องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยขิง

วทันยา ลิมปพยอม[1] ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์[2]
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ท่าข้าม บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150
ภรณ์ทิพย์ ดุษฎีลาวัณย์[3] และ เกษรา วามะศิริ[4]
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่พันธุ์ไทยที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต้มกลั่นและการสกัดด้วยเอทานอล น้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลมีค่าดัชนีการหักเหคลื่นแสงระหว่าง 1.348-1.500 เมื่อวิเคราะห์สารหอมระเหยด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการต้มกลั่น ทั้งจากขิงอ่อนสดและขิงแก่สดมี zingiberene มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 16.52 และ 20.30 ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้งมี camphene มากที่สุด และน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งมี geranial มากที่สุด ส่วน absolute ที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่า absolute ขิงอ่อนแห้งและขิงแก่แห้งมี zingiberene มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 31.81 และ 36.50 ตามลำดับ และพบ gingerol ใน absolute ขิงอ่อนแห้งมากกว่าขิงแก่แห้ง น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดจากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) สูงที่สุด โดยมีค่า %scavenging effect เท่ากับ 97.16% รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งจากการต้มกลั่น 88.79% และ absolute ขิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอล 84.81% ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลของน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งจากการต้มกลั่นมีค่ามากที่สุด คือ 99.18% รองลงมา คือ น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดที่ได้จากการต้มกลั่น 82.54% และ absolute ขิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอล 76.00% แต่น้ำมันหอมระเหยและ absolute จากขิงอ่อนมีประสิทธิภาพสูงกว่า 80% ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล

คำสำคัญ : ขิง / น้ำมันหอมระเหย / สารหอมระเหย / แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ / สารต้านอนุมูลอิสระ

* *Corresponding author : nutta.lao@kmutt.ac.th*
1 *นักศึกษาปริญญาโท สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี*
2 *รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี*
3 *นักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์*
4 *อาจารย์ประจำ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์*

Chemical Compositions and Antioxidant Activity of *Zingiber officinale* Roscoe Essential Oils

Vatanya Limpaphayom[1] Natta Laohakunjit[2]
King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thakham, Bangkuntien, Bangkok 10150
Pornthip Duzzadeelawan[3] and Kesra Vamasiri[4]
King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Tungkru, Bangkok 10140

Abstract

The aim of this research was to analyze the chemical compositions and antioxidant activity of essential oils from Thai immature ginger and mature ginger oils. Ginger was extracted by hydrodistillation and ethanol extraction. Both essential oils (hydrodistillation) and absolute (ethanol extraction) had the refractive index in the range of 1.348 to 1.500. Volatile compounds were identified by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). For hydrodistillation, zingiberene is the main compound found in essential oils from fresh immature and fresh mature gingers, with the relative peak areas of 16.52 and 20.30%, respectively. Essential oils from dried immature ginger and dried mature ginger are composed of camphene and geranial, respectively. For ethanolic extracts, the major compounds of dried immature ginger absolute and dried mature ginger absolute are zingiberene, with the relative peak areas of 31.81 and 36.50%, respectively. Moreover, more gingerol was found in dried immature ginger absolute than in dried mature ginger absolute. Essential oils from fresh mature ginger, dried mature ginger and dried mature ginger absolute exhibit antioxidant activity against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical with the scavenging effect of 97.16, 88.79 and 84.81%, respectively. The anti-hydroxyl radical of the essential oil from dried mature ginger was 99.18%; this is followed by essential oils from fresh mature ginger (82.54%) and dried mature ginger absolute (76.00%). However, the essential oils and absolute from immature ginger are more than 80% effective against DPPH and hydroxyl radicals.

Keywords : Ginger / Essential oil / Volatile compounds / Gas Chromatography-Mass Spectrometry / Antioxidant activity

* *Corresponding author : nutta.lao@kmutt.ac.th*

1 *Master of Science, Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology.*

2 *Assistant Professor, Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology.*

3 *Graduate Student, Department of Chemical science.*

4 *Assistant Professor, Department of Chemical science.*

1. บทนำ

ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) เป็นพืชสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมฉุนเฉพาะตัว สามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยส่วนใหญ่นำส่วนของเหง้ามาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ทั้งด้านการปรุงอาหาร เป็นเครื่องเทศ เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และด้านสมุนไพรการแพทย์ ที่อยู่ในรูปขิงสด ขิงแห้ง ขิงผง ขิงดอง และน้ำมันขิง ในส่วนของน้ำมันขิงหรือน้ำมันหอมระเหยขิงมีรสเผ็ด ประกอบด้วยสาร zingiberene โดยสารสกัดขิงด้วยอะซิโตนมีฤทธิ์ไล่ลมและช่วยในระบบการย่อยอาหาร บรรเทาอาการผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร [1] โดยเมื่อรับประทานสารสกัดขิงร่วมกับวิตามินบี 6 สามารถช่วยลดอาการคลื่นไส้อาเจียนในหญิงมีครรภ์และผู้ที่ได้รับเคมีบำบัดหลังการผ่าตัด [2] สารสกัดขิงสามารถฆ่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแผลในกระเพาะอาหารทั้งยังช่วยลดการอักเสบลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดนอกจากนี้ขิงยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเรียนรู้และความจดจำต่อสิ่งเร้าเร็วขึ้น [3] ช่วยชะลอความชราและต้านอนุมูลอิสระ [4]

โดยทั่วไปสารสกัดขิงมี 2 แบบ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย (essential oils) ที่ได้จากการต้มกลั่นและโอลิโอเรซินหรือน้ำมันชัน (oleoresin) ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย น้ำมันหอมระเหยมีสารประกอบ monoterpene และ sesquiterpene ซึ่งเป็นสารหอมระเหย (volatile-compounds) ที่มีความสำคัญต่อลักษณะของกลิ่นและรสชาติของขิง น้ำมันหอมระเหยขิงมีสาร α-zingiberene เป็นสารประกอบหลัก (major components) ส่วนน้ำมันชันจากขิงมี volatile oil ที่มีผลต่อกลิ่นรสที่เผ็ดร้อนและความฉุน สารที่พบเป็นสาร phenolic ketones ได้แก่ 4-, 6-, 8-,10- และ 12-gingerol แต่ขิงที่เก็บรักษาเป็นเวลานาน สาร gingerol ถูกเปลี่ยนเป็นสาร 8- และ10-shogaol ซึ่งเป็นสารที่มีกลิ่นรสที่เผ็ดร้อนและความฉุนมากกว่าสาร gingerol แต่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่ำ [5]

