

นิพนธ์ต้นฉบับ

**ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ
Escherichia coli ของสารสกัดหยาบจากกระชาย
Boesenbergia rotunda (L.) Mansf.**

สมพล คนเพียร¹ มินตะรี วัฒนาพฤษกุล² ณฐา นานาศิลป์² วลัยศรีธรรม์ สิทธิวีระกุล³

สุภัทฐิณี พิระโชติวัฒน์⁴ และ จุฑามาศ ดวงกมล^{1*}

¹ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยปทุมธานี

² โรงเรียนนานาชาติบางกอกพรินซ์แพราธอรีแอนด์เช็กเคินเดอร์, กรุงเทพมหานคร

³ SISB กรุงเทพมหานคร

⁴ โรงเรียนนานาชาติเซนต์แอนดรูว์, กรุงเทพมหานคร

*ผู้รับผิดชอบการติดต่อ E-mail : chuthamat.d@ptu.ac.th

Received date: December 13, 2024; Revised date: May 7, 2025; Accepted date: May 7, 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) และ *Escherichia coli* (*E. coli*) และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากกระชายโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันสองชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากกระชายที่สกัดด้วยเมทานอลได้ร้อยละผลผลิตมากกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน โดยให้ร้อยละของสารสกัดหยาบเท่ากับ 17.2 และ 9.8 ตามลำดับ สารสกัดหยาบจากกระชายที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอลมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งการเจริญได้ดีกับเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13.07 ± 0.7841 mm เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ไม่แสดงบริเวณการยับยั้ง ในขณะที่ใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนไม่แสดงบริเวณการยับยั้งกับเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากกระชายโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลมีค่าเท่ากับ 1.220 ± 0.072 mgGAE/gDW และ 2.543 ± 0.106 mgQE/gDW ส่วนสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เท่ากับ 1.270 ± 0.014 mgGAE/gDW และ 3.512 ± 0.027 mgQE/gDW ตามลำดับ

คำสำคัญ: สารสกัดหยาบจากกระชาย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

The Antioxidant Activity and Anti *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. Extract

Somphon Khonphian¹, Mintaree Watanapruksakul², Natha Nanasilp²,
Valunrus Sittiverakul³, Supattinee Peerachotiwaitra⁴, Chuthamat Duangkamol^{1*}

¹ Faculty of Allied Health Sciences, Pathumthani University,

² Bangkok International Preparatory and Secondary School

³ Singapore International School of Bangkok (SISB Pracha Uthit)

⁴ St. Andrews International School Bangkok

*Corresponding author E-mail: chuthamat.d@ptu.ac.th

Abstract

This study investigated the effect of inhibiting the growth of bacteria *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*), as well as the antioxidant activity by DPPH radical scavenging assay method, total phenolic content and total flavonoid content of crude extracts from *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. using two types of solvents with different polarities. The crude extracts of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. using methanol solvent produced the highest percentage yield when compared to dichloromethane solvent. The percentage yields of the crude extracts were 17.2% and 9.8%, respectively. The methanol extract of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. inhibited the growth of *S. aureus* with an average inhibition zone of 13.07 ± 0.7841 mm, while *E. coli* showed no inhibition zones. The solvent dichloromethane did not exhibit any inhibition zones against either type of bacteria. Furthermore, crude extracts from *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. using methanol had a total phenolic content of 1.220 ± 0.072 mgGAE/gDW and total flavonoid content of 2.543 ± 0.106 mgQE/gDW, while dichloromethane had 1.270 ± 0.014 mgGAE/gDW and 3.512 ± 0.027 mgQE/gDW, respectively.

