d±0.00	0.027d±0.01
<i>Curuma</i> 'Haroinang'	0.037d±0.00	0.025d±0.00	0.006d±0.00
<i>Curuma</i> 'Khamindum'	0.003d±0.00	0.004d±0.00	0.004d±0.00
<i>C. mangga</i> Valetton & Zijp.	0.025d±0.00	0.017d±0.00	0.011d±0.00
F-test	*	*	*
CV	2.61%	9.39%	28.27%

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

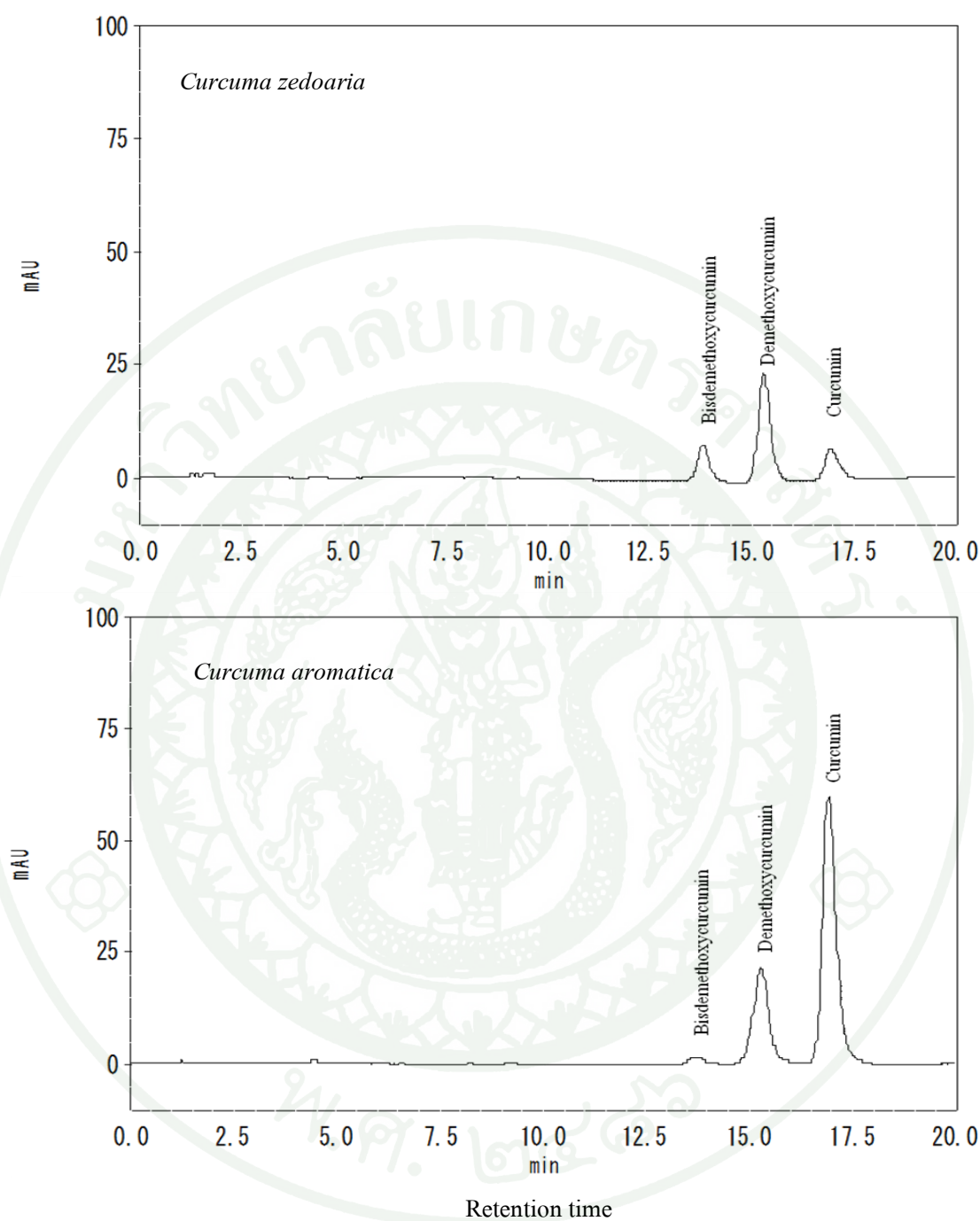
¹ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



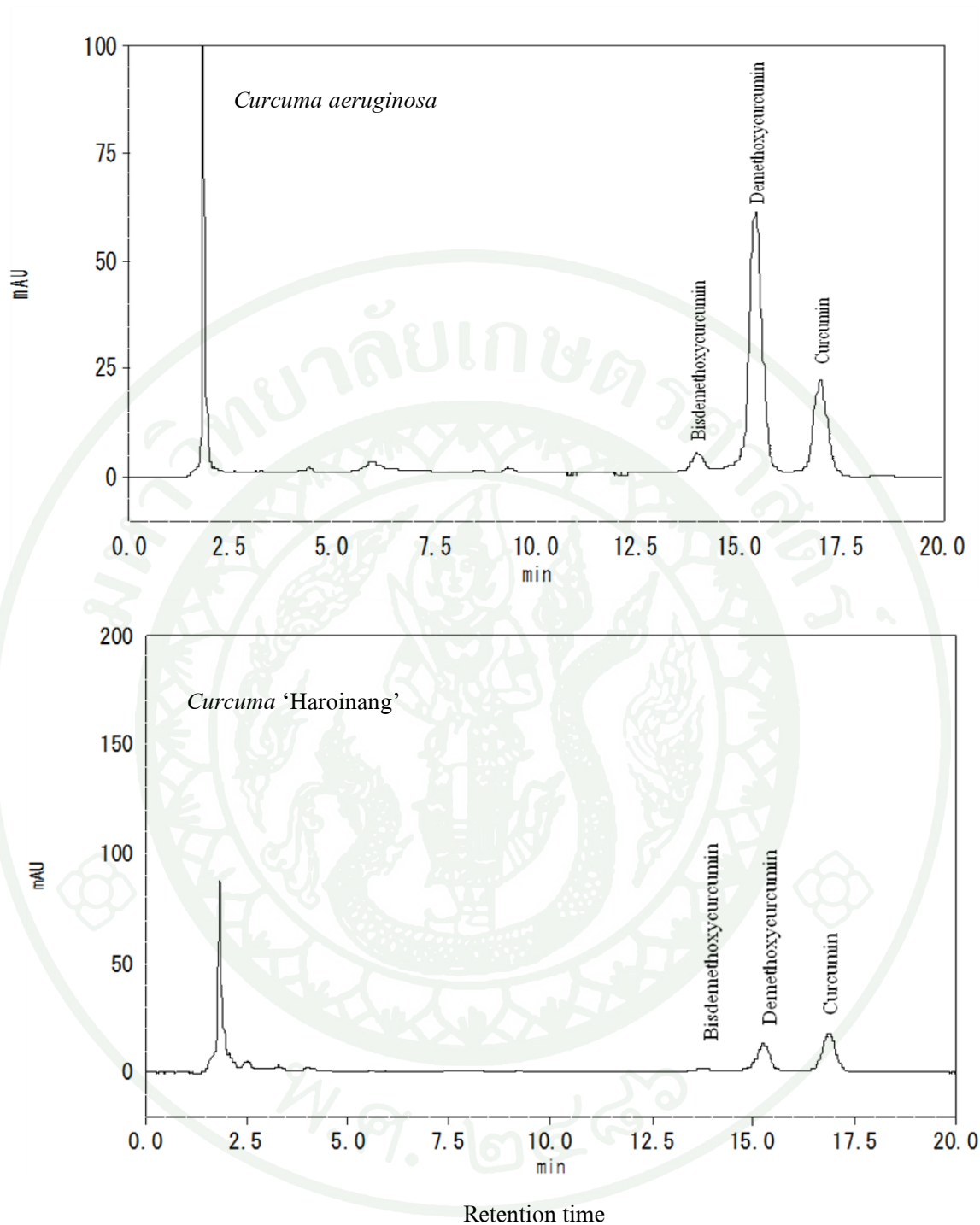
ภาพที่ 8 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และเคอร์คิวมิน วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร



