

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในสุกรของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากเหง้าพืชสมุนไพรที่รับประทานได้ในวงศ์ Zingiberaceae 3 ชนิด ได้แก่ ข่า ขมิ้นชัน และไพล โดยเริ่มจากการรวบรวมเหง้าของพืชทั้งสามชนิดจากบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย จากนั้นทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยออกจากเหง้าสดของพืชแต่ละชนิด โดยการกลั่นโดยใช้ไอน้ำ ส่วนสารสกัดหยาบเตรียมจากผงแห้งของเหง้าพืชโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ผลของการสกัดพบว่าปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้าข่า ขมิ้นชัน และไพล มีค่าเท่ากับ 0.2, 0.2, และ 0.3% ของน้ำหนักเหง้าสดของพืชตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบจากเอธานอลของพืชทั้งสามได้ปริมาณมากกว่าน้ำมันหอมระเหยมาก และมีลักษณะเป็นของแข็งแข็ง มีสีแตกต่างกันตามชนิดของพืช ส่วนน้ำมันของพืชทั้งสามมีลักษณะเป็นของเหลวใสมีสีแตกต่างกัน

การศึกษากิจกรรมต้านออกซิเดชัน ได้ใช้วิธีทดสอบ 2 วิธี คือวิธี ABTS และ วิธี FRAP ซึ่งเป็นวิธีที่วัดความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ และวัดความสามารถในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันตามลำดับ ค่าที่วัดได้เรียกว่าค่า TEAC และ EC ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิดสามารถต้านออกซิเดชันได้ในอัตราเร็วที่แตกต่างกัน เมื่อถึงภาวะสมดุลสำหรับทุกตัวอย่างทดสอบคือที่ 45 นาที จะได้ค่า TEAC และ EC ที่ถูกต้องสามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ ผลการทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากข่าและไพลสามารถจับอนุมูลอิสระได้มากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน โดยพบว่ามีค่า TEAC เท่ากับ 24.17 and 25.52 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัม แต่น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันมากที่สุดเนื่องจากมีค่า EC สูงที่สุด สารสกัดหยาบเอธานอลเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันกับน้ำมันหอมระเหย พบว่าสารสกัดของพืชทั้งสามมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าน้ำมันหอมระเหย สารสกัดเอธานอลของข่ามีฤทธิ์จับอนุมูลอิสระและฤทธิ์การทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันสูงที่สุด โดยให้ค่า TEAC และ EC สูงถึง 180.0 และ 10.2 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ได้สูงกว่าค่า TEAC และ EC ของน้ำมันหอมระเหยหลายเท่า เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดเอธานอลของข่ากับสารสกัดข่าที่ได้จากตัวทำละลายอื่น ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมธานอล พบว่าสารสกัดข่าจากเอธานอลให้ฤทธิ์มากที่สุด และสามารถสกัดได้ปริมาณมากที่สุดด้วย

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดของพืชทั้งสามชนิด ประเมินโดยใช้ความกว้างของบริเวณยับยั้งเชื้อในจานเพาะเชื้อ รวมทั้งได้ทำการศึกษาค้นหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) ของสารทดสอบด้วย โดยเลือกใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มักก่อโรคในสุกรจำนวน 19 สายพันธุ์มาเป็นเชื้อทดสอบ ผลการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดเอธานอลของข่าให้ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านั้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุด และสามารถต้านเชื้อทดสอบซึ่งประกอบด้วยเชื้อทั้งที่เป็นแกรมบวกและแกรมลบได้มากชนิดที่สุดด้วย ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นไม่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อดังกล่าวเหล่านั้นเลย ส่วนสารสกัดเอธานอลจากขมิ้นชันและไพลสามารถต้านเชื้อทดสอบได้เพียง 1 และ 3 ชนิดตามลำดับ ซึ่งเชื่อดังกล่าวเป็นเชื้อในกลุ่มแกรมลบเท่านั้น สารสกัดเอธานอลของข่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยของข่าเนื่องจากให้บริเวณการยับยั้งเชื้อที่กว้างกว่าและสามารถต้านเชื้อได้มากกว่า สารสกัดเอธานอลของข่าแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อได้ดีกว่าสารสกัดข่าที่ได้จากตัวทำละลายตัวอื่น เช่น เฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอีกด้วย เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้งสามชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากข่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อสูงที่สุด จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่าองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากข่ามีความแตกต่างจากองค์ประกอบของน้ำมันอื่นอีก 2 ชนิด โดยพบว่าองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากข่าคือ 1,8 Cineole ในขณะที่องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชันและไพลเป็น beta-Bisabolene และ Terpinen-4-ol ตามลำดับ การศึกษาค่า MIC และ MBC ของน้ำมันหอมระเหยจากข่าทำให้ทราบว่ากลไกการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากข่าเป็นการฆ่าเชื้อมากกว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ การศึกษาอัตราเร็วในการฆ่าเชื้อพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากข่าสามารถฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็วกว่ายา Gentamicin ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมบวกในการทดลองครั้งนี้