Keywords: *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. Extract, Antioxidant Activity, Anti *Staphylococcus*

บทนำ

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างกลม สามารถพบได้ทั้งในธรรมชาติและบนผิวหนังของมนุษย์โดยเฉพาะบริเวณจมูกและลำคอ (Normal flora)⁽¹⁻³⁾ ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้จะมีประโยชน์ต่อมนุษย์ในสภาวะปกติ แต่ทว่า Normal flora บางชนิดสามารถฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคได้เมื่อความต้านทานของร่างกายลดลง เรียกว่า “opportunistic pathogens” รวมไปถึงเชื้อ *S. aureus* ด้วยที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้หลากหลาย^(4,5) เช่น การติดเชื้อที่ผิวหนัง^(6,7) ภาวะพิษในกระแสเลือด^(7,8) และ ปอดบวม⁽⁹⁾ ซึ่งในปัจจุบันเชื้อ *S. aureus* สามารถผลิตสารพิษที่ช่วยให้มันหลีกเลี่ยงต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และต้านทานต่อยาปฏิชีวนะได้ โดยเฉพาะสายพันธุ์ *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขทั่วโลก⁽¹⁰⁻¹²⁾

Escherichia coli (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดหนึ่งที่พบได้ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ ซึ่ง *E. coli* บางสายพันธุ์สามารถก่อให้เกิดโรค (pathogenic strains) เช่น *E. coli* O157:H7 อาจก่อให้เกิดการติดเชื้อที่รุนแรงโดยเฉพาะระบบทางเดินอาหารและทางเดินปัสสาวะซึ่งเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขในหลายประเทศทั่วโลก⁽¹³⁾ การติดเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์อาจส่งผลให้เกิดอาการรุนแรงเช่น โรคท้องเสีย⁽¹⁴⁾ เลือดออกในลำไส้⁽¹⁵⁾ รวมไปถึงภาวะไตล้มเหลว (hemolytic uremic syndrome, HUS)⁽¹⁶⁾ ปัญหาด้านความปลอดภัยของอาหารและน้ำดื่มที่ปนเปื้อน *E. coli* เป็นอีกหนึ่งสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคเหล่านี้ โดยเฉพาะประเทศที่ระบบสุขาภิบาลและการจัดการน้ำยังไม่สมบูรณ์ ทำให้น้ำที่ใช้ดื่มกินไม่สะอาดมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* การแพร่ระบาดของ *E. coli* นั้นสามารถเกิดได้จากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อน รวมถึงการสัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อหรือตัวพาหะ การควบคุมและการป้องกันการแพร่กระจายของแบคทีเรียชนิดนี้จึงเป็นเรื่องสำคัญ ซึ่งรวมถึงการดูแลสุขภาพอนามัย การทำความสะอาดผักผลไม้และการปรุงอาหารให้สุกอย่างทั่วถึงเพื่อป้องกันการติดเชื้อและการแพร่ระบาดในวงกว้าง⁽¹⁷⁻¹⁹⁾

กระชาย *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. (*Boesenbergia rotunda* (L.)) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้อยู่ในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มาเป็นเวลานาน โดยเฉพาะในประเทศไทยมีการใช้กระชายเป็นเครื่องเทศในการปรุงอาหารและถูกนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณ⁽²⁰⁾ ซึ่งกระชายมีหลายชนิด เช่น กระชายดำ กระชายขาว กระชายเหลือง เป็นต้น ซึ่งแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติทางยาและโภชนาการที่แตกต่างกัน⁽²¹⁾ จากงานวิจัยที่รายงานมาก่อนหน้านี้พบว่า ในสารสกัดจากกระชายประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น panduratin A (แพนดูราทิน เอ) Pinodtrobins (พินโนโตรบิน) Boesenbergin (โบเอชิน)^(22,23) เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะช่วยต้านการอักเสบ⁽²⁴⁾ ด้านเชื้อแบคทีเรีย⁽²⁵⁾ ด้านไวรัส⁽²⁶⁾ ด้านอนุมูลอิสระ⁽²⁷⁾ ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ ที่เกี่ยวกับการอักเสบเรื้อรัง และช่วยเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย⁽²²⁾

สารสกัดจากกระชายจึงเป็นอีกหนึ่งชนิดที่น่าสนใจเนื่องจากมีสารสำคัญ และคุณสมบัติที่หลากหลาย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาสารสกัดจากกระชายขาวที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่ช่วยปกป้องเซลล์ในร่างกายจากความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ และสามารถทำลายเซลล์ได้เมื่อเกิดการสะสมมากเกินไป ช่วยป้องกันความเสื่อมของเซลล์ ลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด ฯลฯ⁽²⁸⁾ และฤทธิ์การต้านการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus* และ *E. coli* ที่มีโอกาสพบได้ตลอดเวลา นอกจากนี้ผู้วิจัยยังสนใจที่จะศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และ

ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากกระชายขาวที่มีขายตามท้องตลาดทั่วไป เพื่อพัฒนาสารสกัดจากธรรมชาติสู่แนวทางการรักษาและควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อชนิดนี้ในประชากรมนุษย์และสัตว์

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากกระชาย
2. เพื่อศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกระชาย
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus* และ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากกระชาย

ระเบียบวิธีศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดจากกระชาย

กระชายขาวที่ใช้ในการศึกษานำมาจากตลาดพุนพิน อ.เมืองพุนพิน จ.พุนพิน เตรียมสารสกัดกระชายโดยการนำหัวกระชายมาล้างน้ำให้สะอาด จากนั้นนำมาหั่นเป็นแว่นตามขวางแล้วอบเพื่อไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำกระชายที่อบจนแห้งแล้วไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น แล้วนำมาชั่งปริมาณ 10 g ใส่ลงไปในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL จำนวน 2 ขวด ขวดแรกเติมตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนขวดที่สองเมทานอลลงไปปริมาตร 100 mL (อัตราส่วน 1 : 10) แช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองสารสกัดกระชายด้วยกระดาษกรองแล้วนำสารสกัดที่ได้มาระเหยเพื่อเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) เมื่อสารสกัดระเหยแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาปริมาณ %yield (ร้อยละของผลผลิต) ที่ได้ ดังสมการที่ (1) และนำไปสารสกัดหยาบจากกระชายที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ก่อนนำไปทดลองต่อไป

$$\text{ร้อยละของผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักของผลผลิตกระชายที่สกัดได้จริง (g)} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างกระชายแห้งตั้งต้น (g)}} \quad \dots\dots\dots (1)$$

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay⁽²⁹⁾

นำสารสกัดกระชายความเข้มข้น 0.1625-10 mg/mL เติมลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 µL จากนั้นเติมสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.4 µg ต่อ 1 mL ปริมาตร 180 µL ลงไป และนำไปตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm โดยใช้เครื่อง Microplate reader คำนวณหาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน Vit-C (กรดแอสคอร์บิก) ที่ความเข้มข้น 0.1625-10 mg ต่อ 1 mL รายงานผลเป็นค่า % Scavenging ซึ่งค่าที่ได้จะหมายถึง % การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งหาได้จากสูตร ดังสมการที่ (2)

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากกระชาย⁽³⁰⁾

นำสารสกัดกระชายความเข้มข้น 0.1625-10 mg ต่อ 1 mL เติมลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 μL ที่มีน้ำกลั่น 40 μL ตามด้วยโซเดียมไนเตรทความเข้มข้น 10% ปริมาตร 20 μL ทิ้งไว้นาน 5 นาที ตามด้วยอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 20 μL ทิ้งไว้นาน 6 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 mol/dm³ ปริมาตร 100 μL แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 510 nm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ Quercetin (เคอควิทิน) เป็น positive control

4. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกระชาย⁽³⁰⁾

นำสารสกัดกระชายความเข้มข้น 0.1625-10 mg/mL เติมลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 μL จากนั้นเติมสารละลาย 2.0 mol/dm³ Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 μL และเติมสารละลาย Sodium carbonate (โซเดียมคาร์บอเนต) ความเข้มข้น 75 g/L ปริมาตร 80 μL ผสมให้เข้ากันแล้วปิดทับด้วยกระดาษฟลอยด์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดกระชายโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Gallic acid (กรดแกลลิก) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดหยาบจากกระชาย

ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* โดยตรวจสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion⁽³¹⁾ โดยใช้สารสกัดหยาบจากกระชายที่ความเข้มข้น 100 mg/mL มี positive control ใช้ Ciprofloxacin 20 mg/mL โดยใช้ห้วงถ่ายเชื้อแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางเชื้อให้ด้วย PBS buffer ให้ได้ Optical Density (OD) เทียบเท่า McFarland 0.5 และใช้ไม้ที่พันด้วยสำลีจุ่มลงในหลอดสารละลายเชื้อ นำมาเกลี่ยบนผิวหน้าอาหาร Nutrient agar ตูดสารสกัดกระชายปริมาตร 10 μL ลงบน paper disc ปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm แล้ววาง paper disc บนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (inhibition zone)