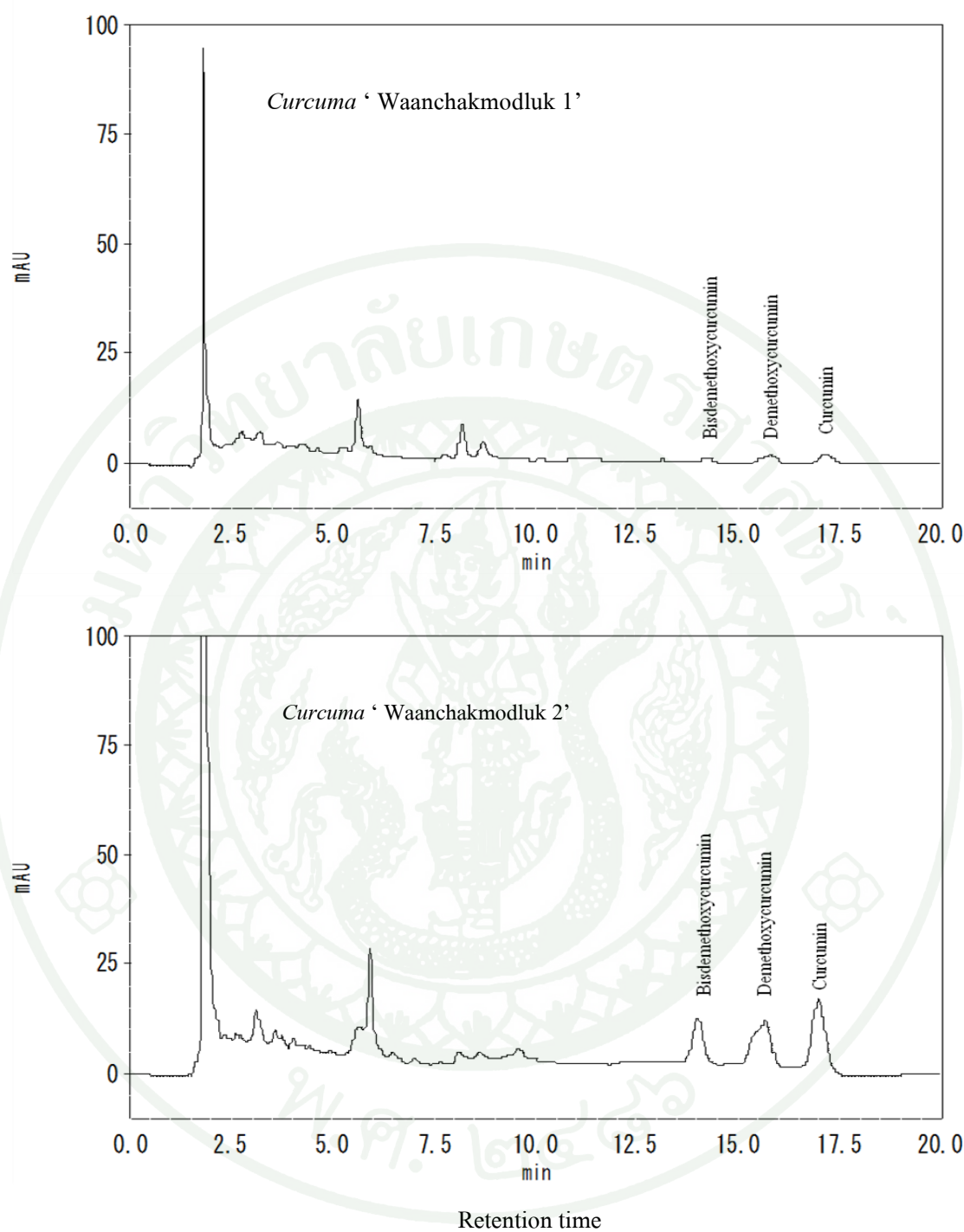
ภาพที่ 9 โครมาโตแกรมของ ขมิ้นชัน (*Curcuma long* L.) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร



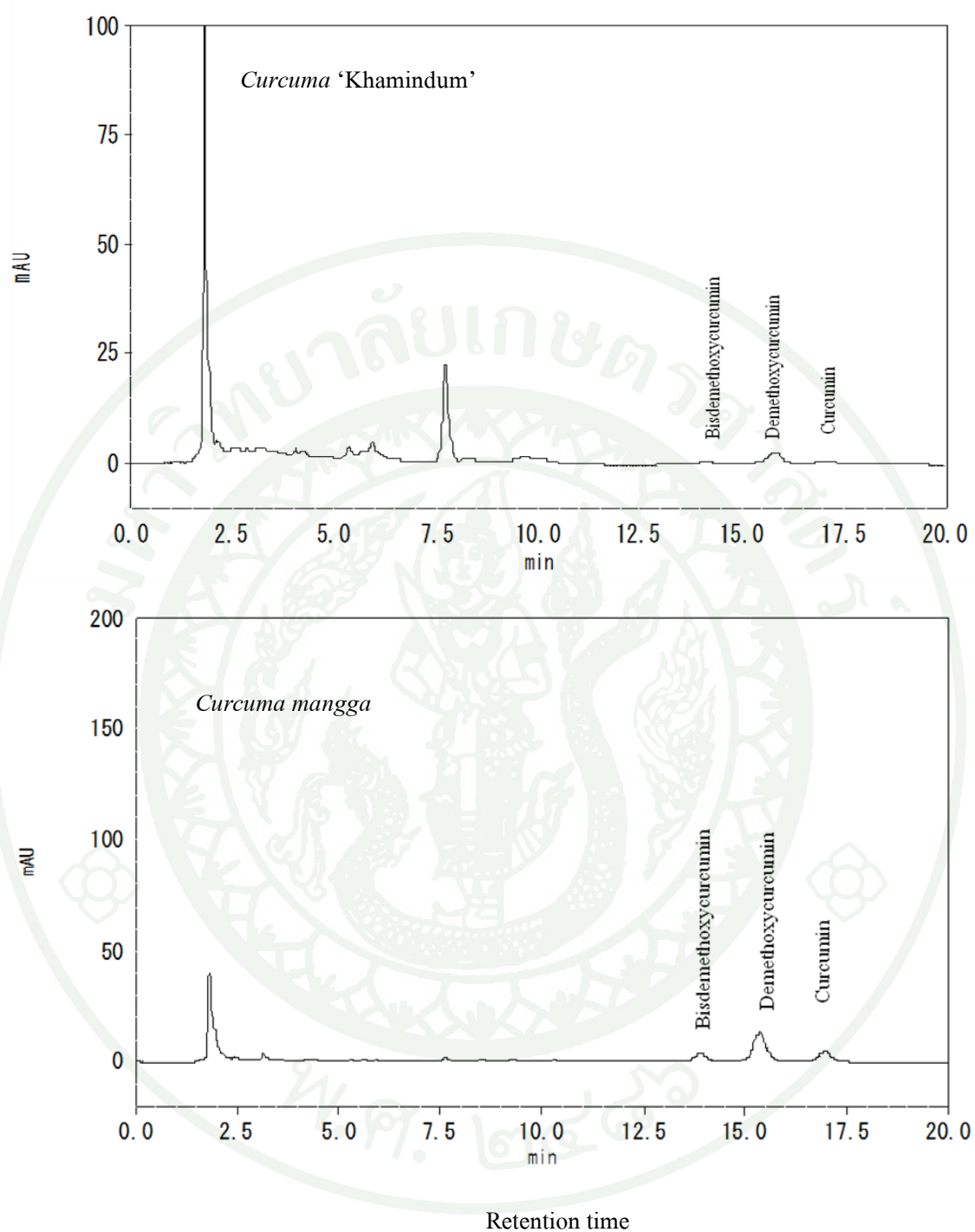
ภาพที่ 10 โครมาโตแกรมของ ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria* Roscoe.)และว่านนางคำ (*Curcuma aromatica* Salisb.) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตรตามลำดับ วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร



ภาพที่ 11 โครมาโตแกรมของ ว่านมหาเมฆ (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) และว่านห้าร้อยนาง (*Curcuma* 'Haroinang') วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 40 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร



ภาพที่ 12 โครมาโตแกรมของ ว่านชักมดลูก 1 (*Curcuma* 'Waanchakmodluk 1') และว่านชักมดลูก 2 (*Curcuma* 'Waanchakmodluk 2') วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 40 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร



ภาพที่ 13 โครมาโตแกรมของ ขมิ้นดำ (*Curcuma 'Khamindum'*) และขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.) วิเคราะห์โดยใช้ปริมาตร 40 ไมโครลิตร วัดที่ความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร

ปริมาณฟีนอลิกรวม

การศึกษาเกี่ยวกับปริมาณสารฟีนอลิกรวม เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสาร ตัวอย่าง หลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ภายใต้สภาวะต่าง (โดยการเติมด้วยโซเดียมคาร์บอเนตซึ่งมีความเป็นกรด-ด่างประมาณ 10) สารประกอบฟีนอลิกจะเกิดการแตกตัวได้เป็นฟีนอลเลทแอนไอออน (phenolate anion) สามารถรีดิวซ์ Folin-Ciocalteu reagent เมื่อสารทั้ง 2 ทำปฏิกิริยากันจะทำให้เกิดสารประกอบสีน้ำเงินขึ้น จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มสำคัญที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในพืชผักสมุนไพรต่าง ๆ จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวม โดยใช้ผงแห้ง ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด มาทำการทดสอบด้วยการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้มาคำนวณเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของสาร Pyrocatechol (ภาพที่ 14) พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดอยู่ในช่วงระหว่าง 6.71 ± 0.36 ถึง 58.62 ± 5.81 mg/g DW (ตารางที่ 4) โดยจากผลการศึกษครั้งนี้พบว่า ปริมาณสารฟีนอลิกรวมของพืชสกุลขมิ้น 9 ชนิดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด (58.62 ± 5.81 mg/g DW) รองลงมาคือ ขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria* Roscoe.) (17.71 ± 0.91 mg/g DW) และว่านหัวร้อยนาง (*Curcuma* 'Haroinang') (14.06 ± 0.27 mg/g DW) ตามลำดับ สุดท้ายคือ ว่านมหาเมฆ (*C. aeruginosa* Roxb.) ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกรมน้อยที่สุด (6.71 ± 0.36 mg/g DW) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนมีค่าเท่ากับ 4.22%

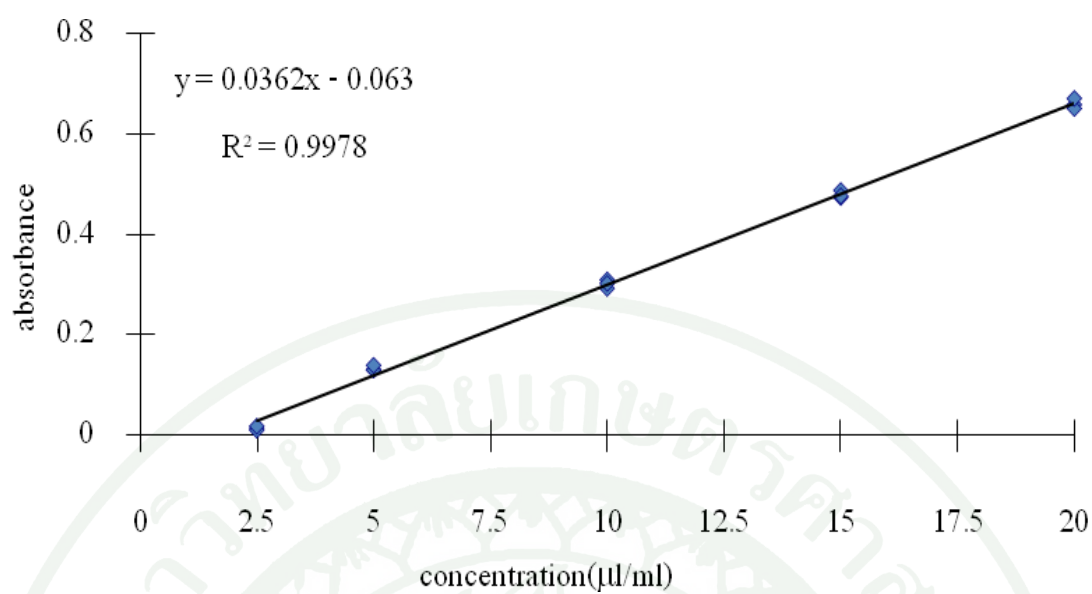
จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) และปริมาณสารฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Pearson's correlation coefficient พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) และปริมาณสารฟีนอลิกรวม มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยมีค่า $r = 0.932$ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยปริมาณฟีนอลิกรวมของพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

