



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งแบคทีเรีย
ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ขิงบางชนิดในเขตจังหวัดราชบุรี

Analysis of Chemical Constituent, antioxidant activity and
antibacterial activity of essential Oil from some Zingiberaceae plants
in Ratchaburil province

หัวหน้าโครงการ

ดร.นงนาถ พ่อคำ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

โครงการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ทุนสนับสนุนด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรมพื้นฐาน

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้านี้มีวัตถุประสงค์ที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ขิง ได้แก่ ขมิ้นแดงสยาม กระชายป่า และหงส์เหิน ในเขตจังหวัดราชบุรี จากผลการตรวจวิเคราะห์ volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยโดยใช้เทคนิค GC-MS พบว่าองค์ประกอบหลักที่พบในขมิ้นแดงสยาม คือ aR-Turmerone (27.91%), α -Terpinolene (14.16%), Eucalyptol (12.32%), α -phellandrene (8.54%), Curlone (7.03%); องค์ประกอบที่พบในกระชายป่า คือ Camphor (23.28%), Eucalyptol (15.67%), β -cis-Ocimene (14.79%), Geraniol (13.37%), 3-Phenyl-2-propenoic acid methyl ester (8.71%); องค์ประกอบที่พบในหงส์เหิน คือ Terpineol (18%), β -Pinene (9.91%), Cyperene (5.06%), Tumerone (4.13%), aR-Turmerone (4.08%) เมื่อทำการตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากพืชดังกล่าว พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้งสองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่อทั้งสองวิธีการทดสอบ (DPPH และ ABTS) โดยที่ขมิ้นแดงสยามมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายป่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.98 และ 6.11 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มก่อโรคที่พบส่วนใหญ่ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *E. coli* DMST 4212 *P. aeruginosa* DMST 4739 และ *S. aureus* DMST 8840 พบว่าน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยามมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนน้ำมันหอมระเหยกระชายป่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้งสามสายพันธุ์ โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 31.25-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อเพียงสายพันธุ์เดียว คือ *S. aureus*.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the chemical constituent and antioxidant activity and antibacterial activity of essential oils of plants in family Zingiberaceae. Dang-Saim turmaric, fingerroot, and dancing ladies ginger in Ratchaburil province. Volatile compounds were identified by Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS). The results indicated that the major compounds identified in the Dang-Saim turmaric were α -Turmerone (27.91%), α -Terpinolene (14.16%), Eucalyptol (12.32%), α -phellandrene (8.54%), Curlone (7.03%); major compounds identified in fingerroot were Camphor (23.28%), Eucalyptol (15.67%), β -cis-Ocimene (14.79%), Geraniol (13.37%), 3-Phenyl-2-propenoic acid methyl ester (8.71%) and major compounds identified in dancing ladies ginger were Terpineol (18%), β -Pinene (9.91%), Cyperene (5.06%), Tumerone (4.13%), α -Turmerone (4.08%). The 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay and 2,2'-azinobiz (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay were used to analyze the antioxidant capacity. Results revealed that the essential oil of Dang-Saim turmaric possessed stronger antioxidant activity than that of fingerroot with the IC₅₀ values of 10.98 and 6.11 μ g/ml, respectively. The antibacterial activity of the essential oils including Dang-Saim turmeric oil and fingerroot oil for inhibition the growth of three pathogenic bacteria as *E. coli* DMST 4212 *P. aeruginosa* DMST 4739 and *S. aureus* DMST 8840 were studied and found that the essential oil from Dang-Saim turmeric only inhibited *S. aureus* with MIC and MBC values of 250 mg/ml. The essential oil from fingerroot inhibited three pathogenic bacterias with MIC values ranged between 31.25-250 mg/ml, while MBC only against *S. aureus*. was 62.50 mg/ml.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ("โครงการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ทุนสนับสนุนด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ.2566 ภายใต้รหัสโครงการ 26980

ลงชื่อหัวหน้าโครงการ

ลงวันที่ 11 กันยายน 2567

สารบัญ

	หน้า
1. บทนำ	1
2. ทฤษฎีและ/หรือแนวความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	1
3. วิธีดำเนินการวิจัย	5
4. อภิปรายผล	8
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	20
6. เอกสารอ้างอิง	21

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากพืชตัวอย่างโดย water distillation	8
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นพืชตัวอย่างแต่ละชนิด	9
ภาพที่ 3 แสดง chromatogram น้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยาม	10
ภาพที่ 4 แสดง chromatogram น้ำมันหอมระเหยกระชายป่า	11
ภาพที่ 5 แสดง chromatogram น้ำมันหอมระเหยหงส์เหิน	11
ภาพที่ 6 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยามในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	18
ภาพที่ 7 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระชายป่าในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	18
ภาพที่ 8 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารมาตรฐาน Erythromycin ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	19
ภาพที่ 9 การจัดอบรมการถ่ายทอดความรู้เชิงปฏิบัติการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากขมิ้นแดงสยาม	19

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงผลผลิตน้ำมัน (%), Refractive index, Specific rotation และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50} mg/ml) ของน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยาม กระชายป่า และหงส์เหิน	8
ตารางที่ 2 แสดง Volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยาม	12
ตารางที่ 3 แสดง Volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยกระชายป่า	13
ตารางที่ 4 แสดง Volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยหงส์เหิน	14
ตารางที่ 5 แสดงค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimal bactericidal concentration(MBC) ของน้ำมันหอมระเหยและสารปฏิชีวนะมาตรฐานErythromycin	17

1. บทนำ

ผืนป่าตะวันตกของประเทศไทยนับเป็นหนึ่งในป่าผืนใหญ่ที่เหลืออยู่ของภูมิภาคเอเชียอาคเนย์ ครอบคลุมพื้นที่ประมาณ 18,000 ตารางกิโลเมตร ทอดตัวไปตามแนวเทือกเขาตะนาวศรีอันเป็นชายแดนธรรมชาติระหว่างประเทศไทยและพม่า โดยในพื้นที่ป่าดังกล่าวเป็นเขตบรรจบซ้อนทับกันของกลุ่มพรรณพฤกษชาติ (Floristic Region) ถึง 3 เขต คือเขตพืชพรรณอินโด-พม่า (Indo-Burmese elements) พืชพรรณอินโด-จีน (Indo-Chinese element) และพืชพรรณมาเลเซีย (Malesian element) ด้วยความอุดมสมบูรณ์ของผืนป่า และการเข้าถึงได้ยากในบางพื้นที่ ทำให้มีโอกาสที่จะพบสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ ๆ โดยเฉพาะพืชพรรณจากหลากหลายวงศ์อยู่เสมอนับจากอดีตจนถึงปัจจุบัน

จังหวัดราชบุรีนับเป็นพื้นที่ที่อยู่ในเขตผืนป่าตะวันตกตามแนวเทือกเขาตะนาวศรีและมีทรัพยากรป่าไม้ที่ยังอุดมสมบูรณ์ และมีความหลากหลายทางชีวภาพของพืชพรรณสูง พืชวงศ์ขิงเป็นพืชสมุนไพรหนึ่งที่มีการกระจายพันธุ์อย่างแพร่หลายในเขตพื้นที่ดังกล่าว โดยพืชวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษคือทุกส่วนจะมีสารองค์ประกอบหลักที่เป็นน้ำมันหอมระเหย มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรที่ใกล้กันเฉพาะตัว จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น เครื่องเทศปรุงแต่งรสอาหาร ยา และเครื่องสำอาง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ขิงมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด ปัจจุบันในพื้นที่อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี มีกลุ่มวิสาหกิจชุมชน ใบโอเอิร์บกรีนบ้านตะโกกลาง ที่มีความสนใจรวบรวมและปลูกพืชสมุนไพรตระกูลขิงจากพื้นที่ป่าและจากแหล่งอื่นๆ และสร้างรายได้จากการนำพืชวงศ์ขิงบางชนิดมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการศึกษาวิจัยองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยที่มีประโยชน์จากพืชวงศ์ขิงบางชนิดในเขตจังหวัดราชบุรี จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้มาทดลองทำต้นแบบผลิตภัณฑ์สบู่เพื่อทดสอบคุณภาพ และถ่ายทอดองค์ความรู้จากผลการวิจัยสู่กลุ่มชุมชนที่สนใจ เกี่ยวกับการปลูก การเตรียมวัตถุดิบ และประโยชน์ที่ได้จากสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย เพื่อนำไปต่อยอดในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ซึ่งเป็นองค์ความรู้ที่สำคัญในการสร้างมูลค่าเพิ่มของผลผลิตและรายได้ให้แก่ชุมชนเกษตรในอนาคต