6. สถิติที่ใช้ในการวิจัย

สำหรับการวิเคราะห์ทางสถิตินั้นข้อมูลทั้งหมดจะถูกระบุในรูปของ Mean and Standard Deviation (mean $\pm$ SD) (ทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้ง) ซึ่งการคำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

1. สารสกัดหยาบจากกระชาย

จากการทดลองการสกัดกระชายโดยใช้ไดคลอโรมีเทนและเมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดหยาบจากกระชายที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (KCD) มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 9.8 ซึ่งน้อยกว่าสารสกัดหยาบจากกระชายที่สกัดด้วยเมทานอล (KCM) มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 17.2 ดังตารางที่ 1

2. ผลการทดสอบวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็น positive control พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.165 – 0.625 mg/mL สารสกัดหยาบ KCD มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบ KCM ในทางกลับกันที่ความเข้มข้น 1.25 – 10.00 mg/mL สารสกัดหยาบ KCM มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น และมีแนวโน้มที่มากกว่าสารสกัดหยาบ KCD ดังภาพที่ 1 จากรายงานก่อนหน้านี้พบว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกระชายขาว คือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่มีสารสำคัญ เช่น ฟิโนสโตรบิน เคอซิทิน และคาเทชิน^(22,23) ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วหรือกึ่งมีขั้วดังนั้นจึงสามารถละลายออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น เมทานอล ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ KCM ที่ความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบ KCD ทั้งนี้คุณสมบัติทางขั้วแตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมีของกระชายแต่ละชนิด หรือสารสำคัญในกระชายมีมากหรือน้อยอาจขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารในดินจากแหล่งเพาะปลูกอาจจะต้องมีการศึกษาต่อไปในอนาคต อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบจากกระชายที่สกัดได้จากตัวทำละลายทั้งสองชนิดมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น ที่ความเข้มข้น 10 mg/mL สารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ 93 ± 0.2031 ส่วนสารสกัดหยาบ KCD และ KCM มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ 57 ± 4.1567 และ 80 ± 0.5558 ตามลำดับ

3. ผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากกระชาย

จากการศึกษาการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากกระชาย โดยใช้เคอซิทินเป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารสกัดหยาบ KCD สารสกัดหยาบ KCM และสารละลายมาตรฐานเคอซิทิน มีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดหยาบ KCD มีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าสารสกัดหยาบ KCM ดังภาพที่ 2 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานเคอซิทินมีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.4478x + 0.0913$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9977 พบว่าสารสกัดหยาบ KCD และสารสกัดหยาบ KCM รวมเฉลี่ยเท่ากับ 3.512 ± 0.027 และ 2.543 ± 0.106 mgQE/gDW ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดหยาบ KCD มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยมากกว่าสารสกัดหยาบ KCM จากงานวิจัยที่รายงานก่อนหน้านี้พบว่าในเหง้าของกระชายมีสารประกอบประเภท Hydrocarbon ซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้วเป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ ไพนีน (pinene) แคมเฟน (camphene) ทูจีน (thujene) บอเนอล (borneol) เมอร์ซีน (myrcene) ไลโมนีน (limonene) และการบูร เป็นต้น และยังมีน้ำมันหอมระเหยประเภทฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และ โครมิน (chromene) ปริมาณร้อยละ 0.08^(22, 38) ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้จะสามารถละลายออกมาได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้สารสกัดหยาบ KCD มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยมากกว่าสารสกัดหยาบ KCM จึงสอดคล้องกับรายงานข้างต้น เนื่องจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีขั้วต่ำกว่าตัวทำละลายเมทานอลจึงทำให้สามารถละลายสารสำคัญที่มีอยู่ในกระชายออกมาได้ดีกว่า

4. ผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากกระชาย

จากการศึกษาการหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากกระชายโดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเป็น positive control พบว่าสารสกัดหยาบจากกระชายมีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบ KCD มีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าสารสกัด KCM เพียงเล็กน้อยที่ความเข้มข้น 5-10 mg/mL ดังภาพที่ 3 เมื่อคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกมีสมการเส้นตรง คือ $y = 1.0235x + 0.2866$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9903 พบว่า สารสกัดหยาบ KCD มีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ย 1.270 ± 0.014 mgGAE/gDW ส่วนสารสกัด KCM มีปริมาณฟีนอลิกรวมเฉลี่ย 1.220 ± 0.072 mgGAE/gDW ซึ่งมีปริมาณต่างกันเพียงเล็กน้อยดังตารางที่ 2