การสกัดสารสำคัญหรือน้ำมันหอมระเหยจากขิง มีปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ พันธุกรรม แหล่งเพาะปลูก สภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโต ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวและกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยว [6] โดยเฉพาะวิธีการสกัด ส่วนของพืชที่นำมาสกัด ตลอดจนพืชชนิดสดหรือแห้ง และความอ่อน-แก่ของพืช เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสารองค์ประกอบที่ได้แตกต่างกัน ถึงแม้มีรายงานการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากขิงด้วยวิธีการต้มกลั่น (hydrodistillation) [7-17] การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) [18-20] และการสกัดโอลิโอเรซินจากขิงด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่การสกัดด้วยน้ำกลั่นเอทานอล [15, 16, 19] และการสกัดด้วยเมทานอล เฮกเซนและปิโตรเลียมอีเทอร์ [13] คาร์บอนเตตระคลอไรด์และไอโซออกเทน [8] รวมทั้งการสกัดด้วยซุปเปอร์คริติคอลคาร์บอนไดออกไซด์ (supercritical carbon dioxide extraction, SC-CO_2) [18, 21] แต่ทุกวิธีการสกัดดังกล่าวใช้สกัดขิงแก่ชนิดสดและแห้งพันธุ์ขิงหลายชนิดที่มีแหล่งเพาะปลูกต่างกัน [8, 9, 11, 15-17, 20-22] ใบขิง [12] และดอกขิง [16] อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงมีส่วนประกอบหลักเป็น sesquiterpene hydrocarbon ได้แก่ camphene, β-bisabolene, α-farnesene, β-sesquiphellandrene และ curcumene เป็นต้น ซึ่งทั้งชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปตามชนิดของขิงสดและแห้ง และพันธุ์ที่นำมาสกัดแต่มี สาร α-zingiberene ที่พบปริมาณมากที่สุด ส่วนสารสกัดขิงที่สกัดด้วย SC-CO_2 ได้สาร non-volatile เช่น zingerone, gingerols และ shogaols [5] นอกจากนี้การเตรียมวัตถุดิบยังเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกัน โดยพบว่า การฝานขิงเป็นแผ่นบางๆ ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าขิงผงละเอียด [23] และการสกัดขิงแห้งได้ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยมากกว่าขิงสด เนื่องจากโมเลกุลของน้ำที่มีอยู่ในเนื้อขิงสดขัดขวางสาร gingerol ไม่สามารถละลายออกมายังผิวสัมผัสได้ [24] น้ำมันหอมระเหยและโอลิโอเรซินจากขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการต้มกลั่นการกลั่นด้วยไอน้ำและการสกัดด้วยตัวทำละลาย มีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยมีปริมาณ scavenging activity แตกต่างกัน [8, 9, 17, 19, 20] Norajit [25] พบว่า สารสกัดขิงที่สกัดด้วยเอทานอลและสารสกัดขิงที่สกัดซ้ำจากกากขิงที่เหลือด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับ

อนุมูลอิสระ DPPH มีค่า % scavenging effect เท่ากับ 23.75 และ 23.01 ตามลำดับ และความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นและมีประสิทธิภาพสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยขิงที่ได้จากการต้มกลั่น

นอกจากนี้ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยขิง Laohakunjit และคณะ [7] พบว่าน้ำมันหอมระเหยของขิงแก่จากการต้มกลั่นมีสารประกอบหลัก 9 ชนิด มีปริมาณ zingiberene มากที่สุด รองลงมาคือ farnesene, geranial, β-phellandrene, neral, bisabolene, curcumene, calminol และ citronellol และน้ำมันหอมระเหยขิงที่ได้จากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิดได้ดีที่สุด ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Listeria monocytogenes* เมื่อเทียบกับการสกัดขิงด้วยเอทานอล Jeevani และคณะ [16] พบว่าน้ำมันหอมระเหยดอกขิงสกัดด้วยการต้มกลั่น และสารสกัดหยาบดอกขิงที่สกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอล และ 50% เอทานอล สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *B.cereus, B.subtilis, S.aureus, L.monocytogenes* ส่วน Sudam และคณะ [17] พบว่าน้ำมันหอมระเหยขิงแก่จากแหล่งเพาะปลูกต่างกันจากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และเชื้อราได้

โดยทั่วไป งานวิจัยมุ่งเน้นศึกษาการสกัดและประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยหรือโอลิโอเร ซินจากขิงแก่เปรียบเทียบชนิดขิงสดและแห้ง ถึงแม้ Malipan [26] รายงานว่า ขิงแก่มีปริมาณสารพอลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าขิงอ่อน แต่ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของทั้งขิงอ่อนและขิงแก่ที่ไม่ปอกเปลือกมีค่าไม่แตกต่างกัน การปอกเปลือกขิงทำให้ปริมาณสารประกอบพอลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของขิงอ่อนและขิงแก่ลดลง ประเทศไทยมีการผลิตขิงอ่อนถึงร้อยละ 65 ซึ่งผลิตได้ปริมาณมากกว่าขิงแก่ (ผลิตได้ร้อยละ 35) รวมทั้งมีสัดส่วนของการบริโภคขิงอ่อนที่สูงกว่าในรูปแบบของการดองและรับประทานสด ส่วนขิงอ่อนนั้นยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาถึงวิธีการสกัด วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและประสิทธิภาพเชิงหน้าที่โดยเฉพาะการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยขิงแก่ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเปรียบเทียบองค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่พันธุ์ไทย ชนิดขิงใหญ่ที่สกัดโดยการต้มกลั่นและ absolute ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล รวมทั้งวิเคราะห์ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยและ absolute ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay และ 2-deoxyribose oxidation assay เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของขิง โดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ และเครื่องสำอางได้

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

ขิงพันธุ์ไทย ชนิดขิงใหญ่ จากจังหวัดนครศรีธรรมราช ทั้งชนิดอ่อน (อายุประมาณ 6 เดือน) และชนิดแก่ (อายุประมาณ 12 เดือน)

2.1.1 การเตรียมขิงอ่อนและขิงแก่ชนิดสดสำหรับการต้มกลั่น (hydrodistillation)

นำขิงอ่อนและขิงแก่มาล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง จากนั้นหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปบดโดยใช้ blender โดยขิงอ่อนและขิงแก่มีปริมาณความชื้น 89.92 และ 87.85% ตามลำดับ วิเคราะห์ตามวิธี AOAC (2000)

2.1.2 การเตรียมขิงอ่อนและขิงแก่ชนิดแห้งสำหรับการต้มกลั่นและการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

นำขิงอ่อนและขิงแก่มาล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง จากนั้นฝานให้เป็นแผ่นบางๆ (หนาประมาณ 1 มิลลิเมตร) นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างพืชแห้งมาบดด้วย blender โดยขิงอ่อนแห้งและขิงแก่แห้งมีปริมาณความชื้น 6.42 และ 6.34% ตามลำดับ

2.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย

2.2.1 การต้มกลั่น (hydrodistillation)

นำตัวอย่างขิงอ่อนและขิงแก่จากข้อ 2.1.1 ที่ผ่านการอบแห้งและไม่ผ่านการอบแห้งมาชนิดละ 5 กิโลกรัม (โดยน้ำหนักแห้ง) สกัดด้วยวิธีการต้มกลั่น โดยใส่ลงใน

