

ผลของเหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกัน ต่อฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า

Effect of Different Internal Skin Color of 'Krachai-Dam' (*Kaempferia parviflora*) Rhizomes on Adaptogenic Activity

เสริมสกุล พจนการุณ¹ และ ไชยง รุจจนเวท²

Sermsakul Pojanagaroon¹ and Chaiyong Rujjanawate²

Abstract

Rhizomes of *Kaempferia parviflora* with four different intensity of internal color as grouped by the a*L*b*system according to the unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) were collected from production areas in Loei (cv. Bohmuangnoi #2), Phitsanulok (cvs. Romklao and Namjuang) and Phetchabun (cv. Khengnoi # 2) provinces. The ethanolic extracts of four cultivars of *K. parviflora* were evaluated for their adaptogenic activity using stress model in mice : force swimming test. It was found that oral administration of all *K. parviflora* extracts at concentration of 500 mg/kg in the period of 28 days significantly exhibited prolonged effect on the active swimming period ($P < 0.01$) but these were no significant difference among all studied cultivars. However, The lower dosages of extracts than 500 mg/kg (125 and 250 mg/kg) exhibited no effect. Therefore, all cultivars of *K. parviflora* cultivars were shown an adaptogenic activity, which important criterion for consuming *K. parviflora* productions of the consumers.

Keywords: Adaptogenic activity, anti-stress effect, ethanolic extract, *Kaempferia parviflora*, Krachai-Dam

¹ ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต (สถานีทดลองเกษตรที่สูงภูเรือ) อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย 42160

¹ Phurua Highland Agricultural Experiment Station, Amphur Phurua, Loei 42160

² ห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ ศูนย์วิจัย ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

² Laboratory of Natural Products, Chulabhorn Research Institute at the Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ

ใช้เหง้ากระชายดำที่มีความเข้มข้นของสีเนื้อแตกต่างกัน 4 ระดับซึ่งได้จากการแบ่งกลุ่มตามค่าสีในระบบ $a^*L^*b^*$ ด้วยวิธี unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) จากแหล่งปลูกการค้าในจังหวัดเลย (สายพันธุ์ 'บ่อเหมืองน้อย-2') พืชโลก (สายพันธุ์ 'รุ่มเกล้า' และ 'น้ำจวง') และเพชรบูรณ์ (สายพันธุ์ 'เข็กน้อย') เปรียบเทียบฤทธิ์ด้านความเหนียวด้วยวิธีการบังคับให้หนูถีบจักรว่ายน้ำ พบว่า การให้สารสกัดเอทานอลของเหง้ากระชายดำ 4 สายพันธุ์ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 28 วัน แก่หนูถีบจักร สามารถแสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวได้โดยทำให้เวลาที่หนูเคลื่อนไหวในน้ำยาวนานขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสายพันธุ์กระชายดำที่ศึกษา ขณะที่การให้สารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำ (125 และ 250 mg/kg) แก่หนูถีบจักรไม่แสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวแต่อย่างใด ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า เหง้ากระชายดำทุกสายพันธุ์สามารถแสดงฤทธิ์ด้านความเหนียว ซึ่งเป็นเกณฑ์สำคัญในการบริโภคผลิตภัณฑ์กระชายดำของผู้บริโภค

คำสำคัญ: กระชายดำ ฤทธิ์คลายเครียด ฤทธิ์ด้านความเหนียว สาระสกัดเอทานอล

บทนำ

กระชายดำ (Kra chai-dam) เป็นพืชล้มลุก อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker ซึ่งต่างจาก “กระชาย” ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr. (พ้องกับ *B. rotunda* (L.) Mansf.) และกระชายขาว (Kra chai-khao) ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Globba laeta* K. Larsen H. (ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้, 2544) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยในเหง้ากระชายดำประกอบด้วยทุติยสารกลุ่ม monoterpenes และ sesquiterpenes จำนวน 51 ชนิด โดยมีองค์ประกอบหลัก คือ endo-fenchol และ borneol จากกลุ่ม monoterpenes (เสริมสกุล และเชวง, 2546ก.) ส่วนทุติยสารที่มีอยู่ในเรซิน (resin) หรือน้ำมันที่ไม่ระเหย (non-volatile oil or fixed oil) ของเหง้ากระชายดำเป็นสารกลุ่ม flavonoids 14 ชนิด และกลุ่ม chalcones 7 ชนิด รวม 21 ชนิด ซึ่งอนุพันธ์ของ flavonoids ส่วนใหญ่สามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและไดคลอโรมีเทน ขณะที่อนุพันธ์ของ chalcones สามารถสกัดได้ด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มและเมทานอล (Jaipetch et al.,

1983; Herunsalee et al., Trakoontivakorn et al., 2001; Tuchinda et al., 2002) สามารถจำแนกสายพันธุ์กระชายดำออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ สายพันธุ์ ‘ใบแดง’ (มีสีเนื้อในเหง้า ‘สีเข้ม’) และสายพันธุ์ ‘ใบเขียว’ (สีเนื้อในเหง้า ‘สีจาง’) โดยใช้เกณฑ์ (1) ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค RAPD (เสริมสกุลและคณะ, 2547) และเทคนิค AFLP (เสริมสกุล และคณะ, 2548) (2) ลักษณะสีเนื้อในเหง้ากระชายดำในระบบสี $a^*L^*b^*$; (Pojanagaroon and Kaewrak, 2003) (3) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระชายดำ 51 ชนิด (เสริมสกุลและเชวง, 2547ก.) (4) องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเอทานอลกระชายดำในด้านปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ (เสริมสกุล และเชวง, 2548) (5) ปริมาณธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในใบของต้นกระชายดำ 9 ธาตุ (เสริมสกุลและเชวง, 2547ข.) (6) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ ก้านใบและส่วนต่าง ๆ ของต้นกระชายดำ (เสริมสกุลและคณะ, 2547) (7) ลักษณะทางกายวิภาคของใบและลำต้นกระชายดำ (อัจฉรา และเสริมสกุล, 2547) (8) การเจริญเติบโตทาง

