การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-จินเจอรอล ในขิงสดและขิงแห้ง โดยวิธีการเอชพีทีแอลซี

THE COMPARISON OF 6-GINGEROL IN FRESH AND DRIED GINGER BY HPTLC METHOD

พัสวี อรุณพัฒนชัย

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
2564

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-จินเจอรอล ในขิงสดและขิงแห้ง โดยวิธีการเอชพีทีแอลซี

THE COMPARISON OF 6-GINGEROL IN FRESH AND DRIED GINGER BY HPTLC METHOD

พัสวี อรุณพัฒนชัย

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
2564

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-จินเจอรอล ในขิงสดและขิงแห้ง โดยวิธีการเอชพีทีแอลซี

THE COMPARISON OF 6-GINGEROL IN FRESH AND DRIED GINGER BY HPTLC METHOD

พัสวี อรุณพัฒนชัย

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
2564

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัครวรรธน์ สิทธิประภาพร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ดร.สุเมธ คันชิง)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน ปั้นดี)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระนี้ใช้เวลาหลายปีจนในที่สุดได้สำเร็จลุล่วง ทั้งนี้เนื่องเพราะความกรุณาจากคณะกรรมการสอบทุกท่าน คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัควรรธน์ สิทธิประภาพร ประธานกรรมการ อาจารย์ ดร.สุเมธ คันชิง และ รองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน ปั้นดี ซึ่งอาจารย์ทั้ง 3 ท่านได้ให้ความเมตตากรุณาอย่างจริงใจในการแนะนำอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการปรับปรุงการศึกษาครั้งนี้ และนอกจากนี้ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.สุเมธ คันชิง อาจารย์ที่ปรึกษาเป็นอย่างสูง ที่คอยให้คำปรึกษาและแนะนำพร้อมให้กำลังใจตลอดมา จนการศึกษาครั้งนี้สำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในสำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพที่ได้ให้วิชาความรู้ที่ได้ใช้เป็นข้อมูลสำคัญรวมทั้งเป็นแรงบันดาลใจในการทำการศึกษาในครั้งนี้ และจะขอนำความรู้ที่ได้มาใช้เพื่อประโยชน์แก่ส่วนรวมให้มากที่สุด

ที่สำคัญที่สุด คือ กำลังใจจากบุคคลในครอบครัว ได้แก่ บิดา มารดา และเพื่อน ซึ่งมีให้ตลอดมาและอยู่เคียงข้าง พร้อมทั้งให้การช่วยเหลือ ให้เวลาในการแนะนำ และรวมทั้งสนับสนุนเงินทุนต่าง ๆ อย่างมาก หลังจากที่ได้ละทิ้งงานการศึกษาครั้งนี้เป็นเวลาหลายปี จนในที่สุดการศึกษาครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงสมดังตั้งใจ

พัสวี อรุณพัฒนชัย

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-จินเจอรอล ในขิงสดและขิงแห้ง โดยวิธีการเอชพีทีแอลซี

ชื่อผู้เขียน พัสวี อรุณพัฒนชัย

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุเมธ คันชิง

บทคัดย่อ

ขิง (Zingiber officinale Roscoe) เป็นพืชที่สำคัญที่ใช้ในครัวเรือน มีกลิ่นฉุนรสเผ็ดและมีสรรพคุณหลากหลาย เช่น รักษาระบบย่อยอาหารผิดปกติ อาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย และผลการศึกษาในครั้งนี้จึงได้ตรวจหาสาร 6-gingerol ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) หลักที่พบมากที่สุดในขิงโดยวิธีการ High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) จากการศึกษาการเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-gingerol นั้น พบว่าขิงทั้ง 2 ชนิด คือขิงสดและขิงแห้งที่สุ่มตัวอย่างจากคลินิกแพทย์แผนจีนที่ได้รับรองมาตรฐานจากกระทรวงสาธารณสุขในจังหวัดกรุงเทพมหานคร ทั้ง 2 แห่ง พบว่าเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของขิงสดมีค่า 6-gingerol มากกว่าขิงแห้ง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.43 และ 1.15 ตามลำดับและจากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Independent Sample t-test พบว่าความแตกต่างของระดับ 6-gingerol ในขิงสดและขิงแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.016$)

คำสำคัญ: ขิงสด, ขิงแห้ง, 6-จินเจอรอล

Independent Study Title	The Comparison of 6-Gingerol in Fresh and Dried Ginger by HPTLC Method
Author	Phassawee Arunphatthanachai
Degree	Master of Science (Anti-Aging and Regenerative Science)
Advisor	Sumate Kunching, Ph. D.

ABSTRACT

Ginger (Zingiber officinale Roscoe) is an important household crop. It has a pungent, spicy smell and has a variety of properties, such as treating digestive disorders, nausea, vomiting, diarrhea, and the results of this study were to determine 6-Gingerol, the most common phenolic compound in ginger by High Performance, Thin Layer Chromatography (HPTLC) method. In a comparative study of the amount of 6-Gingerol, it was found that the two types of ginger, fresh ginger, and dried ginger, were randomly sampled from both traditional Chinese medicine clinics certified by Ministry of Public Health in Bangkok. It was found that the average value in fresh ginger was 6-gingerol higher than dried ginger was 1.43 and 1.15 respectively. Data analysis with Independent Sample t-test found that the difference in 6-Gingerol levels in fresh and dried ginger was statistically significant (p=0.016).