ขวดก้นกลมขนาด 10 ลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 9 ลิตร จากนั้นประกอบชุดกลั่น กลั่นเป็นเวลา24 ชั่วโมง จนกระทั่งได้น้ำมันหอมระเหย บรรจุในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและเคมี

2.2.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

นำตัวอย่างขิงอ่อนและขิงแก่จากข้อ 2.1.2 มาชนิดละ 200 กรัม (โดยน้ำหนักแห้ง) สกัดด้วยเอทานอลโดยบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ ปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นเติมเอทานอลลงไป 600 มิลลิลิตร ให้ท่วมตัวอย่างขิง ปิดปากขวดรูปชมพู่ให้สนิทด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์และพาราฟิล์ม แช่ทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นกรองเอากากขิงออกโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำกากขิงมาสกัดซ้ำด้วยเอทานอลตามวิธีข้างต้น นำสารสกัดขิงครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 รวมกัน นำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่อง vacuum rotary evaporator โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 175 มิลลิบาร์ ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) นำไปล้างเอา wax ออกด้วยเอทานอลเย็นจำนวน 7 ครั้ง จากนั้นกรองและระเหยเอทานอลออก สารสกัดที่ได้เรียกว่า absolute เก็บรักษาในขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและเคมี

2.3 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหย

นำน้ำมันหอมระเหยของขิงอ่อนและขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute ที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล มาวิเคราะห์สมบัติดังนี้

2.3.1 ปริมาณของสารสกัดที่ได้ (% yield) ดังสมการ

$$\%\text{yield (w/w) (dry basis)} = \frac{\text{weight of essential oils (g)} \times 100}{\text{weight of raw materials (g)}} \quad \textbf{(1)}$$

2.3.2 ค่าความเข้มสี (color measurement)

นำน้ำมันหอมระเหยและ absolute ที่สกัดได้มา 3 มิลลิลิตร วัดค่าสีโดยใช้เครื่อง colorimeter รุ่น Mini Scan EZ (Hunter Lab, USA) ค่าที่วัดได้แสดงเป็นค่า L^*, a^*, b^* และ $h°$ ซึ่งค่า L^* คือค่าความเข้มและสว่างของสี ค่า a^* คือค่าสีในช่วงสีเขียวถึงสีแดง ค่า b^* คือค่าสีในช่วงสีน้ำเงินถึงสีเหลืองและค่า $h°$ โดยใช้สมการ

$$h° = \arctan(b^*/a^*);\ a^*>0 \quad \textbf{(2)}$$

$$h° = 180 + \arctan(b^*/a^*);\ a^*<0 \quad \textbf{(3)}$$

$$h° = 360 + \arctan(b^*/a^*);\ a^*>0 \text{ และ } b^*<0 \quad \textbf{(4)}$$

2.3.3 ค่าดัชนีหักเห (refractive index)

วิเคราะห์ค่าดัชนีหักเหแสงเป็นอัตราส่วนความเร็วของแสงที่ลดลงเมื่อแสงส่องผ่าน (refractive index, RI) โดยใช้ hand-held refractometer รุ่น R-5000 (Atago, Japan) หยดน้ำมันหอมระเหยและ absolute 1-2 หยดลงบนแผ่นปริซึมของเครื่อง อ่านสเกลผ่านช่องมอง สังเกตเห็นแถบมืดและแถบสว่าง ปรับโฟกัสให้เห็นเส้นสเกลชัดเจนที่สุด บันทึกอุณหภูมิและค่า refractive index ที่วิเคราะห์ได้ คำนวณค่าจากสมการ

$$\text{Refractive index } (n^t_D) = n^{t'}_D + 0.000385\ (t'-25) \quad \textbf{(5)}$$

2.3.4 ค่าการหมุนจำเพาะ (specific rotation)

นำน้ำมันหอมระเหยและ absolute ที่สกัดได้มาบรรจุใน tube ขนาด 10 มิลลิลิตร วัดค่าการหมุนจำเพาะ (specific rotation, $[\alpha]^t\lambda$) ด้วยเครื่องโพลาริมิเตอร์ (polarimeter) รุ่น ADP 220 (Bellingham, UK) โดยนำค่าที่ได้มาคำนวณในสมการ

$$[\alpha]^{t}\lambda = \frac{\alpha}{lc} \quad (6)$$

2.4 วิเคราะห์ volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหย

วิเคราะห์สารหอมระเหย (volatile compounds) ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer รุ่น 7890A (Agilent Technologies, USA) คอลัมน์ DB-5MS capillary ยาว 30 เมตรเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตรหนา 0.25 ไมโครเมตร (J&W, USA) โดยฉีดสารละลายตัวอย่างขิงเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง GC-MS ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.627 มิลลิลิตรต่อนาทีอุณหภูมิของ injector 230 องศาเซลเซียสโปรแกรมของอุณหภูมิที่ใช้วิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากขิง คือ 50 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียสคงที่เป็นเวลา 2 นาที สัดส่วนมวลต่อประจุ (m/z) เท่ากับ 45-450 บ่งชี้คุณลักษณะของสารโดยการเปรียบเทียบสเปกตรัมกับ National Institute of Standard and Technology (NIST) Mass Spectral Search Programและ Chemstation Wiley Spectral Library โดยเทียบเคียงกับสารที่มี mass spectra ของสารที่มี %quality match มากกว่า 80% คำนวณ Retention index (RI) โดยเทียบกับอัลเคนมาตรฐาน (C_8-C_{22}) และ Terpenoids Library [27]

2.5 วิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 ทดสอบความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระด้วย 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay

เตรียมสารละลายตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยขิงที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute ที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมเอทานอลปริมาตร 950 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย 0.1 mM DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer รุ่น Biomate 3 (Thermo Electron Cooperation, Germany) เตรียมสารละลายควบคุม (control) สำหรับน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่สกัดโดยวิธีการต้มกลั่นโดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 1000 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 0.1 mM DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ส่วน absolute ที่สกัดด้วยเอทานอลใช้เอทานอลปริมาตร 1000 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย blank เพื่อวิเคราะห์สีของตัวอย่าง โดยนำน้ำมันหอมระเหยและ absolute จากขิงปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมเอทานอลปริมาตร 950 ไมโครลิตร และเติมเอทานอลอีก 2 มิลลิลิตร เพื่อให้มีปริมาตรเท่ากัน (ดัดแปลงจากวิธีของ Pan และคณะ; Bersuder และคณะ และ Li และคณะ) [28-30] ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณ %DPPH scavenging effect ดังสมการ

$$\%\text{DPPH scavenging effect} = \frac{A_{control} + A_{blank} - A_{test}}{A_{control}} \times 100 \quad (7)$$

เมื่อ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control (น้ำกลั่น + DPPH และ เอทานอล + DPPH)

A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสีตัวอย่าง (เอทานอล + น้ำมันหอมระเหย)