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดกระชาย

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบ KCM มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีขนาดโซนยับยั้งประมาณ 13.07 ± 0.7841 mm (ตารางที่ 3) ในขณะที่แบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* ไม่ปรากฏโซนการยับยั้ง สำหรับสารสกัดหยาบ KCD พบว่าไม่ปรากฏโซนการยับยั้ง ดังนั้น สารสกัดหยาบ KCD จึงไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ ส่วน positive control (ciprofloxacin) สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีขนาดโซนยับยั้งประมาณ 31.79 ± 0.4714 และ 34.16 ± 0.3391 ตามลำดับดังภาพที่ 4 การนำยาปฏิชีวนะ ciprofloxacin มาใช้เป็น positive control มีรายงานอย่างแพร่หลาย และพบว่านอกจากจะสามารถนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้แล้ว นอกจากนี้ ciprofloxacin มีรายงานว่ายังสารมายับยั้งเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ ได้อีกมากมาย⁽³²⁻³⁴⁾ และจากรายงานที่กล่าวมาข้างต้นในกระชายจะมีองค์ประกอบทางเคมีของสารสำคัญหลากหลายชนิดทั้งสารประกอบที่มีขี้ และสารประกอบที่ไม่มีขี้ จึงคาดว่าสารสำคัญที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากกระชายที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมาจากสารบางชนิดที่มีขี้สูง ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบ KCM มีประสิทธิภาพมากกว่าสารสกัดหยาบ KCD ซึ่งตัวทำละลายเมทานอลมี Polarity Index เท่ากับ 5.1 ซึ่งมากกว่าตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน Polarity Index เท่ากับ 3.1⁽³⁵⁾ ดังนั้นเมื่อใช้ตัวทำละลายเมทานอลในการสกัดจึงทำให้สารสำคัญที่อยู่ในกระชายสามารถละลายได้ออกมาได้ดีกว่าไดคลอโรมีเทน ซึ่งสัมพันธ์กับทฤษฎี Like Dissolves Like เมื่อมีสารสำคัญที่ละลายออกมามากกว่าจึงส่งผลให้มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่า^(36,37) แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดอาจมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับตัวทำละลายและเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับพฤกษเคมีของกระชาย และความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดอื่นๆ ยังเป็นที่น่าสนใจไม่น้อยและยังช่วยให้เข้าใจลึกซึ้งเกี่ยวกับคุณสมบัติและประสิทธิภาพของสารสกัดได้มากขึ้น

ข้อสรุป

จากการศึกษาสารสกัดหยาบจากกระชายที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน และตัวทำละลายเมทานอลที่มีขี้ต่างกัน พบว่าสารสกัดหยาบ KCD และ KCM มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และพบว่าสารสกัดหยาบ KCD มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมที่มากกว่าสารสกัดหยาบ KCM โดยเห็นความแตกต่างได้อย่างชัดเจนที่ความเข้มข้น 5 และ 10 mg/mL ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อนำสารสกัดหยาบจากกระชายมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดหยาบ KCM มีความสามารถในการยับยั้ง

แบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดีที่สุด แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* ได้ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันจะทำให้มีปริมาณสารสำคัญที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวม รวมถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจึงต่างกันอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม สารสกัดหยาบจากกระชายจำเป็นต้องได้รับการศึกษาพิษเคมีที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆเพิ่มเติมก่อนที่จะนำมาใช้เป็นทางเลือกในการยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อชนิดอื่นๆ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยปทุมธานีที่สนับสนุนให้บุคลากรในมหาวิทยาลัยได้พัฒนาศักยภาพทางด้านงานวิจัยร่วมกับกลุ่มนักเรียนมัธยมศึกษาตอนปลายที่มีความสนใจในด้านการวิจัย และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการกลาง คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยปทุมธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือในงานวิจัย และความช่วยเหลือด้านต่างๆ จนคณะผู้วิจัยสามารถทำ งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ร้อยละของผลผลิตของสารสกัดหยาบจากกระชาย