Keywords: Fresh Ginger, Dried Ginger, HPTLC, 6-Gingerol

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ **(3)**

บทคัดย่อภาษาไทย **(4)**

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ **(5)**

สารบัญตาราง **(8)**

สารบัญภาพ **(9)**

บทที่

1 บทนำ **1**

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการศึกษา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา 2

1.3 สมมติฐานของการศึกษา 2

1.4 ขอบเขตของการศึกษา 2

1.5 กรอบแนวความคิด 3

1.6 นิยามคำศัพท์เฉพาะ 4

2 ทบทวนวรรณกรรม **5**

2.1 ขิง (Ginger) 5

2.2 สาร 6-gingerol 7

2.3 วิธี HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography) 7

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 9

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
3	**ระเบียบวิธีวิจัย**	**18**
	3.1 รูปแบบของวิจัย	18
	3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	18
	3.3 ขนาดกลุ่มตัวอย่าง	19
	3.4 เครื่องมืออุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ในการศึกษา	19
	3.5 วิธีการที่ใช้ในการวัดปริมาณสาร 6-gingerol	20
	3.6 ขั้นตอนการศึกษา	21
	3.7 การเก็บรวบรวมข้อมูล	23
	3.8 สถิติที่ใช้ในงานวิจัย	23
4	**ผลการศึกษา**	**24**
	4.1 ผลการตรวจหาสาร 6-gingerol ด้วย TLC เบื้องต้น โดยแผ่น TLC เทียบกับสารมาตรฐาน	24
	4.2 ผลการตรวจหาปริมาณสาร 6-gingerol ในสารตัวอย่างขิงสกัด	26
5	**สรุปผลการศึกษา อภิปราย และข้อเสนอแนะ**	**31**
	5.1 สรุปผลการศึกษา	31
	5.2 อภิปรายผลการศึกษา	31
	5.3 ข้อเสนอแนะ	33
	5.4 ข้อจำกัด	33
รายการอ้างอิง		**34**

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

4.1 ค่า Rf และปริมาณสาร 6-gingerol ของตัวอย่างสารสกัดขิงสด 26

4.2 ค่า Rf และปริมาณสาร 6-gingerol ของตัวอย่างสารสกัดขิงแห้ง 28

4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลสาร 6-gingerol (µg) ในตัวอย่างสารสกัดขิงสดและขิงแห้งเชิงพรรณนา 30

4.4 ผลการทดสอบความแตกต่างในระดับของ 6-Gingerol ด้วย Independent Sample t-test 30

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

1.1 กรอบแนวความคิด 3

2.1 โครงสร้างสาร 6-gingerol (5-hydroxy-1-(4′ hydroxy-3′- methoxyphenyl)-3-decanone) 7

2.2 ผลกระทบของขิงทั้ง 3 ชนิดต่อ TXB_2 และ PGI_2 11

2.3 สรุปค่าความเข้มข้นของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในแต่ละกลุ่ม 12

2.4 กราฟแสดงการเปรียบเทียบของสาร zingerone 6-gingerol 8-gingerol 10-gingerol และ 6-shogaol ในขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัด และขิงถ่าน โดยตัวอย่างขิงมีการแทนค่าดังนี้ ขิงสด (F) ขิงแห้ง (D) ขิงผัด (S) ขิงถ่าน (C) 13

2.5 กราฟแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัด และขิงถ่าน 14

2.6 การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขิงสดและขิงแห้ง 15

2.7 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของสาร 6-gingerol ระหว่างกระบวนการทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 55 ± 2 องศาเซลเซียส 15

2.8 กราฟแสดงการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ HepG2 ที่รักษาด้วยสารสกัดขิงจากวิธีการสกัดแบบ Maceration (G1) Soxlet (G3) และ Sonication (G5) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบ 2D ช่วงระยะความเข้มข้นอยู่ที่ 2000 1000 500 250 125 และ 60 µg/ml 16

2.9 กราฟแสดงการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ HepG2 ที่รักษาด้วยสารสกัดขิงจากวิธีการสกัดแบบ Maceration (G1) Soxlet (G3) และ Sonication (G5) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบ 3D ช่วงระยะความเข้มข้นอยู่ที่ 2000 1000 500 250 125 และ 60 µg/ml 17

3.1 ขั้นตอนการศึกษา 21

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ **หน้า**

4.1 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงสด เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน 6-gingerol โดยแสดงผ่าน UV 254 nm 366 nm และรูปสเปรย์ด้วยน้ำยา anisaldehyde 24

4.2 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงแห้ง เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน 6-gingerol โดยแสดงผ่าน UV 254 nm 366 nm และรูปสเปรย์ด้วยน้ำยา anisaldehyde 25