กิ่งใบและอัตราการรอดตายของลำต้นกระชายดำ (เสริมสกุล และเชวง, 2547ข.) ปัจจุบันเกษตรกรมีความเชื่อว่ายิ่งเนื้อในเหง้ากระชายดำมีสีดำนมากเท่าใดยิ่งมีคุณสมบัติทางเภสัชหรือโอสถสารมากขึ้นเท่านั้น และยินยอมซื้อหัวกระชายดำในราคาที่แพงกว่าสีจางเป็นเท่าตัว ซึ่งผู้บริโภค เกษตรกรผู้ปลูกและผู้ประกอบการจำหน่ายผลิตภัณฑ์กระชายดำได้ใช้สีเนื้อในเหง้ากระชายดำเป็นเกณฑ์ในการคัดเกรดและกำหนดราคา (เสริมสกุลและเชวง, 2546ข; Pojanagaroon and Kaewrak, 2003) โดยพบสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างลักษณะสีและผิวเนื้อในเหง้ากระชายดำกับคะแนนความพึงพอใจในภาพรวมของผู้ประกอบการ และพบความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างสีผิวเนื้อในเหง้ากระชายดำที่วัดด้วยเครื่องวัดสีในระบบ $a^*L^*b^*$ กับความพึงพอใจของผู้ประกอบการในภาพรวม (Pojanagaroon and Kaewrak, 2003)

สำหรับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเหง้ากระชายดำที่ได้มีการศึกษาจากการใช้สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดของเหง้ากระชายดำได้แก่ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Tuchinda et al., 2002) ฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ (anti-mutagenicity) (Trakoontivakorn et al., 2001) ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส (anti-viral activity) ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (anti-fungal activity) ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (anti-tuberculosis) และฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย (anti-malarial activity) (Yenjai et al., 2004) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดหยาบเอทานอล (ethanolic crude extract) จากเหง้ากระชายดำ พบว่ามีฤทธิ์ด้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (anti-gastric ulcer activity) (เสริมสกุล และไชยยง, 2547ก.) และฤทธิ์ด้านการเกิดอนุมูลอิสระ (anti-oxidant activity) (เสริมสกุล และไชยยง, 2547ข.) ในกลุ่มสรรพคุณทั้งหมด ผู้บริโภคนิยมใช้เพื่อบำรุงกำลังทดแทนโสมเกาหลี

และบำรุงสมรรถภาพทางเพศของบุรุษมากที่สุด (เสริมสกุล และเชวง, 2546ก.)

กระชายดำเป็นพืชสมุนไพรที่จังหวัดเลยเริ่มปลูกและได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากขึ้นเป็นลำดับจนได้มีการขยายพื้นที่ปลูกกระชายดำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในทั่วทุกภาคของประเทศ และเริ่มเข้ามาทดแทนการปลูกขิง อันเนื่องมาจากกระชายดำมีราคาที่สูงมากถึง 500-550 บาทต่อกิโลกรัม (โสภี, 2545) ในฤดูกาลปลูกปี 2545-2546 เกษตรกรผู้ปลูกกระชายดำส่วนใหญ่พอใจกับราคาที่จำหน่ายได้โดยมีกำไรเหนือต้นทุนทั้งหมดต่อไร่ต่อฤดูกาลสูงถึง 119,153.39 บาท (เสริมสกุล และเชวง, 2546ข.) จึงเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกษตรกรในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศ โดยเฉพาะพื้นที่จังหวัดเลยและพิษณุโลก หันมาสนใจปลูกกระชายดำเพิ่มขึ้นหลายเท่าตัวจนเกิดสภาพผลผลิตกระชายดำล้นตลาดในช่วงการเก็บเกี่ยวของฤดูกาลปลูกปี 2546-2547 และ เกษตรกรผู้ปลูกกระชายดำส่วนหนึ่งประสบปัญหาคุณภาพด้านสีเนื้อในเหง้ากระชายดำที่เก็บเกี่ยวได้ในฤดูกาลปี 2546-2547 แตกต่างจากหัวแม่พันธุ์ที่ใช้ปลูกทำให้ไม่สามารถจำหน่ายได้ (เสริมสกุล และเชวง, 2547ก.) สาเหตุหลักอีกประการหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตกระชายดำล้นตลาดในปี 2546-2547 เนื่องจากภาครัฐไม่สามารถขยายตลาดจำหน่ายผลผลิตและผลิตภัณฑ์แปรรูปกระชายดำออกไปยังต่างประเทศได้ สืบเนื่องมาจากไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์และเภสัชศาสตร์ที่ยืนยันได้ว่ากระชายดำมีสรรพคุณบำรุงกำลังทดแทนโสมเกาหลีจึงได้รับขนานนามว่าเป็น 'โสมไทย' และสรรพคุณเพิ่มสมรรถภาพทางเพศของบุรุษนั้นจริงหรือไม่ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเน้นศึกษาเพื่อพิสูจน์ให้เห็นว่าเหง้ากระชายดำมีสารออกฤทธิ์ด้านความเหนียวล้าหรือบำรุงกำลังจนได้รับการขนานนามว่าเป็นโสมไทยจริงหรือไม่ และมีความแตกต่างกันระหว่างเหง้ากระชายดำสายพันธุ์ที่มีสีเนื้อในเหง้าเข้มจางต่างกันมากน้อยเพียงใด