<i>Curcuma</i> species	ค่า Total Phenolic content (mg/gDW)
ขมิ้นชัน (<i>C. longa</i> L.)	58.62a±5.81
ขมิ้นอ้อย (<i>C. zedoaria</i> Roscoe.)	17.71b±0.91
ว่านนางคำ (<i>C. aromatica</i> Salisb.)	11.88c±0.25
ว่านชักมดลูก 1 (<i>Curcuma</i> 'Waanchakmodluk 1')	8.67e±0.47
ว่านชักมดลูก 2 (<i>Curcuma</i> 'Waanchakmodluk 2')	11.77c±0.38
ว่านมหาเมฆ (<i>C. aeruginosa</i> Roxb.)	6.71e±0.36
ว่านหัวร่อนนาง (<i>Curcuma</i> 'Haroinang')	14.06c±0.27
ว่านขมิ้นดำ (<i>Curcuma</i> 'Khamindum')	10.99cd±0.04
ขมิ้นขาว (<i>C. mangga</i> Valetton & Zijp.)	8.59e±0.39
F-test	*
CV	4.22%

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

¹ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 14 กราฟมาตรฐานของสาร Pyrocatechol วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ และสารฟีนอลิกรวมของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด

จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ และสารฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Pearson's correlation coefficient พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสกุลขมิ้นที่ศึกษามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกกับ สารเคอร์คิวมินอยด์ ($r=0.804$) สารเคอร์คิวมิน (curcumin) ($r=0.897$) สารบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) ($r=0.921$) สารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) ($r=0.972$) และสารฟีนอลิกรวม ($r=0.932$) แสดงให้เห็นว่าพืชสกุลขมิ้นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงย่อมมีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ สารเคอร์คิวมิน บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และสารฟีนอลิกรวมสูงเช่นกัน

ค่าความสัมพันธ์ (r) ระหว่างสารเคอร์คิวมินอยด์ กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารเคอร์คิวมิน (curcumin) สารบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) สารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 0.804, 0.511, 0.58, 0.768 และ 0.618 ตามลำดับ

ค่าความสัมพันธ์ (r) ระหว่างสารเคอร์คิวมิน (curcumin) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารเคอร์คิวมินอยด์ สารบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) สารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 0.897, 0.511, 0.984, 0.931 และ 0.98 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างสารเคอร์คิวมิน กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และสารฟีนอลิกรวมมีค่าสูง และมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก

ค่าความสัมพันธ์ (r) ระหว่างสารบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารเคอร์คิวมินอยด์ สารเคอร์คิวมิน (curcumin) สารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 0.921, 0.58, 0.984, 0.941 และ 0.99 ตามลำดับ

ค่าความสัมพันธ์ (r) ระหว่างสารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxy curcumin) กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารเคอร์คิวมินอยด์ สารเคอร์คิวมิน (curcumin) สารบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) และสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 0.972, 0.768, 0.931, 0.941 และ 0.953 ตามลำดับ

ค่าความสัมพันธ์ (r) ระหว่างสารฟีนอลิกรวม กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารเคอร์คิวมินอยด์ สารเคอร์คิวมิน (curcumin) สารบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) และ สารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) เท่ากับ 0.932, 0.618, 0.980, 0.99 และ 0.953 ตามลำดับ สารฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารเคอร์คิวมิน สารบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และ สารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ในเชิงบวก (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ และสารฟีนอลิกรวม ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด

	IC ₅₀	Curcuminoid	Curcumin	Bisdemethoxy curcumin	Demethoxy curcumin	Phenolic compound
IC ₅₀	1					
Curcuminoid	0.804**	1				
Curcumin	0.897**	0.511**	1			
Bisdemethoxycurcumin	0.921**	0.580**	0.984**	1		
Demethoxycurcumin	0.972**	0.768**	0.931**	0.941**	1	
Phenolic compound	0.932**	0.618**	0.980**	0.990**	0.953**	1

** Correlation is significant at the 0.01 levels (2-tailed)

วิจารณ์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidation) คือสารประกอบเคมีซึ่งสามารถลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับสาร ตัวกลาง ได้แก่ จำพวกอนุมูลอิสระและหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยตรง หรือทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยับยั้งปฏิกิริยาต่อไป (Pokorny *et al.*, 2000) โดยสารเคมีที่นิยมนำมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ สาร DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดยสาร DPPH มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระถาวร (permanent free radical) นิยมใช้เป็นตัวทดสอบกิจกรรมการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ในพืชและจุลินทรีย์ (Choi *et al.*, 2002) โดยการทำปฏิกิริยาของสาร DPPH คือ ถ้าสารสกัดที่ต้องการทดสอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนสีของสารละลาย DPPH จากสีม่วงไปเป็นสีเหลือง และลดการดูดกลืนแสง UV ของสารละลาย DPPH เมื่อวัดการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น เท่ากับ 517 นาโนเมตร (Blois, 1958) เนื่องจากสารละลาย DPPH สามารถดูดกลืนในช่วงแสงนี้ได้ดีที่สุด ดังนั้นเมื่อค่าการดูดกลืนคลืนแสงของสารละลาย DPPH เปลี่ยนแปลงไป แสดงว่ามีสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ มาจับกับสารละลาย DPPH ซึ่งสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงของสีของสารละลายจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ข้อดีของการทดสอบโดยใช้สาร DPPH ถือว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูลอิสระของสาร DPPH มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะ หรือจัดอันดับอนุมูลอิสระที่ความไวสูงได้ (โอภาและคณะ, 2549)