4.3 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงสด แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงสด (F1-F5) 27

4.4 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงสด แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงสด (F6-F10) 27

4.5 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงแห้ง แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงแห้ง (S1-S5) 29

4.6 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงแห้ง แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงแห้ง (S6-S7) 29

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการศึกษา

ขิง (Zingiber officinale Roscoe) เป็นที่รู้จักทั่วไปว่าเป็นพืชที่สำคัญในครัวเรือน ซึ่งมีกลิ่นฉุนและรสเผ็ด อีกทั้งยังดีต่อสุขภาพ ในสมัยโบราณได้มีการนำขิงมาใช้ในการรักษาโรคอย่างหลากหลายเช่น อาการข้ออักเสบ รูมาตอยด์ ปวดกล้ามเนื้อ ไอเจ็บคอ ความดันโลหิตสูง มีไข้ โรคติดเชื้อ โรคทางระบบประสาท โรคเหงือกอักเสบ ปวดฟัน หอบหืด เบาหวาน และขิงยังเป็นยาสามัญประจำบ้านในการรักษาโรคกระเพาะต่าง ๆ เช่น อาหารไม่ย่อย ท้องอืด ท้องเฟ้อ คลื่นไส้ อาเจียน (Haniadka et al., 2013) โดยมีงานวิจัยทดลองให้หนูถีบจักรทานเหง้าขิงด้วยอะซิโตน 75 mg/kg สาร 6-shagoal 2.5 mg/kg สาร 6-8 หรือ 10-gingerol 5 mg/kg ผลการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มการเคลื่อนไหวของกระเพาะลำไส้ได้ และมีฤทธิ์เทียบเท่าหรือน้อยกว่า metoclopramide 10 mg/kg และ domperidone เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Yamahara et al., 1990)

6-gingerol เป็นส่วนประกอบหลักทางเคมีในขิง ซึ่งเป็นสารฟีนอลิกในกลุ่ม gingerol ที่ให้กลิ่นฉุน ประโยชน์ของสารนี้มีหลากหลายมาก เช่น มีฤทธิ์ในการต่อต้านมะเร็ง ต่อต้านอนุมูลอิสระ และต่อต้านการอักเสบ 6-gingerol เคยถูกค้นพบว่าสามารถควบคุมการต่อต้านมะเร็ง ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการ apoptosis, cell cycle regulation, cytotoxic activity และยังยับยั้งกระบวนการของ angiogenesis เนื่องจากสารนี้มีประโยชน์หลากหลายตลอดจนปลอดภัยต่อมนุษย์ ดังนั้นสาร 6-gingerol จึงถูกได้รับความสนใจพิจารณาให้เป็นตัวแทนในการรักษาที่มีประสิทธิภาพ เพื่อป้องกันหรือรักษาโรคได้หลากหลาย (Wang et al., 2014) และมีรายงานว่าสาร 6-gingerol สามารถป้องกันโรคตับได้โดยการลด oxidative stress และ proinflammatory mediators ได้ (Alsahli et al., 2021)

ทางการแพทย์แผนจีนขิงสดและขิงแห้งมีฤทธิ์และสรรพคุณที่แตกต่างกัน คือขิงสดมีรสเผ็ด ฤทธิ์อุ่น สรรพคุณช่วยผ่อนคลายผิวหนัง ขับเหงื่อ ให้ความอบอุ่นแก่ส่วนกลางของร่างกาย (กระเพาะอาหาร) แก้คลื่นไส้อาเจียน ให้ความอุ่นแก่ปอด ระงับไอ และขิงแก่มีรสเผ็ด ฤทธิ์ร้อน สรรพคุณช่วย

เสริมความอบอุ่น ขับความเย็น ฟื้นฟูหยางชี่ของม้ามและกระเพาะอาหาร สมานระบบกระเพาะอาหารทำให้ชี่ลงต่ำระงับอาการคลื่นไส้อาเจียน (Fang et al., 2017)

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาเรื่องการเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-gingerol ในขิงสดและขิงแห้งโดยวิธี HPTLC อีกทั้งยังไม่พบการศึกษาในลักษณะนี้มาก่อน จึงคาดว่าน่าจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อแพทย์แผนจีนและผู้บริโภคในการเลือกรับประทานขิงสดหรือขิงแห้งเพื่อประโยชน์ทางสุขภาพ และจะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาในอนาคตต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาการเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-gingerol ในขิงชนิดสดและขิงชนิดแห้ง โดยวิธี High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

ขิงชนิดสดมีปริมาณสาร 6-gingerol มากกว่าขิงชนิดแห้ง เมื่อวัดโดยวิธี High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

ผู้ทำการศึกษาเลือกทำการวัดและเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-gingerol โดยวิธี HPTLC ในหลอดทดลอง (in vitro) ของขิงชนิดแห้งและขิงชนิดสด จากการสุ่มคลินิกแพทย์แผนจีนที่ได้รับรองมาตรฐานจากกระทรวงสาธารณสุข 2 แห่งในจังหวัดกรุงเทพมหานคร