A_{test} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ต้องการทดสอบ (เอทานอล + น้ำมันหอมระเหย + DPPH)

2.5.2 ทดสอบความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลด้วย 2-deoxyribose oxidation assay

นำสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 50 mM (pH 7.4) ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติม 1 mM Ferric chloride 60 mM สารละลายดีออกซีไรโบส 1.04 mM EDTA และปิเปตน้ำมันหอมระเหย

ขิงที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลมาอย่างละปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร (vortex) เก็บในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม 0.3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ 2 mM กรดแอสคอร์บิก มาอย่างละปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมสารให้เข้ากัน เก็บในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 25% กรดไฮโดรคลอริก ตามด้วย 1% กรดไธโอบาร์บิทูริก มาอย่างละปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งให้เกิดปฏิกิริยาในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาในอ่างน้ำเย็น 0 องศาเซลเซียส นำไปปั่นเหวี่ยง 3000 rpm วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ส่วน blank เตรียมโดยเติมน้ำกลั่นและเอทานอล แทนตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยและ absolute ผสมสารทั้งหมดเช่นเดียวกับข้างต้น (ดัดแปลงจากวิธีของ Pan และคณะและ Siddhuraju) [28, 31] ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณ %Hydroxyl scavenging effect จากสมการ

$$\%\text{Hydroxyl scavenging effect} = \frac{(C - CB) - (S - SB)}{(C - CB)} \times 100 \quad \textbf{(8)}$$

เมื่อ S คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่มี 2-deoxyribose

SB คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ตัวอย่างที่ไม่มี 2-deoxyribose

C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (ใส่น้ำกลั่นและเอทานอลแทนตัวอย่าง)

CB คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ตัวควบคุม (น้ำกลั่นและเอทานอลเพียงอย่างเดียว)

2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) ทางสถิติ และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SAS (1997)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากขิง

น้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งจากการสกัดด้วยวิธีการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลมีค่า %yield ค่าสี ค่าดัชนีการหักเหคลื่นแสง และค่าการหมุนจำเพาะ แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 1) โดยพบว่า การสกัดสารจากขิงทั้งชนิดอ่อนและแก่ด้วยเอทานอลนั้นให้ปริมาณของ absolute มากกว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการต้มกลั่น ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนทั้งชนิดสดและแห้งที่สกัดด้วยวิธีการต้มกลั่นได้ร้อยละผลผลิตน้อยกว่าเมื่อเทียบกับน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งที่สกัดด้วยวิธีเดียวกัน แต่ absolute จากขิงอ่อนแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลได้ผลผลิตร้อยละสูงที่สุด เท่ากับ 3.92 เมื่อเทียบกับน้ำมันมันหอมระเหยที่สกัดได้จากขิงอ่อนและขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่น

ค่าสีของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งที่สกัดได้จากการต้มกลั่น (ตารางที่ 1) มีค่าความสว่าง (L^*) อยู่ในช่วง 71.23-67.26 ซึ่งมีค่าความสว่างมากกว่า absolute จากขิงอ่อนและขิงแก่ชนิดแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล (67.07 และ 64.57) โดยน้ำมันหอมระเหยและ absolute จากขิงที่สกัดได้มีค่า a^* เป็นลบ ส่วนค่า b^* เป็นบวก แสดงว่า สีส่วนใหญ่ของน้ำมันหอมระเหยขิงนั้นมีแนวโน้มเป็นสีเหลือง-แดง สีของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลมีค่า $h°$ ระหว่าง 98-109° มีเฉดสีเป็นสีเหลืองจนถึงน้ำตาล แต่น้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่นมีค่าความสว่างมากกว่า absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลโดยน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนมีสีเหลืองใสจนถึงสีเหลืองเข้ม ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่มีสีเหลืองเข้มใสจนถึงสีเหลืองน้ำตาลเข้ม (ตารางที่ 1) ทั้งนี้

เนื่องจากอายุของขิงและการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากขิงด้วยเอทานอลที่สามารถสกัดสารอื่นๆ นอกจากน้ำมันหอมระเหยออกมาด้วย เช่น เม็ดสี (pigment), protein, cellulose และ starch เป็นต้น [4] ทำให้น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีสีเข้ม เมื่อเทียบกับสีที่ได้จากการต้มกลั่น

ค่าดัชนีการหักเหคลื่นแสงของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ที่สกัดโดยการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลอยู่ระหว่าง 1.348 ถึง 1.500 ซึ่ง absolute ขิงที่สกัดด้วยเอทานอล มีค่าดัชนีการหักเหคลื่นแสงใกล้เคียงน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่สกัดได้จากการต้มกลั่น เนื่องจากมีการล้าง wax ออกหลายครั้ง อย่างไรก็ตามค่าดัชนีการหักเหคลื่นแสงมีค่าใกล้เคียงกับรายงานการวิจัยของ Badalayan และคณะ [32] และองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations; FAO) [33] โดยมีค่าดัชนีหักเหอยู่ในช่วง 1.488-1.494

ค่าการหมุนจำเพาะของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนสดและขิงแก่สดที่ได้จากการต้มกลั่นมีค่าเป็นลบ คือ -18.46 และ -7.69 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีสารที่หมุนระนาบแสงไปทางซ้าย (levorotatory; l) เนื่องจากมีปริมาณสาร zingiberene (-73.38) มากที่สุด และยังแสดงถึงการให้กลิ่นรสที่เผ็ดร้อนอีกด้วย [34] สำหรับค่าการหมุนจำเพาะของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้ง (+16.92) และขิงแก่แห้ง (+15.38) ที่ได้จากการต้มกลั่นมีค่าเป็นบวก แสดงว่า มีสารหมุนระนาบแสงไปทางขวา (dextrorotatory; d) เนื่องจากในขิงอ่อนแห้ง พบปริมาณสาร camphene มากที่สุด ซึ่งสาร camphene ที่พบมีลักษณะเป็น D-configuration [35] สำหรับน้ำมันหอมระเหยขิงแก่แห้ง พบสาร geranial หรือ trans-citral มากที่สุด ซึ่งสาร citral นี้ เมื่ออยู่ในรูปแบบ trans- ให้กลิ่น strong lemon แต่ถ้าอยู่ในรูปแบบ cis- ให้กลิ่น lemon ที่อ่อนลง แต่มีความละมุนกว่า [36] ส่วนค่าการหมุนจำเพาะของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้งและขิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่า มีลักษณะการหมุนไปในทิศทางที่แตกต่างกัน คือ -4.62 และ +3.08 ตามลำดับ เนื่องจากปริมาณสาร geranyl acetate ที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้งมากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้ง โดยสารนี้มีค่าการหมุนจำเพาะเท่ากับ -2.00 จึงทำให้ค่าการหมุนจำเพาะที่ได้แตกต่างกัน [37] ซึ่งค่าที่แตกต่างกันนั้น ไม่ขึ้นแต่เฉพาะกับธรรมชาติของสาร optically active เท่านั้น แต่ยังขึ้นกับระยะทางที่แสงผ่านไปในสารตัวอย่าง รวมทั้งความเข้มข้นของสารตัวอย่างนั้นอีกด้วยทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของสารหอมระเหยแต่ละชนิดมีค่าการหมุนจำเพาะที่แตกต่างกันซึ่งสัมพันธ์กับชนิดของสารหอมระเหยที่ได้ นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้นั้นไม่ได้มีสารอยู่เพียงชนิดเดียวเป็นองค์ประกอบ จึงอาจทำให้ค่าการหมุนจำเพาะที่ได้แตกต่างกัน [38]