จากการทดลองพบว่า ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สูงที่สุด และขมิ้นขาว (*C. mangga* Valetton&Zijp.) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Thaikert and Paisooksantivatana (2009) ซึ่งศึกษาหาปริมาณของสารเคอร์คิวมินอยด์ในขมิ้นชันจำนวน 67 ตัวอย่าง และขมิ้นขาว 1 ตัวอย่าง วิเคราะห์ปริมาณสารในเหง้าทั้งก่อนปลูกและหลังปลูก พบว่าก่อนปลูกตัวอย่างขมิ้นชันที่เก็บมาจากภาคกลางมีค่า EC_{50} สูงสุด (8.04 ± 3.77 mg/ml) และเมื่อนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หลังปลูกที่อายุการเก็บเกี่ยว 6 เดือน พบว่าปริมาณ EC_{50} จากตัวอย่างภาคกลางมีค่าเท่ากับ 12.91 ± 6.02 mg/ml นอกจากนี้พบว่า ขมิ้นขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำมาก ซึ่งไม่สามารถวัดค่า EC_{50} ได้ทั้งก่อนและหลังปลูก จากนั้นมีการวิเคราะห์ระหว่างปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมี

ความสัมพันธ์กันในเชิงบวกที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ค่า $r = 0.582$ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองนี้เช่นเดียวกัน

จากการศึกษาพบว่าพืชกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง ประกอบด้วย ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย ว่านนางคำ และว่านชักมดลูก 1 และ 2 เป็นพืชสกุลขมิ้นที่มีการนำไปใช้ทางด้านพืชสมุนไพรอย่างแพร่หลาย

Cousins *et al.* (2007) รายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ขมิ้นชัน (*C. longa*) ซึ่งปลูกโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ในตัวอย่างสด ค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 3.15-4.542 g/l และตัวอย่างแห้ง ค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 5.82-9.258 g/l ขมิ้นชันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และตัวอย่างสดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าตัวอย่างแห้ง ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษามีค่าใกล้เคียงกับการทดลองนี้

Al-Reza *et al.* (2010) ศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใน ว่านนางคำ (*Curcuma aromatica* Salisb.) พบว่าการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดตัวอย่างของว่านนางคำ โดยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 14.45 และ 16.58 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับซึ่งค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับการทดลองนี้

ขมิ้นดำจัดได้ว่าเป็นพืชสมุนไพรไทยที่น่าสนใจ เนื่องจากมีสีเหลืองที่ต่างจากพืชสกุลขมิ้นชนิดอื่น เนื้อหามีสีม่วงถึงสีดำ (ภาพผนวกที่ 8) มีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ในกลุ่มที่ 2 ซึ่งสีม่วงในเหง้าของขมิ้นดำ อาจจะเป็นสารกลุ่มฟีนอลิก จำพวก แอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่ทำให้เกิดสีแดงจนถึงสีม่วงน้ำเงิน ในพืช สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ราก ลำต้น ใบ และใบประดับ (สรัญญา, 2549) ซึ่งสารแอนโทไซยานินจัดได้ว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้ได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และโครงสร้างของสารแอนโทไซยานินด้วยเช่นกัน (Kong *et al.*, 2003) แต่เนื่องจากในปัจจุบันไม่มีรายงานถึงการศึกษาสารที่ทำให้เกิดสีในเหง้าของขมิ้นดำว่าเกิดจากสารจำพวกแอนโทไซยานิน หรือไม่ จึงสรุปไม่ได้ว่าสีในเหง้าของขมิ้นดำเกิดจากสารแอนโทไซยานิน และมีส่วนช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ จำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาสารกลุ่มที่ทำให้เกิดสีในเหง้าของขมิ้นดำต่อไปในอนาคต

ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoid); เคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin)

การวิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer เป็นการทดลองที่มีวิธีการค่อนข้างง่าย ได้ผลเร็วไม่ยุ่งยาก จึงเหมาะสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์โดยรวม ซึ่งอาศัยการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตรซึ่งเป็นคลื่นแสงที่ใช้วัดสีเหลือง ส่วนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC เป็นการวิเคราะห์โครมาโตกราฟฟีซนิกคอลัมน์แต่มีสารดูดซับขนาดเล็ก ใช้แรงดัน 5,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เทคนิคนี้มีประสิทธิภาพสูงในการแยกองค์ประกอบฟีนอลิกของสารสกัดพืช เทคนิค HPLC เป็นวิธีการที่ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อยกว่า 50 นาโนกรัมก็สามารถแยกได้ และเทคนิค HPLC สามารถใช้ในการวิเคราะห์สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้เทคนิคนี้ยังช่วยให้ลดระยะเวลาในการทำงาน และง่ายต่อการปฏิบัติซึ่งได้ผลที่ละเอียด และแม่นยำ (Pfeiffer *et al.*, 2003) โดยในการศึกษาครั้งนี้การทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ด้วยวิธีการทั้งสองวิธีก็ให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกัน

สารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoid) เป็นสารสีเหลืองซึ่งอยู่ในกลุ่มของสารกลุ่มฟีนอลิก (polyphenolic compound) ซึ่งมีชื่อทางเคมีว่า diferuloylmethane (Nishinaka *et al.*, 2007) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างหลักคือ เคอร์คิวมิน (curcumin) ซึ่งจากการศึกษาพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดพบว่า ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) เป็นสกุลที่มีสารสำคัญในกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ ในปริมาณมากที่สุด ประกอบด้วยมีปริมาณเคอร์คิวมิน มากที่สุด รองลงมาคือ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ตามลำดับ ซึ่งปริมาณของเคอร์คิวมิน บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ที่ศึกษาสอดคล้องกับการทดลองของ สิงห์คำ และคณะ (2551) ซึ่งศึกษาถึงความสามารถของสาร ทั้ง 3 ชนิดนี้ ในการลดระดับวิลมัทูเมอร์วัน เอ็มอาร์เอ็นเอ และโปรตีนวิลมัทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็ง รายงานว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์ทั้ง 3 ชนิด พบว่า เคอร์คิวมินมีความสามารถสูงสุดในการลดระดับของทั้งวิลมัทูเมอร์เอ็มอาร์เอ็นเอ และโปรตีนวิลมัทูเมอร์วัน รองลงมาคือ บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองนี้เป็นไปได้ว่าลักษณะโครงสร้างทางโมเลกุลของสารสกัดทั้งสามชนิดที่แตกต่างกัน มีผลต่อฤทธิ์ของสารสกัดทั้งสามชนิด โดยโครงสร้างของโมเลกุลของเคอร์คิวมินจะประกอบด้วยส่วนที่สำคัญสามส่วน คือ hydroxyl group ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนที่สอง คือ ketone groups และ ส่วนที่สามคือ double bond ซึ่งส่วนของ ketone groups และ double bond มีคุณสมบัติเกี่ยวกับการทำหน้าที่ด้านการอักเสบ ด้านสารก่อกลายพันธุ์ และต้านมะเร็ง ส่วนโครงสร้างของดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน พบว่ามีหมู่ methoxyl เพียง 1 ตำแหน่ง ในขณะที่บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมินไม่มีหมู่ methoxyl เหตุผลที่สารดีเมท