1.5 กรอบแนวความคิด

ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิด

1.5.1 ตัวแปรต้น

ได้แก่ ขิงชนิดแห้งและขิงชนิดสด

1.5.2 ตัวแปรตาม

ได้แก่ ปริมาณสาร 6-gingerol ของขิงสดและขิงแห้ง โดยรายงานผลเป็นค่ามิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง (mg/g dried weight) จากการวัดด้วยวิธี HPTLC

1.6 นิยามคำศัพท์เฉพาะ

1.6.1 ขิงสด (Fresh Ginger)

คือ เหง้าสดของพืชที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* (Willd.) Rosc. วงศ์ Zingiberaceae พันธุ์ขิงแดง (งานวิจัยนี้ใช้ขิงสดปริมาณ 50 กรัม)

1.6.2 ขิงแห้ง (Dried Ginger)

คือ เหง้าแห้งของพืชที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* (Willd.) Rosc. วงศ์ Zingiberaceae พันธุ์ขิงแดง (งานวิจัยนี้ใช้ขิงแห้งปริมาณ 50 กรัม)

1.6.3 สาร Gingerol

คือ สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) ที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant) พบมากในขิง

1.6.4 สาร 6-gingerol

คือ สารประกอบในกลุ่ม gingerol ซึ่งเป็นสารสำคัญที่มีปริมาณมากที่สุดในขิงให้กลิ่นฉุนและมีรสเผ็ด

1.6.5 วิธีการ High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)

คือ วิธีการแยกสารบนแผ่นที่เคลือบด้วยสารดูดซับ เป็นเทคนิคที่สามารถแยกสารได้ดีกว่าวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ทั่วไป เนื่องจากเป็นวิธีทดสอบเชิงปริมาณที่สามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิดในเวลาเดียวกัน

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ขิง (Ginger)

ขิง (Zingiber officinale Roscoe) ในสมัยก่อนใช้สำหรับการรักษาอาการคลื่นไส้ อาเจียน ระบบย่อยอาหารผิดปกติ และท้องเสีย จนปัจจุบันมีการรักษาที่หลากหลายมากขึ้น เช่น โรคหอบหืด อาการไอ ความดันโลหิตสูง และโรครูมาตอยด์ ซึ่งขิงได้ผ่านการรับรอง “generally recognized as safe” (GRAS) โดยองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (FDA) ว่าสามารถใช้เติมลงไปในอาหารได้อย่างปลอดภัย ซึ่งหลักฐานทางคลินิกได้แสดงให้เห็นว่าขิงมีประสิทธิภาพ ราคาไม่แพง และปลอดภัยในการรักษาสำหรับอาการคลื่นไส้ อาเจียน ในหญิงตั้งครรภ์และช่วยลดอาการคลื่นไส้อาเจียนที่เกิดจากเคมีบำบัดได้ (Sang et al., 2020; Lete & Allué, 2016) และสถานที่ปลูกขิงก็เป็นสิ่งสำคัญต่อคุณสมบัติภายในและความเหมาะสมสำหรับการตรวจสอบคุณภาพของขิง เช่น ปริมาณเส้นใย ปริมาณน้ำมันภายในขิง และขนาดขิงก็เป็นสิ่งสำคัญ เมื่อแปรรูปขิงให้กลายเป็นขิงแห้ง บางพื้นที่ถึงแม้มีขนาดขิงที่ใหญ่ แต่ก็ไม่เหมาะต่อการนำมาแปรรูป และปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่ำกว่ามาตรฐาน เนื่องจากมีความชื้นที่สูงเกินไป (Jayashree et al., 2014)

2.1.1 ขิงสด (Fresh Ginger)

ในงานวิจัยของขิงสดได้พบว่า รสเผ็ดที่ได้จากขิงสดมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย เช่น ต่อต้านอนุมูลอิสระ ลดระดับไขมันและน้ำตาลในเลือด ต้านจุลชีพ ต้านการอักเสบ ลดอาการอาเจียน และต่อต้านมะเร็ง และเมื่อไม่นานมานี้เริ่มมีการศึกษาถึงสารประกอบที่แยกได้ออกจากขิงสด เช่น สารอนุพันธ์ ferulic acid gingerol shogaol และ zingerone ซึ่งมีงานวิจัยที่เปรียบเทียบสารประกอบออกเป็น 3 ชนิด คือ อนุพันธ์ ferulic acid diarylheptanoid และ diarylheptanoidic epoxide ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวได้ประเมินถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) การออกฤทธิ์ปกป้องเซลล์ (cytoprotective) ของสารประกอบฟีนอลในขิงสดบริสุทธิ์ทั้งสามชนิด พบว่า ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมีประสิทธิภาพต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxin) ซึ่งมีความเข้มข้นไมโครโมลาร์ที่ต่ำ และความสามารถต่อ xanthine oxidase