ลำดับที่	ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)	ร้อยละของสารสกัดหยาบจากกระชาย
1	ไดคลอโรมีเทน	0.98	9.8
2	เมทานอล	1.72	17.2

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดจากกระชายที่ความเข้มข้น 10 mg/mL

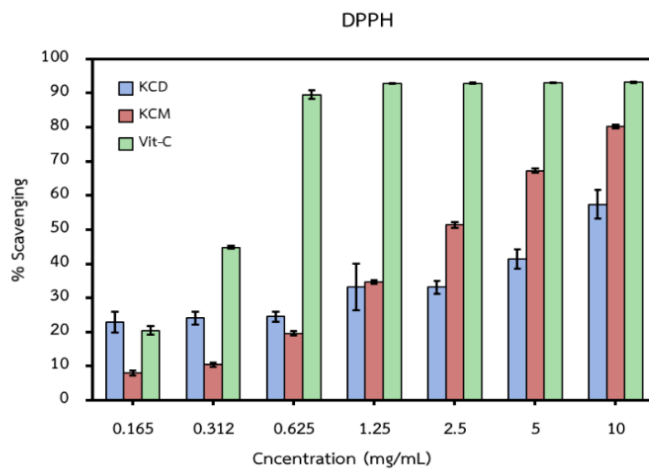
การวิเคราะห์							
ปริมาณฟีนอลิกรวม (mgGAE/gDW)		ปริมาณรวม (mg/gDW)					
		ครั้งที่	1	2	3	mean±SD	
		สารสกัด	KCD	1.267	1.289	1.255	1.270±0.014
			KCM	1.212	1.312	1.136	1.220±0.072
ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mgQE/gDW)		ปริมาณรวม (mg/gDW)					
		ครั้งที่	1	2	3	mean±SD	
		สารสกัด	KCD	3.547	3.481	3.509	3.512±0.027
			KCM	2.395	2.592	2.643	2.543±0.106

ข้อมูลทั้งหมดแสดงเป็น เฉลี่ย±SD สำหรับการทดลอง 3 ซ้ำ

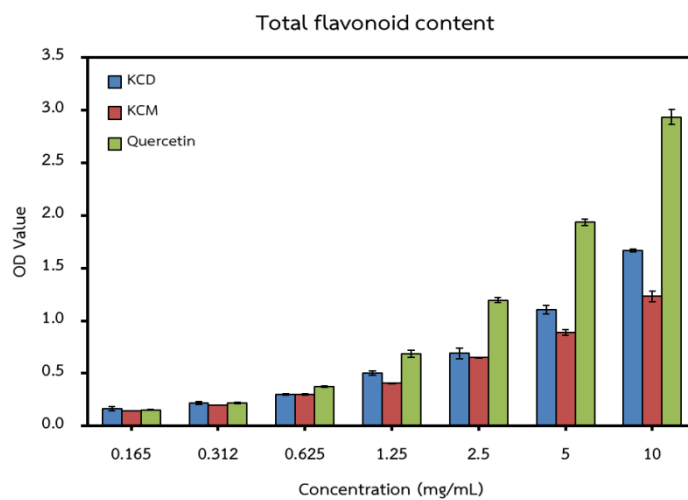
ตารางที่ 3 เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเฉลี่ย (mm) ของสารสกัดหยาบจากกระชายต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli*

สารสกัด	บริเวณยับยั้ง (mean±SD)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
KCD	-	-
KCM	13.07±0.7841	-
Ciprofloxacin	31.79±0.4714	34.16±0.3399

