



การเปรียบเทียบข้อมูลเมตาโบโลมิกส์แบบไม่เจาะจงและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชำแดงและ
ชำหลวงที่ปลูกในจังหวัดสมุทรปราการ

Comparative Untargeted Metabolomics and Antioxidant Activities of *Alpinia siamensis* K.
Schum. and *Alpinia galanga* (L.) Willd. Cultivated in Samut Prakan Province

ศรมน สุทิน¹ กรรณิการ์ แก้วกิม^{1*} ปิยนันท์ น้อยรอด¹ และ กฤษกมล ณ จอม²

¹สาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ 10540

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Soramon Sutin¹, Kannika Keawkim^{1*}, Peeyanan Noirod¹, and Kriskamol Na jom²

¹Division of Physical Science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University,
Samutprakarn 10540

²Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

*Corresponding author: k.kannika2252@gmail.com

Received: 23 January 2026/ Revised: 20 March 2026/ Accepted: 23 March 2026

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมี รวมถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของชำสองชนิด ได้แก่ ชำแดงและชำหลวง ซึ่งเป็นชนิดชำที่ปลูกมากในจังหวัดสมุทรปราการ โดยศึกษาสารที่เป็นองค์ประกอบในส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้แก่ เหง้า (แก่และอ่อน) ลำต้นเทียม ใบ และดอก จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค UHPLC-Hi-Res-Orbitrap-MS/MS พบว่าชำแดงมีความหลากหลายของสารฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกสูง โดยเฉพาะในเหง้าอ่อน เช่น Quercetin Kaempferol และ Ferulic Acid ในขณะที่ชำหลวงพบสาร Gallic Acid และ Vanillin สะสมในเหง้าแก่และใบมากกว่าส่วนอื่น ๆ โดยพบปริมาณสารฟีนอลิกรวมของชำแดง เท่ากับ 110.41 ± 1.12 mg GAE/g DW และชำหลวง พบปริมาณมากสุดในใบ เท่ากับ 75.21 ± 0.14 mg GAE/g DW และเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดจากชำแดงในส่วนของเหง้าแก่ มีค่า IC_{50} ต่ำสุด คือ 52.00 ± 4.04 μ g/mL และ 58.0 ± 2.60 μ g/mL ตามลำดับ สำหรับชำหลวงพบค่า IC_{50} ต่ำสุดในส่วนของเหง้าอ่อน เท่ากับ 52.00 ± 4.04 μ g/mL และ 58.0 ± 2.60 μ g/mL ตามลำดับ ดังนั้นจากผลการศึกษาเห็นว่าชำแดงมีศักยภาพในการเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยเฉพาะในส่วนของเหง้า มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชำหลวงอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

คำสำคัญ: ชำ ชำแดง ชำหลวง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ UHPLC-MS/MS

Abstract

This research aimed to compare the chemical constituents and antioxidant activities of two galangal varieties: *Alpinia siamensis* and *Alpinia galanga*, which are widely cultivated in Samut Prakan Province. Comprehensive analyses were performed on multiple plant parts, namely the mature and young rhizomes, pseudostems, leaves, and flowers. Chemical profiling using UHPLC-Hi-Res-Orbitrap-MS/MS revealed that *A. siamensis* exhibited a high diversity of flavonoids and phenolics, particularly in the young rhizome, where compounds such as Quercetin, Kaempferol, and Ferulic acid were predominant. In contrast, *A. galanga* showed higher accumulations of Gallic acid and Vanillin in the mature rhizome and leaves compared to other parts. The total phenolic content (TPC) of *A. siamensis* was found to be of at 110.41 ± 1.12 mg GAE/g DW. In contrast, for *A. galanga*, the highest concentration was observed in the leaves, reaching 75.21 ± 0.14 mg GAE/g DW. Antioxidant activity assays (DPPH and ABTS) demonstrated that the mature rhizome extract of *A. siamensis* possessed the lowest IC_{50} values of 52.00 ± 4.04 μ g/mL and 58.0 ± 2.60 μ g/mL, respectively. For *A. galanga*, the lowest IC_{50} values were observed in the young rhizome at 52.00 ± 4.04 μ g/mL and 58.0 ± 2.60 μ g/mL respectively. These results indicate that *A. siamensis* is a superior source of antioxidants, particularly its rhizomes, which exhibit significantly higher antioxidant efficiency compared to *A. galanga* ($p < 0.05$).

คำสำคัญ: Galangal, *Alpinia siamensis*, *Alpinia galanga*, Antioxidant activity, UHPLC-MS/MS

บทนำ

พืชในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) โดยเฉพาะพืชในสกุล *Alpinia* Roxb. หรือที่รู้จักในนาม "ข่า" เป็นกลุ่มสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในระบบนิเวศเขตร้อนและเศรษฐกิจของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ด้วยคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาที่มีเหง้าใต้ดิน ทำให้มีการสะสมสารทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) หลากหลายกลุ่ม เช่น น้ำมันหอมระเหย สารฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก [1-3] ทำให้ข่าถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในด้านอุตสาหกรรมอาหารและยาสมุนไพรมาอย่างยาวนาน ในประเทศไทยการเพาะปลูกและใช้ประโยชน์จากข่ามีความผูกพันกับวิถีชีวิตเกษตรกรรมและวัฒนธรรมอาหารค่อนข้างมาก โดยเฉพาะในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการซึ่งเป็นหนึ่งในแหล่งปลูกข่าที่สำคัญที่สุดของประเทศ มีลักษณะทางภูมิศาสตร์และนิเวศวิทยาของพื้นที่ที่มีความพิเศษ เนื่องจากตั้งอยู่บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาและชายฝั่งทะเลอ่าวไทย ทำให้สภาพดินและน้ำได้รับอิทธิพลจากความเค็ม (Salinity) ทั้งจากการรุกตัวของน้ำทะเลตามธรรมชาติและการทำนาเกลือหรือบ่อเลี้ยงปลาในพื้นที่เดิม เกษตรกรในพื้นที่นี้นิยมปลูกข่าบริเวณคันบ่อเลี้ยงปลา เพื่อใช้ประโยชน์จากที่ดินว่างเปล่าและสร้างรายได้เสริม ส่งผลให้ดินในบริเวณนี้ได้รับอิทธิพลจากความเค็ม ซึ่งแม้จะเป็นปัจจัยความเครียดทางชีวภาพต่อพืช แต่ในขณะเดียวกันสภาวะความเครียดระดับปานกลางสามารถกระตุ้นให้พืชมีการปรับตัวทางสรีรวิทยาและชีวเคมี โดยการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระและสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิเพิ่มขึ้นเพื่อปกป้องเซลล์ [4] ด้วยเหตุนี้จึงเป็นผลให้ข่าของสมุทรปราการมีอัตลักษณ์ทางเคมีและคุณภาพที่แตกต่างจากแหล่งอื่นที่ เช่น ข่าบางเพรียง อำเภอบางบ่อ ค่อนข้างมีชื่อเสียง มีเหง้าขนาดใหญ่ มีกลิ่นและรสชาติที่โดดเด่นเป็นเอกลักษณ์จนเป็นที่ต้องการของตลาด

จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ ได้สำรวจความหลากหลายทางชีวภาพในพื้นที่ พบว่าเกษตรกรนิยมปลูกข่าสองชนิดหลักที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน คือ ข่าหลวง (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) และ ข่าแดง (*Alpinia siamensis* K. Schum.) [5] ข่าหลวงเป็นชนิดที่รู้จักกันแพร่หลายในระดับสากล มีเหง้าขนาดใหญ่ สีขาวนวลหรือเหลืองอ่อน เนื้อแข็งและมีเส้นใย



มาก นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องแกง ในขณะที่ข่าแดงหรือที่เกษตรกรบางพื้นที่เรียกว่าข่าหยวกมีลักษณะเด่นคือเหง้ามีสีขาวอมชมพูหรือแดง โดยเฉพาะบริเวณข้อปล้องและยอดอ่อน เนื้อสัมผัสละเอียด กรอบ และมีกลิ่นหอมที่แตกต่างจากข่าหลวง อย่างไรก็ตามแม้ว่าทั้งสองชนิดจะเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ แต่การใช้ประโยชน์ในปัจจุบันยังคงจำกัดอยู่เพียงส่วนของเหง้าเป็นหลัก โดยมีการจำหน่ายทั้งในรูปเหง้าอ่อน (อายุ 3-4 เดือน) และเหง้าแก่ (อายุมากกว่า 8 เดือน-1 ปี) ในขณะที่ส่วนอื่น ๆ ของพืช ได้แก่ ลำต้น เติ้ม ใบ และดอก กลับถูกมองข้ามและมักถูกกำจัดทิ้งเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร อย่างไรก็ตามมีรายงานข้อมูลเล็กน้อยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของส่วนประกอบอื่น เช่น ดอก โดยพบสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยได้แก่ สาร Farnesene Acetogenol และ Eugenol [6] และใบข่า พบสาร Benzenepropanal Quercetin และ Phytol [7]