2. ทฤษฎีและ/หรือแนวความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae)

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า มีลักษณะเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับในแนวระนาบเดียวกัน ดอกเป็นช่อที่อาจเกิดบนยอดของลำต้นเหนือดินหรือเกิดจากเหง้าก็ได้ ลักษณะสำคัญคือมีกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยอยู่ในทุกส่วนของต้นโดยเฉพาะจากเหง้าหรือลำต้นใต้ดิน พืชวงศ์ขิงมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะในประเทศไทย พบว่าพืชวงศ์ขิงสามารถขึ้นได้ทั่วไปในป่าที่มีความชุ่มชื้น สมาชิกของพืชวงศ์ขิงนั้นมีประมาณ 45 สกุลและ 700 ชนิด (Williams et. al, 2004) สำหรับประเทศไทยมีพืชวงศ์ขิงประมาณ 25 สกุล 300 ชนิด (Larsen and Larsen, 2006) ในการวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชวงศ์ขิงบางชนิดที่มีการสำรวจพบในจังหวัดราชบุรี ที่มีข้อมูลเบื้องต้นที่น่าสนใจแต่ยังมีการรายงานวิจัยที่ไม่เพียงพอในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

1. กระชายป่า (Boesenbergia sp.)

เป็นไม้ล้มลุก ที่มีลำต้นใต้ดินลักษณะเป็นแง่งหรือเหง้า หัวว่านมีสีน้ำตาลแถบเทาจนถึงสีน้ำตาลแถบแดงแตกออกเป็นกระจุกเลื้อยยาวเหมือนหัวขม มีใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ ลักษณะใบรูปขอบขนานแกมรูปไข่ ปลายใบแหลมโคนใบมน ขอบใบเรียบ แผ่นใบมีสีเขียวหม่น มีพรายพรอทั่วแผ่นใบ ท้องใบมีสีออกแดง เนื้อใบละเอียด กาบใบมีสีแดง ส่วนดอกจะเป็นช่อออกแทรกอยู่ระหว่างกาบใบโคนต้น กลีบดอกสีชมพู สรรพคุณทางยา ใช้เหง้าในการแก้โรคปากเปื่อย ขับระดูขาว แก้ปวดมวนท้อง ท้องเดิน แก้บิดมูกเลือด บำรุงกำลังและบำรุงหัวใจ (โชตินันท์ และคณะ, 2553)

2. หงส์เหิน (Globba winitii)

หงส์เหินเป็นพืชมีดอกประเภทหัว มีเหง้าใต้ดินลักษณะคล้ายกระชาย ลำต้นเหนือดินเป็นกาบใบรวมตัวกัน ใบเดี่ยว แผ่นใบรูปรี รูปขอบขนาน ปลายใบแหลมถึงเรียวแหลม ฐานใบสอบเรียวหรือรูปหัวใจ มีช่อดอกออกที่ปลายยอดของลำต้นเหนือดิน ชูตั้งขึ้น เียงในแนวระนาบ หรือโค้งงอขึ้นลงพื้นดิน ช่อดอกแบบ ช่อกระจุกแน่น ช่อเชิงลด ช่อกระจุก หรือช่อแยกแขนง ใบประดับมีสีส้มสวยงาม เช่น สีม่วง สีแดง สีชมพู สีขาว สีเขียว และสีเหลือง ดอกขนาดเล็กหลุดร่วงง่าย สีเหลือง สีส้ม หรือสีขาว (ปิยเกษตร และคณะ, 2555)

ปัจจุบันจึงมีการพัฒนาสายพันธุ์สำหรับการเพาะปลูกเพื่อการค้าทั้งในไทยและส่งออกต่างประเทศ เช่น *G. williamsiana* พันธุ์สีชมพูอมม่วง Giant violet dancing girl และพันธุ์สีขาว White dragon สำหรับนำไปใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับหรือปลูกเป็นไม้กระถางตกแต่งอาคารบ้านเรือน นอกจากนี้ยังมีข้อมูลการใช้พืชสกุลหงส์เหินเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านทางตอนเหนือของอินเดีย เช่น เหง้าของหงส์เหินชนิด *G. clarkei* ใช้รักษาอาการไอ และเหง้าของ *G. multiflora* ใช้ทาแผลเพื่อบรรเทาอาการปวดและใช้เพื่อลดไข้ แต่ยังไม่มียางานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชสกุลหงส์เหินมากพอ มีเพียงบางข้อมูลระบุว่า *G. winitii* C.H. Wright มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ *G. malaccensis* มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์ (Manokam and Nuntawong, 2014., Chaiyasut and Chansakaow, 2007., Anuthakoengkun and Itharat, 2014)

3. ขมิ้นแดงสยาม (Curcuma longa L.)

ขมิ้นแดงสยาม เป็นไม้ล้มลุกที่มีเหง้าใต้ดิน มีลักษณะเด่นคือ ร่องกลางใบมีสีแดง ดอกมีสีเหลืองนวล โดยจะมีช่อดอกอยู่ระหว่างกาบใบ ก้านช่อดอกสั้น บางครั้งช่อดอกทำให้กาบใบที่เรียงสลับแยกออกจากกันหรือแทงช่อดอกออกมาด้านข้างกาบใบที่ฐานของลำต้นไม่สูงจากพื้นดินมากนัก

สรรพคุณทางสมุนไพร/ประโยชน์ : มีฤทธิ์ช่วยป้องกันโรคมะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ มะเร็งต่อมลูกหมาก และโรคอัลไซเมอร์ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร และเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย

สายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยการใช้สายพันธุ์ดังกล่าวเนื่องจากเป็นเชื้อก่อโรคส่วนใหญ่ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ที่สามารถพบได้ในโรงพยาบาลทุกระดับ (นิตยา และ มุทิตา, 2015)

1. *Pseudomonas aeruginosa* (P.aeruginosa)

P.aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นพวกแอโรบิกแบคทีเรีย มีชีวิตอิสระในดิน น้ำทะเล ในลำไส้คนพบร้อยละ 10 พบในน้ำลายหรือผิวหนังที่เปื่อยขึ้น เชื้อทนต่อสบู่ สารฆ่า เชื้อ ความร้อน ความเย็น ความแห้ง เชื้อจึงอยู่ได้นานในสภาวะแวดล้อมต่างๆไป การติดเชื้อจาก *P.aeruginosa* จะไม่พบในคนปกติ จะพบในคนที่มีการเจ็บป่วยอย่างอื่นอยู่แล้วเมื่อเชื้อเข้าร่างกาย จะเจริญเติบโตในเนื้อเยื่อสร้าง Exotoxin และ

Enzyme หลายชนิดการติดเชื้พบในผู้ป่วยที่มีแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก โรคแทรกซ้อนได้แก่ปอดบวม โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ฝี หูดอักเสบ ตาอักเสบ (จินตนา, 2549)

2. Escherichia coli (E.coli)

E.coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน เคลื่อนที่ได้ อยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม จัดเป็นเชื้อ 10 ฉวยโอกาส พบในลำไส้คนและสัตว์เลื้อยคืบ เจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น เชื้อนี้สามารถใช้น้ำตาล Lactose ได้ จึงเรียกว่าเป็นกลุ่ม Lactose fermenter ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งพบในสตรีที่ใส่สายสวนเป็นเวลานานทำให้ผู้ป่วยมีอาการท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (นงลักษณ์, 2547)