ออกซีเคอร์คิวมิน มีความสามารถในการลดระดับของทั้งวิลมัทูเมอร์เอ็มอาร์เอ็นเอ และโปรตีนวิลมัทูเมอร์วัน น้อยที่สุดเนื่องจากที่ สารดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน มีหมู่ methoxy1 เพียง 1 ตำแหน่งทำให้เกิดความไม่สมดุลของโครงสร้าง สอดคล้องกับการทดลองที่ศึกษาพบว่า ขมิ้นชัน มีปริมาณสารเคอร์คิวมินสูงจึงทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุด

เนื่องจากวิธีการทดลองได้ใช้ผงของพืชสกุลขมิ้นที่ผ่านการอบด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมาใช้ในการทำการทดลองจึงเป็นปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ในพืชสกุลขมิ้นที่มีปริมาณต่ำ เพราะสารเคอร์คิวมิน และอนุพันธ์ไวต่อความร้อน (Buescher and Yang, 2000) สารสลายไปเมื่อโดนความร้อน และมีผลทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง ด้วยเช่นกัน

จากการศึกษาพืชสกุลขมิ้นหลายชนิดโดยการใช้เทคนิค HPLC พบว่า มีปริมาณของสารเคอร์คิวมิน บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน ในปริมาณที่น้อยซึ่งแสดงให้เห็นว่าในพืชสกุลขมิ้นชนิดต่างๆ อาจจะมีสารอื่นในปริมาณที่มากกว่าสารเคอร์คิวมิน บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน และดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน เช่น มีรายงานการแยกสารประกอบจาก ว่านมหาเมฆ (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) ซึ่งประกอบด้วยสารหลายชนิดจำพวก guaiane sesquiterpene lactones (Takano *et al.*, 1995) aerugidiol, borneol, isoborneol, camphene, caryophyllene, 1,8-cineol, curcumene, curcumenol, isocurcumenol, curcumin, bis-demethoxycurcumin, demethoxycurcumin, curdione, dehydrocurdione, curzerene, curzerenone, furanodienone, furanogermenone, germacrone, (+)-germacrone-4(S)-5(S)-epoxide, (+)-germacrone-4-5(S)-epoxide, limonene, α -pinene, β -pinene, terpinen, turmerone, AR-turmerone, zederone, zedoalactone A, zedoalactone B และ zedoarondiol (นันทวัน และอรนุช, 2539)

ปริมาณฟีนอลิกรวม

สารประกอบฟีนอลิกจัดได้ว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มหลักในพืชสมุนไพร (Pokorny *et al.*, 2000) โดยสารประกอบฟีนอลิกในพืชนั้นผลิต ขึ้นโดยระบบป้องกันตัวเองของพืชจากโรค และสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิก มีหมู่ฟีนอลบนวงเบนซีน มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ จึงจัดว่ามีความสามารถช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้น (Hu and Kitts, 2000) พืชในธรรมชาตินั้นโดยปกติมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติ และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันแตกต่างกันไปตามโครงสร้างและองค์ประกอบภายในโครงสร้างของสารประกอบนั้น

จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกรวมของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิดพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์กันเชิงบวกมีแนวโน้มไปทางเดียวกันค่า $r = 0.932$ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Surveswaran *et al.* (2007) ซึ่งศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรอินเดีย 133 ชนิดใน 64 วงศ์ โดยทำการวิเคราะห์ด้วยสาร ABTS, DPPH และ FRAP และวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยสาร Folin–Ciocalteu reagent พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชที่วิเคราะห์ด้วยสาร ABTS มีค่าอยู่ในช่วง 0.16 ถึง 500.70 mmol TEAC/100 g DW ส่วนการทดสอบด้วยสาร DPPH และ FRAP ก็ให้ผลการทดลองใกล้เคียงกัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกรวมของพืชที่ศึกษามีความสัมพันธ์กันเชิงบวก ($r = 0.89-0.97$) ซึ่งบอกได้ว่า ฟีนอลิกคือสารประกอบสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่กล่าวถึงสารประกอบฟีนอลิกว่าเป็นส่วนประกอบหลักของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพร ผัก และผลไม้ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กันโดยตรง (Dorman *et al.*, 2004) จากการศึกษาพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมซึ่งศึกษาในพืชสกุลขมิ้นที่ต่างชนิดกัน 9 ชนิด มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมในแต่ละชนิดแตกต่างกัน เนื่องจากปัจจัยเรื่องชนิด (species) ของพืชมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของพืชแต่ละชนิด (มนต์วุฒิ, 2552)

ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ และสารฟีนอลิกรวมของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด

จากผลการทดลองพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ และสารฟีนอลิกรวม ของพืชสกุลขมิ้น ที่ศึกษา มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jayaprakasha *et al.* (2006) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาร เคอร์คิวมิน (curcumin) บิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) และดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) ได้รายงานเปรียบเทียบความสารถในการต้านอนุมูลอิสระของทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารเคอร์คิวมิน (curcumin) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxy curcumin) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด มีรายงานถึงสารประกอบหลักของ ขมิ้นชัน (*C. longa*) สารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งสารเคอร์คิวมินเป็นสารที่รู้จักกันดี และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงมาก (Miquel *et al.*, 2002)

สารฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มใหญ่ในพืช และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดย Cai *et al.* (2004) รายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารฟีนอลิกในพืชสมุนไพรโบราณ กลุ่มที่มีคุณสมบัติในการต้านมะเร็งของจีน 112 ชนิด ประกอบด้วย 50 วงศ์ พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารฟีนอลิกของพืชสมุนไพรที่ศึกษา มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก โดยค่า $R^2 \geq 0.95$ แสดงให้เห็นว่าสารฟีนอลิกในพืชสมุนไพรที่ศึกษา มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และเมื่อวิเคราะห์สารฟีนอลิก พบว่าประกอบด้วย phenolic acids, flavonoids, tannins, coumarins, lignans, quinones, stilbenes และ curcuminoids พืชสมุนไพรโบราณของจีนที่ศึกษามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งนี้ยังมีสารฟีนอลิกในปริมาณที่มากกว่าผัก และผลไม้โดยทั่วไป สอดคล้องกับการศึกษาของ Javanmardi *et al.* (2003) รายงานความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารฟีนอลิกของ Basil (*Ocimum basilicum* L.) ที่ศึกษาพบว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก โดยค่า $R^2 = 0.71$