ที่ผ่านมา การศึกษาพฤกษเคมีในพืชสกุล *Alpinia* มักมุ่งเน้นไปที่การวิเคราะห์สารเป้าหมายเฉพาะกลุ่ม (Targeted Analysis) เช่น การหาปริมาณสารสำคัญหลักอย่าง 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) หรือกลุ่มน้ำมันหอมระเหยเพียงไม่กี่ชนิด [8] ซึ่งแม้จะให้ข้อมูลเชิงปริมาณที่แม่นยำในสารที่สนใจ แต่มีข้อจำกัดอย่างมากในการสะท้อนภาพรวมของความหลากหลายทางชีวเคมี (Biochemical diversity) และไม่สามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาโบไลต์ชนิดอื่นที่อาจมีความสำคัญต่อการจำแนกอัตลักษณ์ของพืชได้ [9]

ด้วยเหตุนี้ การวิเคราะห์เมตาโบโลมิกส์แบบไม่เจาะจง (Untargeted Metabolomics) ร่วมกับเทคนิคความละเอียดสูงอย่าง UHPLC-High-Resolution Orbitrap MS/MS จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากช่วยให้สามารถระบุ "ลายพิมพ์ทางชีวเคมี" (Metabolic Fingerprint) และจำแนกแบบแผนทางชีวโมเลกุล (Biomolecular patterns) ระหว่างชนิดและส่วนต่าง ๆ ของพืชได้อย่างครอบคลุม ซึ่งนำไปสู่การค้นพบสารบ่งชี้ทางเคมี (Chemical markers) ใหม่ ๆ ที่สะท้อนถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อมและการปรับตัวของพืชในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการได้อย่างแท้จริง

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะเติมเต็มความรู้ในประเด็นดังกล่าว โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีวิเคราะห์ขั้นสูง UHPLC-Hi-Res-Orbitrap-MS/MS โดยวิเคราะห์เมตาโบโลมิกส์แบบไม่เจาะจง ร่วมกับกระบวนการทางเคมีเชิงสถิติ (Chemometrics) เพื่อวิเคราะห์และจำแนกแบบแผนทางชีวโมเลกุลของสารเมตาโบไลต์ในเหง้า ลำต้น เติ้ม ใบ และดอก ของข่าทั้งสองชนิด พร้อมทั้งประเมินประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ข้อมูลที่ได้จะนำไปสู่การระบุตัวบ่งชี้ทางเคมี (Chemical Markers) ที่จำเพาะต่อชนิดข่าได้มากขึ้น และเป็นการสร้างฐานข้อมูลสำคัญในการนำส่วนเหลือทิ้งทางการเกษตรมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าสูง เพื่อขับเคลื่อนเศรษฐกิจฐานชีวภาพ (Bio-economy) และเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรอย่างยั่งยืนต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างพืช (Sample Preparation)

ทำการเก็บตัวอย่างข่า 2 ชนิด ได้แก่ ข่าหลวง (*A. Galanga*) และ ข่าแดง (*A. Siamensis*) จากพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ โดยคัดแยกส่วนประกอบ ได้แก่ ใบ ลำต้น เติ้ม ดอก และเหง้า ซึ่งแบ่งเหง้าตามอายุการเก็บเกี่ยวเป็น เหง้าอ่อน (3-4 เดือน ลักษณะเปลือกสีขาวอมชมพู เนื้ออ่อน) และ เหง้าแก่ (มากกว่า 8 เดือน ลักษณะเปลือกสีน้ำตาล เส้นใยสูง) ตัวอย่างพืช แต่ละส่วน นำมาลดขนาดและทำให้แห้งด้วยเครื่องเยือกแข็งสุญญากาศ (Freeze dryer บริษัท LABCONCO รุ่น FreeZone 2.5) จากนั้นบดเป็นผงละเอียด และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 °C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2. การวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์ (Untargeted Metabolomics Analysis)

2.1 การสกัดสารเมตาโบไลต์

การสกัดสารสำหรับการวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์ จะใช้ตัวทำละลายที่มีความจำเพาะสูง เพื่อดึงสารเมตาโบไลต์ทั้งที่มีขั้วและไม่ขั้วสำหรับการวิเคราะห์แบบไม่เจาะจง จึงสกัดสารตามชนิดมีขั้วและไม่มีขั้ว ดังนี้

การสกัดสารเมตาโบไลต์ (ชนิดมีขี้ผึ้ง) ซึ่งสารตัวอย่างหนัก 1 กรัม ผสมกับสารละลายเอทานอล เข้มข้น 50%v/v ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร (electric shaker) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใส และกรองผ่านฟิลเตอร์ ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ใส่ลงในขวดสีชาขนาด 2 มิลลิลิตร และฉีดเข้าเครื่อง Ultra-High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) รุ่น Orbitrap Exploris Mass Spectrometer (UHPLC-Orbitrap Exploris MS) [10]

การสกัดสารเมตาโบไลต์ (ชนิดไม่มีขี้ผึ้ง) ซึ่งสารตัวอย่างหนัก 1 กรัม ผสมกับสารละลายผสมของ Methanol (RCI Labscan) และ Dichloromethane (RCI Labscan) อัตราส่วน 7:3, v/v ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากันกับตัวสกัด ด้วยเครื่องวอเทกซ์ เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นสกัดด้วยเครื่องล้างคลื่นความถี่สูง (Ultrasonic Bath) เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสและกรองผ่านฟิลเตอร์ ขนาด 0.22 ไมโครเมตร ใส่ลงในขวดสีชาขนาด 2 มิลลิลิตร และฉีดเข้าเครื่อง UHPLC [11]

2.2 การตรวจวัดและระบุชนิดสารด้วย UHPLC-Orbitrap Exploris MS

ในการศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์ แบบไม่ระบุสารเป้าหมาย (untargeted metabolomics) โดยใช้ระบบ Vanquish Flex UHPLC (Thermo Scientific, Germering, Germany) ด้วยระบบปั๊มแบบไบนารี (Binary pump system) เชื่อมต่อกับเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ชนิด Orbitrap Exploris 120 (Thermo Scientific, Bremen, Germany) ที่มีระบบ Electrospray ionization (H-ESI) และ Hybrid quadrupole-orbitrap ใช้คอลัมน์ชนิด Hypersil Gold C-18 (ขนาด 2.1×150 มม. ขนาดอนุภาค 1.9 ไมโครเมตร) จาก Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, MA, USA)

2.3 การระบุชนิดสารประกอบชนิดมีขี้ผึ้ง (Polar compounds)

ในการวิเคราะห์แมสสเปกโตรเมตรีได้ทำการตรวจวัดในโหมดไอออนบวก (ESI+) และไอออนลบ (ESI-) ดัดแปลงจาก Tyagi et al. (2021) [10] คอลัมน์ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์คือ Hypersil Gold C18 ตัวอย่างปริมาตร 5 ไมโครลิตร ถูกฉีดด้วยระบบอัตโนมัติ และเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ แบบไบนารี ประกอบด้วยสารละลาย A (0.1% v/v Formic acid ในน้ำ) และสารละลาย B (Methanol) โดยใช้ความเร็วการไหล 0.4 มิลลิลิตร/นาที ภายใต้กราเดียนต์เชิงเส้น เป็นเวลา 25 นาที (สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ B เริ่มต้นที่ 9% และเพิ่มขึ้นตามลำดับจนสูงสุดที่ 70% ภายในเวลาที่ 22.53 ก่อนจะปรับลดกลับมาที่สภาวะเริ่มต้นเพื่อเตรียมการวิเคราะห์รอบถัดไป) จากนั้น ทำการวิเคราะห์ด้วยแมสสเปกโตรเมตรีในโหมด ESI+ และ ESI- โดยกำหนดช่วงมวลต่อประจุ (m/z) ที่ 70–700 ใช้การสแกนแบบ Full MS ที่ความละเอียด 60,000 และสแกน MS2 (data-dependent MS2) ที่ความละเอียด 15,000 โดยใช้ค่า Stepped Collision Energy ที่ 30, 50 และ 150 eV เพื่อให้ครอบคลุมการแตกตัวของสารเมตาโบไลต์ทั้งกลุ่มที่แตกตัวง่ายและยาก ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการระบุชนิดสาร (Compound Identification) ได้อย่างแม่นยำยิ่งขึ้น

2.4 การระบุชนิดสารชนิดไม่มีขี้ผึ้ง (Non-polar compound Identification)

การวิเคราะห์ในส่วนของสารไม่มีขี้ผึ้ง ใช้คอลัมน์แบบเดียวกันกับการระบุสารกลุ่มมีขี้ผึ้ง โดยทำการฉีดตัวอย่างปริมาตร 5 ไมโครลิตร ด้วยระบบอัตโนมัติ และเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ด้วยเฟสเคลื่อนที่แบบไบนารี ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย A (0.1% v/v Formic acid ในน้ำ) และสารละลาย B (0.1% v/v Formic acid ใน Isopropanol/Acetonitrile อัตราส่วน 4/6, v/v) โดยใช้ความเร็วการไหล 0.3 มิลลิลิตร/นาที และใช้โปรแกรมกราเดียนต์เชิงเส้นเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วยแมสสเปกโตรเมตรีใน ESI+ เช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารกลุ่มมีขี้ผึ้งเพื่อจำแนกสารกลุ่มไม่มีขี้ผึ้งต่าง ๆ ในตัวอย่าง [10]



3. วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากส่วนต่าง ๆ (เหง้า ใบ ลำต้นเทียมและดอก) ของชำแดงและชำหลวง

3.1 การสกัดตัวอย่าง

สกัดตัวอย่างโดยการแช่ตัวอย่างในสารละลาย Ethanol เข้มข้น 95% v/v (บริษัท RCI Labscan) ในอัตราส่วนตัวอย่างต่อปริมาตรสารละลาย Ethanol เท่ากับ 1:5 แช่ทิ้งไว้ 3 วัน จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ทั้งนี้เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบปริมาณมากพอสำหรับทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำการสกัดตัวอย่างซ้ำ จำนวน 2-3 ครั้ง ด้วยสารละลาย Ethanol เข้มข้น 95% v/v ในอัตราส่วนเท่าเดิม และทำการระเหยสาร Ethanol ด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator บริษัท BUCHI รุ่น R210) นำสารสกัดหยาบที่เตรียมได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer บริษัท LABCONCO รุ่น FreeZone 2.5) และเก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการทดสอบแบบ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (บริษัท Sigma-Aldrich) ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากชำ เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัดชำหนัก 0.100 กรัม ละลายในสารละลาย Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็นสารละลายเข้มข้นเริ่มต้น จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้นให้เป็น 1, 0.5, 0.1, 0.05 และ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับสาร DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 900 ไมโครลิตร เขย่า และทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (บริษัท SHIMADZUUV รุ่น-1800) [12] ในการทดสอบ ชุดทดลองประกอบไปด้วยตัวแปรควบคุม (control) ที่มีเฉพาะสารละลาย DPPH (สำหรับการคำนวณสารอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่ 100%) ซึ่งจะเปรียบเทียบกับหลอดปฏิกิริยาที่มีสารสกัดหยาบชำแต่ละชนิด เรียกว่า หลอดทดสอบ (sample) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้สารละลายมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) (บริษัท Sigma-Aldrich) เป็นสารมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ใช้ศึกษา ที่ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.1, 0.05 และ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = ((\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{control}}) \times 100$$

การหาค่า IC_{50} ทำได้โดยการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับความเข้มข้นของสารสกัดชำที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดชำที่ทำให้ความเข้มข้นของสาร DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการทดสอบแบบ 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) assay [ABTS] (บริษัท Sigma-Aldrich) [13] โดยเตรียมอนุมูล ABTS (ABTS radical cation, $\text{ABTS}^{\bullet+}$) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) (บริษัท Sigma-Aldrich) pH 7.4 เข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร จากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำสารละลายอนุมูล ABTS เจือจางด้วย PBS ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.70 ± 0.02 จากนั้นเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดจากชำ เข้มข้น 1, 0.5, 0.1, 0.05 และ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผสมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร กับสารละลายอนุมูลอิสระ ABTS ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 990 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เก็บไว้ในที่มืด เป็นเวลา 10 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ในการทดสอบชุดทดลองประกอบไปด้วยตัวแปรควบคุม (control) ที่มีเฉพาะสารละลาย ABTS (สำหรับการคำนวณสารอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่ 100%) ซึ่งจะเปรียบเทียบกับหลอดปฏิกิริยาที่มีสารสกัดหยาบชำแต่ละชนิด เรียกว่า หลอดทดสอบ (sample) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้สารละลายมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT) (บริษัท Sigma-Aldrich) เป็นสารมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ใช้ศึกษา ที่ความเข้มข้น 1,



0.5, 0.1, 0.05 และ 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หาค่า %inhibition และรายงานผลการยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC_{50}) ได้เช่นเดียวกับวิธี DPPH

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม [14] โดยเตรียมสารทดสอบให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในสารละลาย Ethanol 95% v/v เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Gallic acid (บริษัท Sigma-Aldrich) ที่มีความเข้มข้นเป็น 10, 8, 6, 4, 2, 1 และ 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิดเตาสารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาจำนวน 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu's phenol reagent (บริษัท Sigma-Aldrich) ที่มีปริมาตร 10 ไมโครลิตร เขย่าแล้วตั้งไว้ในที่มืด 5 นาที แล้วเติมสารละลาย Na_2CO_3 เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยสาร Methanol จนได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง นำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร การทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงเป็นแกน y และค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid เป็นแกน x นำค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid

4. การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติ (Data Analysis)

การระบุชนิดเมตาโบไลต์ดำเนินการผ่านซอฟต์แวร์ Compound Discoverer 3.3 (Thermo Fisher Scientific, USA) โดยเปรียบเทียบข้อมูลมวลสารและรูปแบบการแตกตัวของไอออน (MS/MS fragments) กับฐานข้อมูลมาตรฐาน mzCloud (<https://www.mzcloud.org/>) และ ChemSpider (<https://www.chemspider.com/>) ข้อมูลดิบที่ผ่านการปรับทอนค่าเพื่อให้ข้อมูลมีมาตรฐานเดียวกัน (Normalization) โดยใช้วิธี Pareto scaling เพื่อลดอคติจากสารที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปและเพิ่มความสำคัญให้กับสารที่มีความเข้มข้นน้อยในทางสถิติ ข้อมูลที่ผ่านการปรับแล้วจะนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงสถิติหลายตัวแปร (Multivariate Analysis) ด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ (Chemometrics) ได้แก่ Principal Component Analysis (PCA) Heatmap และ Agglomerative Hierarchical Clustering (AHC) การวิเคราะห์เหล่านี้ดำเนินการผ่านแพลตฟอร์ม Google Colab (<https://colab.research.google.com/>) โดยใช้ภาษา Python สำหรับข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ ABTS) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม จะรายงานผลเป็น ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่างโดยใช้ การวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-Way ANOVA) ตามด้วยการทดสอบเปรียบเทียบเชิงซ้อนเพื่อระบุความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ด้วยซอฟต์แวร์ SPSS version 25.0

ผลการวิจัย

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของชำแดง และชำหลวง ทำการศึกษาจากส่วนต่าง ๆ ได้แก่ เหง้า (เหง้าแก่ เหง้าอ่อน) ลำต้นเทียม ใบ และดอก โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมิถุนายน จึงไม่พบการติดผล ส่วนประกอบของชำแดงและชำหลวง แสดงดังภาพที่ 1 จากภาพเห็นได้ว่าลักษณะภายนอกของชำทั้งสองชนิด มีความคล้ายกัน ทั้งนี้ชนิดชำที่นำมาศึกษาได้รับการรับรองชนิดจากงานวิจัยของ ยุคลธร และคณะ (2568) [5]

อย่างไรก็ตามชำแดงมีลักษณะเป็นเหง้าสีขาวนวลหรือสีขาวอมชมพู ส่วนที่ติดกับลำต้นเทียมมักมีสีชมพูหรือชมพูอมแดง สำหรับชำหลวง จะมีลำต้นใต้ดินเป็นเหง้าขนาดใหญ่ สีขาวนวลหรือสีเหลืองอ่อน (ภาพที่ 2) สำหรับการจำแนกเหง้าแก่ และเหง้าอ่อน จะพิจารณาจากอายุการปลูก ชำอ่อน อายุไม่เกิน 8 เดือน หั่นง่าย มีเนื้ออ่อน และชำแก่ มีอายุมากกว่า 1 ปี มีเนื้อแข็ง ดังนั้นเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของทั้งชำแดง และชำหลวงที่ปลูกในพื้นที่สมุทรปราการ ได้ดำเนินการศึกษาแบบแผนของสารเมตาโบไลต์ สารฟลาโวนอยด์ และสารต้านอนุมูลอิสระ จากเหง้าแก่ เหง้าอ่อน ต้น ใบ และ ดอก โดยมีผลการวิเคราะห์ ดังนี้



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของต้น ข่าแดง (ภาพทางซ้าย) และ ข่าหลวง (ภาพทางขวา)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะลำต้นใต้ดิน (เหง้า) ของ ข่าแดง (ก) และข่าหลวง (ข)