3. Staphylococcus aureus (S.aureus)

S.aureus เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล Staphylococcus วงศ์ Micrococcaceae ติดสีแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ S.aureus ให้โคโลนีสีขาวจนถึงสีทอง มีรูปร่างเป็นทรงกลม เมื่อแบ่งเซลล์จะ ติดกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ในธรรมชาติ S.aureus เป็นเชื้อที่อยู่ตามร่างกาย เป็นปรสิตที่ผิวหนัง เนื้อเยื่อของคน และสัตว์เลื้อยคืบ เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนัง เช่นเกิดเป็นลักษณะของหนองฝี ติดเชื้อซึ่งไม่รุนแรง แต่อาจก่อให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรงได้ในกรณีที่ ผิวหนังเกิดบาดแผล หรือมี แผลที่ได้รับการผ่าตัด เชื้อนี้จะเข้าสู่เนื้อเยื่อชั้นในได้ ถ้าเข้ากระแสเลือดจะทำให้เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ เยื่อบุปล้นและแพร่กระจายออกไป (จินตนา, 2549)

การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

1.ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH

คืออนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) เป็นสารที่นิยมนำไปใช้เป็นตัวชี้วัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สนใจ ใช้หลักการของ DPPH• ในรูปของอนุมูลอิสระ ที่อยู่ในสารละลายจะมีสีม่วงเข้ม และดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (Lebeau et al, 2000) การสูญเสียอิเล็กตรอนอิสระให้กับโมเลกุลอื่น โดยมีตัวรับอิเล็กตรอนคือสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารสกัดจากสมุนไพร จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์ (DPPH) ซึ่งการลดลงของอนุมูลอิสระดังกล่าวจะสังเกตได้จากการจางลงของสีม่วงในสารละลาย สามารถวัดการค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงที่ความยาวคลื่นที่ 515 นาโนเมตร เป็นตัวชี้วัดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น หรือก็คือการลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ (กิตติพัฒน์ และ ปานทิพย์, 2560)

2.ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)]

ใช้หลักการเหมือนกับการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH แต่ในกรณี ABTS•+ เป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุเป็นบวก ในสารละลายจะมีสีเขียวเข้ม และมีค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นสูงสุด (Imax) หลายค่า ได้แก่ 415, 645, 734 และ 815 นาโนเมตร แต่ทั่วไปแล้วจะนิยมใช้ความยาวคลื่นที่ 415 (Re et al, 1999) และ 743 นาโนเมตร

(Floegel et. al, 2011) ในการติดตามปฏิกิริยา โดยในการลดลงของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าว จะใช้เป็นตัวชี้วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (สีเขียวของสารละลายจางลง) ในการเตรียมอนุมูลอิสระของ ABTS เพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะมีขั้นตอนที่ยุ่งยากกว่าในกรณีของ DPPH นั่นคือ ต้องนำเอา

ABTS ไปปฏิกิริยากับ potassium persulfate ด้วยอัตราส่วน 1:0.5 (stoichiometry ratio) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง (Re et al, 1999) เพื่อให้ได้อนุมูลอิสระที่เป็นประจุบวกของ ABTS^{•+} ก่อนนำไปใช้ในการทดสอบปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

กฤติกา นรจิต (2549) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหารและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืช วงศ์ขิง 5 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า ขมิ้นชัน กระชายและเร่วหอม โดยการต้มกลั่นและการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ ปิโตเลียมอีเทอร์และเอทานอล พบว่าวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ขิงที่ ดีที่สุด คือการสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งให้น้ำมันหอมระเหยสูงที่สุด เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดคือ E.coli, S.aureus, B.cereus และ L.monocytogenes พบว่า น้ำมันหอมระเหยของกระชายและเร่วหอม ที่ได้จากการต้มกลั่นสามารถ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ได้ทั้ง 4 ชนิดและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แกรมบวก 3 ชนิดได้ดีที่สุดคือ S.aureus, B.cereus และ L.monocytogenes

นิตยา บุญทิม และคณะ (2561) ได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของพืชในวงศ์ Zingiberaceae ได้แก่ ว่านนางคำ พญาว่าน พญามือเหล็ก ว่านคันทมาลาและว่านจิ้งจก โดยนำสารสกัดแอลกอฮอล์ของพืชตัวอย่างดังกล่าว มาทดสอบกับจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี disc diffusion method พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของว่านนางคำ สามารถยับยั้ง Staphylococcus aureus ATCC29213, Escherichia coli O157H7, Candida albicans และ Aspergillus flavus มีค่าเท่ากับ 2.5, 40, 1.25 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของว่านพญามือเหล็กที่สามารถยับยั้ง Bacillus cereus, Bacillus subtilis และ S. aureus ATCC29213 มีค่าเท่ากันคือ 0.156 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากพญามือ เหล็กและพญาว่านที่สามารถยับยั้งการเจริญของ C. albicans ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.07 และ 0.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อราพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของพญามือเหล็กที่สามารถยับยั้ง A. flavus มีค่าเท่ากับ 0.62 มิลลิกรัม

ต่อมิลลิลิตร

จักรพันธ์ จุลศรีไกววัล และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชวงศ์ Zingiberaceae จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ข่า (A.galanga (L.) Swartz.) ขมิ้นชัน (Curcuma longa Linn.) ขมิ้นขาว (C.mangga Val. & Zijp.) ไพล (Z.cassumunar Roxb.) ไพลดา (Z.ottensii Valeton.) โดยศึกษาการสกัด 3 อย่างด้วยกัน ได้แก่ สารสกัดน้ำ สารสกัดแอลกอฮอล์ ทำการสกัดโดยวิธี continuous extraction และน้ำมันหอมระเหยเตรียมโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) เปรียบเทียบกับ Trolox (milligram of trolox per gram of sample) ผลการทดลองพบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสารสกัดแอลกอฮอล์ของขมิ้นชัน น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดน้ำของไพล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในกลุ่ม โดยมีค่าเท่ากับ 187.543, 56.469 และ 32.058 mg/g ตามลำดับ

วทันยา ลิ้มปวยอม และคณะ (2557) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่พันธุ์ไทยที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต้มกลั่นและการสกัดด้วยเอทานอล เมื่อวิเคราะห์สารหอมระเหยด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าการสกัดน้ำมันหอม

ระเหยด้วยวิธีการต้มกลั่น ทั้งจากชิงอ่อนสดและชิงแก่สดมี zingiberene มากที่สุด โดยน้ำมันหอมระเหยจากชิงอ่อนแห้งมี camphene มากที่สุด และน้ำมันหอมระเหยจากชิงแก่แห้งมี geranial มากที่สุด ส่วน absolute ที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่า absolute ชิงอ่อนแห้งและชิงแก่แห้งมี zingiberene มากที่สุด และพบ gingerol ใน absolute ชิงอ่อนแห้งมากกว่าชิงแก่แห้ง น้ำมันหอมระเหยจากชิงแก่สดจากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) สูงที่สุด โดยมีค่า %scavenging effect เท่ากับ 97.16% รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากชิงแก่แห้งจากการต้มกลั่น 88.79% และ absolute ชิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอล 84.81% ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลของน้ำมันหอมระเหยจากชิงแก่แห้งจากการต้มกลั่นมีค่ามากที่สุด คือ 99.18% รองลงมา คือ น้ำมันหอมระเหยจากชิงแก่สดที่ได้จากการต้มกลั่น 82.54% และ absolute ชิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอล 76.00% แต่น้ำมันหอมระเหยและ absolute จากชิงอ่อนมีประสิทธิภาพสูงกว่า 80% ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล

ปัจจุบันชุมชนในพื้นที่จังหวัดราชบุรี โดยเฉพาะชุมชนตามแนวเทือกเขาตะนาวศรีได้มีความสนใจในการปลูกสมุนไพรตระกูลชิงจำนวนหลายชนิด มีการรวบรวมสรรพคุณต่างๆ ตามภูมิปัญญาชาวบ้าน และได้นำมาใช้ประโยชน์ในการแปรรูปทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากพืชวงศ์ชิงบางชนิดที่ยังมีข้อมูลน้อยหรือยังไม่มีการศึกษามาก่อน จะสามารถทำให้ชุมชนประยุกต์ใช้ประโยชน์จากพืชวงศ์ชิงที่มีอยู่ได้อย่างคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพมากที่สุด