ตารางที่ 1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่สกัดโดยการต้มกลั่นและการสกัดด้วยเอทานอล

ตัวอย่างพืช	ประเภท	วิธีการสกัด	ผลผลิตร้อยละ (%wt of dry)	ค่าสีของน้ำมันหอมระเหย				ค่าดัชนีการหักเหคลื่นแสง	ค่าการหมุนจำเพาะ, $[\alpha]^t\lambda$	สีที่ได้จากลักษณะปรากฏ
				*L**	*a**	*b**	*h°*			
ขิงอ่อน	สด	ต้มกลั่น	1.06^{f}	70.42^{b}	-0.66^{b}	2.22^{d}	109.14^{a}	1.348^{f}	-18.46^{f}	เหลืองอ่อนใส
	แห้ง	ต้มกลั่น	1.15^{e}	67.48^{c}	-0.49^{a}	1.47^{e}	108.88^{b}	1.469^{d}	16.92^{a}	เหลืองอ่อนใส
		เอทานอล	3.92^{a}	67.07^{e}	-7.65^{e}	29.8^{b}	104.06^{e}	1.495^{b}	-4.62^{d}	เหลืองเข้ม
ขิงแก่	สด	ต้มกลั่น	1.31^{d}	71.23^{a}	-0.84^{c}	2.68^{c}	108.07^{c}	1.354^{e}	-7.69^{e}	เหลืองเข้มใส
	แห้ง	ต้มกลั่น	1.61^{c}	67.26^{d}	-0.52^{a}	1.52^{e}	107.75^{d}	1.477^{c}	15.38^{b}	เหลืองเข้มใส
		เอทานอล	2.82^{b}	64.57^{f}	-6.21^{d}	43.07^{a}	98.37^{f}	1.500^{a}	3.08^{c}	เหลืองน้ำตาลเข้ม
	F-test		**	**	**	**	**	**	**	
	%C.V.		1.01	0.03	-0.73	0.62	0.02	0.14	2.60	
	LSD		0.04	0.04	0.03	0.15	0.03	0.01	0.03	

a, b, c,... letters in the same column are significantly different at $p \leq 0.05$; ns = Non Significant

3.2 Volatile compounds ของน้ำมันหอมระเหยจากขิง

องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยและ absolute จากขิงอ่อนและขิงแก่ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS (ตารางที่ 2) พบว่า สารประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนมี 40 ชนิด โดยสารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนสดที่ได้จากการต้มกลั่น พบ zingiberene มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 16.52 รองลงมาคือ geranyl acetate, geraniol และ geranial โดยมี %relative peak area เท่ากับ 16.19, 7.49 และ 7.41 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้งที่ได้จากการต้มกลั่นพบสาร camphene มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 10.98 รองลงมา คือ geranylacetate, geranial และ zingiberene โดยมี %relative peak area เท่ากับ 10.06, 9.13 และ 8.89 ตามลำดับ และ absolute จากขิงอ่อนแห้งที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลพบ zingiberene มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 31.80 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Norajit [25], Chomkaew [39] และ Boonsong และคณะ [40] ที่พบว่า สารที่เป็นองค์ประกอบหลักของขิงที่สกัดด้วยการต้มกลั่น และเอทานอลได้แก่ zingiberene, β-phellandrene และ bisabolene

4. สรุปผลการทดลอง

RI	Compounds	%relative peak area					
		ขิงอ่อน			ขิงแก่		
		ต้มกลั่น (สด)	ต้มกลั่น (แห้ง)	เอทานอล (แห้ง)	ต้มกลั่น (สด)	ต้มกลั่น (แห้ง)	เอทานอล (แห้ง)
913	2-heptanol	nd	nd	nd	0.20	0.33	nd
942	tricyclene	nd	0.20	nd	nd	0.24	nd
956	α-pinene	2.12	4.19	nd	2.73	4.84	nd
979	camphene	5.92	10.98	nd	6.80	12.64	nd
1016	β-pinene	0.33	0.57	nd	0.41	0.74	nd
1023	6-methylhept-5-en-2-one	nd	0.49	nd	1.02	0.58	nd
1029	myrcene	1.31	2.27	nd	1.45	2.29	nd
1052	α-phellandrene	0.16	0.55	nd	0.29	0.32	nd
1086	1, 8-cineol	3.60	7.93	0.94	4.64	8.74	2.45
1153	terpinolene	0.34	0.51	nd	0.28	0.40	nd
1159	2-nonanone	nd	0.21	nd	nd	0.22	nd
1171	linalool	1.41	4.27	0.35	0.90	1.54	0.41
1235	citronellal	nd	nd	nd	0.26	0.40	nd
1260	borneol	0.70	1.45	0.38	0.87	1.50	0.74
1269	4-terpinenol	0.26	0.50	nd	0.32	0.70	nd
1287	α-terpineol	1.00	1.74	0.56	1.06	1.79	0.91
1323	citronellol	0.31	1.01	0.32	0.66	0.81	0.53
1337	neral	4.23	7.39	0.13	8.33	14.58	0.61

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่นและการสกัดด้วยเอทานอล (ต่อ)

RI	Compounds	%relative peak area					
		ขิงอ่อน			ขิงแก่		
		ต้มกลั่น (สด)	ต้มกลั่น (แห้ง)	เอทานอล (แห้ง)	ต้มกลั่น (สด)	ต้มกลั่น (แห้ง)	เอทานอล (แห้ง)
1351	geraniol	7.49	7.62	4.42	2.08	1.64	0.69
1372	geranial	7.41	9.13	0.20	11.49	19.45	0.96
1391	bornyl acetate	0.24	0.25	nd	nd	nd	nd
1400	2-undecanone	0.10	0.49	0.13	0.32	0.54	0.50
1465	citronellyl acetate	0.57	1.30	1.00	nd	nd	nd
1489	cyclosativene	0.14	nd	0.15	0.17	nd	0.22
1499	geranyl acetate	16.19	10.06	14.48	0.49	0.29	0.67
1513	β-elemene	0.69	0.45	0.37	0.67	0.41	0.44
1585	β-farnesene	0.34	nd	0.45	0.31	nd	0.57
1594	allo-aromadendrene	0.16	nd	0.26	0.27	nd	0.37
1618	curcumene	3.87	2.51	4.10	5.62	3.52	7.92
1634	zingiberene	16.52	8.89	31.80	20.30	6.26	36.50
1640	-muurolene	2.45	1.74	3.69	3.45	1.90	5.41
1644	α-farnesene	6.78	3.49	15.72	8.76	2.90	15.68
1649	β-bisabolene	3.25	1.57	4.91	3.78	1.69	6.25
1667	β-sesquiphellandrene	7.02	3.23	10.64	7.76	3.06	13.24
1695	elemol	0.78	1.10	0.45	0.61	0.82	0.40
1708	nerolidol	1.14	0.94	1.03	0.99	1.03	1.10
1743	spathulenol	0.35	nd	0.30	0.26	0.27	0.34
1770	longiborneol	0.70	0.47	0.40	0.59	0.69	0.55
1790	guaiol	1.04	1.15	0.47	0.96	1.35	0.50
1819	β-eudesmol	1.08	1.35	0.56	0.90	1.52	0.58
2206	gingerol	nd	nd	1.79	nd	nd	1.46