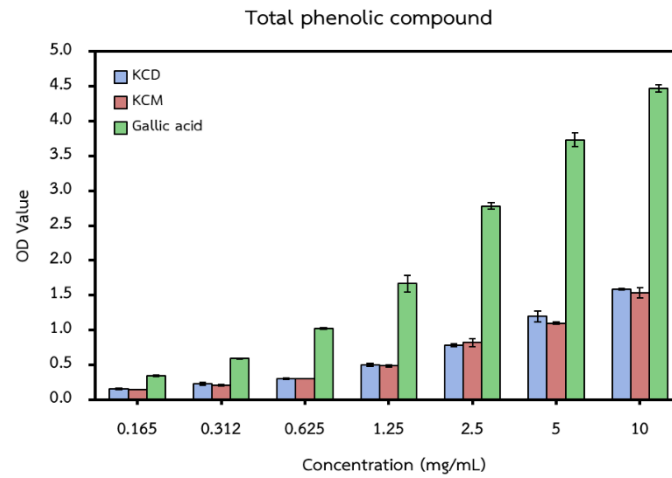
หมายเหตุ : - หมายถึง ไม่ปรากฏโซนการยับยั้ง



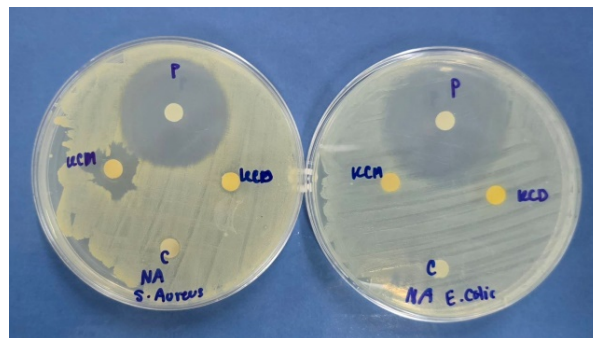
ภาพที่ 1 กราฟแสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาดจากกระชาย เทียบกับกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่างๆในหน่วย mg/mL.



ภาพที่ 2 กราฟแสดงปริมาณค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาดจากกระชายที่แสดงถึงปริมาณสารฟลาโวนอยด์เปรียบเทียบกับควอร์เซติน



ภาพที่ 3 กราฟแสดงปริมาณค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากกระชายที่แสดงถึงปริมาณสารฟีนอลิกเปรียบเทียบกับกรดแกลลิก



ภาพที่ 4 บริเวณยับยั้งของสารสกัดหยาบจากกระชายต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* กำหนดให้ P คือ Ciprofloxacin เป็น Positive Control, C คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็น Negative Control, KCD คือ กระชายที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน, KCM คือ กระชายที่สกัดด้วยเมทานอล

เอกสารอ้างอิง

1. Gomaa EZ. (2017). Silver nanoparticles as an antimicrobial agent: A case study on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as models for Gram-positive and Gram-negative bacteria. **The Journal of general and applied microbiology**. 63(1), 36-43.
2. Kumar JD, et al. (2009). Detection of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from paper currency. **International Journal of Infectious Diseases**. 13(6), e450-e455.
3. Fisher JF & Mobashery S. (2020). β -Lactams against the Fortress of the Gram-Positive *Staphylococcus aureus* Bacterium. **Chemical reviews**. 121(6), 3412-3463.
4. Brown SP, et al. (2012). Evolution of virulence in opportunistic pathogens: generalism, plasticity, and control. **Trends in microbiology**. 20(7), 336-342.
5. Feazel LM, et al. (2009). Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. **Proceedings of the national academy of sciences**. 106(38), 16393-16399.
6. Bamberger DM & Boyd SE. (2005). Management of *Staphylococcus aureus* infections. **American family physician**. 72(12), 2474-2481.
7. Ryu S, et al. (2014). Colonization and infection of the skin by *S. aureus*: immune system evasion and the response to cationic antimicrobial peptides. **International journal of molecular sciences**. 15(5), 8753-8772.
8. Del Rio A, et al. (2009). Patients at risk of complications of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. **Clinical Infectious Diseases**. 48(Sup4), S246-S253.
9. He H & Wunderink RG. (2020). In *Staphylococcus aureus pneumonia in the community*, Seminars in respiratory and critical care medicine. **Thieme Medical Publishers**. pp 470-479.
10. Enright MC, et al. (2002). The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 99(11), 7687-7692.
11. Grema HA, et al. (2015). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). a review.
12. Köck R, et al. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. **Eurosurveillance**. 15(41).
13. Lim JY, et al. (2010). A brief overview of *Escherichia coli* O157: H7 and its plasmid O157. **Journal of microbiology and biotechnology**. 20(1), 5.
14. Slutsker L, et al. (1997). *Escherichia coli* O157: H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features. **Annals of internal medicine**. 126(7), 505-513.
15. Rivas M, et al. (2000). Intestinal bleeding and occlusion associated with Shiga toxin producing *Escherichia coli* O127: H21. **MEDICINA-BUENOS AIRES**. 60(2), 249-252.
16. Bell BP, et al. (1997). Predictors of hemolytic uremic syndrome in children during a large outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections. **Pediatrics**. 100(1), e12-e12.