วิธีการศึกษา

1. การรวบรวมเหง้ากระชายดำ

รวบรวมเหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ ม่วงเข้ม ม่วง ม่วงอ่อน และม่วงอ่อนมาก โดยใช้ค่าสีในระบบ $a^*L^*b^*$ สำหรับการแบ่งกลุ่ม (Pojanagaroon and Kaewrak, 2003) คัดเลือกเหง้ากระชายดำจากแหล่งปลูกในจังหวัดพิษณุโลก และเพชรบูรณ์ โดยใช้ชื่อของแหล่งที่รวบรวมเป็นชื่อสายพันธุ์กระชายดำ (Table 1) คัดเลือกกระชายดำสำหรับทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากเหง้าที่มีสีเนื้อแตกต่างกัน 4 ระดับที่อยู่ในกลุ่มย่อยแตกต่างกันจากการแบ่งกลุ่มที่คล้ายคลึงกันโดยใช้ค่าสีในระบบ $a^*L^*b^*$ ด้วยวิธี unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) ได้แก่

สายพันธุ์ ‘ร่มเกล้า’ (เนื้อสีม่วงเข้ม), สายพันธุ์ ‘น้ำจวง’ (สีม่วง), สายพันธุ์ ‘บ่อเหมืองน้อย-2’ (สีม่วงอ่อน) และสายพันธุ์ ‘เข็กน้อย-2’ (สีม่วงอ่อนมาก) (Table 2, Fig. 1, 2) รวบรวมเหง้าในขณะที่ยังคงการกำลังเก็บเกี่ยวกระชายดำในเดือนมกราคม 2547 เก็บรักษาโดยการฝังไว้กับพื้นในร่มที่มีอากาศถ่ายเทได้สะดวก ปลูกเหง้ากระชายดำในถุงพลาสติกเพื่อตรวจสอบลักษณะทางพฤกษศาสตร์โดย “นายจรล มากน้อย” หอพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ และยืนยันว่ามีชื่อวิทยาศาสตร์ ‘*Kaempferia parviflora*’ (หมายเลข ตัวอย่าง QSBG C. Maknoi No. 467, 468, 470 และ 477) แต่ในงานวิจัยนี้ทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียวลำเพียง 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ ‘ร่มเกล้า’, ‘น้ำจวง’ และ ‘เข็กน้อย-2’

Table 1 The sources of Krachai-Dam rhizomes which were collected from 4 commercial cultivated areas in Loei, Phitsanulok and Phetchabun provinces

Name of cultivars	Herbarium code*	Commercial cultivated areas
‘Rom-Klao’	QSBG C.Maknoi 468	Moo 4 Ban Rom-Klao, Tambon Boh-Park, Charttrakarn, Phitsanulok.
‘Nam-Juang’	QSBG C.Maknoi 467	Moo 15 Ban Nam-Juang, Tambon Boh-Park, Charttrakarn, Phitsanulok.
‘Boh Muang Noi#2’	QSBG C.Maknoi 477	Moo 5 Ban Boh Muang Noi, Taombon Saeng-Pha, Na-Heaw, Loei.
‘Kheg-Noi#2’	QSBG C.Maknoi 470	Moo 8 Ban Chaichana, Tambon Kheg-Noi, Khao-Khor, Phetchabun.

*Plant samples were kept in Herbarium at the Queen Sirikit Botanical Garden (QSBG), Mae-Rim, Chiang Mai

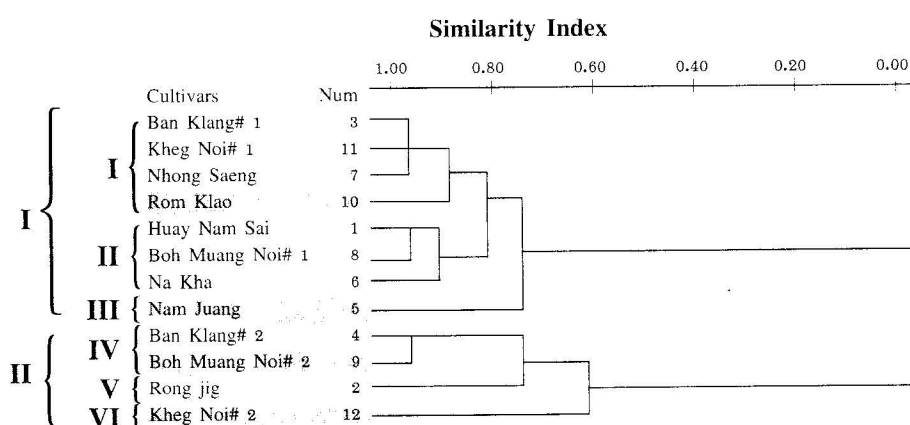


Fig. 1 Dendrogram from Unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) of value a^*, L^* and b^* in $a^*L^*b^*$ color system of Krachai-Dam rhizomes' internal skin color

Table 2 The internal skin color of Krachai-Dam rhizomes in the $a^*L^*b^*$ color system measured by the color reader (MINOLTA model CR-300)

Krachai-Dam cultivars	The internal skin color of Krachai-Dam rhizomes in the $a^*L^*b^*$ color system		
	L^*	a^*	b^*
Rom-Klao	32.29d	9.17a	-3.57d
Nam-Juang	37.12c	8.48b	-0.14c
Boh Muang Noi#2	44.72b	4.99c	7.22b
Kheg-Noi#2	47.27a	3.86d	9.46a
Mean	40.39	6.57	3.29
SD	6.47	2.51	5.76