หมายเหตุ nd คือ not detected

RI คือretention index

ตัวอักษรเข้ม หมายถึง สารที่พบในปริมาณมาก

เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนสดและขิงอ่อนแห้งที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลพบว่า การสกัดด้วยเอทานอลทำให้ได้ปริมาณสาร zingiberene สูงกว่า และพบสาร gingerol ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้งที่ได้จากการสกัดโดยการต้มกลั่นพบว่า มีปริมาณของสารหลายชนิดเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับการนำขิงอ่อนสดไปต้มกลั่นแต่สารองค์ประกอบหลักของขิงอ่อนแห้งต้มกลั่น คือ camphene ไม่ใช่ zingiberene เหมือนกับที่พบในขิงอ่อนสดต้มกลั่นและขิงอ่อนแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลแต่ El-Ghorab และคณะ [9] พบสาร camphene ปริมาณสูงในขิงแก่สดและแห้งได้จากการสกัดด้วยการต้มกลั่นและการสกัดด้วยเอทานอลและเอกเซน และ Kale และ Unhalkar [11] ที่พบสาร camphene ปริมาณมากสุดในน้ำมันหอมระเหยขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่น การที่ขิงอ่อนสดและขิงอ่อนแห้งที่สกัดโดยการต้มกลั่นมีสารองค์ประกอบที่ได้แตกต่างกัน โดยสารองค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการต้มกลั่นของขิงอ่อนสดมี 35 ชนิด ขิงอ่อนแห้งมี 34 ชนิด และสารองค์ประกอบที่มีอยู่ใน absolute ขิงอ่อนแห้งที่สกัดด้วยเอทานอลมี 28 ชนิด ทั้งนี้เนื่องจากการนำตัวอย่างขิงสดไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งในระหว่างการให้ความร้อนน้ำและสารระเหยอื่นๆ อาจระเหยและสูญเสียไปรวมทั้งในขิงอ่อนสดมีน้ำอยู่ในเซลล์มาก เมื่อนำมาต้มกลั่นน้ำที่อยู่ภายในเซลล์อาจเป็นตัวสกัดกั้นมิให้สารระเหยบางตัวแพร่ออกมา หรืออาจออกมาได้น้อยกว่าความเป็นจริง [41] จึงทำให้ทั้งตัวอย่างพืชสดและพืชแห้งมีสารองค์ประกอบหลักที่แตกต่างกัน สำหรับการสกัดด้วยเอทานอลในขิงอ่อนแห้งนั้น ถึงแม้ว่าได้สารองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกัน คือ สาร zingiberene แต่ในการสกัดด้วยเอทานอลเป็นเพียงวิธีเดียวที่สามารถสกัดสาร gingerol ได้ เนื่องจากความสามารถในการสกัดสารของเอทานอล จึงทำให้สารองค์ประกอบหลักที่ได้ของทั้ง 2 วิธี แตกต่างกัน

สารประกอบหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอล พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดที่ได้จากการต้มกลั่น มีปริมาณสาร zingiberene มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 20.30 รองลงมา คือ geranial, α-farnesene และ neral โดยมี %relative peak area เท่ากับ 11.49, 8.76 และ 8.33 ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับ absolute ขิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่า มีปริมาณสาร zingiberene มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 36.50 ซึ่งมีปริมาณมากกว่าที่พบในขิงแก่สดต้มกลั่น และยังพบสารอื่นๆ รองลงมา คือ α-farnesene, β-sesquiphellandrene และ curcumene โดยมี %relative peak area เท่ากับ 15.68, 13.24 และ 7.92 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยของขิงแก่แห้งที่ได้จากการต้มกลั่น พบปริมาณสาร geranial มากที่สุด โดยมี %relative peak area เท่ากับ 19.45 รองลงมา คือ neral, camphene และ 1, 8-cineol โดยมี %relative peak area เท่ากับ 14.58, 12.64 และ 8.74 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดที่สกัดโดยการต้มกลั่นกับ absolute ขิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้งสองมีสารที่เหมือนกันในปริมาณที่สูงและที่ปรากฏ peak ชัดเจน คือ 1, 8-cineol (พบในขิงแก่สดมากกว่า absolute ของขิงแก่แห้ง), curcumene และ β-bisabolene (พบใน absolute ของขิงแก่แห้งมากกว่าขิงแก่สด) เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบสาร gingerol ในขิงแก่แห้งเฉพาะที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลเพียงวิธีเดียว

3.3 ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากขิง

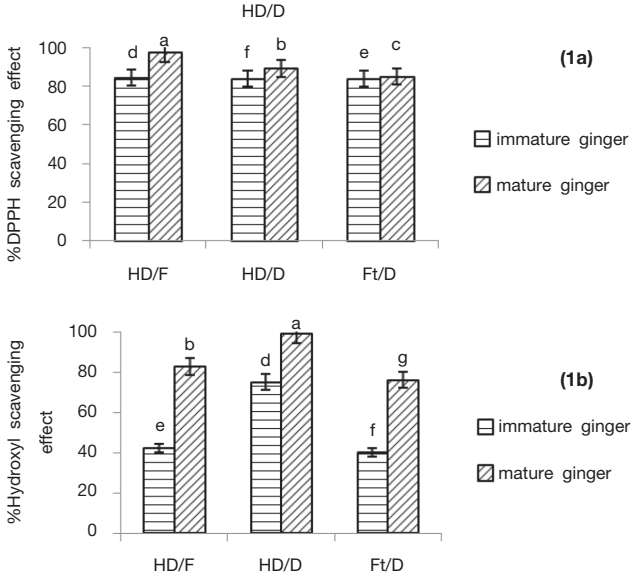
การประเมินค่าความสามารถของน้ำมันหอมระเหยและ absolute จากขิงในงานวิจัยนี้ใช้วิธีการทดสอบที่แตกต่างกัน 2 วิธี คือ DPPH free radical scavenging assay กับ 2-deoxyribose oxidation assay เนื่องจากความสามารถในการทำหน้าที่เป็นตัวรับและกำจัดอนุมูลอิสระต่างกัน