สรุป

1. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) ทั้ง 9 ชนิดโดยวิธี DPPH พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) อยู่ในช่วงระหว่าง 240 ± 20.00 ถึง 3.16 ± 0.27 mg/ml จากการศึกษายขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และขมิ้นขาว (*C. mangga* Valetton & Zipp) คือพืชสกุลขมิ้นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม โดยใช้ผงแห้งของพืชสกุลขมิ้น พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วงระหว่าง 6.71 ± 0.36 ถึง 58.62 ± 5.81 mg/g DW ขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด และว่านมหาเมฆ (*C. aeruginosa* Roxb.) มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์โดยวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.012 ± 0.09 ถึง 13.164 ± 0.44 mg/g DW ซึ่งพบว่าขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์สูงสุด และขมิ้นดำ (*Curcuma* 'Khamindum') คือชนิดที่มีปริมาณสารเคอร์คิวมินอยด์ต่ำที่สุด

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) พบว่า ปริมาณสารเคอร์คิวมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (bisdemethoxycurcumin) ของพืชสกุลขมิ้นทั้ง 9 ชนิด อยู่ในช่วงระหว่าง 0.003 ถึง 87.551 ± 9.19 , 0.004 ถึง 20.229 ± 2.29 และ 0.004 ถึง 74.261 ± 6.87 mg/g ตามลำดับ ขมิ้นชัน (*C. longa* L.) มีปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ทั้ง 3 ชนิดมากที่สุด และขมิ้นดำ (*Curcuma* 'Khamindum') คือพืชสกุลขมิ้นที่มีปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ทั้ง 3 น้อยที่สุด ผลการศึกษาหาปริมาณสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC และวิธีวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer เป็นไปทางเดียวกัน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ทรงยศ อนุชปรีดา. 2545. ผลของเคอร์คิวมินอยด์จากขมิ้นชันต่อการทำงานของโปรโมเตอร์ของยีนเอ็มดีอาร์ 1 และหน้าที่ของพี-กลัยโคโปรตีนในเซลล์มะเร็งปากมดลูกของมนุษย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นพพร ปลายวัฒน์วิไชย และสาโรชคำเจริญ. 2550. ผลของการส่งเสริมสมุนไพรขมิ้นชันผงที่มีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตคุณภาพซาก และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรคในไก่. วารสารวิจัย มข. (บศ.) 7 (2): 33-40.

นันทวัน บุญยะประภัศร และ อรุณ โชคชัยเจริญพร. 2539. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 1. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. บริษัทประชาชน จำกัด, กรุงเทพฯ.

ปรีชา บุญจุง, วิภาวี เสาหิน, วิรัตน์ จันทร์ศรี, บัณฑิต กิตติจารุขจร, พรหมินทร์ ไกรยสินธุ์ และ สุลักษณ์ มะลิทอง. 2549. การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในแคปซูลขมิ้นชันและฟ้าทะลายโจรโดยใช้โครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง. Thai Pharmaceutical and Health Science Journal 1(2): 45-55.

พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. 2539. พืชวงศ์ขิง-ข่าของประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการพฤกษศาสตร์ เรื่องทรัพยากรพืชของเชิงเขาหิมาลัย, เชียงใหม่.

_____. 2544. พรรณพืชวงศ์ขิงของไทย, น.63-77 ใน รายงานการวิจัยในโครงการ BRT 2544. โครงการ BRT, กรุงเทพฯ.

มนต์วุฒิ หุ่นเจริญ. 2552. ผลของสายพันธุ์ และระยะเวลาการเจริญเติบโตต่อสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของผลหม่อน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2544. มาตรฐาน สมุนไพรไทย เล่มที่ 2 เรื่อง ขมิ้นชัน, กรุงเทพฯ.

สร้อยญา วัชรโรทัย. 2549. **พฤษกษเคมี**. เอกสารประกอบคำสอนวิชา 401561. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิงห์คำ ธิมา. 2549. **ผลของสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์จากขมิ้นชันต่อการแสดงออกของยีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สิงห์คำ ธิมา, ประสิทธิ์ ชนะรัตน์, ชฎารัตน์ ดวงรัตน์, พรงาม ล้อมตระกูล และทรงยศ อนุชปรีดา. 2551. เคอร์คิวมินอยด์ยับยั้งยีนวิล์มทูเมอร์วันในมะเร็งเม็ดเลือดขาว . **สงขลานครินทร์เวชสาร** 26 (1): 1-13.

โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดต์สินทอง. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์พี. เอส.พรีนท์, นนทบุรี.

Al-Reza, S. M., A. Rahman, M.A. Sattar, M. O. Rahman and H. M. Fida. 2010. Essential oil composition and antioxidant activities of *Curcuma aromatica* Salisb. **Food and Chemical Toxicology** 48: 1757–1760.

Amic, D., D. Davidovic-Amic, D. Beslo and N. Trinajstic. 2003. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **Croatica Chemica Acta**. 76 (1): 55-61.

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature** 181: 1199-1200.

Buescher, R. and L. Yang. 2000. Turmeric. In Lauro, G.L. and F.J. Francis, eds. **Natural Food Colorants: Science and Technology**. Marcel Dekker, New York, pp. 205-226.

Cai, Y., Q. Luo, M. Sun and H. Corke. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences** 74: 2157-2184.

- Chan, E.W.C., Y.Y. Lim, L.F. Wong, F.S. Lianto, S.K. Wong, K.K. Lim, C.E. Joe and T.Y. Lim. 2008. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizome of ginger species. **Food Chemistry** 109: 477-483.
- 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. **Journal of Environmenal Pathology, Toxicology and Oncology** 23(3): 227-236.
- Choi, C.W., S.C. Kim, S.S. Hwang, B.K. Choi, H.J. Ahn, M.Y. Lee, S.H. Park and S.K. Kim. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korea medicinal plants and flavonoids by assay guided comparison. **Plant Science** 163: 1161-1168.
- Cousins, M., J. Adelberg, F. Chen and J. Rieck. 2007. Antioxidant capacity of fresh and dried rhizomes from four clones of turmeric (*Curcuma longa* L.) grown in vitro. **Industrial Crops and Products** 25: 129-135.
- Dorman, H. J. D., O. Bachmayer, M. Kosar and R. Hiltunen. 2004. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. **J. Agric. Food Chem.** 52: 762-770.
- Grayer, R.J. 1989. **Method in Plant Biochemistry**. Vol.1 Plant Phenolic. Chapter 8. Flavonoids. School of Plant Sciences. University of Reading, UK.
- Hang, T. T. M., M. Shigyo, S. Yaguchi, N. Yamauchi and Y. Tashiro. 2004. Effect of single alien chromosome from shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group) on carbohydrate production in leaf blade of bunching onion (*A. fistulosum* L.). **Genes Genet. Syst.** 79: 345-350.
- Harborne, J.B. 1989. **Method in Plant Biochemistry**. Vol.1 Plant Phenolic. Plant Science Laboratories. University of Reading, UK.