Mean within the same column with different common letters differ significantly ($P < 0.05$) by DMRT
 * In the $L^* a^* b^*$ color space; L^* indicates brightness: $+L^*$ is the lightness or white, $-L^*$ is the darkness or black; a^* and b^* are the chromaticity coordinates; $+a^*$ is the red direction, $-a^*$ is the green direction, $+b^*$ is the yellow direction, $-b^*$ is the blue direction

2. การสกัดเหง้ากระชายดำ

นำเหง้ากระชายดำซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45-50 วัน มาล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วสับเป็นชิ้นขนาดเล็ก โดยไม่ปอกเปลือก ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและบดให้ละเอียด หัก (macerate) ผงเหง้ากระชายดำในสารละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 2 วันแล้วกรอง นำกากมาหมักซ้ำอีก 2 ครั้งในสารละลายเอทานอล 95% เพิ่มความเข้มข้นส่วนที่กรองได้ในสภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และทำให้แห้งในสภาพเยือกแข็งโดยการระเหยเพื่อให้ได้สารสกัดแอลกอฮอล์ที่แห้ง (เปอร์เซ็นต์สารสกัดที่ได้คิดเป็น 5.7% (โดยน้ำหนักแห้งของเหง้ากระชายดำที่ใช้เริ่มต้น) ละลายสารสกัดแห้งโดยใช้ Tween 10% ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียว

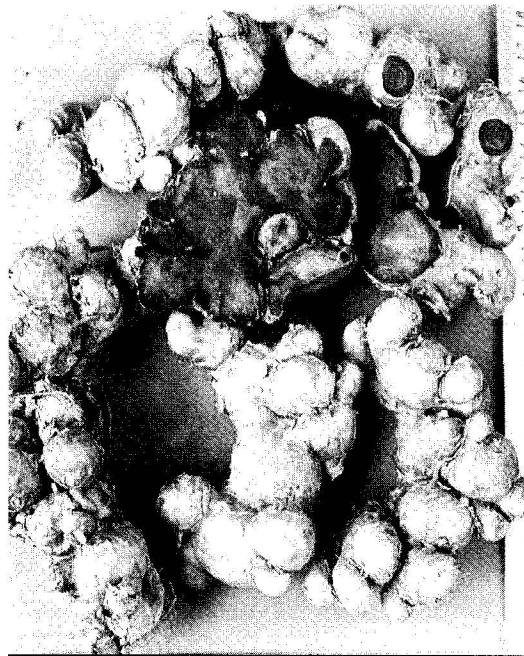
3. สัตว์ทดลอง

ใช้หนูถีบจักร (mice) สายพันธุ์ 'Swiss albino' ตัวผู้ที่มีน้ำหนัก 25-30 กรัม ที่สั่งซื้อมาจากศูนย์

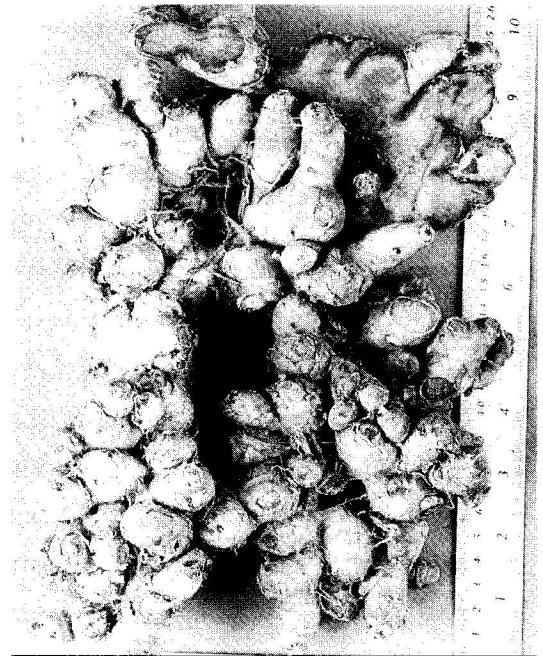
สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม เลี้ยงสัตว์ทดลองในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ($22 \pm 3^{\circ}\text{C}$) และมีวัฏจักรแสงสว่างและมืดอย่างละ 12 ชั่วโมง โดยให้สัตว์ทดลองปรับตัวในสภาพดังกล่าวอย่างน้อย 7 วัน ให้อาหารสัตว์ทดลองของบริษัท S.W.T. CO.,Ltd. จังหวัดสมุทรปราการ สัตว์ทดลองทุกตัวได้รับการดูแลด้วยความเมตตาตามจรรยาบรรณการวิจัยในสัตว์ทดลองของสภาวิจัยแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2542

4. การทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนียว (adaptogenic activity)

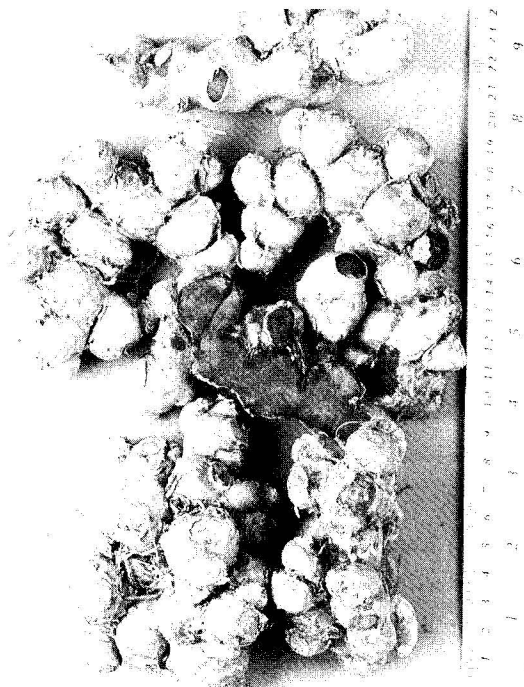
ทำการศึกษาฤทธิ์ด้านความเหนียว (adaptogenic activity) หรือความเครียดทางสรีรวิทยา (physiological stress) และทางจิตวิทยา (psychological stress) โดยใช้โมเดลทดสอบการบังคับให้สัตว์ทดลองว่ายน้ำ (forced swimming test) ตามวิธีการของ Tadano et al., (1992) ที่ดัดแปลงโดย Ushijima et al. (1997) ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์