ผลการวิจัยจากโครงการนี้สามารถสรุปได้ว่า ในบรรดาเหง้าพืชที่รับประทานได้ 3 ชนิด ในวงศ์ Zingiberaceae คือ ข่า ขมิ้นชัน และไพลนั้น ข่าเป็นพืชที่มีฤทธิ์ที่สนใจมากที่สุด อาจกล่าวได้ว่าข่าเป็นแหล่งธรรมชาติที่ดีที่สุดของชีวสารสำคัญที่ให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในสุกร

The objective of this research project was to investigate and compare the antioxidant and antimicrobial activity against pathogenic bacteria in swine of the essential oils and crude extracts of three different edible plants in family Zingiberaceae; *Alpinia galanga*, *Curcuma longa*, and *Zingiber cassumuna*. Rhizomes of the plants were collected from the northern region of Thailand. Fresh rhizome of each plant was used in extraction for essential oils by hydrodistillation. Dried powder of rhizome of the plants was extracted by suitable extracting solvent to yield different extracts depending on the type of solvent used. It was found that the yield of the essential oil was 0.2, 0.2, and 0.3% of the fresh rhizome of *A. galanga*, *C. longa*, and *Z. cassumuna*, respectively. The yield of crude ethanolic extract of each plant was much higher than its corresponding essential oil. The outer appearance of the essential oil obtained from each plant was clear liquid but different in color according to the plant. The difference in color was also found with the crude extract which appeared as a semisolid mass.

Two typical methods, free radical scavenging ABTS assay and the reducing power of FRAP method were used as the standard tools in antioxidant activity determination. The antioxidant power was expressed as TEAC and EC values regarding to the ABTS and FRAP assays respectively. The results indicated that the essential oil and the ethanolic extract of the plants demonstrated antioxidant activity in different rate. However, at equilibrium time of 45 min, the maximum TEAC and EC values of the test samples could be obtained. It was found that the essential oil of *A. galanga* and *Z. cassumuna* gave the high TEAC values of 24.17 and 25.52 $\mu\text{M}/\text{mg}$ respectively which were obviously higher than that of *C. longa*. This indicated that the essential oils of *A. galanga* and *Z. cassumuna* possessed higher free radical scavenging property than that of *C. longa*. However, the EC value of *C. longa* was higher than these two oils suggested that *C. longa* oil had higher reducing power. The crude ethanolic extracts of the three plants exhibited extremely higher antioxidant activity than their corresponding essential oils. Among the three plant extracts,

A. galanga showed the highest free radical scavenging and reducing properties with the TEAC and EC values of 180.0 and 10.2 mM/mg respectively. These values were higher than the extract obtained from hexane, ethyl acetate, and methanol.

The antimicrobial activity of the essential oils and the crude extracts was investigated by determination of the inhibition zone from the plate agar. Nineteen strains of bacteria mostly found as pathogens in swine were used as the test microorganisms. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bacteriocidal concentration (MBC) were also determined. It was found that the essential oil and the crude ethanolic extract of *A. galanga* showed the highest antimicrobial activity. They could inhibit almost all of the tested strains including gram positive and gram negative bacteria whereas the extract of *C. longa*, and *Z. cassumuna* could inhibit only 1 and 3 strains of gram negative bacteria, respectively. The crude ethanolic extract of *A. galanga* in comparison with its essential oil revealed to some extent higher antimicrobial activity according to the wider inhibition zone. Its activity was even higher than that obtained from other extracting solvents, hexane or ethyl acetate. Among the essential oils of the three plants, the essential oil of *A. galanga* presented the highest antimicrobial activity. GC-MS analysis indicated that the constituents existing in *A. galanga* oil were much different from the other two oils. The major composition of *A. galanga* essential oil was 1,8 Cineole whereas that of *C. longa*, and *Z. cassumuna* was beta-Bisabolene and Terpinen-4-ol respectively. The MIC and MBC values of *A. galanga* essential oil against most of the tested microorganisms indicated that its mechanism of antimicrobial action was through bacteriocidal activity. The killing rate of *A. galanga* essential oil against most of the tested strains was more rapid and efficient than the positive control gentamicin.

It was concluded that among the edible tested plant rhizomes; *A. galanga*, *C. longa*, and *Z. cassumuna* which are in family Zingiberaceae, *A. galanga* was the best plant and suitable to be the natural source of bioactive substances possess high antioxidant and antimicrobial activity against pathogenic strains in swine.