3. วิธีการดำเนินงานวิจัย

1) การรวบรวมและการเตรียมตัวอย่างพืช

รวบรวมตัวอย่างส่วนเหง้าของพืชวงศ์ชิงจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นแดงสยาม กระชายป่า หงส์เหิน จากพื้นที่ตำบลสวนผึ้ง อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี แล้วทำการเตรียมตัวอย่างพืชโดยการล้างน้ำให้สะอาดและหั่นให้มีขนาดเล็ก จากนั้นนำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ (ความชื้นน้อยกว่า 10%)

2) การกลั่นน้ำมันหอมระเหย

นำตัวอย่างพืชที่เตรียมจากข้อ 1 จำนวน 1 กิโลกรัม ใส่ลงในหม้อกลั่นและเติมน้ำ 6 ลิตร แล้วทำการกลั่นด้วยเครื่อง water distillation เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บน้ำมันที่ได้และทำการคำนวณ % ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยเทียบกับน้ำหนักแห้งของพืชเริ่มต้นที่ใช้ในการกลั่น

3) การวิเคราะห์ปริมาณ volatile compounds ในน้ำมันหอมระเหย

ทำการวิเคราะห์ volatile compounds ในตัวอย่างน้ำมัน หอม ระเหยด้วยเครื่อง Gas chromatography mass spectrometer (GC-MS) ใช้วิธี solid phase microextraction (SPME) โดยการนำตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย 10 ไมโครลิตร ใส่ vial ขนาด 20 มิลลิลิตร ใช้ไฟเบอร์ DVB/CAR/PDMS ดูดซับไอระเหย ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที โดยใช้ capillary คอลัมน์ชนิด: HP-5 (30m x length 320µm x 1 µm) ฉีดตัวอย่างแบบ split mode (20:1) อุณหภูมิ injector เท่ากับ 240 องศาเซลเซียส สภาวะของคอลัมน์ อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 60 องศาเซลเซียส และเพิ่มขึ้นในอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 240

องศาเซลเซียส และคงไว้ 5 นาที ใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา flow rate 1 มิลลิลิตร/นาที แปลผลโดยเทียบกับ library ของ NIST และ Wiley ที่ quality match >80% และคำนวณ % relative peak area

4. การตรวจวัดค่าดัชนีหักเห (refractive index) ของน้ำมันหอมระเหย

วิเคราะห์ค่าดัชนีหักเหแสงเมื่อแสงส่องผ่านด้วย hand-held refractometer รุ่น R-5000 (Atago, Japan) โดยหยดน้ำมันหอมระเหย 1-2 หยด ลงบนแผ่นปริซึมของเครื่อง อ่านสเกลผ่านช่องมองสังเกตเห็นแถบมืดและแถบสว่าง ปรับโฟกัสให้เห็นเส้นสเกลชัดเจนที่สุดแล้วบันทึกค่า refractive index

5. การตรวจวัดค่าการหมุนจำเพาะ (specific rotation)

นำตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยมาบรรจุใน tube ขนาด 10 มิลลิลิตร วัดค่าการหมุนจำเพาะ (ด้วยเครื่องโพลาริมิเตอร์ รุ่น ADP 220 Bellingham, UK)

6. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของน้ำมันหอมระเหย โดยใช้ 2 วิธีการ คือ

(1) 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay ตามวิธีการของ Siramon et al. (2007)

เตรียมตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย ความเข้มข้น 20,000 ppm ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และเติม DPPH (ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์) ในเอทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณค่า % scavenging activity โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox2

$$\% \text{ scavenging activity} = [\text{Ablank} + \text{Asample} - \text{Atest} / \text{Ablank}] \times 100$$

Ablank : absorbance of the DPPH + EtOH

Asample : absorbance of the sample + EtOH

Atest : absorbance of the sample + DPPH

(2) 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) assay ตามวิธีการของ Re et al. (1999)

เตรียมตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย ความเข้มข้น 20,000 ppm ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และเติม ABTS (ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์) ในเอทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บสารละลายตัวอย่างในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คำนวณค่า % scavenging activity โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox

$$\% \text{ scavenging activity} = [\text{Ablank} + \text{Asample} - \text{Atest} / \text{Ablank}] \times 100$$

Ablank : absorbance of the DPPH + EtOH

Asample : absorbance of the sample + EtOH

Atest : absorbance of the sample + ABTS

ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน Trolox

7. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย

เนื่องจากหงส์เหินให้ผลผลิตน้ำมันหอมระเหยที่ต่ำมาก ทำให้มีไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นการทดสอบนี้จะทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชเพียงสองชนิด คือ ขมิ้นแดงสยามและกระชายป่า โดยจะทำการทดสอบการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ Escherichia coli (DMST 4212) Pseudomonas aeruginosa (DMST 4739) และ

Staphylococcus aureus (DMST 8840) แล้วทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำที่สุดในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (minimal bactericidal concentration, MBC) ของน้ำมันหอมระเหย ตามวิธีการของ Basri & Fan (2005) โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Erythromycin เป็นสารมาตรฐาน (positive control)

7.1 การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย

- การเตรียมอาหาร Tryptone soy agar

ชั่ง Tryptone soy agar (TSA) (Difco, United States) 22.5 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อใส คูดอาหารใส่หลอด หลอดละ 5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยผ่านหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำไปเอียงให้ผิวหน้าอาหารทำมุม 45 องศา

- การเตรียมอาหาร Muller-Hinton agar

ชั่ง Muller-Hinton agar (Merck, Germany) 21 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยผ่านหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำไปเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร/จาน

- การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรีย 3

นำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร TSA ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาเจือจางด้วยสารละลาย 0.85% NaCl ที่ปราศจากเชื้อ ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland No. 0.5 [ปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^8 ซีเอฟยู/มิลลิลิตร (Kirby-Bauer)] นำมาเจือจางด้วยอาหาร ในอัตราส่วน 1:200 (MHB 10 มิลลิลิตร/สารละลายเชื้อ 0.05 มิลลิลิตร)

7.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย

เตรียมตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยโดยใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นตัวทำละลาย แล้วทำให้สารทดสอบปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วย syringe filter ความละเอียด 0.45 ไมโครเมตร นำสารทดสอบที่เตรียมได้ไปเจือจางอีกครั้งด้วยวิธี two-fold dilution

7.3 การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยปิเปตอาหาร Muller-Hinton Broth ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมทั้ง 96 หลุม จากนั้นปิเปตสารทดสอบ 100 ไมโครลิตร ใส่ลงหลุม และเจือจางด้วยวิธี two-fold dilution โดยปิเปตสารทดสอบลง microtiter plate หลุมที่หนึ่ง ผสมสารทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารผสมปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากหลุมที่หนึ่งลงหลุมที่สองทำเช่นนี้จนถึงหลุมสุดท้าย จากนั้นปิเปตสารละลายเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในแต่ละหลุม โดยหลุมที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารทดสอบเป็น positive control และหลุมที่ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อแบคทีเรียเป็น negative control นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง

7.4 การตรวจผล

- ตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

โดยเติมสารละลาย resazurin ความเข้มข้น 0.02% ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม หาค่า MIC โดยการสังเกตหลุมสุดท้ายที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย resazurin

- ตรวจสอบการทำลายเชื้อแบคทีเรีย โดยการหาค่า MBC โดยนำสารละลายในหลุมที่สังเกตเห็นว่าไม่