5. น้ำจวง (Nam-Juang)



9. ป่อเหมืองน้อย-2 (Boh Muang Noi#2)



10. ร่มเกล้า (Rom-Klao)



12. เข็กน้อย-2 (Kheg-Noi#2)

Fig. 2 The collected Krachai-Dam rhizomes from 4 commercial

ถึงเมษายน 2547 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) มี 4 กรรมวิธี ได้แก่ การให้สารสกัดเอทานอลกระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกัน 3 ระดับ (กลุ่มทดสอบ : กลุ่มที่ 1-3) และกลุ่มควบคุม แต่ละกรรมวิธีมี 10 ซ้ำ (ใช้หนูถีบจักร 10 ตัว; n=10) ในกลุ่มทดสอบ (กลุ่มที่ 1-3) ทำการป้อนสารสกัดเอทานอลของกระชายดำที่ได้จากเหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่มี 10% tween เป็นพาหะ ขนาด 500 มก./น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม วันละครึ่งเป็นเวลา 28 วัน แก่หนูถีบจักร ในกลุ่มควบคุมป้อน 10% tween ในปริมาณที่เท่ากัน วันละครึ่งเป็นเวลา 28 วันเช่นกัน นำหนูถีบจักรมาทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนื่อยล้าโดยวิธีการทดสอบที่บังคับให้สัตว์ทดลองต้องว่ายน้ำ (forced swimming) ในวันที่ 28 ของการทดลอง ทำการทดสอบโดยใช้ บีกเกอร์แก้วสูง 14 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม. ใส่ น้ำอุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียสลงไปให้สูง 10 ซม. ปลอญหนูถีบจักรลงในน้ำเป็นเวลา 6 นาที จับเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวใน 4 นาทีหลังรวมกัน เปรียบเทียบเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหว (immobility time) ในแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลมาเปรียบเทียบ เพื่อให้ทราบว่าสารสกัดเอทานอลกระชายดำสายพันธุ์ที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกัน 3 ระดับมีฤทธิ์ด้านความเหนื่อยล้าแตกต่างจากกลุ่มควบคุมหรือไม่ และมีความแตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์กระชายดำที่ทดสอบเพียงใด โดยหนูที่สามารถด้านความเหนื่อยล้าได้จะมีเวลาที่เคลื่อนไหวในน้ำยาวนานขึ้น กล่าวคือมีเวลาที่หนูไม่เคลื่อนไหวน้อยลงนั่นเอง

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ ความแปรปรวน (analysis of variance) และ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีโดยวิธี Duncan's

Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS for Windows version 10.0

ผลการศึกษา

การทดสอบที่บังคับให้สัตว์ทดลองต้องว่ายน้ำ พื้นฐานของวิธีการนี้มาจากการสังเกตว่าหนูทดลองที่อยู่ในสถานการณ์ที่ถูกบังคับให้ว่ายน้ำจะค่อย ๆ หดแรงและเคลื่อนไหวน้อยลง และในที่สุดก็จะมีเพียงการเคลื่อนไหวเพียงเล็กน้อยเพื่อพยุงให้ส่วนหัวอยู่พ้นน้ำเท่านั้น หนูที่สามารถด้านความเหนื่อยล้าได้จะมีเวลาที่เคลื่อนไหวในน้ำยาวนานขึ้น ซึ่งเป็นโมเดลที่ทดสอบทั้งการต้านความเครียดที่เกิดจากสรีรวิทยาของตัวหนู (physiological stress) ซึ่งเป็นการเคลื่อนไหวที่ใช้ก๊าซออกซิเจน (aerobic exercise) และความเครียดที่เกิดจากสภาพจิตใจของตัวหนู (psychological stress) ที่เกิดจากความกลัวและความพยายามที่จะหลีกเลี่ยงน้ำเย็น (Ushijima et al., 1997; Nagai et al., 1992)

Table 3 Adaptogenic activity of *K. parviflora* extracts with 3 different intensity of internal color at concentration of 500 mg/kg in the period of 28 days by forced swimming test

Treatments	Immobility time (sec)
Control	107.69a
KPE-1: Rom-Klao (500 mg/kg)	72.02b
KPE-2: Nam-Juang (500 mg/kg)	78.20b
KPE-4: Kheg-Noi#2 (500 mg/kg)	72.38b
Mean	82.12
SD	28.50
C.V. (%)	30.80

Mean within the same column with different common letters differ significantly ($P \leq 0.01$) by DMRT

Table 4 Adaptogenic activity of *K. parviflora* extracts (Rom-Klao) with 3 different concentrations in the period of 28 days by forced swimming test

Treatments	Immobility time (sec)
Control	107.69a
KPE-1: Rom-Klao (125 mg/kg)	99.30ab
KPE-1: Rom-Klao (250 mg/kg)	94.00ab
KPE-1: Rom-Klao (500 mg/kg)	72.02b
Mean	92.60
SD	28.57
C.V. (%)	28.00

Mean within the same column with different common letters differ significantly ($P \leq 0.01$) by DMRT

ผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการทดสอบฤทธิ์ด้านความเหนื่อยล้า (adaptogenic effect) เมื่อทดสอบด้วยวิธี forced swimming test โดยให้สารสกัดกระชายดำแก่หนูถีบจักร (mice) วันละ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน โดยใส่น้ำ 700 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 22-25 °ซ. ลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร ปลอญหนูถีบจักรลงในน้ำ 2 นาที หลังจากนั้นอีก 4 นาที จับเวลาการไม่เคลื่อนไหวของหนูรวมกัน (Table 3) พบว่า หนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัดกระชายดำทั้ง 3 สายพันธุ์ ('รุ่มเกล้า', 'น้ำจวง' และ 'เข็กน้อย-2') สามารถต้านทานความเหนื่อยล้าได้ โดยมีเวลาที่ไม่เคลื่อนไหวรวม (72.07, 78.20 และ 72.38 วินาทีตามลำดับ) น้อยกว่าหนูถีบจักรในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัดกระชายดำเลย (107.69 วินาที) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างหนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัดกระชายดำทั้ง 3 สายพันธุ์ (ที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกัน 3 ระดับ) แต่อย่างใด แต่เมื่อลดขนาด (dosage) การให้สารสกัดกระชาย

ดำแก่หนูถีบจักรเหลือวันละ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 125 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน (Table 4) ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) ระหว่างเวลาที่หนูถีบจักรไม่เคลื่อนไหวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่าขนาดที่เหมาะสมของสารสกัดกระชายดำสายพันธุ์ 'รุ่มเกล้า' ที่สามารถแสดงฤทธิ์ด้านความเหนื่อยล้าในหนูถีบจักรได้คือ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

วิจารณ์ผล

การที่สารสกัดเอทานอลจากกระชายดำทุกสายพันธุ์สามารถแสดงฤทธิ์ด้านความเหนื่อยล้า (adaptogenic activity) ได้ โดยหนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัดใช้เวลาหยุดว่ายน้ำต่ำกว่าหนูถีบจักรที่ไม่ได้รับสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ในโมเดลทดสอบการบังคับให้สัตว์ทดลองว่ายน้ำ (forced swimming test) ซึ่งเป็นการต้านความเครียดหรือคลายเครียดทั้งทางสรีรวิทยาของสัตว์ทดลองเองจากการเคลื่อนไหวที่ใช้ก๊าซออกซิเจน (aerobic exercise) และความเครียดจากสภาวะจิตใจที่ก่อกวนการจมน้ำและพยายามหลีกเลี่ยงน้ำเย็น จึงเป็นหลักฐานหลักที่แสดงและพิสูจน์ให้เห็นทางเภสัชวิทยาว่า เหง้ากระชายดำมีสารออกฤทธิ์ด้านความเครียด ทำให้ผู้บริโภคหรือตำราแพทย์แผนไทยระบุว่าเป็นสมุนไพรบำรุงกำลัง จนได้รับการขนานนามว่าเป็น 'โสมไทย' ซึ่งเป็นปัจจัยหลักหนึ่งในสองที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพรกระชายดำของผู้บริโภค (เสริมสกุล และเชวง, 2546ข.) อย่างไรก็ตาม การที่ยืนยันว่าเหง้ากระชายดำมีสรรพคุณบำรุงกำลังหรือเป็นโสมไทยนั้น คณะผู้วิจัยขอเสนอให้ทดสอบฤทธิ์นี้โดยใช้โมเดลทดสอบฤทธิ์คลายเครียด (anti-stress effect) อื่น ๆ

ประกอบด้วย เช่น mechanical treadmill running และ immobilization stress model ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์คลายเครียดซึ่งเน้นทางสรีรวิทยาของสัตว์ทดลองเท่านั้น โดยเฉพาะ mechanical treadmill running test จะเป็นการเคลื่อนไหวร่างกายที่ใช้ก๊าซออกซิเจน (aerobic exercise) ในช่วงแรก แต่ต่อมาจะเป็นการเคลื่อนไหวแบบไม่ใช้ก๊าซออกซิเจน (anaerobic exercise) และมีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น ซึ่งสภาพนี้การหมุนเวียนของกระแสโลหิตจะเข้ามามีบทบาทสำคัญในการเพิ่มปริมาณก๊าซออกซิเจนและกำจัดกรดแลคติกที่สร้างขึ้นจากกล้ามเนื้ออันเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดความเมื่อยล้าของกล้ามเนื้อ (Ushijima et al., 1997) และ cooling rewarming test เป็นการวัดความผิดปกติของการไหลเวียนของกระแสโลหิตของอวัยวะส่วนปลาย (distal circulation) ซึ่งไม่สามารถจัดว่าเป็นความเครียดจากสรีรวิทยาของสัตว์ทดลองที่เกิดจากความเคลื่อนไหวได้โดยตรง แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในตัวสัตว์ทดลอง (Karasawa et al., 1982) หากการใช้โมเดลอื่น ๆ เหล่านี้ทดสอบร่วมกับ forced swimming test จะสามารถอธิบายถึงผลของสารสกัดเอทานอลกระชายดำที่มีฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้าหรือความเครียดทางสรีรวิทยาและทางจิตใจได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

จากผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากเหง้ากระชายดำที่ใช้ตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นต่างกัน (methanol, ethanol, chloroform, dichloromethane และ hexane) ในการสกัดจากอดีตถึงปัจจุบันพบสารกลุ่ม flavonoids และ chalcones เป็นองค์ประกอบหลักของสารสกัดภายในเหง้ากระชายดำ ซึ่งงานวิจัยทั้งหมดที่ศึกษาเน้นการหาเพียงเครื่องหมายทางเคมี (chemical marker) ที่บ่งชี้ว่าเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่มีมาก