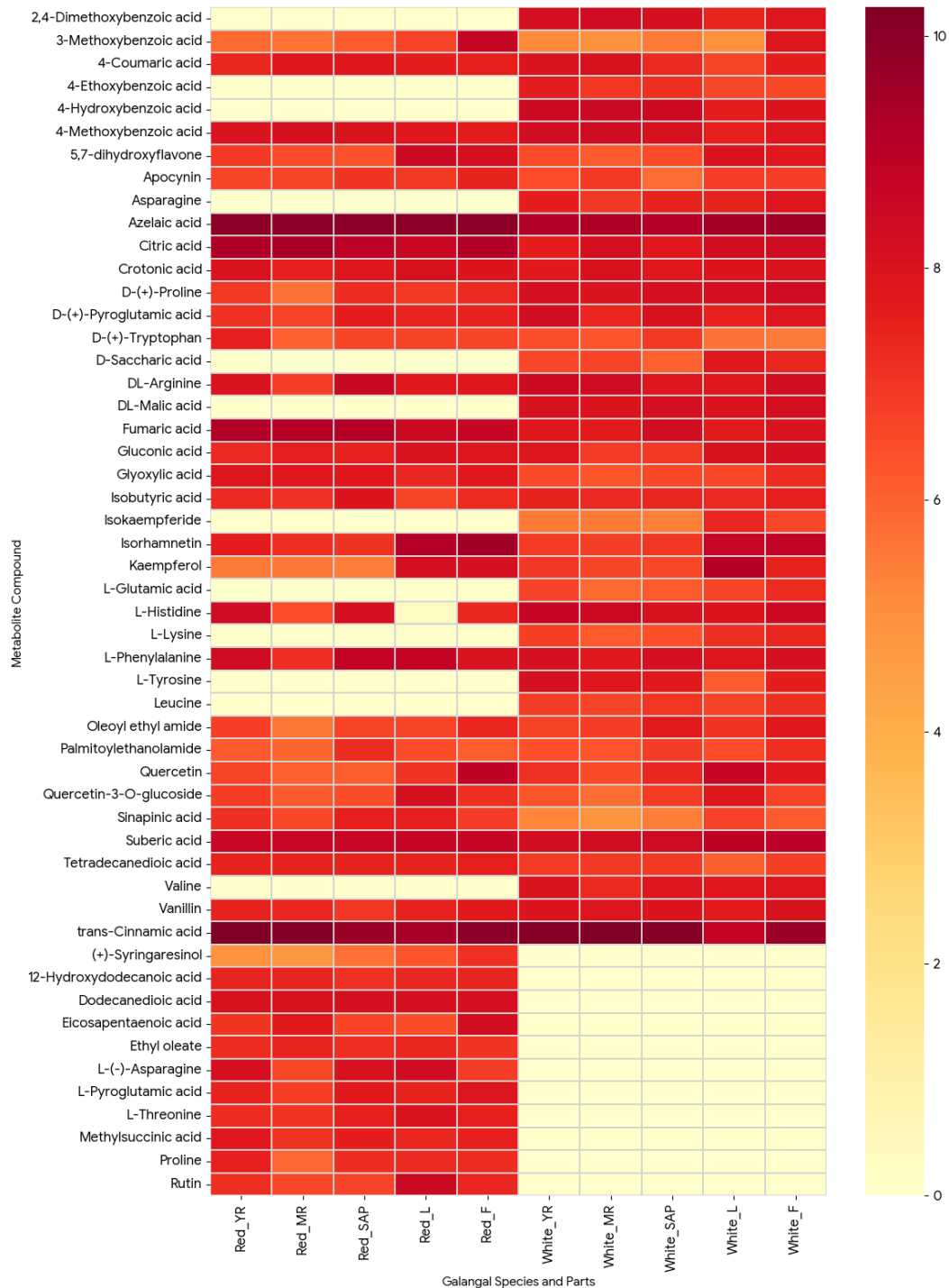
ผลการวิเคราะห์แบบแผนทางชีวโมเลกุล โดยใช้เทคนิค UHPLC-Hi-Res-Obitrap-MS/MS

จากผลการวิเคราะห์แมสสเปกโตรเมตรี ตรวจวัดโดยการคัดแยกมวลต่อประจุ (m/z) ของสาร ด้วยเทคนิค UHPLC-Hi-Res-Obitrap-MS/MS ทำให้ทราบชนิดของสารเมตาโบไลต์ และสารสำคัญอื่น ที่เป็นองค์ประกอบในข่าทั้ง 2 ชนิด โดยวิเคราะห์ในโหมดไม่ระบุสารเป้าหมาย (non-Target mode) เพื่อตรวจสอบชนิดของสารเมตาโบไลต์ รวมถึงสารสำคัญอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบในเหง้า ใบ ลำต้นเทียม และดอก

เมื่อนำส่วนต่าง ๆ ของข่าทั้งสองชนิด สกัดในตัวทำละลาย 2 แบบ คือตัวทำละลายมีขั้ว และตัวทำละลายไม่มีขั้ว ทำให้ได้สารสกัด 2 ชนิด คือ สารสกัดมีขั้ว และสารสกัดไม่มีขั้ว จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UHPLC-Hi-Res-Obitrap-MS/MS ได้ถูกระบุชนิดของสารเมตาโบไลต์ โดยใช้ซอฟต์แวร์ Compound Discoverer เวอร์ชัน 3.3 โดยค้นหาข้อมูลเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล 2 แหล่ง ได้แก่ mzCloud (<https://www.mzcloud.org>) ChemSpider compound (<http://www.chemspider.com>) พบจำนวนสารเมตาโบไลต์ที่ถูกสกัดออกมาในตัวทำละลายที่ใช้ มากกว่า 100 ชนิด ทั้งของสารในกลุ่มที่มีขั้วและไม่มีขั้วของชนิดข่าแดง และข่าหลวง และสามารถระบุชนิดของสารเมตาโบไลต์ของสารสกัดข่าแดง และข่าหลวง จำนวน 63 ชนิด (ประมาณ 37%) และจำนวน 59 ชนิด (ประมาณ 43%) ตามลำดับ ได้จำแนกสารเมตาโบไลต์ของข่าแดง และข่าหลวง ออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ฟีนอลิก (Phenolics) กรดไขมัน (Fatty Acids) และกรดอะมิโน (Amino acids) เพื่อวิเคราะห์การกระจายของสารประกอบเคมีในส่วนต่าง ๆ ของพืช ได้ใช้เทคนิคทางสถิติและการวิเคราะห์ข้อมูลขั้นสูง ได้แก่ แผนภาพความร้อน (Heat map), การวิเคราะห์กลุ่ม (Cluster Analysis) และการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis, PCA) เพื่อเข้าใจถึงรูปแบบการสะสมของสารประกอบเหล่านี้และบทบาททางชีวภาพที่เกี่ยวข้อง



ผลของปริมาณของแต่ละสารประกอบที่แสดงรายงาน เป็นการรวมผลทั้งหมดของสารที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายแบบมีขี้ผึ้ง และแบบไม่มีขี้ผึ้ง ทั้งชำแดงและชำหลวง และรายงานข้อมูลในรูป % relative peak area ของสารประกอบที่พบในส่วนต่าง ๆ ของพืช ผลที่ได้จาก Heatmap แสดงให้เห็นการกระจายตัวของสารประกอบในส่วนต่าง ๆ ของทั้งชำแดง และชำหลวง (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แสดงผล heatmap ขององค์ประกอบทางเคมีในส่วนของเหง้าแก่ (Mature rhizome) เหง้าอ่อน (Young rhizome) ลำต้นเทียม (Sapling) ใบ (Leaf) และดอก (Flower) ต่าง ๆ ของชำแดง และชำหลวง โดยที่ ชำแดงแทนด้วย Red และชำหลวง แทนด้วย White