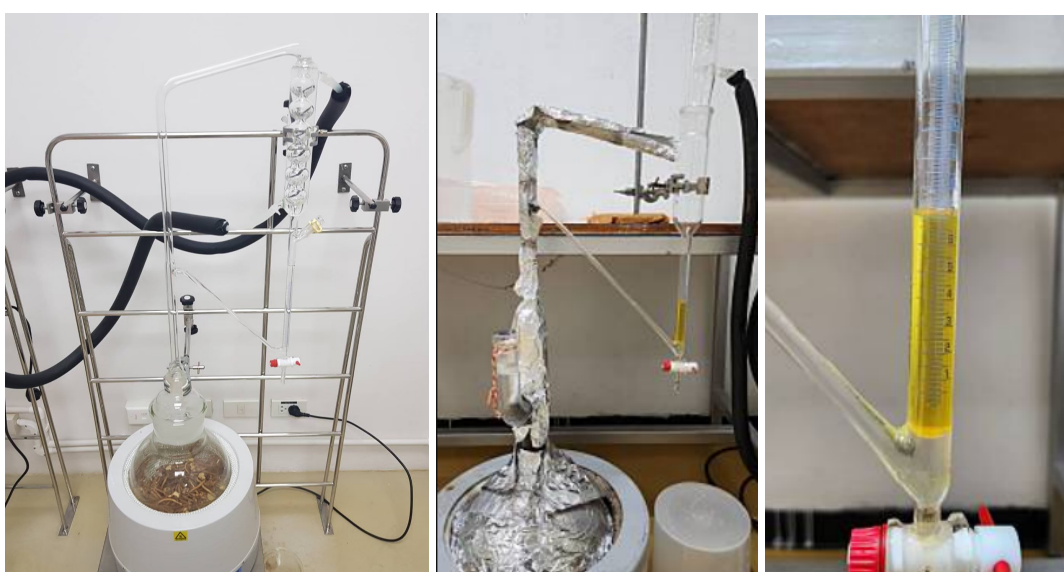
มีการเจริญของเชื้อไปเพาะเลี้ยงในอาหาร Muller-Hinton agar รายงานค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นค่า MBC

8. ทดลองทำต้นแบบผลิตภัณฑ์สบู่จากสารสกัดน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชตัวอย่าง เพื่อเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มและยกระดับสมุนไพร ซึ่งจะมีการจัดอบรมให้แก่กลุ่มวิสาหกิจชุมชนต่อไป

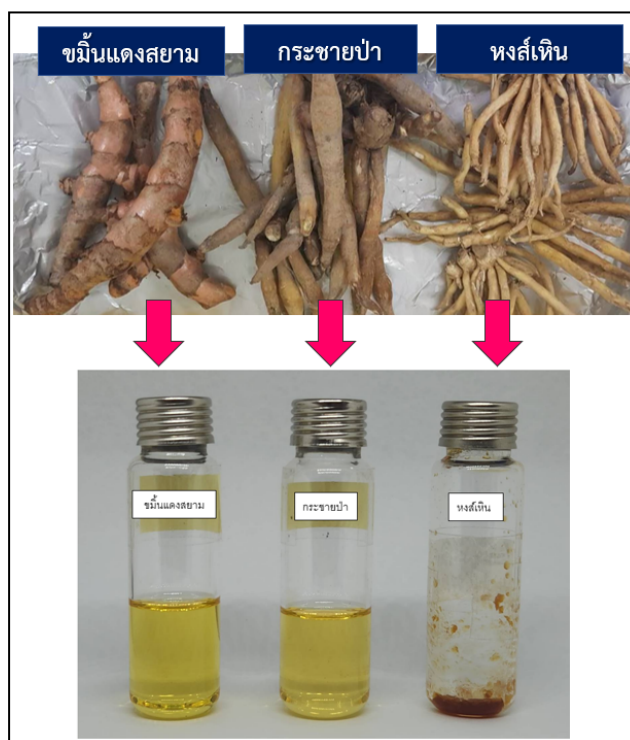
4. อภิปรายผลการดำเนินงาน

1) ผลการกลั่น การตรวจสอบคุณภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย

จากการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากเหง้า ขมิ้นแดงสยาม กระชายป่า และหงส์เหิน โดย water distillation (ภาพที่ 1) พบว่าขมิ้นแดงสยามให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันสูงที่สุด ตามด้วยกระชายป่า ส่วนหงส์เหินนั้นให้ปริมาณน้ำมันที่น้อยมาก ดังแสดงลักษณะน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชแต่ละชนิดในภาพที่ 2 และแสดงผลผลิตน้ำมันหอมระเหย ค่าดัชนีหักเห ค่าการหมุนจำเพาะ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่ได้ในตารางที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากพืชตัวอย่างโดย water distillation



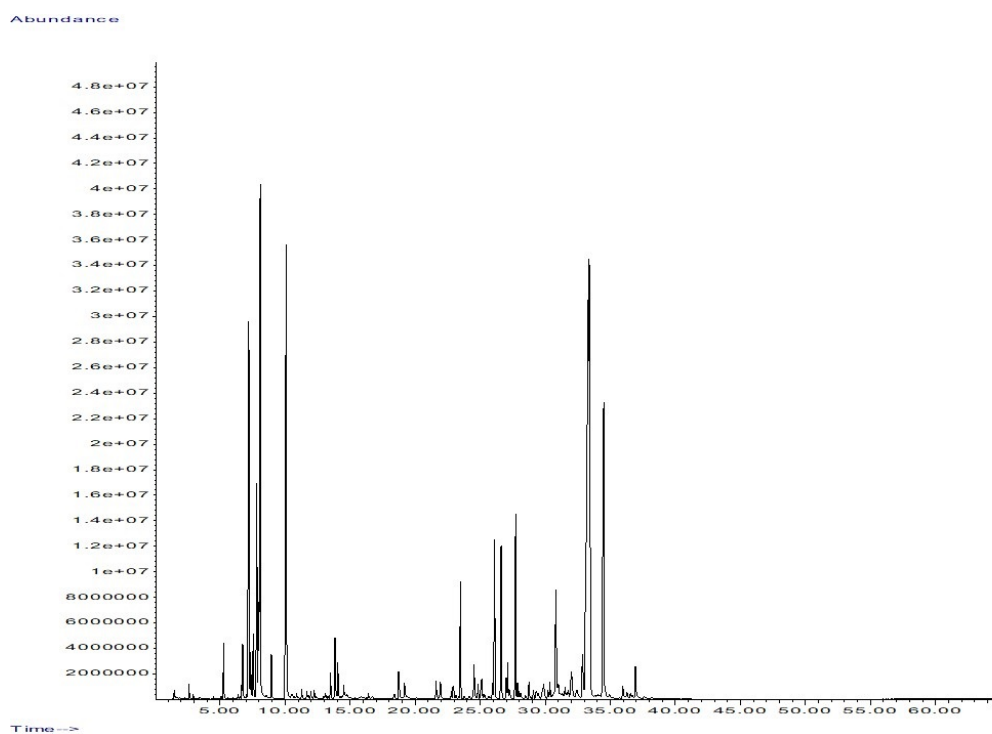
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นพืชตัวอย่างแต่ละชนิด

ตารางที่ 1 แสดงผลผลิตน้ำมัน (%), Refractive index, Specific rotation และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50} mg/ml) ของน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยาม กระชายป่า และหงส์เหิน

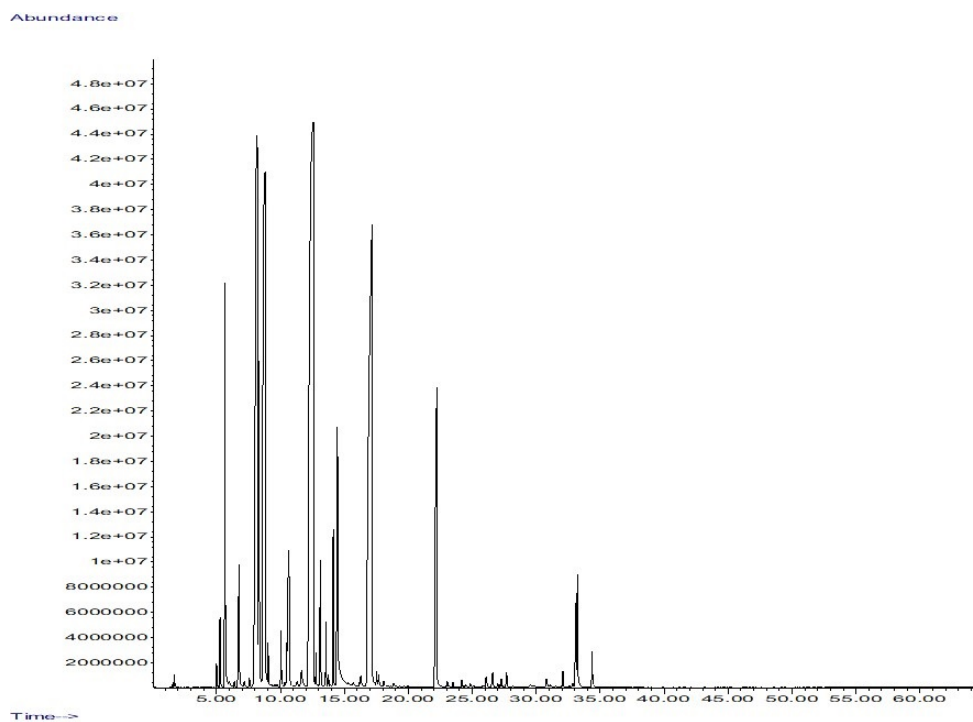
ตัวอย่าง	ผลผลิต น้ำมัน (%)	Refractive Index (RI)	Specific Rotation	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (IC_{50} mg/ml)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS (IC_{50} mg/ml)
ขมิ้นแดงสยาม	1.52±0.07	1.51	66.63	10.98	6.11
กระชายป่า	1.02±0.26	1.48	71.95	74.46	68.92
หงส์เหิน	0.04±0.01	nd	nd	24.95	21.80
สารมาตรฐาน Trolox				0.02	0.80