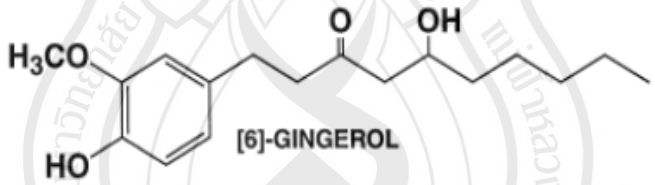
monoamine oxidase-A และ α-glucosidase อยู่ในระดับปานกลาง การวิเคราะห์ QSAR ได้เผยศักยภาพต่อความเป็นพิษของเซลล์อาจจะถูกทำนายโดยโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบ lipophilicity และปฏิกิริยาตอบสนอง (Peng et al., 2012)

2.1.2 ขิงแห้ง (Dried Ginger)

สถานที่ปลูกขิงเป็นสิ่งสำคัญต่อคุณสมบัติภายในและความเหมาะสมสำหรับการตรวจสอบคุณภาพของขิง เช่น ปริมาณเส้นใย ปริมาณน้ำมันภายในขิง และขนาดขิงก็เป็นสิ่งสำคัญ เมื่อแปรรูปขิงให้กลายเป็นขิงแห้ง บางพื้นที่ถึงแม้มีขนาดขิงที่ใหญ่ แต่ก็ไม่เหมาะต่อการนำมาแปรรูป และปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่ำกว่ามาตรฐาน เนื่องจากมีความชื้นที่สูงเกินไป ในสมัยโบราณขิงถูกทำให้แห้งโดยวิธีการตากแดดแต่ขิงมีลักษณะแห้งแตกและมีสีน้ำตาลเข้มไม่สม่ำเสมอ ปัจจุบันจึงมีวิธีการทำให้แห้งหลายรูปแบบเพื่อลดปัญหาดังกล่าว เช่น เครื่องอบแห้ง การใช้ถาดตู้ ซึ่งแต่ละวิธีก็จะทำให้คุณภาพของขิงแห้งแตกต่างกันออกไปเช่นกัน โดยมีงานวิจัยทดลองนำขิงมาหั่นให้มีขนาดแตกต่างกัน คือ 10 15 20 30 40 50 มิลลิเมตร และจากความชุ่มชื้นเบื้องต้น 81.3 % จนกลายเป็นความชุ่มชื้นสุดท้ายที่ต่ำกว่า 10 % ด้วยวิธีการแตกต่างกัน เช่น การตากแดด การใช้อุโมงค์แสงอาทิตย์ (solar tunnel) และการใช้ถาดตู้ (cabinet tray) ในอุณหภูมิที่ 50 55 60 และ 65 องศาเซลเซียส ซึ่งการหั่นขิงขนาดต่าง ๆ ก็ส่งผลต่อการใช้เวลาทำให้แห้งอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีการสังเกตว่าวิธีการทำให้ขิงแห้งโดยแสงแดดใช้เวลาสูงสุด (9 วัน) ตามมาด้วยการใช้อุโมงค์แสงอาทิตย์ (8 วัน) น้ำมันหอมระเหยและ oleoresin ในขิงแห้งก็พบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหย เช่น zingiberene limonene linalool geraniol และ nerolidol โดยใช้ gas chromatography ในการตรวจสอบพบว่ามีปริมาณลดลงซึ่งสัมพันธ์กับการหั่นและอุณหภูมิที่เพิ่มมากขึ้น ส่วนประกอบ oleoresin ในขิง เช่น gingerol และ shogaol โดยการใช้วิธี reverse phase high performance liquid chromatography ในการตรวจสอบพบว่ามีแนวโน้มที่ลดลงต่อการหั่นและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในการทำให้แห้ง และสังเกตได้ว่าขิงที่ถูกทำให้แห้งโดยแสงแดดหรืออุโมงค์แสงอาทิตย์ สามารถรักษาน้ำมันหอมระเหยได้สูงสุด (13.9 mg/g) และองค์ประกอบ oleoresin (45.2 mg/g) ของขิงแห้ง ในกระบวนการทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวจะมีการสูญเสียน้ำมันหอมระเหยประมาณ 12.2 % ที่อุณหภูมิดังกล่าว (Jayashree et al., 2014)

2.2 สาร 6-gingerol

สาร gingerol เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) หลักที่มีในขิงและสาร 6-gingerol (โครงสร้างตามภาพที่ 2.1) มีปริมาณมากที่สุดในขิงแต่จะลดลงตามการจัดเก็บและการแปรรูปหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งสาร 6-gingerol ได้มีการศึกษาที่น่าสนใจทางเภสัชวิทยา เช่น ฤทธิ์ในการลดไข้ ผลกระทบต่อการเกิดภาวะโรคหัวใจ การยับยั้งการเคลื่อนไหวที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous motor) และขบวนการชีวสังเคราะห์สาร prostaglandin ซึ่งมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงผลกระทบต่อฤทธิ์แก้ปวดและฤทธิ์ต้านการอักเสบของสาร 6-gingerol ในหนูถีบจักร ด้วยวิธี writhing test และ formalin test โดยการให้สาร 6-gingerol ทางช่องท้องปริมาณ 25-50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทำให้เกิดการตอบสนองต่อการยับยั้งกรด acetic และลดจำนวนครั้งการเกิด writhing test อีกทั้งสามารถลดเวลาที่หนูยกเท้าข้างที่ถูกฉีดฟอร์มาลีนขึ้นเลียลงได้ในช่วง late phase และสาร 6-gingerol ปริมาณ 50 -100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถใช้ในการยับยั้งอาการเท้าบวมที่เกิดจาก carrageenin (CARR) (Young et al., 2005)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างสาร 6-gingerol (5-hydroxy-1-(4′ hydroxy-3′- methoxyphenyl)-3-decanone)