Herrmann, K. 1988. On the occurrence of flavonol and flavone glycoside in vegetables.

Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A. 186 (1): 1–5.

Holttum, R.E. 1950. **The Zingiberaceae of the Malay Peninsula.** Gard. Bull. Singapore. 13: 1-249.

Hu, C. and D.D. Kitts. 2000. Studies on the antioxidant activity of *Echinacea* root extract. **J. Agric. Food Chem.** 48 (5): 1466-1472.

Jadhav, B.-K., K.-R. Mahadik and A.-R. Paradkar. 2007. Development and validation of improved reversed phase-HPLC method for simultaneous determination of curcumin, demethoxycurcumin and bis-demethoxycurcumin. **Chromatographia** 65: 483-488.

Javanmardi, J., C. Stushnoff, E. Locke and J.M. Vivanco. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. **Food Chemistry** 83: 547–550.

Jayaprakasha, G.K., L. J. Rao and K.K. Sakariah. 2006. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. **Food Chemistry** 98: 720–724.

Kong, J.-M., L.-S. Chia, N.-K. Goh, T.-F. Chia and R. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry** 64 (5): 923–933.

Larson, R. A. 1988. The antioxidant of higher plants. **Phytochemistry** 27: 969-978.

Makboon, K. 2000. **Chemical constituents of *Curcuma mangga* rhizome.** Thesis (M.Sc. in Pharm), Chulalongkorn University.

Masuda, T., D. Yamashita, Y. Takeda and S. Yonemori. 2005. Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry** 69: 197-201.

- Miquel, J., A. Bernd, J. M. Sempere, J. Diaz-Alperi and A. Ramiraz. 2002. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects future clinical use. A review. **Archives of Gerontology and Geriatrics** 34(1): 37-46.
- Nishinaka, T., Y. Ichijo, M. Ito, M. Kimura, M. Katsuyama, K. Iwata, T. Miura, T. Terada and C. Yabe-Nishimura. 2007. Curcumin activates human glutathione *S*-transferase P1 expression through antioxidant response element. **Toxicology Letters** 170: 238-247.
- Niumsakul, S., A. Hirunsaree, S. Wattanapitayakul, N. Junsuwanitch and K. Prapanupun. 2007. An antioxidative and cytotoxic substance extracted from *Curcuma comosa* Roxb. **Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine** 5 (1): 24-29.
- Pfeiffer, E., S. Hohle, A. M. Solyom and M. Metzler. 2003. Studies on the stability of turmeric constituents. **Journal of Food Engineering** 56: 257-259.
- Pietta, P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Product** 63: 1035-1042.
- Pokorny, J., N. Yanishieava and M. Gordon. 2000. **Antioxidant in food**. Woodhead Publishing Limited, England.
- Ramirez-Ahumada, M. d. C., B. N. Timmermann and D. R. Gang. 2006. Biosynthesis of curcuminoids and gingerols in turmeric (*Curcuma longa*) and ginger (*Zingiber officinale*): Identification of curcuminoid synthase and hydroxycinnamoyl-CoA thioesterases. **Phytochemistry** 67: 2017-2029.
- Ruslay S., F. Abas, K. Shaari, Z. Zainal, Maulidiani, H. Sirat, D. A. Israf and N. H. Lajis. 2007. Characterization of the components present in the active fractions of health gingers (*Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber zerumbet*) by HPLC–DAD–ESIMS. **Food Chemistry** 104: 1183-1191.

- Sasikumar, B. 2005. Genetic resources of *Curcuma*: diversity, characterization and utilization. **Plant Genetic Resources**. 3 (2): 230-251.
- Srvidya, A.R., A. K. Yadev and S.P. Dhanbal. 2009. Antioxidant and antimicrobial activity of rhizome of *Curcuma aromatica* and *Curcuma zedoaria*, Leaves of *Abutilon Indicum*. **Arch Pharm Sci & Res**. 1 (1): 14-19.
- Surveswaran, S., Y.Z. Cai, H. Corke and M. Sun. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry** 102: 938-953.
- Takano, I., I. Yasuda, K. Takeya and H. Itokawa. 1995. Guaiane sesquiterpene lactones from *Curcuma aeruginosa*. **Phytochemistry** 40 (4): 1197-1200.
- Thaikert, R. and Y. Paisooksantivatana. 2009. Variation of total curcuminoids content, antioxidant activity and genetic diversity in Turmeric (*Curcuma longa* L.) collections. **Kasetsart Journal (Natural Science)** 43 (3): 507-518.
- Thongchai, W., B. Liawruangrath and S. Liawruangrath. 2009. Flow injection analysis of total curcuminoids in turmeric and total antioxidant capacity using 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay. **Food Chemistry** 112: 494-499.
- Ungphaiboon, S., T. Supavita, P. Singchangchai, S. Sungkarak, P. Rattanasuwan and A. tharat. 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.
- Yaguchi S., N. Yamauchi and M. Shigyo. 2009. Single Alien Chromosome Additions from Shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group) Increase Endogenous Polyphenol Contents in Japanese Bunching Onion. **J. Japan. Soc. Hort. Sci.** 78 (4): 431-435.
- 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.



ตารางผนวกที่ 1 ปริมาตรของสารสกัด และปริมาตรของเอทานอลที่ใช้ในการเจือจางปริมาตรรวม
2 มิลลิลิตร ในการทดลองหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ความเข้มข้นของสารสกัด	ปริมาตรสารตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	ปริมาตรเอทานอล (มิลลิลิตร)
1X	2	0
2X	1	1
3X	0.66	1.34
4X	0.50	1.50
5X	0.40	1.60
6X	0.33	1.67
7X	0.29	1.71
8X	0.25	1.75
9X	0.22	1.78
10X	0.20	1.80



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*)



ภาพผนวกที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*)



ภาพผนวกที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ว่านนางคำ (*Curcuma aromatica* Salisb.)



ภาพผนวกที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ว่านชักมดลูก 1 (*Curuma* 'Waanchakmodluk 1')



ภาพผนวกที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ว่านชักมดลูก 2 (*Curuma* 'Waanchakmodluk 2')



ภาพผนวกที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ว่านมหาเมฆ (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)



ภาพผนวกที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ว่านห้าร้อยนาง (*Curcuma* 'Haroinang')



ภาพผนวกที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นดำ (*Curcuma* 'Khamindum')



ภาพผนวกที่ 9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเหง้า ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวจุฑามาศ ส่องแสง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	3 มกราคม 2529
สถานที่เกิด	ภูเก็ต
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์เกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-