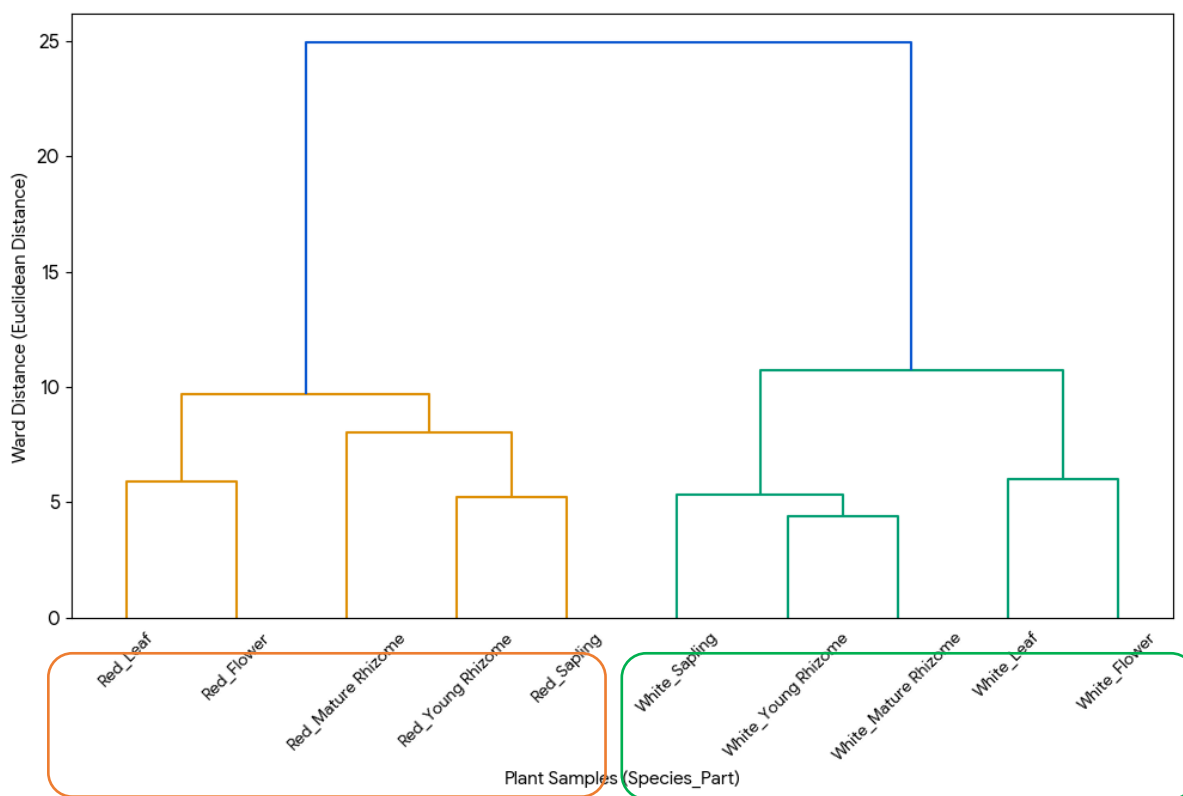


จากการวิเคราะห์แผนภาพความร้อน แสดงให้เห็นรูปแบบการสะสมของสารสำคัญ ดังนี้

จากการวิเคราะห์รูปแบบชีวโมเลกุลด้วยเทคนิค UHPLC-Hi-Res-Orbitrap-MS/MS และการวิเคราะห์ผลผ่าน Heatmap แสดงให้เห็นว่า ข้าแดง ตรวจพบการสะสมของสารกลุ่มกรดอินทรีย์ (Organic acids) และกรดอะมิโน (Amino acids) สูงถึงร้อยละ 59.14 โดยพบการสะสมมากในส่วนเหง้าและใบ ในขณะที่ข้าหลวง ตรวจพบสารกลุ่ม Aldehydes และ Phenylpropanoids เป็นองค์ประกอบหลักในปริมาณสูงถึง ร้อยละ 66.86 พบการสะสมมากที่สุดในส่วนเหง้าแก่และเหง้าอ่อน ได้แก่ สาร trans-Cinnamaldehyde Vanillin และ 4-Hydroxybenzaldehyde เป็นต้น

นอกจากนี้ในส่วนของใบและดอกของข้าทั้งสองชนิด พบการสะสมของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) หลากหลายชนิดซึ่งทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักของพืช โดยข้าแดง พบการสะสมของ Quercetin Isorhamnetin และ Rutin ในปริมาณสูง ขณะที่ข้าหลวง พบการสะสมของ Trifolin (Kaempferol-3-galactoside) และ Isokaempferide เป็นอนุพันธ์เฉพาะของกลุ่ม Kaempferol ที่พบมากในส่วนของใบ

เมื่อจัดกลุ่มส่วนต่าง ๆ ตามองค์ประกอบทางเคมี ของข้าแดง และข้าหลวง ด้วยวิธี Agglomerative hierarchical clustering ได้ผลการจัดกลุ่ม แสดงดังภาพที่ 4

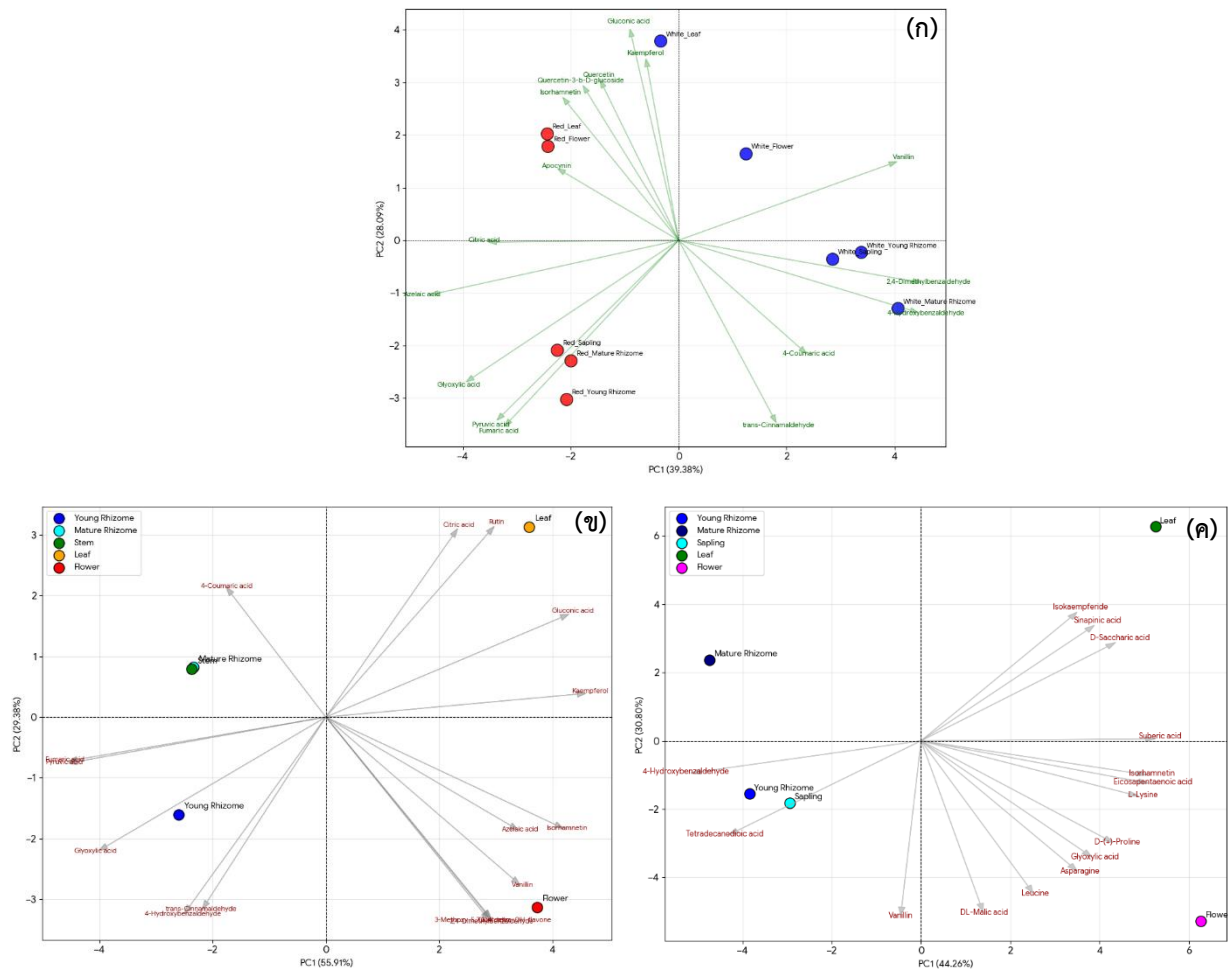


ภาพที่ 4 แสดง AHC Dendrogram จัดกลุ่มขององค์ประกอบทางเคมีในส่วนของเหง้าแก่ (Mature rhizome) เหง้าอ่อน (Young rhizome) ลำต้นเทียม (Sapling) ใบ (Leaf) และดอก (Flower) ต่าง ๆ ของข้าแดง และข้าหลวง โดยที่ ข้าแดงแทนด้วย Red และข้าหลวง แทนด้วย White

จากแผนภาพ AHC Dendrogram โดยใช้วิธี Ward's linkage และระยะห่างแบบ Euclidean แสดงให้เห็นถึงการจำแนกกลุ่มตัวอย่างพืชออกเป็น 2 กลุ่มหลัก ตามความแตกต่างของชนิดข้า โดยกลุ่มแรกประกอบด้วยส่วนประกอบทั้งหมดของข้าแดง และกลุ่มที่สองประกอบด้วยส่วนประกอบทั้งหมดของข้าหลวง

สำหรับการพิจารณาความสัมพันธ์ในชาชนิดเดียวกัน ในชาแดง มีการแยกกลุ่มย่อยออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มใบและดอก และ กลุ่มเหง้าและลำต้นใต้ดิน โดยส่วนใบและดอกมีความใกล้เคียงทางชีวโมเลกุลสูงเนื่องจากการสะสมของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ในปริมาณสูง เช่น Rutin และ Isorhamnetin ขณะที่ส่วนเหง้าและลำต้นเทียม มีองค์ประกอบทางเคมีที่คล้ายกันของกลุ่มกรดอินทรีย์และกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลัก ในทำนองเดียวกันชนิดชาหลง มีรูปแบบการจำแนกส่วนเหง้าและลำต้นเทียม แยกออกจากส่วนใบและดอก ทั้งนี้ลำต้นเทียมของชาหลงมีองค์ประกอบทางเคมีของสารกลุ่มฟีนอลิกอัลดีไฮด์ (Phenolic aldehydes) โดยเฉพาะ trans-Cinnamic acid และ Vanillin แตกต่างจากเหง้าอ่อนและเหง้าแก่

เมื่อศึกษาผลความสัมพันธ์ของสารประกอบเคมีในส่วนต่าง ๆ ของพืช ด้วยวิธี Principal Component Analysis (PCA) เพื่อให้เข้าใจรูปแบบและความสัมพันธ์ของสารประกอบเคมีในส่วนต่าง ๆ ของพืช ของชาทั้งสองชนิด ผลการวิเคราะห์ PCA Biplot แสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 แสดง PCA biplot ขององค์ประกอบทางเคมีในส่วนของเหง้าแก่ (Mature rhizome) เหง้าอ่อน (Young rhizome) ลำต้นเทียม (Sapling) ใบ (Leaf) และดอก (Flower) ต่าง ๆ ของชาแดงและชาหลง (ก) ชาแดง (ข) และชาหลง (ค)