น้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 1a) น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดที่สกัดได้จากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด คือ 97.16% รองลงมา คือ น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งที่ได้จากการต้มกลั่น

(88.79%) และ absolute ขิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอล (84.81%) ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนสดที่ได้จากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด คือ 84.28% รองลงมาคือ absolute ขิงอ่อนแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล (83.64%) และน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้งที่ได้จากการต้มกลั่น (83.81%)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเข้าจับกับอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งที่ได้จากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่า absolute จากขิงอ่อนและขิงแก่แห้ง เนื่องมาจากสารองค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่ได้จากการต้มกลั่นพบชนิดและปริมาณของสาร α-pinene, camphene และ 1, 8-cineol มากกว่าที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่สกัดด้วยเอทานอล เนื่องจากสารเหล่านี้เป็นสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (terpeniod) และสารประกอบฟีนอลิกจึงทำให้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant) หรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี [42] ซึ่งสอดคล้องกับ El-Ghorab และคณะ [9] ที่รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งมีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดทั้งได้จากการสกัดด้วยการต้มกลั่น เนื่องมาจาก camphene และ zingiberene และ ρ-cineol

ส่วนผลของการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลของน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute จากการสกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 1b) โดยพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งที่ได้จากการต้มกลั่นมีค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลมากที่สุด คือ 99.18% รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดที่ได้จากการต้มกลั่น (82.54%) และ absolute ขิงแก่แห้งที่สกัดด้วยเอทานอล (76.00%) ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้งที่สกัดได้จากการต้มกลั่นมีความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลมากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนสดที่ได้จากการต้มกลั่น และ absolute ขิงอ่อนแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล โดยมีค่าเท่ากับ 75.04, 42.25 และ 40.00% เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงที่สกัดโดยวิธีการต้มกลั่นมีค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลมากกว่า absolute ที่สกัดด้วยเอทานอล



รูปที่ 1 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยขิงสด (F) และขิงแห้ง (D) ที่ได้จากการต้มกลั่น (HD) และการสกัดด้วยเอทานอล (Et) ต่อการต้านสารอนุมูลอิสระ (1a) DPPHและ (1b) ไฮดรอกซิล

หมายเหตุ a, b, c,... letters in the same graph are significantly different at $p \leq 0.05$

การสกัดขิงอ่อนและขิงแก่ชนิดแห้งที่สกัดด้วยเอทานอล ได้ absolute ที่มีร้อยละผลผลิตสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนและขิงแก่ทั้งชนิดสดและแห้งที่ได้จากการต้มกลั่น แต่น้ำมันหอมระเหยขิงจากการต้มกลั่นและ absolute มีความบริสุทธิ์ไม่แตกต่างกันโดยน้ำมันหอมระเหยจากการต้มกลั่นและ absolute ของขิงอ่อนและขิงแก่มี zingiberene และ camphene เป็นองค์ประกอบหลักน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่และขิงอ่อนทั้งสดและแห้งที่ได้จากการต้มกลั่นและ absolute ที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลสูงถึง 80% ดังนั้นขิงอ่อนสามารถนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการต้มกลั่นและสกัดด้วยเอทานอลให้ได้ absolute เช่นเดียวกับขิงแก่ มีสมบัติเชิงหน้าที่และฤทธิ์ทางยาที่ดีได้

5. เอกสารอ้างอิง

1. Yamahara, J., Haung, Q., Li, Y., Xu, L. and Fujimura, H., 1990, “Gastro-intestinal motility enhancing effect of ginger and its active constituents”, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 38, No. 2, pp. 430-431.

2. Smith, C., Crowther, C., Willson, K., Hotman, N. and McMilian, V., 2004, *A randomized controlled trial of ginger to treat nausea and vomiting in pregnancy*, Obset Gynecol Hagerstown, United states, pp. 639-645.

3. Jantrathepthewan, V., 2005, *International Congress and 53rd Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant Research*, [Online], Available: http://202.129.59.198/rdi/html/MedicalPlant Meeting 53rd.html [2010, July 31]. (In Thai)

4. Leal, P.F., Braga, M.E.M., Sato, D.N., Carvalho, J.E., Marques, M.O.M. and Meireles, M.A.A., 2003, “Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 51, pp. 2520-2525.

5. Zancan, K.C., Marques, M.O.M., Petenate, A.J. and Meireles, M.A.A., 2002, “Extraction of ginger (Zingibe officinale Roscoe) oleoresin with CO_2 and cosolvents: a study of the antioxidant action of the extracts”, *Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 24, pp. 57-76.

6. Abad, F.A.H., Misra, A. and Naqvi, A.A., 1994, Effect of plants age quality and quantity of oil in Japanese mint: Medicinal Essential Oil Culinary Herb and Pesticides Plant of the Labiates (1973-1993) Part I, CAB International, Wallingford, p.147.

7. Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., Norajit, K. and Boonsong, P., 2008, “Essential oil from five Zingiberaceae for anti food-borne bacteria”, *International Food Research Journal*, Vol. 15, No. 3, pp. 337-346. (In Thai)

8. Singh, G., Kapoor, I.P., Singh, P., Heluani, C.S., Lampasona, M.P. and Catalan, C.A., 2008, “Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiberofficinale*”, *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 46, No.10, pp. 3295-3302.

9. El-Ghorab, A.H., Nauman, M., Anjum, F.M., Hussain, S. and Nadeem, M., 2010, “A Comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) and cumin (*Cuminum cyminum*)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 58, No. 14, pp. 8231-8237.

10. Ibrahim, T.A., Dada, I.B.O. and Adejare, R.A., 2010, “Comparative phytochemical properties of crude ethanolic extracts and physicochemical characteristics of esential oils of *Myristical fragrans* (Nutmeg) seeds and *Zingiber officinate* (Ginger) roots”, *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 9, No. 6, p. 1110.

11. Kale, S.S. and Unhalkar, S.R., 2011, “Extraction, characterization and comparison of esential oil of rhizomes of *Alpinia galanga* (Lin.)

Wild. And *Zingiber officinale* (Roscoe), Fam. Zingiberaceae", *Indian Drugs*, Vol. 48, No. 10, pp. 16-20.

12. Moon, H.I., Cho, S.B. and Kim, S.K., 2011, "Composition and immunotoxicity activity of essential oils from leaves of *Zingiber officinale* Roscoe against *Aedes aegypti* L.", *Immunopharmacollmmunotoxicol*, Vol. 34, No. 6, pp. 1077-1078.

13. Chung, I.M., Praveen, N., Kim, S.J. and Ahmad, A., 2012, "GC-MS analysis of the essential oil and petroleum ether extract of different regions of Korean ginger (*Zingiber officinale*) and antioxidant activity", *Asian Journal of Chemistry*, Vol 24, No. 2, pp. 832-836.