ในเหง้ากระชายดำ และเน้นการหาสารออกฤทธิ์ (active ingredients) ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค และฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรีย เป็นต้น แต่สรรพคุณของเหง้ากระชายดำที่ทำให้กระชายดำได้รับความนิยมอย่างสูงจากผู้บริโภคในปัจจุบันมีเพียง 2 สรรพคุณเท่านั้น คือ สรรพคุณบำรุงกำลังที่ได้รับการขนานนามว่าเป็น ‘โสมไทย’ และฤทธิ์เพิ่มสมรรถภาพทางเพศของบุรุษ ในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยได้ค้นพบว่าสารสกัดเอทานอล (crude extract) จากเหง้ากระชายดำมีฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า (ฤทธิ์บำรุงกำลังในลักษณะเดียวกับ ‘โสมเกาหลี’) แต่ยังไม่ทราบสัดส่วน (fraction) ใดในสารสกัดหยาบเป็นส่วนใหญ่ที่แสดงฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้าได้ จึงควรศึกษาและยืนยันกลุ่มสารออกฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้า (บำรุงกำลังทดแทน ‘โสมเกาหลี’) ภายในเหง้ากระชายดำว่าประกอบด้วยองค์ประกอบเคมีใดบ้างสำหรับใช้สารกลุ่มดังกล่าวเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกพันธุ์ให้ได้กระชายดำ ‘พันธุ์แนะนำ’ ที่มีสารกลุ่มดังกล่าวสูง รวมทั้งสามารถใช้ฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้านี้เป็นสรรพคุณหลักในการโฆษณาผลิตภัณฑ์กระชายดำเพื่อสร้างตลาดผู้บริโภคกระชายดำทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะตลาดผู้บริโภค ‘โสมเกาหลี’ เดิม ตลอดจนควรใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกันตั้งแต่มีขั้วสูงไปจนถึงไม่มีขั้วในการสกัดเหง้ากระชายดำ เพื่อยืนยันให้แน่ชัดว่าสารสกัดกระชายดำจากตัวทำละลายใดและสัดส่วนใดที่แสดงฤทธิ์ต้านความเหนื่อยล้าได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังควรศึกษาฤทธิ์เพิ่มสมรรถภาพทางเพศโดยทดสอบฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดดำประกอบด้วย เพื่อยืนยัน สรรพคุณหลัก 2 ประการที่

สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภคสมุนไพร
กระชายดำต่อไป ซึ่งคณะผู้วิจัยอยู่ระหว่างดำเนินการ
การศึกษา

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสาร
สกัดเอทานอลจากเหง้ากระชายดำด้านฤทธิ์ด้าน
ความเหนียวล้า (adaptogenic activity) ที่ทดสอบ
โดยใช้โมเดล 'forced swimming' ของหนูถีบจักร
(mice) พบว่า การให้สารสกัดเอทานอลกระชายดำ
ทุกสายพันธุ์แก่หนูถีบจักรต่อเนื่องกันทุกวันเป็น
เวลานาน 28 วัน ในปริมาณ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
สามารถแสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า โดยทำให้
เวลาที่หนูเคลื่อนไหวในน้ำยาวนานขึ้นกว่ากลุ่ม
ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.01$) แต่ไม่พบความ
แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสายพันธุ์
กระชายดำที่ศึกษา นั่นคือเหง้ากระชายดำทุกสาย
พันธุ์สามารถแสดงฤทธิ์ด้านความเหนียวล้า ซึ่งเป็น
เกณฑ์สำคัญในการบริโภคผลิตภัณฑ์กระชายดำ
ของผู้บริโภค

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ 'กองทุนสนับสนุนงาน
วิจัยด้านการเกษตร' กรมวิชาการเกษตร กระทรวง
เกษตรและสหกรณ์ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยใน
ครั้งนี้ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย "รวบรวม
ศึกษาและคัดเลือกพันธุ์กระชายดำ" งานวิจัยนี้
สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้. 2544. ชื่อ
พรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์. พิมพ์ครั้งที่
2. บริษัทประชาชน จำกัด. กรุงเทพฯ. 810 หน้า.
- เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้ววิทย์. 2546ก. ทศนคติ
พฤติกรรมการบริโภคและปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือก
ซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพรกระชายดำของผู้บริโภค: กรณี
ศึกษาอำเภอภูเรือ จังหวัดเลย. ใน เอกสารการสัมมนา
วิชาการเกษตรประจำปี 2546 คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น (27-28 มกราคม 2546). หน้า
653-669.
- เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้ววิทย์. 2546ข. การผลิต
และการตลาดกระชายดำของเกษตรกรใน จังหวัดเลย
พิษณุโลก และเพชรบูรณ์. วารสารวิทยาศาสตร์
เกษตร. 34 (4-6): 153-167.
- เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้ววิทย์. 2547ก. รวบรวม
ศึกษาและคัดเลือกพันธุ์กระชายดำ: องค์ประกอบ
ทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระชายดำ.
วารสารเกษตร. 20(1): 44-55.
- เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้ววิทย์. 2547ข. การ
รวบรวมและคัดเลือกพันธุ์กระชายดำ: ปริมาณธาตุ
อาหารในใบและการเจริญเติบโตทางกิ่งใบของต้น
กระชายดำ. การสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ
ประจำปี 2547 (26-27 มกราคม 2547) ภาคบรรยาย.
มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. หน้า 68-82.
- เสริมสกุล พจนการุณ และเชวง แก้ววิทย์. 2547ค. การผลิต
และปัญหาการผลิตกระชายดำของเกษตรกรจังหวัด
เลย และพิษณุโลก. การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่
5 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (20-21 พฤษภาคม 2547)
ภาคบรรยาย. เชียงใหม่ หน้า 63-78.
- เสริมสกุล พจนการุณ และไชยยัง รุจจนเวท. 2547ก. ผลของ
เหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกันต่อฤทธิ์
ด้านการสร้างแผลในกระเพาะอาหาร. การสัมมนา
วิชาการเกษตรแห่งชาติประจำปี 2547 (26-27
มกราคม 2547) ภาคโปสเตอร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
ขอนแก่น. หน้า 136-144.
- เสริมสกุล พจนการุณ และไชยยัง รุจจนเวท. 2547ข. ผลของ
เหง้ากระชายดำที่มีสีเนื้อในเหง้าแตกต่างกันต่อฤทธิ์
ด้านการเกิดอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข.
32(4): 270-277.