การวิเคราะห์ PCA Biplot เพื่อเปรียบเทียบแบบแผนทางชีวโมเลกุลระหว่างส่วนต่าง ๆ (เหง้าแก่ เหง้าอ่อน ลำต้นเทียม ใบ และดอก) ของชาทั้งสองชนิด สามารถอธิบายรูปแบบการกระจายตัวขององค์ประกอบทางเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญตามส่วนต่าง ๆ ดังนี้



เมื่อพิจารณา PCA Biplot โดยรวมของทั้งชำแดงและชำหลวง ดังภาพ 5(ก) พบว่าสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามจุดภาค ซึ่งเมื่อพิจารณาการแยกตัวตามแนวแกน PC1 (39.38%) ซึ่งแบ่งชำสองชนิดนี้ออกจากกันอย่างชัดเจน โดยที่ทุกส่วนของ ชำแดง เกาะกลุ่มอยู่ทางด้านซ้าย (ค่า PC1 เป็นลบ) แสดงให้เห็นว่าชำแดงมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างจากชำหลวง โดยเฉพาะความสัมพันธ์กับสารกลุ่มกรดไขมันและกรดอินทรีย์ เช่น Azelaic acid Glyoxylic acid และ Pyruvic acid สำหรับชำหลวง ทุกส่วนเกาะกลุ่มอยู่ทางด้านขวา (ค่า PC1 เป็นบวก) สัมพันธ์กับสาร 4-Hydroxybenzaldehyde และ Vanillin เมื่อพิจารณาตามแนวแกน PC2 (28.09%) พบว่ามีการแยกส่วนของพืชภายในชนิดเดียวกัน โดยที่ใบและดอกของทั้งชำแดงและชำหลวง อยู่ด้านบน (ค่า PC2 เป็นบวก) มีความสัมพันธ์กับสารกลุ่ม Flavonoids และ Antioxidants เช่น Quercetin, Kaempferol และ Isorhamnetin ส่วนเหง้าและลำต้นเทียมของทั้งสองชนิดอยู่ทางด้านลบของแกน PC2 สัมพันธ์กับสารกลุ่ม trans-Cinnamaldehyde และ 4-Coumaric acid

จากภาพ 5(ข) ผลการวิเคราะห์ PCA Biplot ของชำแดง แสดงการแยกกลุ่มทางเคมีออกเป็นกลุ่มตามจุดภาคอย่างชัดเจน สามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลได้รวม 85.29% (PC1: 55.91% และ PC2: 29.38%) ดังนี้ เหง้าอ่อน และ เหง้าแก่ เกาะกลุ่มกันในควอดรนต์ที่ 3 (ล่างซ้าย) และฝั่งซ้ายของ PC1 แสดงว่ามีแบบแผนองค์ประกอบทางเคมีที่คล้ายคลึงกัน โดยมีสารเด่นคือกลุ่มสารให้รสเผ็ดร้อนและกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก เช่น trans-Cinnamaldehyde และ 4-Coumaric acid ส่วนของ ใบ แยกตัวโดดเดี่ยวชัดเจนอยู่ทางด้านขวา (PC1 เป็นบวก) บ่งบอกว่ามีองค์ประกอบทางเคมีที่เฉพาะตัวแตกต่างจากส่วนเหง้าอย่างสิ้นเชิง ซึ่งสัมพันธ์กับสาร Rutin และ Citric acid และส่วนของ ดอก แยกไปทางควอดรนต์ที่ 1 (บนขวา) สัมพันธ์กับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Quercetin Isorhamnetin และสารให้กลิ่นเฉพาะตัวอย่าง Vanillin

จากภาพ 5(ค) ผลการวิเคราะห์ PCA Biplot ชำหลวง สามารถอธิบายความแปรปรวนได้รวม 75.06% (PC1: 44.26% และ PC2: 30.80%) ซึ่งให้เห็นการแยกส่วนเหนือดินและใต้ดินออกจากกันตามแนวแกน PC1 โดย เหง้าอ่อน เหง้าแก่ และลำต้นเทียม มีองค์ประกอบทางเคมีเกาะกลุ่มกันทางด้านซ้าย (PC1 เป็นลบ) ซึ่งสัมพันธ์กับสาร 4-Hydroxybenzaldehyde และ Tetradecanedioic acid เห็นได้ว่าในเหง้าแก่ชำหลวงมีการสะสมสารกลุ่มอัลดีไฮด์ที่เด่นชัด สำหรับ ใบ และ ดอก แยกกลุ่มออกไปทางด้านขวา (ค่าบวกของ PC1) โดยเฉพาะส่วน ใบ ที่อยู่ควอดรนต์ที่ 1 (บนขวา) สัมพันธ์กับกลุ่มสาร Isokaempferide และ Sinapinic acid ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบมากในใบของชำหลวง ส่วนของ ดอก แยกตัวลงมาควอดรนต์ที่ 4 (ล่างขวา) สัมพันธ์กับกลุ่มกรดอะมิโนและกรดอินทรีย์ เช่น Leucine และ Glyoxylic acid

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วย PCA biplot ให้ผลที่สอดคล้องกับ AHC dendrogram ทำให้ยืนยันได้ว่า ชนิดชำเป็นปัจจัยหลักในการจำแนกสารเมตาโบไลต์ ส่วนเหง้าของชำแดงพบสารกลุ่มกรดอินทรีย์และกรดอะมิโน (เช่น Azelaic และ Fumaric acid) ในปริมาณสูง ขณะที่เหง้าชำหลวงพบสารกลุ่มอัลดีไฮด์และฟีนอลโพรพานอยด์ (เช่น trans-Cinnamaldehyde และ Vanillin) ในทางตรงกันข้าม ส่วนใบและดอกของทั้งสองชนิดมีแบบแผนการสะสมสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่คล้ายคลึงกัน

ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของชำแดงและชำหลวง

สารสกัดที่นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอลบริสุทธิ์ และนำไปประเหยตัวทำละลายจนหมด พบว่าได้สารสกัดที่มีลักษณะและปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (% yield) ของแต่ละส่วนของชำ ทั้งสองชนิด ดังแสดงดังตารางที่ 1

เห็นได้ว่าการสกัดด้วยสารเอทานอล ได้ปริมาณสารสกัดของแต่ละส่วน มีความแตกต่างกัน โดยพบว่าในชำแดงมีปริมาณสารสกัด (% yield) มากที่สุดคือ ดอก และเหง้าอ่อน ตามลำดับ สำหรับชำหลวงได้ปริมาณสารสกัดที่มาจากใบ และเหง้าอ่อนตามลำดับ โดยปริมาณของสารสกัดน่าจะขึ้นกับสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในแต่ละส่วนมีมากน้อยไม่เท่ากัน ซึ่งสารแต่ละชนิดมีความชอบที่จะละลายในตัวทำละลายที่ต่างกัน ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน



ตารางที่ 1 ลักษณะและปริมาณสารผลิตภัณฑ์ (% yield) ที่สกัดได้จากเหง้าแก่ เหง้าอ่อน ต้น ใบ และดอก จากข่าแดงและข่าหลวง

ข่าแดง (<i>Alpinia siamensis</i> K. Scum)			ข่าหลวง (<i>Alpinia galanga</i> L. Willd)		
สารสกัด	ลักษณะสารสกัด	% yield สารสกัด	สารสกัด	ลักษณะสารสกัด	% yield สารสกัด
เหง้าแก่	สารมีสีเหลืองเข้มหนืด ลื่น มีน้ำมันเป็น ส่วนผสมน้ำมันสีเหลือง	8.05	เหง้าแก่	หนืด มีสีน้ำตาลอ่อน ปน น้ำมัน	10.75
เหง้าอ่อน	หนืด มีสีน้ำตาลแดง มี น้ำมัน	16.20	เหง้าอ่อน	น้ำมันสีเหลือง มีตะกอนสี เหลือง	13.16
ต้น	หนืด มีสีน้ำตาลแดง	4.40	ต้น	น้ำมันสีเหลือง ตะกอนสี เขียวดำ	7.99
ใบ	หนืด มีสีดำ	9.46	ใบ	มีสีดำ มีน้ำมันปนเล็กน้อย	15.34
ดอก	หนืด สีน้ำตาลเข้ม มี น้ำมันสีเหลือง	17.92	ดอก	น้ำมันสีน้ำตาลอ่อน มี ตะกอนสีน้ำตาลอ่อน	10.22

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ในงานวิจัยนี้ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธี คือ DPPH assay และ ABTS assay เพื่อหาปริมาณการออกฤทธิ์ของเหง้าแก่ เหง้าอ่อน ลำต้นเทียม ใบ และดอก ของข่าแดง และข่าหลวง โดยใช้ค่า IC_{50} ในการรายงานผลการยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) ของทั้งสองวิธี แสดงดังตารางที่ 2