14. Suresh, V.N., Venugopalan, V.V., Beena, J., Sreekumar, M.M. and Menon, A.N., 2012, "Comparison of Essential oil Composition of Three Ginger Cultivars from Sub Himalayan Region", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Vol. 2, No. 3, pp. S1347–S1350.

15. Bellik, Y., Benabdesselam, F., Ayad, A., Dahmani, Z., Boukraa, L., Nemmar, A. and Iguer-Ouada, M,. 2013, "Antioxidant Activity of the Essential Oil and Oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe as Affected by Chemical Environment", *International Journal of Food Properties*, Vol. 16, No. 6, pp. 1304-1313.

16. Jeevani, M.M., Wijekoona, O., Bhata, R., Karima, A.A. and Fazilaha, A., 2013, "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Solvent Extracts of Torch Ginger Inflorescence (*Etlingera elatior* Jack.)", *International Journal of Food Properties*, Vol. 16, No. 6, pp. 1200-1210.

17. Sudam, N., Moshfekus, S.I., Matiur, R., Nurul, H.B., Nasim, S., Aminul, A., Shamim, A., Shajahan, S., Zamilur, R. and Sudhangshu, K.R., 2013, "Quality composition and biological significance of the bangladeshi and china ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)", *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, Vol. 2, No. 5, pp. 2283-2290.

18. Zhannan, Y., Shiqiong, L., Quancai, P., Chao, Z. and Zhengwen, Y., 2009, "GC-MS analysis of the essential oil of coral ginger (*Zingiber corallinum* Hance) rhizome obtained by supercritical fluid extraction and steam distillation extraction", *Chromatographia*, Vol. 69, No. 7-8, pp. 785-790.

19. Alinkina, E.S., Misharina, T.A., Fatkullina, L.D. and Burlakova, E.B., 2012, "Comparison of the antiradical activity of ionol, components of fresh ginger, and its extracts", *Prikladinaia Biokhimiiai Mikrobiologiia*, Vol. 48, No. 5, pp. 564-569.

20. Jeena, K., Liju, B.V. and Kuttan, R., 2013, Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger", *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, Vol. 57, No.1, pp. 51-62.

21. Michele, C.,Marcos, L., Papa, M., Osmar, R.,Lúcio, C. and Agnes, P., 2013, "Supercritical CO2 extracts and essential oil of ginger (*Zingiber officinale* R.): Chemical composition and antibacterial activity", *The Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 80, pp. 44–49.

22. Hsiang-yu, Y., Cheng-hung, C., Hsin-chun, C., Chu-jen, W., Tai-liang, C. and Li-yun, Lin., 2013, "Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts", *LWT - Food Science and Technology*, In Press, Corrected Proof.

23. Okhawilai, M., Vanitchanai, W. and Kiengkitiwoon, V., 2006, *The Extraction of Essential Oil from Thai ginger*, Bachelor of Engineering,

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's University of Technology Thonburi, pp. 26-34. (In Thai)

24. Balachandran, S., Kentish, S.E. and Mawsonb, R., 2006 "The effects of both preparation method and season on the supercritical extraction of ginger", *Separation and Purification Technology*, Vol. 48, pp. 94–105.

25. Norajit, K., 2005, *Functional Properties of Zingiberaceae Extracts: Effect of Extraction Methods on the Antibacterial and Antioxidant Activites*, Master of science, Division of Biochemical Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, 164 p. (In Thai)

26. Malipan, J., 2006, *Antiradical capacity and antimicrobial activity of extracts from ginger and its products*, Master of Science (Food Technology), Department of Food Science and Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, pp. 64-66. (In Thai)

27. Hochmuth, *Terpenoids Library*, [Online], Available: http://massfinder.com/wiki/Terpenoids__Library__List [2010, August 1]

28. Pan, M., Jiang, T.S. and Pan, J.L., 2009, "Antioxidant Activities of Rapeseed Protein Hydrolysates", *Food and Bioprocess Technology*, Vol. 2, No. 5, pp. 117-124.

29. Bersuder, P., Hole, M. and Smith, G., 1998, "Antioxidants from a heated histidine-glucose model system I: Investigation of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high-performance liquid chromatography", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 75, pp. 181-187.

30. Li, B., Chen, F., Wang, X., Ji, B. and Wu, Y., 2007, "Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization–mass spectrometry", *Food Chemistry*, Vol. 102, No. 4, pp. 1135-1143.

31. Siddhuraju, P., 2007, "Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindusindica* seed coat", *Food Science and Technology*, Vol. 40, No. 6, pp. 982-990.

32. Badalayan, A.G., Wilkinson, G.T. and Chun, B.S., 1998, "Extraction of Australian ginger root with carbon dioxide and ethanol entrainer", *Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 13, pp. 319-324.

33. Plotto, A., 2004, "Ginger: Post-production management for improved market access for herbs and spices", Compendium on Postharvest Operations, *Food and AgricultureOrganization of the United Nations (FAO)*, Available: http://www.faostat.fao.org [2012, 2 June].

34. Gildemeister, E., 1931, *Zingiberene* [Online], Available: http://chestofbooks.com/health/aromatherapy/The-Volatile-Oils-Vol1/Zingiberene.html [2011, 9 March].

35. Gildemeister, E., 1931, *Camphene* [Online], Available: http://chestofbooks.com/health/aromatherapy/The-Volatile-Oils-Vol1/Camphene.html [2011, 9 March].

36. Lawless J., 1999, *The Illustrated Endclopedia of Essential Oils: The complete Guide to the Use of Oils in Aromatherapy and Herbalism*, Element Book Limited, United Kingdom, p. 205.

37. *Geranyl acetate* [Online], Available: http://www.guidechem.com/reference/dic-1916.html [2012, 17 December]

38. Intranupakorn, R., 2003, "Ginger is a food as well as medicine", *Journal of Science and Technology*, Vol. 10, No. 5, pp. 93-97. (In Thai)

39. Chomkaew, T., 2008, *Extraction of the Essential oil from Ginger by Hydrodistillation and Steam Distillation*, Master of Engineering, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's University of Technology Thonburi, pp. 75-78. (In Thai)

40. Boonsong, P., Laohakunjit, N. and Kerdchoechuen, O., 2007, "Development of Aroma Fixative in Thai Pot-Pourri and Dry Flowers Using Starch Film and Essential Oil from 5 Herbs", *KMUTT Research and Development Journal*, Vol. 30, No. 2, pp. 330-338. (In Thai)

41. Purseglove, J.W., Brown, E.G., Green, C.L. and Robbins, S.R.J., 1981, *Spice*, Vol. 1, D. Van Nostrand Co., New York, pp. 100-173.

42. Ernst, E. and Pittler, M.H., 2000, "Efficacy of ginger for nausea and vomiting: a systematic review of randomized clinical trials", *British Journal of Anaesthesia*, Vol. 84, No. 3, pp. 367–71.