2) ผลการวิเคราะห์ปริมาณ volatile compounds ในน้ำมันหอมระเหย

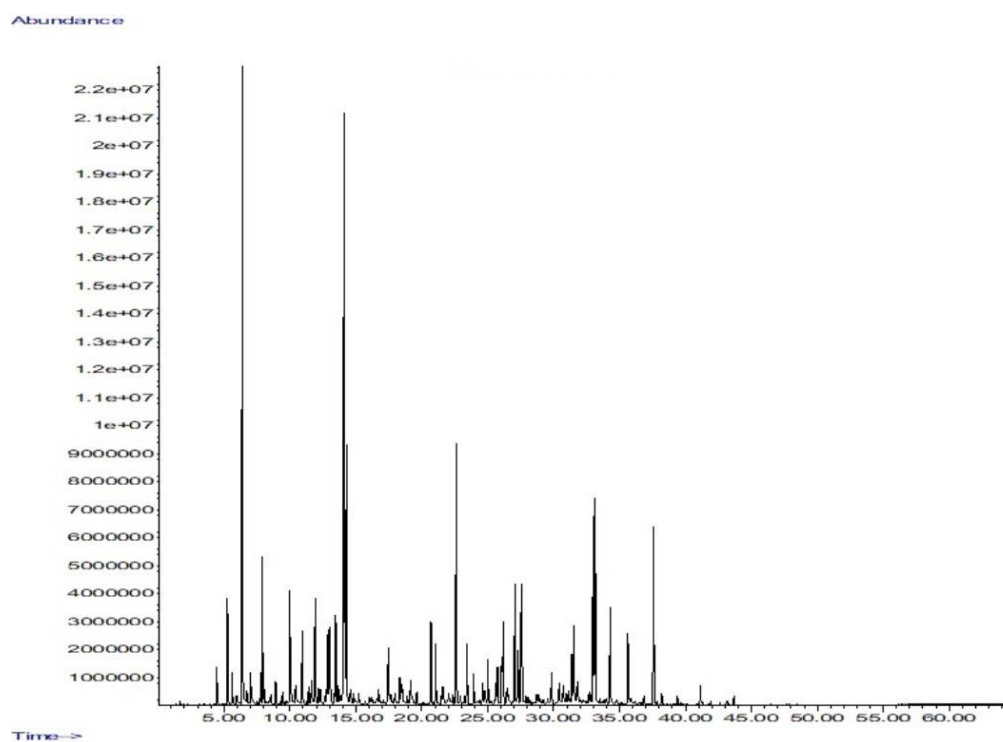
แสดงผลจากการวิเคราะห์ปริมาณ volatile compounds ในน้ำมันหอมระเหยด้วย GC-MS ดัง chromatograms แสดงในภาพที่ 3-5 และผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 2-4



ภาพที่ 3 แสดง chromatogram น้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยาม



ภาพที่ 4 แสดง chromatogram น้ำมันหอมระเหยกระชายป่า



ภาพที่ 5 แสดง chromatogram น้ำมันหอมระเหยหงส์เหิน

ตารางที่ 2 แสดง Volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยาม

RT	Volatile compounds	Relative peak area (%)
5.263	α -Pinene	0.77
5.992	Benzaldehyde	0.08
6.371	β -Pinene	0.09
6.732	β -Myrcene	1.07
7.181	α -phellandrene	8.54
7.338	3-Carene	0.71
7.536	α -Terpinene	1.42
7.805	o-Cymene	3.52
8.067	Eucalyptol	12.32
8.545	(E)-beta-ocimene	0.24
8.93	γ -Terpinene	0.92
10.072	α -Terpinolene	14.16
10.865	1,4,8-menthatriene	0.18
11.284	Sabinene	0.24
11.634	4-Acetyl-1-methylcyclohexene	0.20
11.955	p-Menth-2-en-1-ol	0.20
13.493	γ -Terpinene	0.53
13.808	p-Cymen-8-ol	1.19
14.478	trans-Sabinol	0.36
14.723	Piperitol	0.16
18.727	p-Thymol	0.60
19.182	2-methoxy-4-vinyl-phenol	1.27
20.995	Eugenol	0.05
23.105	α -Cedrene	0.10
23.437	Caryophyllene	2.48
24.119	α -Bergamotene	0.10
24.789	α -Humulene	0.37
25.063	α -Bisabolene	0.90
25.226	γ -Curcumene	0.16
26.048	α -Curcumene	3.24
27.057	β -Bisabolene	1.05
27.179	β -Curcumene	0.30

27.663	β -Sesquiphellandrene	3.73
27.948	γ -Bisabolene	0.29
30.356	(E)- γ -Atlantone	0.35
31.306	α -Longipinene	0.27
31.463	Zonarene	0.47
32.361	β -Eudesmol	0.48
33.229	aR-Turmerone	27.91
33.993	(Z)- γ -Atlantone	0.46
34.389	Curlone	7.03
34.832	(Z)- α -Atlantone	0.29
35.875	(6R,7R)-Bisabolone	0.42
36.855	(E)-Atlantone	0.75

ตารางที่ 3 แสดง Volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยกระชายป่า

RT	Volatile compounds	Relative peak area (%)
5.269	2-Pinene	1.02
5.665	Camphene	5.45
5.957	Benzaldehyde	0.40
6.744	β -Myrcene	1.63
8.143	Eucalyptol	15.67
8.282	α -Ocimene	4.33
8.76	β -cis-Ocimene	14.79
9.005	γ -Terpinene	0.35
10.019	α -Terpinolene	0.44
10.591	Linalool	3.56
11.144	Fenchol	0.10
11.628	Cosmene	0.50
12.450	Camphor	23.28
12.718	Isoborneol	0.25
13.056	endo-Borneol	1.08
13.511	Terpinen-4-ol	0.56
13.715	Cinerone	0.39

14.076	α -Terpineol	1.42
16.134	Neral	0.25
16.233	Benzylacetone	0.53
17.031	Geraniol	13.37
17.468	Citral	1.20
17.614	Benzenepropanoic acid, methyl ester	0.33
22.207	3-Phenyl-2-propenoic acid methyl ester	8.71
23.443	Caryophyllene	0.04
25.401	(E)-Ethyl cinnamate	0.03
26.031	α -Curcumene	0.08
26.555	trans- α -Bergamotene	0.06
27.062	β -Bisabolene	0.03
32.978	aR-Turmerone	0.12
33.112	Tumerone	0.02

ตารางที่ 4 แสดง Volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยหงส์เหิน

RT	Volatile compounds	Relative peak area (%)
4.465	2-Heptanol	0.57
5.263	α -Pinene	1.40
5.636	Camphene	0.56
5.963	Benzaldehyde	0.27
6.382	β -Pinene	9.91
6.744	2-pentyl-furan	0.44
7.029	2,4,5-trimethylthiazole	0.90
7.525	α -Terpinene	0.10
7.781	o-Cymene	0.49
7.915	D-Limonene	2.10
8.026	Eucalyptol	0.41
8.550	β -Ocimene	0.65
8.929	γ -Terpinene	0.48