จากผลการวิเคราะห์ค่า IC_{50} ด้วยวิธี DPPH assay และทดสอบด้วย Two-way ANOVA พบว่า ข่าทั้งสองชนิดมีค่า IC_{50} แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยข่าแดงมีค่า IC_{50} โดยเฉลี่ยต่ำกว่าข่าหลวงในทุกส่วนประกอบ โดยมีค่าต่ำสุดในช่วง 52.00 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งบ่งบอกว่าสารสกัดจากข่าแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงกว่า เนื่องจากใช้ปริมาณสารสกัดในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 50% ได้น้อยกว่าข่าหลวง และผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ให้ผลไปในทิศทางเดียวกับวิธี DPPH โดยชนิดข่าแดงมีค่า IC_{50} เฉลี่ยต่ำกว่าข่าหลวง พบว่าเหง้าอ่อนของข่าแดงมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด เท่ากับ 39.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แม้ว่าจากการทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ให้ผลการทดสอบค่า IC_{50} เฉลี่ยที่แตกต่างกัน แต่หากพิจารณาจากแนวโน้มของข้อมูลพบว่าข่าแดงมีประสิทธิภาพการยับยั้งสารอนุมูลอิสระมากกว่าข่าหลวง ซึ่งเหง้าแก่ เหง้าอ่อน และดอก จากทั้งข่าแดงและข่าหลวง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีเมื่อเทียบกับส่วนอื่น

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากวิธี DPPH และ ABTS assays ช่วยยืนยันประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ครอบคลุมทุกมิติทางชีวโมเลกุล โดยวิธี DPPH มีความจำเพาะต่อการวัดการกำจัดอนุมูลอิสระที่ละลายในไขมันผ่านกลไกการให้อิเล็กตรอน (Hydrogen Atom Transfer: HAT) ขณะที่วิธี ABTS สามารถวัดฤทธิ์ของสารได้กว้างขวางกว่าทั้งในส่วนที่ละลายในน้ำและไขมันผ่านกลไกการให้อิเล็กตรอน (Single Electron Transfer: SET) การใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันจึงช่วยลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดจากปัจจัยความเกะกะทางโครงสร้างโมเลกุล (Steric hindrance) ของสารสกัดต่ออนุมูลอิสระแต่ละชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากข่าแดงยังคงมีประสิทธิภาพต่ำกว่าในการยับยั้งอนุมูลอิสระ



ตารางที่ 2 แสดงค่าเปรียบเทียบ IC_{50} ด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay และปริมาณฟีนอลิกรวม (total phenolic content, TPC) ในข้าแดงและข้าหลวง

ส่วนประกอบ	DPPH assay		ABTS assay		TPC	
	ค่า IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		ค่า IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		mg GAE/g DW	
	ข้าแดง	ข้าหลวง	ข้าแดง	ข้าหลวง	ข้าแดง	ข้าหลวง
เหง้าแก่	52.0 ± 4.0^a	$191.3 \pm 1.5^{d**}$	58.0 ± 2.6^b	$40.7 \pm 2.5^{**}$	34.5 ± 0.6^d	$51.3 \pm 0.3^{**}$
เหง้าอ่อน	53.0 ± 3.1^a	$92.0 \pm 5.5^{b**}$	39.7 ± 5.0^a	$56.7 \pm 6.8^{**}$	110.4 ± 1.1^g	$50.5 \pm 0.2^{**}$
ดอก	53.0 ± 3.0^a	$321.0 \pm 4.7^{f**}$	93.3 ± 3.5^c	$120.0 \pm 10^{c**}$	54.3 ± 1.1^e	$11.3 \pm 0.2^{b**}$
ลำต้น	165.0 ± 5.0^c	$226.0 \pm 5.0^{e**}$	192.0 ± 3.6^e	$284.7 \pm 4.5^{f**}$	4.8 ± 0.3^a	$20.6 \pm 0.4^{c**}$
ใบ	227.0 ± 5.0^e	676.0 ± 4.5^g	126.0 ± 6.0^d	394.3 ± 3.8^g	18.2 ± 0.3^c	$75.2 \pm 0.1^{f**}$

หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างในแนวตั้ง (แต่ละส่วนของต้น) และเครื่องหมาย * จำนวน * และ ** ในแนวนอน (ระหว่างชนิดข้า) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 2 แสดงผลปริมาณสารฟีนอลิกรวม เป็นการหาสารที่มีหมู่ฟีนอลทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากเหง้า ลำต้นเทียม ใบ และดอก ในข้าแดงและข้าหลวง ในการศึกษาครั้งนี้ใช้สารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน และคำนวณความเข้มข้นของสารฟีนอลิกรวมในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของพืช (mg gallic acid equivalent (GAE)/g DW) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน Gallic acid ($y = 6.8891x$; $R^2 = 0.9922$) จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่า Phenolic content (mg GAE/g DW) ระหว่าง ข้าแดง และ ข้าหลวง ในแต่ละส่วนของพืชโดยใช้ two-way ANOVA พบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดข้าแดงและข้าหลวง มีค่า Phenolic content เฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งข้าแดงมีค่า Phenolic content สูงมากในเหง้าอ่อน ขณะที่ข้าหลวงพบมากในส่วนของใบ และเหง้าแก่

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างปริมาณสารฟีนอลิกรวม และค่า IC_{50} จากวิธี DPPH และ ABTS โดยวิธี Pearson Correlation Coefficient แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson Correlation, r) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson Correlation, r) ระหว่างปริมาณสารฟีนอลิกรวม และค่า IC_{50} จากวิธี DPPH และ ABTS ($p < 0.05$)

ชนิดข้า	TPC เทียบกับ IC_{50} (DPPH)	TPC เทียบกับ IC_{50} (ABTS)
ข้าแดง	-0.669	-0.799
ข้าหลวง	+0.459	+0.275

ข้าแดง มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมเทียบกับค่า IC_{50} จากวิธี DPPH และ ABTS เท่ากับ -0.669 และ -0.799 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าลบที่มาก แสดงว่าเมื่อปริมาณสารฟีนอลิกรวม (TPC) เพิ่มขึ้น ค่า IC_{50} จะมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับข้าหลวง มีค่าเท่ากับ 0.275 และ 0.459 ตามลำดับ ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำถึงปานกลาง แสดงว่าค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวม (TPC) ไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) อย่างเป็นเส้นตรง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยี UHPLC-Hi-Res-Orbitrap-MS/MS ร่วมกับกระบวนการทางสถิติหลายตัวแปร (Chemometrics) ในการศึกษาครั้งนี้ ช่วยให้สามารถจำแนกแบบแผนทางชีวโมเลกุล (Metabolic Profiling) ของชาแดงและชาหลวงที่ปลูกในจังหวัดสมุทรปราการได้ ผลการวิเคราะห์ PCA และ AHC ทำให้ทราบว่าการสะสมสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิมีความจำเพาะตามส่วนต่าง ๆ และชนิดอย่างมีนัยสำคัญ

ชาแดงมีการสะสมสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่หลากหลายชนิด ได้แก่ Quercetin Rutin และ Isorhamnetin โดยเฉพาะในส่วนใบและดอกในปริมาณที่สูงกว่าส่วนอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับหน้าที่ในการป้องกันแสง UV และการดึงดูดแมลง การสะสมของสารเหล่านี้ปริมาณสูงบริเวณใบและดอก สอดคล้องกับบทบาทหน้าที่ทางสรีรวิทยาของพืชในการป้องกันความเสียหายจากรังสี UV (Photoprotection) และความสวยงามเพื่อช่วยดึงดูดแมลงผสมเกสร [15, 16] นอกจากนี้ชาแดงยังโดดเด่นในการสะสมกรดอินทรีย์และกรดอะมิโน เช่น Azelaic acid, Fumaric acid และ Proline ในส่วนเหง้า ในขณะที่ชาหลวงมีรูปแบบการสะสมของสารในกลุ่มฟีนอลิกอัลดีไฮด์และฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น trans-Cinnamaldehyde, Vanillin และ 4-Hydroxybenzoic acid ในเหง้าแก่และเหง้าอ่อนเป็นหลัก และพบสารกลุ่ม Kaempferol และ Isokaempferide สะสมในส่วนใบของชาหลวงอย่างเด่นชัด สำหรับสาร Azelaic acid (AzA) จัดเป็นสารบ่งชี้สำคัญในการจำแนกชนิดของชา (โดยเฉพาะชาแดง) เป็นกรดไขมันที่เกิดจากการสลายตัวของกรดไขมันไม่อิ่มตัวผ่านกระบวนการ Lipid peroxidation เมื่อพืชเผชิญกับความเครียด เช่น สภาวะดินเค็ม (Salt stress) ในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ พืชจะเพิ่มระดับ AzA เพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและรักษาสมดุลของเซลล์ และเป็นตัวกระตุ้นหลักให้พืชเปิดการทำงานของยีนในวิถี Phenylpropanoid biosynthesis ส่งผลให้เกิดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์หลากหลายชนิด [4, 16] ปริมาณของสารสำคัญต่างๆ ที่สะสมในส่วนต่างๆ ของทั้งชาแดง และชาหลวง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Trimanto และคณะ [17] พบว่า เหง้าของชาเป็นส่วนที่มีปริมาณกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกสูงที่สุด มีฤทธิ์ต้านจุลชีพด้านการอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระสูง สำหรับใบ ลำต้นเทียมและดอก มักพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระและช่วยบำรุงร่างกาย