17. Su C & Brandt LJ. (1995) *Escherichia coli* O157: H7 infection in humans. **Annals of internal medicine.** 123(9), 698-707.
18. Bach S, et al. (2002). Transmission and control of *Escherichia coli* O157: H7-a review. **Canadian journal of animal science.** 82(4), 475-490.
19. Slutsker L, et al. (1998). A nationwide case-control study of *Escherichia coli* O157: H7 infection in the United States. **Journal of Infectious Diseases.** 177(4), 962-966.
20. Kiat TS, et al. (2006). Inhibitory activity of cyclohexenyl chalcone derivatives and flavonoids of fingerroot, *Boesenbergia rotunda* (L.), towards dengue-2 virus NS3 protease. **Bioorganic & medicinal chemistry letters.** 16(12), 3337-3340.
21. Tang SW, et al. (2007). Characterization of flavonoid derivatives from *Boesenbergia rotunda* (L.). **Malaysian Journal of Analytical Sciences.** 11(1), 154-159.
22. Atun S, et al. (2018). Potential bioactive compounds isolated from *Boesenbergia rotunda* as antioxidant and antimicrobial agents. **Pharmacognosy Journal.** 10(3).
23. Eng-Chong T, et al. (2012). *Boesenbergia rotunda*: from ethnomedicine to drug discovery. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.** 2012(1), 473637.
24. Isa N, et al. (2012). In vitro anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (L.) (fingerroot). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** 45, 524-530.
25. Zainin N, et al. (2013). Antibacterial activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. A. extract against *Escherichia coli*. **International Food Research Journal.** 20(6), 3319.
26. Kanjanasirirat P, et al. (2020). High-content screening of Thai medicinal plants reveals *Boesenbergia rotunda* extract and its component Panduratin A as anti-SARS-CoV-2 agents. **Scientific reports.** 10(1), 19963.
27. Rithichai P, et al. (2022). Growth, bioactive compound accumulation and antioxidant activity in rhizomes and storage roots of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. **Agriculture and Natural Resources.** 56(2), 299–306-299–306.
28. Kurutas EB, et al. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. **Nutrition journal.** 15, 1-22.
29. Tehfe MA, et al. (2013). New chromone based photoinitiators for polymerization reactions under visible light. **Polymer Chemistry.** 4(15), 4234-4244.
30. Saeed N, et al. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. **BMC complementary and alternative medicine.** 12, 1-12.
31. Domig KJ, et al. (2007). Antibiotic susceptibility testing of *Bifidobacterium thermophilum* and *Bifidobacterium pseudolongum* strains: Broth microdilution vs. agar disc diffusion assay. **International Journal of Food Microbiology.** 120(1-2), 191-195.

32. Nworu C & Esimone, C. (2006) Comparative evaluation of three in vitro techniques in the interaction of ampicillin and ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. 5(2), 605-611.
33. Arslan H, et al. (2020). Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. 56(5), 914-918.
34. Becerra M & Albesa I. (2002). Oxidative stress induced by ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus*. **Biochemical and biophysical research communications**. 297(4), 1003-1007.
35. Kleiman M, et al. (2016). Determination of Factors Influencing the Wet Etching of Polydimethylsiloxane Using Tetra-n-butylammonium Fluoride. **Macromolecular Chemistry and Physics**. 217(2), 284-291.
36. Adhikari D, et al. (2020). Vasorelaxant effect of *Boesenbergia rotunda* and its active ingredients on an isolated coronary artery. **Plants**. 9(12), 1688.
37. Han C, et al. (2024). Investigation of antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities of *Boesenbergia rotunda* rhizome extract. **Journal of Current Science and Technology**. 14(1), 20-20.
38. แพรวพรรณ บุญนวม และคณะ. (2564). วารสารวิจัยและพัฒนาระบบสุขภาพ. 14 (3), 152-165.