2.3 วิธี HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography)

โครมาโตกราฟฟี (Chromatography) เป็นวิธีการวิเคราะห์ทางกายภาพที่เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) จะเคลื่อนผ่านเฟสที่ติดตั้ง (stationary phase) และเกิดการรวมตัวกันของสารประกอบ ซึ่งสามารถแยกส่วนประกอบภายในได้ โครมาโตกราฟฟียังได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในการใช้งานทางด้านเภสัชกรรม เทคโนโลยีชีวภาพ การวิเคราะห์พืช การวิเคราะห์ทางชีวภาพ สารพิษวิทยา เป็นต้น โดย thin-layer chromatography (TLC) เป็นหน่วยย่อยของ liquid chromatography และดำเนินการบนพื้นผิวที่มีลักษณะเรียบแบน ซึ่งใน TLC เฟสเคลื่อนที่ (mobile

phase) จะเคลื่อนที่ผ่านเฟสติดตั้ง (stationary phase) โดยผ่านไปตัวดูดซับที่มีรูขนาดเล็กบริเวณพื้นผิว High-performance thin-layer chromatography (HPTLC) เป็นวิธีการวิเคราะห์ตรวจสอบหาสารประกอบต่าง ๆ ซึ่งจะเป็นรูปแบบนี้จะมีประสิทธิภาพดีกว่า TLC ทั่วไป ความแตกต่างระหว่าง HPTLC และ TLC คืออนุภาคและขนาดรูของตัวดูดซับ ซึ่ง HPTLC จะมีรูที่เล็กกว่า การเคลื่อนที่ของอนุภาคในลักษณะที่แคบกว่า ชั้นของตัวดูดซับบางกว่า ระยะทางในการเคลื่อนที่สั้นกว่าขั้นตอนกระบวนการต่าง ๆ มีความยืดหยุ่น หลากหลายและประหยัดกว่า โดย HPTLC จะรายงานผลเป็นค่ามิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg/g dried weight) (Ullah & Mohammad, 2020)

High Performance Thin Layer Chromatography เป็นหนึ่งในเทคนิคที่มีความซับซ้อนและมีประสิทธิภาพสูงกว่า TLC (Thin Layer Chromatography) ทั่วไป ซึ่งข้อดีคือ มีความเรียบง่าย ค่าใช้จ่ายน้อย ผลลัพธ์ที่ได้รวดเร็ว มีความแม่นยำ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในหลายด้าน เช่น ด้านอุตสาหกรรมเภสัชกรรมใช้ในการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ ประสิทธิภาพของยาหลายชนิดและรูปแบบปริมาณยา โดยมีงานวิจัยได้พัฒนาวิธีการ HPTLC สำหรับการตรวจสอบ ofloxacin และ ornidazole ในยารูปแบบแข็ง ซึ่งปริมาณของ ofloxacin และ ornidazole ประเมินค่าเป็นร้อยละของฉลากที่อ้างอิงเป็น 100.23 และ 99.61% โดยค่าเฉลี่ยเดิมคือ 100.47 และ 99.32% ตามลำดับ วิธีการนี้จึงถูกนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อเตรียมส่วนผสมของยา และมีการประยุกต์ใช้วิธี HPTLC ในผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติ ซึ่งใช้ในการประเมินและตรวจสอบสารประกอบของพืชในกระบวนการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การสกัด สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของ diterpenoid ในรากของ *Photinia integrifolia* โดยมีการพัฒนาเพื่อประเมินสาร isoorientin isovitexin orientin และ vitexin จากไม้ไผ่ ซึ่งสามารถใช้ในการผลิตตรวจสอบคุณภาพเชิงพาณิชย์ได้ โดยสรุปคือวิธี HPTLC สามารถประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี ทางชีวเวชศาสตร์ การวัดปริมาณยาสมุนไพร ซึ่งนำไปสู่การวิเคราะห์สูตรยา ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติได้อย่างหลากหลาย (Attimarad et al., 2011)

การใช้วิธี HPTLC ในการวิเคราะห์สารประกอบมีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ คือ วิธีการคัดแยกสารประกอบง่ายต่อการติดตามผลโดยเฉพาะอย่างยิ่งสีของสารประกอบ สามารถแยกสารประกอบตัวอย่างได้หลายตัวโดยขนานกันในแผ่นเดียวกันซึ่งจะทำให้ใช้เวลาสั้นและราคาถูกกว่า สามารถดำเนินการแยกชิ้นส่วนสองมิติ (Two-dimensional separations) มีการตรวจจับสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่มีความจำเพาะเจาะจงได้ สามารถใช้การประมวลผลซึ่งสามารถระบุสารประกอบที่มีความแตกต่างกันของลักษณะแสงหรือสีที่แตกต่างกัน แผ่น TLC ออกแบบมาเพื่อใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง จึงทำให้ไม่ต้องมีการทำความสะอาดใหม่หรือทำความสะอาดเฉพาะสิ่งที่จำเป็นเท่านั้น การพัฒนาโครมาโตกราฟฟีและการวิเคราะห์แยกสารประกอบบนเพลตเป็นขั้นตอนที่ต้องใช้ระยะเวลาดังนั้น