ดังนั้น สามารถใช้สาร Azelaic acid และ trans-Cinnamaldehyde เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ ในการระบุชนิดของชาแดงและชาหลวง เพื่อทำหน้าที่เป็น Molecular Barcode ที่แม่นยำกว่าการพิจารณาจากสัณฐานวิทยาหรือการดมกลิ่นซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมที่มีข้อจำกัดสำหรับผลิตภัณฑ์แปรรูปที่ลักษณะทางกายภาพสูญหายไป ทั้งนี้เอกลักษณ์ทางเคมีจะมีความคงตัวและสามารถใช้ตรวจสอบย้อนกลับได้เพื่อป้องกันการปลอมปนของชนิดชา

เมื่อพิจารณาปริมาณสารที่สกัดได้จากชาแดงเทียบกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ดอก และ เหง้าอ่อน เป็นส่วนที่ให้ค่า % yield สูงที่สุด และเป็นส่วนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด แสดงว่าในสารสกัดจากดอก และเหง้าอ่อน มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณมากเช่นกัน สำหรับชาหลวงพบว่า ใบ ให้ % yield สูงที่สุด อย่างไรก็ตาม สารสกัดดังกล่าวกลับมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด จึงสะท้อนให้เห็นว่าปริมาณสารสกัดที่ได้ในสัดส่วนที่สูงนั้น ประกอบด้วยสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพน้อย หรืออาจมีสารกลุ่มอื่นที่ไม่ออกฤทธิ์โดยตรงปะปนอยู่มาก เช่น ไข (Waxes) หรือคลอโรฟิลล์ ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชาหลวง สามารถปรับความเข้มข้นของระบบตัวทำละลาย แทนการใช้ Ethanol เพียงชนิดเดียว เพื่อเจาะจงการสกัดสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ให้มากขึ้น จะช่วยกำจัดสิ่งเจือปนที่ไม่เกี่ยวข้องและเพิ่มค่าความแรงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อหน่วยน้ำหนักสารสกัดให้สูงขึ้น

สำหรับประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าชาแดงเป็นแหล่งที่มีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ ที่เด่นกว่าชาหลวงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะในส่วนของเหง้าและดอกซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (มีค่า IC_{50} ต่ำ) และพบปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ในเหง้าอ่อน การที่เหง้าอ่อนมีกิจกรรมทางเคมีสูงอาจเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ว่องไว



เพื่อการเติบโตและการตอบสนองต่อสภาวะความเค็มในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ [17-18] ส่งผลให้มีการสะสมของสารกลุ่ม Flavonols เช่น Quercetin และ Kaempferol ซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ในตำแหน่งที่เหมาะสมต่อการให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระได้มีประสิทธิภาพ ขณะที่ข้าหลวงพบปริมาณฟีนอลิก รวมมากที่สุดบริเวณใบแม่ใบของข้าหลวงจะมี TPC สูง แต่กลับมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำมาก อาจเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกในใบข้าหลวงอยู่ในรูปแบบที่ทำปฏิกิริยากับอนุมูล DPPH ได้ช้า หรืออาจถูกบดบังด้วยสารอื่น ๆ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation Analysis) ระหว่างค่า IC_{50} กับปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของข้าหลวงมีค่าติดลบสูง บ่งชี้ว่าปริมาณสารฟีนอลิกเป็นปัจจัยโดยตรงที่กำหนดประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่ข้าหลวงมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เป็นบวกน้อย แสดงว่าค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวม (TPC) ไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) อย่างเห็นเด่นชัด อาจเป็นผลมาจากในข้าหลวง สาร TPC ที่วัดได้ส่วนใหญ่อาจเป็นสารกลุ่ม Phenolic Aldehydes (เช่น Vanillin หรือ 4-Hydroxybenzaldehyde) ซึ่งแม้จะทำปฏิกิริยากับสาร Folin-Ciocalteu ได้ค่า TPC สูง แต่สารเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระต่ำ จึงเป็นผลให้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ

อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อยกระดับและสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับข้าหลวงจังหวัดสมุทรปราการได้อย่างเป็นรูปธรรมตามแนวทางเศรษฐกิจฐานชีวภาพ (Bio-economy) โดยเฉพาะการนำส่วนประกอบของพืชที่เคยถูกมองข้ามอย่างใบและดอกมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ เนื่องจากผลการวิเคราะห์หลายพิมพ์ทางชีวเคมีชี้ให้เห็นชัดเจนว่าดอกข้าหลวงเป็นแหล่งของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงเทียบเท่ากับส่วนเหง้า ขณะที่เหง้าอ่อนข้าหลวงซึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ทางชีวภาพโดดเด่นที่สุดนั้นจัดเป็นวัตถุดิบคุณภาพสูงหรือ "Superfood" ที่เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับอุตสาหกรรมเวชสำอางและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชะลอวัย นอกจากนี้ ฐานข้อมูลตัวบ่งชี้ทางเคมี (Chemical Markers) ที่จำเพาะต่อชนิดและอิทธิพลจากสภาพดินเค็มในพื้นที่ เช่น Azelaic acid และ Eugenol ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นมาตรฐานในการพิสูจน์อัตลักษณ์และควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรในระดับอุตสาหกรรม อันจะนำไปสู่การบริหารจัดการทรัพยากรเกษตรแบบ Zero Waste ที่ช่วยเพิ่มรายได้ที่ยั่งยืนและสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้บริโภคได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณชาวบ้านจาก 4 อำเภอ ในจังหวัดสมุทรปราการ ที่อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลภาคสนาม

เอกสารอ้างอิง

1. Ghosh S, Rangan L. *Alpinia*: The gold mine of future therapeutics. 3 Biotech 2013;3(3):173–85.
2. Tungmunthum D, Tanaka N, Uehara A, Iwashina T. Flavonoids profile, taxonomic data, history of cosmetic uses, anti-oxidant and anti-aging potential of *Alpinia galanga* (L.) Willd. Cosmetics 2020;7(4):89.
3. Tang X, Xu C, Yagiz Y, Simonne A, Marshall MR. Phytochemical profiles, and antimicrobial and antioxidant activities of greater galangal [*Alpinia galanga* (Linn.) Swartz.] flowers. Food Chem 2018;255:300–8.
4. Sharma A, Shahzad B, Rehman A, Bhardwaj R, Landi M, Zheng B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. Molecules 2019;24(13):2452.
5. ยุคลธร สถาปนศิริ, รัมภ์ดา มีบุญญา, ชวนพิศ จิระพงษ์, ผุสดี สิริยากร, อลิศรา พรายแก้ว, วิภาพรณ ชนะภักดิ์. การสำรวจชนิดและการใช้ประโยชน์ของข้าในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ. ว วิทย เทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 2568;11(2):12–27.
6. Tian Y, Jia X, Wang Q, Lu T, Deng G, Tian M, et al. Antioxidant, antibacterial, enzyme inhibitory, and anticancer activities and chemical composition of *Alpinia galanga* flower essential oil. Pharmaceuticals 2022; 15(9):1069.



7. Singh S, Sahoo BC, Kar SK, Sahoo A, Nayak S, Kar B, et al. Chemical constituents Analysis of *Alpinia galanga* and *Alpinia calcarata*. Res J Pharm Technol 2020;13(10):4735–9.
8. Chouni A, Paul S. A review on phytochemical and pharmacological potential of *Alpinia galanga*. Pharmacogn J 2018;10(1):9–15.
9. Han W, Ward JL, Kong Y, Li X. Editorial: Targeted and untargeted metabolomics for the evaluation of plant metabolites in response to the environment. Front Plant Sci 2023;14:116751.
10. Tyagi A, Yeon SJ, Daliri EBM, Chen X, Chelliah R, Oh DH. Untargeted metabolomics of Korean fermented brown rice using UHPLC Q-TOF MS/MS reveal an abundance of potential dietary antioxidative and stress-reducing compounds. Antioxidants 2021;10(4):626.
11. Jin M, Zheng W, Zhang Y, Gao B, Yu L. Lipid compositions and geographical discrimination of 94 geographically authentic wheat samples based on UPLC-MS with non-targeted lipidomic approach. Foods 2021;10(1):10.
12. Xu J, Schaich KM. Re-evaluation of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. J Agric Food Chem 2014;62(19):4251–60.
13. 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(9-10):1231–7.
14. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nat Protoc 2007;2(4):875–7.
15. Agati G, Tattini M. Multiple functions of flavonoids in photoprotection. New Phytol 2010;186(4):786–93.
16. Tattini M, Guidi L, Morassi-Bonzi L, Pinelli P, Remorini D, Degl'Innocenti E, et al. On the role of flavonoids in the integrated mechanisms of response of *Ligustrum vulgare* and *Phillyrea latifolia* to high solar radiation. New Phytol 2005;167(2):457–70.
17. Trimanto T, Hapsari L, Dwiyantri D. *Alpinia galanga* (L.) Willd: Plant morphological characteristic, histochemical analysis and review on pharmacological. AIP Conf Proc 2021;2353:030021.
18. Setiawati T, Susilawati A, Mutaqin AZ, Nurzaman M, Annisa, Partasasmita R, et al. Morpho-anatomy and physiology of red galangal (*Alpinia purpurata*) and white galangal (*Alpinia galanga*) under some salinity stress levels. Biodiversitas 2018;19(3):809–15.