9.291	4-Ethyl-2,5-dimethylthiazole	0.10
9.448	Pinol	0.31
9.710	5-Ethyl-2,4-dimethylthiazole	0.18
9.996	α -Terpinolene	2.65
10.94	Fenchol	1.40
11.296	cis-2-Norbornanol	0.12
11.43	α -Campholenal	0.34
11.634	3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane	0.73
11.914	trans-Pinocarveol	2.44
12.147	Camphor	0.34
12.292	Camphene hydrate	0.47
12.636	Isoborneol	0.20
12.870	Pinocarvone	1.58
12.998	endo-Borneol	1.92
13.476	Terpinen-4-ol	2.06
14.128	Terpineol	18.00
14.297	cis-Myrtenal	5.39
14.840	L-Verbenone	0.49
15.218	cis-Carveol	0.43
16.046	Cuminal	0.31
16.233	D-Carvone	0.29
16.722	Geraniol	0.59
17.468	Perillyl aldehyde	1.43
17.975	Bornyl acetate	0.43
18.337	2-Undecanone	0.58
19.153	2-Methoxy-4-vinylphenol	1.06
19.631	Myrtenyl acetate	0.39
20.697	γ -Cadinene	1.77
21.059	Cypera-2,4-diene	1.19
21.525	Spathulenol	0.40
22.038	3-Phenyl-2-propenoic acid methyl ester	0.65

22.364	β -Elemene	0.27
22.621	Cyperene	5.06
22.93	Isocaryophyllene	0.26
23.274	Zonarene	0.30
23.425	Caryophyllene	1.36
24.626	γ -Maaliene	0.57
24.789	α -Humulene	0.43
25.016	trans- β -Farnesene	0.94
25.757	α -Panasinsanene	1.42
26.083	β -Selinene	1.39
26.468	α -Selinene	0.48
26.578	2-Tridecanone	0.42
27.062	β -Bisabolene	2.37
27.307	γ -Gurjunene	1.23
27.558	9,11-guaiadiene	3.86
29.557	Denderalasin	0.30
29.842	Caryophyllene epoxide	0.93
33.002	aR-Turmerone	4.08
33.142	Tumerone	4.13
37.583	Ambrial	3.63

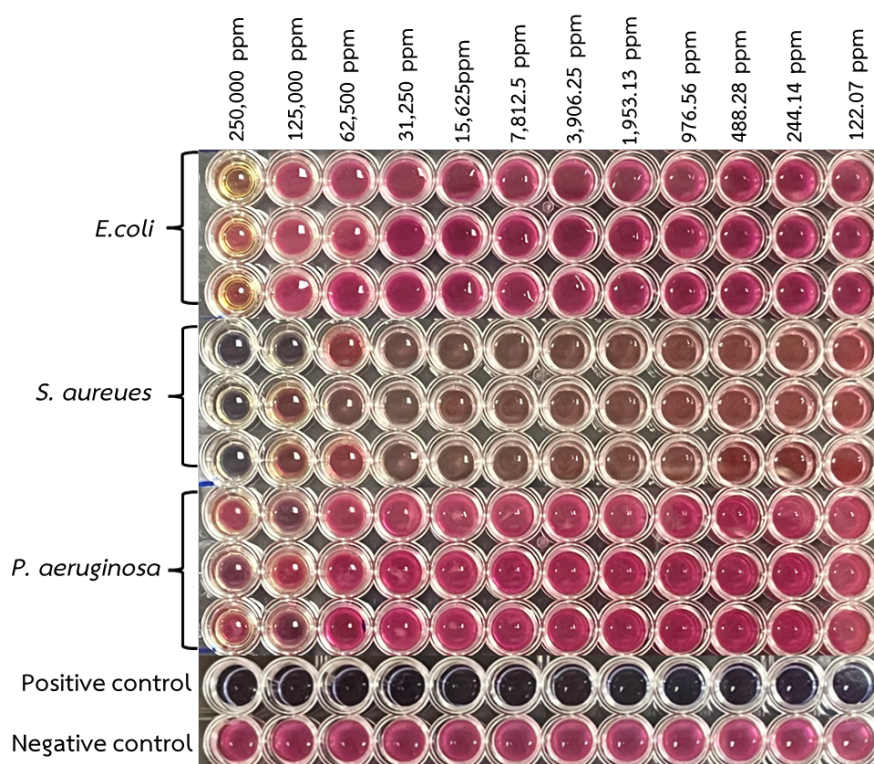
จากผลการตรวจวิเคราะห์ volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชดังกล่าวพบว่า องค์ประกอบหลัก (5 ลำดับแรก) ที่พบในขมิ้นแดงสยาม คือ aR-Turmerone (27.91%), α -Terpinolene (14.16%), Eucalyptol (12.32%), α -phellandrene (8.54%), Curlone (7.03%); องค์ประกอบที่พบในกระชายป่า คือ Camphor (23.28%), Eucalyptol (15.67%), β -cis-Ocimene (14.79%), Geraniol (13.37%), 3-Phenyl-2-propenoic acid methyl ester (8.71%); องค์ประกอบที่พบในหงส์เหิน คือ Terpeneol (18%), β -Pinene (9.91%), Cyperene (5.06%), Tumerone (4.13%), aR-Turmerone (4.08%)

3) ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย

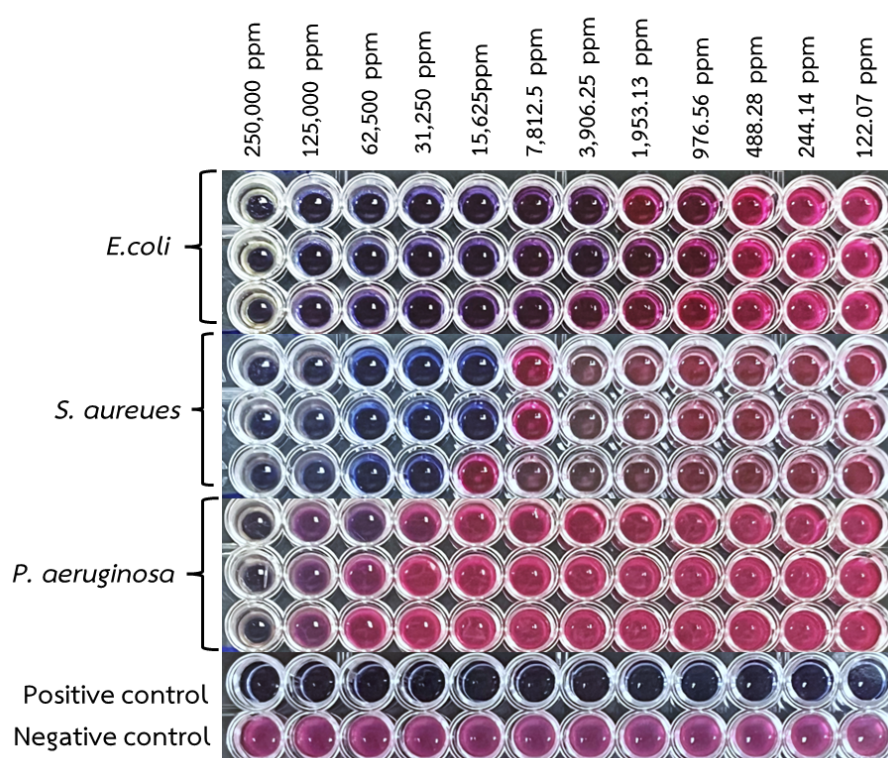
ในการตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยามและกระชายป่า ได้ทำการทดสอบตัวอย่างกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *E. coli* DMST 4212 และ *P. aeruginosa* DMST 4739 และแบคทีเรียแกรมบวก จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ *S. aureus* DMST 8840 ซึ่งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบนี้เป็นกลุ่มแบคทีเรียสายพันธุ์ก่อโรคส่วนใหญ่ที่พบในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลทุกระดับ ผลการทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยของพืชทั้งสองในการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยามมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนน้ำมันหอมระเหยกระชายป่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้งสามสายพันธุ์ โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 31.25-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อเพียงสายพันธุ์เดียว คือ *S. aureus* ดังแสดงการทดสอบในภาพที่ 6-8 และผลการทดสอบในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimal bactericidal concentration(MBC) ของน้ำมันหอมระเหยและสารปฏิชีวนะมาตรฐาน Erythromycin