หลังจากแยกเพลตออกมาแล้วสามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานานและดำเนินการตรวจวิเคราะห์ข้อมูลในขั้นตอนต่อมาได้ (Shewiyo et al., 2012)

มีงานวิจัยที่ได้ศึกษาหาปริมาณสาร 6-gingerol ของสารสกัดขิงในอาหารเสริม ชาและครีมเชิงพาณิชย์โดยวิธีการ high-performance thin layer chromatography (HPTLC) บนแผ่นซิลิกาเจล 60 F254 n-hexane : ethyl เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ในอัตราส่วน 40:60 (%,v/v) ค่า Rf เท่ากับ 0.33 ± 0.04 กราฟมาตรฐานเส้นตรงอยู่ระหว่าง 50-1000 ng/spot ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.995 ซึ่งเป็นพื้นที่สูงสุดของความเข้มข้น และงานวิจัยนี้ก็ได้แสดงให้เห็นว่าวิธีการ HPTLC เหมาะสมในการวัดหาปริมาณสาร 6-gingerol ของขิงในห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพอุตสาหกรรมยาสมุนไพรได้ เนื่องจากราคาถูก เหมาะสม และมีความถูกต้องแม่นยำ (Alqasoumi, 2009)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4.1 การศึกษาที่เกี่ยวกับสาร 6-gingerol ในขิง

ซึ่งพบว่าสาร 6-gingerol ในขิงสามารถช่วยป้องกันและลดอัตราการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น

2.4.1.1 ต่อต้านการเพิ่มจำนวน การเกิดเนื้องอก ภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุล (oxidative stress) และกระบวนการอักเสบที่เกี่ยวข้องกับมะเร็ง (de Lima et al., 2018)

2.4.1.2 ต่อต้านกระบวนการอักเสบและอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดโรคทางระบบประสาทต่าง ๆ เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และการเสื่อมของระบบประสาท (neurodegeneration) โดยจะไปยับยั้งการกระตุ้นที่มากเกินไปของเซลล์ astrocyte ซึ่งมีส่วนช่วยในเรื่องความสามารถในการจดจำให้ดีขึ้น (Zhang et al., 2018)

2.4.1.3 ลดอัตราการเสื่อมสภาพของกระดูกอ่อนที่เป็นปัจจัยก่อให้เกิดโรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis) (Abusarah et al., 2017)

2.4.1.4 ยับยั้งการเจริญเติบโตของ mycobacterial ภายในปอด ม้าม และไตของหนูทดลองที่เป็นโรค Mycobacterium tuberculosis (Mtb) ซึ่งพบว่าสาร 6-gingerol สามารถใช้เป็นตัวช่วยเสริมการทำงานของยาต้านเชื้อ mycobacterium และเสริมภูมิคุ้มกันต่อการรักษาวัณโรค (tuberculosis) (Bhaskar et al., 2020)

2.4.2 มีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างขิงสดและขิงแห้ง

2.4.2.1 ในประเทศจีน ขิง (Zingiberofficinale Rosc.) และผลิตภัณฑ์แปรรูปของขิง เช่น ขิงแห้ง และขิงผัด มักถูกนำไปใช้เป็นยาแผนโบราณของจีน ซึ่งมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงการ

เปรียบเทียบของขิงสด ขิงแห้ง และขิงผัด ต่อโรคการไหลเวียนเลือด (blood stasis) ในหนูทดลองด้วยวิธี GC-TOF/MS metabolomics โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มควบคุม กลุ่มโมเดล กลุ่มแคปซูลที่มีส่วนประกอบของตันเซิน (Compound DanShen Dripping pills group) 0.8 g/kg ขิงสด ขิงแห้งและขิงผัด โดยนำมาวิเคราะห์การไหลเวียนและการแข็งตัวของเลือด มีการวิเคราะห์ทั้งหมด 27 เมตาบอไลต์ (16 ในเลือด และ 11 ในปัสสาวะ) โดยเมตาบอไลต์ถูกควบคุมให้อยู่ในระดับปกติโดยขิงสด ขิงแห้ง และขิงผัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลลัพธ์ของงานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าสามารถนำศึกษาความหลากหลายของสารเคมีภายในเซลล์ (metabolomics) นี้มาแนะนำในการศึกษาทางเภสัชวิทยาและกลไกของยาสมุนไพรได้ โดยพบว่า (Han et al., 2016)