- เสริมสกุล พจนการุณ เรือนแก้ว ประพฤติ เขวง แก้วรักษ์ และ อัมพร ยอดดี. 2547. ศึกษาลักษณะพันธุ์กระชายดำโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD, ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระชายดำ. ใน: เอกสารเรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 สาขาพืช (3-6 กุมภาพันธ์ 2547) ภาคบรรยาย. กรุงเทพฯ. หน้า 55-64.
- เสริมสกุล พจนการุณ และเขวง แก้วรักษ์. 2548. รวบรวมศึกษาและคัดเลือกพันธุ์กระชายดำ. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เสนอต่อกรมวิชาการเกษตร. ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต (ภูเรือ). เลย. 53 หน้า.
- เสริมสกุล พจนการุณ เรือนแก้ว ประพฤติ เขวง แก้วรักษ์ และ อัมพร ยอดดี. 2548. ศึกษาลักษณะพันธุ์กระชายดำโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล AFLP. ใน: การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2548 มหาวิทยาลัยขอนแก่น (24-25 มกราคม 2548) ภาคบรรยาย. ขอนแก่น. หน้า 84.
- โสภี ทุมลา. 2545. ไวน์สมุนไพร...อาชีพเสริมทำเงิน พ่อพิมพ์-แม่พิมพ์เมืองสองแคว. เทคโนโลยีชาวบ้าน. ปีที่ 14 ฉบับที่ 293: 15 สิงหาคม 2545 หน้า 40-41.
- อัจฉรา ธรรมถาวร และเสริมสกุล พจนการุณ. 2547. กายวิภาคศาสตร์เปรียบเทียบของใบและลำต้นกระชายดำ (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker) จากแหล่งปลูกในจังหวัดเลย เพชรบูรณ์ และพิษณุโลก. การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 5 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (20-21 พฤษภาคม 2547) ภาคบรรยาย. เชียงใหม่. หน้า 79-90.
- Herunsalee, A., O. Pancharoen, and P. Tuntiwachwuttikul. 1987. J. Sci. Soc. Thailand, 13: 119.
- Jaipetch, T., V. Reutrakul, P. Tuntiwachwuttikul, and T. Santisuk. 1983. Flavonoids in The Black Rhizomes of *Boesenbergia pandurata*. Phytochemistry. 22(2) : 625-626.
- Karasawa, H., S. Sakai, T. Sato, and M. Kato. 1984. Effect of the Medical Alcoholic Beverage (Yomeishu) on Rectal and Skin Temperature of Experimental Animal Subjected to Cooling Rewarming Test. Oyo Yakuri-Pharmacometrics 281: 155-161 (in Japanese).
- Nagai, K., M. Hanazuka, and S. Hizume. 1992. Anti-Fatigue Effects of Ginseng Extract and the Mixture of Ginseng and Astragali Extract in Mice. Jpn Pharmacol. Ther. 20: 3535-3541.
- Pojanagaroorn, S. and C. Kaewrak, 2003. Varietal Selection of Collected Krachai-Dam (*Kaempferia parviflora* Wall.) Rhizomes by Using the Preference of Krachai-Dam Products' Distributors and Sellers. p. 401-407. In: Proceedings of the International Conference on Biodiversity and Bioactive compounds, 17-19 July 2003, PEACH, Pattaya, 561p.
- Trakoontivakorn G., K. Nakahara, H. Shinmoto, M. Takenaka, M. Onishi-Kameyama, H. Ono, M. Yoshida, T. Nagata, and T. Tsushida. 2001. Structural analysis of a novel Antimutagenic Compound, 4-Hydroxypandutab A, and the Antimutagenic Activity of Flavonoids in a Thai Spice, Fingerroot (*Boesenbergia pandurata* Schult). Against Mutagenic Heterocyclic Amines. J. Agri. Food Chem. 49: 3046-3050.
- Tadano, T., T. Aizawa, T. Asao, M. Hozumi, and K. Kisara. 1992. Pharmacological Studies of Nutritive and Tonic Crude Drugs on Fatigue in Mice. Folia Pharmacol. Japan, 100: 423-431.
- Tuchinda P., V. Reutrakul, P. Claeson, U. Pongprayoon, T. Sematong, T. Santisuk, and C.W. Taylor. 2002. Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. Phytochemistry. 59: 169-173.
- Ushijima, M., I. Sumioka, M. Kakimoto, K. Yokoyama, N. Uda, H. Matsuura, E. Kyo, A. Suzuki, S. Kasuga, Y. Itakura, B.L. Petesch, and H. Amagase. 1997. Effect of Garlic and Garlic Preparations on Physiological and Psychological Stress in Mice. Phytother. Res. 11: 226-230.
- Yenjai C., K. Prasanphan, S. Daodee, V. Wongpanich, and P. Kittikoo. 2004. Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. Fitoterapia. 57(1): 89-92.