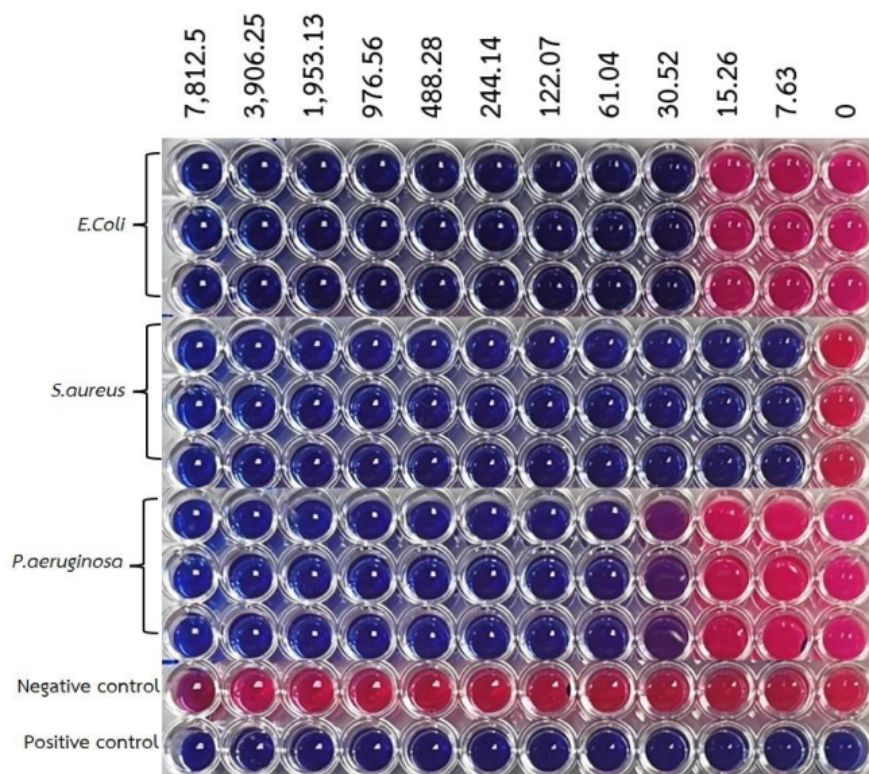
สารทดสอบ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
น้ำมันกระชายป่า	125	-	31.25	62.50	250	-
น้ำมันขมิ้นแดงสยาม	-	-	250	250	-	-
Erythromycin	0.03	0.24	0.01	0.02	0.12	3.91



ภาพที่ 6 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยามในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย



ภาพที่ 7 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยกระชายป่าในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย



ภาพที่ 8 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารมาตรฐาน Erythromycin ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

4) การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากพืชวงศ์ขิงและถ่ายทอดความรู้

มีการจัดอบรมการถ่ายทอดความรู้เชิงปฏิบัติการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู์เหลวอาบน้ำและยาหม่องน้ำจากสารสกัดขมิ้นแดงสยามขมิ้นให้แก่กลุ่มวิสาหกิจที่มีความสนใจ ในการนำพืชวงศ์ขิงมาสร้างมูลค่าเพิ่ม และเป็นแนวทางที่มีประโยชน์ต่อการพัฒนาทางเศรษฐกิจชุมชนต่อไป



ภาพที่ 9 การจัดอบรมการถ่ายทอดความรู้เชิงปฏิบัติการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากขมิ้นแดงสยาม

5. สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการกลั่นน้ำมันหอมระเหยพืชวงศ์ขิงจากแหล่งปลูกอำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นแดงสยาม กระชายป่า และหงส์เหิน พบว่าขมิ้นแดงสยามมีศักยภาพในแง่ของผลผลิตน้ำมันสูงที่สุด (1.52%) รองลงมาคือ กระชายป่า (1.02%) ส่วนหงส์เหินนั้นให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่ำที่สุด (0.04%) และจากผลการตรวจวิเคราะห์ volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชดังกล่าวพบว่า องค์ประกอบหลัก (5 ลำดับแรก) ที่พบในขมิ้นแดงสยาม คือ aR-Turmerone (27.91%), α -Terpinolene (14.16%), Eucalyptol (12.32%), α -phellandrene (8.54%), Curlone (7.03%); องค์ประกอบที่พบใน กระชายป่า คือ Camphor (23.28%), Eucalyptol (15.67%), β -cis-Ocimene (14.79%), Geraniol (13.37%), 3-Phenyl-2-propenoic acid methyl ester (8.71%); องค์ประกอบที่พบในหงส์เหิน คือ Terpeneol (18%), β -Pinene (9.91%), Cyperene (5.06%), Tumerone (4.13%), aR-Turmerone (4.08%) เมื่อทำการตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากพืชดังกล่าว พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้งสองมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่อทั้งสองวิธีการทดสอบ (DPPH และ ABTS) โดยที่ขมิ้นแดงสยามมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยกระชายป่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10.98 และ 6.11 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม จากวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มก่อโรคที่พบส่วนใหญ่ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *E. coli* DMST 4212 *P. aeruginosa* DMST 4739 และ *S. aureus* DMST 8840 พบว่าน้ำมันหอมระเหยขมิ้นแดงสยามมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ส่วนน้ำมันหอมระเหยกระชายป่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้งสามสายพันธุ์ โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 31.25-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม และมีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ของเชื้อเพียงสายพันธุ์เดียว คือ *S. aureus* จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ได้นี้สามารถสรุปได้ว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระชายป่ามีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่นำมาทดสอบได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นแดงสยาม แต่น้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้งสองนี้ก็ยังมีประสิทธิภาพไม่สูงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่นำมาทดสอบเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน

6. เอกสารอ้างอิง

- คงศักดิ์ พร้อมเทพ, ปรียานันท์ แสนโฆชน์ และ พันธิตรา กมล. 2554. การสำรวจพรรณไม้วงศ์ขิงในเขตสถานีพัฒนาและส่งเสริมการอนุรักษ์สัตว์ป่าพิษณุโลก อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก. NU Science Journal; 8(2) : 27 – 36.
- ฐนันต์ศักดิ์ เพชรภักดี, สุรพล แสนสุข และ ปิยะพร แสนสุข. 2562. ความหลากหลายของพืชวงศ์ขิงในพื้นที่อำเภอบึงสามพัน จังหวัดร้อยเอ็ด. แก่นเกษตร 47 ฉบับพิเศษ 1.
- สุรพล แสนสุข, ปิยะพร แสนสุข และ ณชยุต จันทโชติกุล. 2560. ความหลากหลายและการใช้ประโยชน์พื้นบ้านของพืชวงศ์ขิงในจังหวัดหนองคาย ประเทศไทย. ว.วิทย์. มข. 45(3): 574-594.
- วรรณพรรณ รีมผลี. 2554. กลยุทธ์การสื่อสารตลาดเชิงบูรณาการสำหรับธุรกิจโรงแรม. กรุงเทพฯ: มหาลัยราชภัฏสวนดุสิต.
- วารุณี สุนทรเจริญนนท์. 2556. สร้างผลิตภัณฑ์หรือบริการสร้างสรรค์ ไม่ยากอย่างที่คิด. ค้นเมื่อ 20 กรกฎาคม 2558, จาก <http://www.amexteam.com/knowledge-detail.php?ref=do:read/id:56>.
- Larsen, K. and Larsen, S. S. 2006. Gingers of Thailand: Queen Sirikit Botanic Garden (QSBG), The Botanical Garden Organization, Ministry of Natural Resources and Environment.
- Basri, D.F.; Fan, S.H. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents. Indian Journal of Pharmacology. 2005; 37(1): 26-29.
- Siramon, P.; Ohtani, Y. Antioxidative and antiradical activities of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand. J. Wood Sci. 2007; 53(6): 498-504.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 1999; 26: 1231-1237.