1. ด้านโลหิตวิทยา (hemorheological) มีผลกระทบต่อ Whole body vibration (WBV) ของอัตราเฉือน (shear rates) และ plasma viscosity (PV) โดย WBV เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของทุกอัตราเฉือนในการไหลเวียนเลือด (blood stasis) ($p<0.01$) ขณะที่ขิงทั้งสามชนิดและกลุ่มแคปซูลที่มีส่วนประกอบของตันเซินลด hemorheological values ได้ โดยกลุ่มขิงสดพบว่าสามารถลดอัตราเฉือนสูงและต่ำของการไหลเวียนเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ กลุ่มขิงแห้งลดลงเพียง 1/S ของอัตราเฉือนต่ำและกลางเท่านั้น กลุ่มขิงผัดต่อ WBV ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ สำหรับ PV ในกลุ่มโมเดลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มโมเดล (Han et al., 2016)

2. ด้าน erythrocyte sedimentation rate blood (ESR) และ packed cell volume (PCV) พบว่า ESR ในกลุ่มโมเดลมีนัยสำคัญสูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่มแคปซูลที่มีส่วนประกอบของตันเซินและขิงแห้งลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโมเดล ในกลุ่มโมเดลมีค่า PCV สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ มีเพียงกลุ่มแคปซูลที่มีส่วนประกอบของตันเซินที่ทำให้ PCV ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ(Han et al., 2016)

3. ระดับ TXB_2 และ PGI_2 ในการไหลเวียนเลือดในหนูของขิงสด ขิงแห้ง และขิงผัด (ภาพที่ 2.2) พบว่าระดับ TXB_2 เพิ่มขึ้น ($p<0.01$) ขณะที่ 6-keto-PGF1 ลดลงในการไหลเวียนเลือดของกลุ่มโมเดลเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งก่อนการรักษาด้วยกลุ่มแคปซูลที่มีส่วนประกอบของตันเซิน (DSD) และสารสกัดขิงจะมีระดับ TXB_2 ลดลง ขณะที่ 6-keto-PGF1 เพิ่มขึ้นในเลือด มีเพียงกลุ่มแคปซูลที่มีส่วนประกอบของตันเซินและกลุ่มขิงสดที่มีค่า TXB_2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ blood stasis ในกลุ่มโมเดล ($p<0.05$) (Han et al., 2016)

Effects of three kinds of ginger extracts on TXB_2 and PGI_2.

Group	TXB_2 (pg/mL)	PGI_2 (pg/mL)
Control	477.20±267.08	128.69±20.12
Model	787.55±195.49#	55.71±16.36##
DSD	544.07±88.94*	93.37±23.40**
FG	564.50±168.30*	96.57±16.02**
DG	582.27±189.13	63.96±23.50
SG	620.06±226.73	73.96±14.55*

Data represent mean ± S.D. $n = 6$.
Compared with control group, $p< 0.05$.
Compared with control group, $p< 0.01$.
* Compared with model group, $p< 0.05$.
** Compared with model group, $p < 0.01$.

ภาพที่ 2.2 ผลกระทบของขิงทั้ง 3 ชนิดต่อ TXB_2 และ PGI_2

4. มีการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของระบบเผาผลาญโดยขิงสด ขิงแห้ง และขิงผัด ที่ใช้ปริมาณที่เท่ากัน และนำมาเปรียบเทียบระดับเมตาบอไลต์ภายในเลือดและปัสสาวะ (ภาพที่ 2.3) ทั้งหมด 18 ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ในเลือดและปัสสาวะที่ถูกควบคุมในระดับปกติโดยขิงสด พบว่า ขิงสดสามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของระบบเผาผลาญต่าง ๆ ในการไหลเวียนเลือด ได้อย่างชัดเจน และ 9 biomarkers คือ 3-Hydroxypropionic acid N-Methylhydantoin, L-Homoserine, L-Glutamine, 2-deoxy-D-glucose, Succinate, L-Allothreonine, D-Threitol และ beta-Glutamic acid สามารถควบคุมให้อยู่ในระดับปกติได้โดยขิงแห้ง เมตาบอไลต์บางอย่างเช่น L-Glutamine 2-deoxy-D-glucose Succinate L-Allothreonine และ D-Threitol สามารถควบคุมให้อยู่ในระดับปกติโดยขิงผัด ($p < 0.05$ และ $p < 0.01$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโมเดล) สรุปได้ว่าเมื่อหนูทดลองได้ทานขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัด มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้น โดยขิงสดจะมีประสิทธิภาพต่อการไหลเวียนเลือดมากที่สุด ต่อมาคือขิงแห้งและขิงผัดตามลำดับ (Han et al., 2016)

Matrix	Biomarkers	Peak intensity (mean ± SD, n=6)				
		NG($\times10^3$)	MG($\times10^3$)	FG($\times10^3$)	DG($\times10^3$)	SG($\times10^3$)
Serum	3-Hydroxypropionic acid	0.59±0.21	1.43±0.53##	0.87±0.23*	0.67±0.34*	1.27±0.58
	N-Methylhydantoin	0.29±0.15	0.78±0.13##	0.31±0.06**	0.54±0.19*	0.57±0.22
	2-Deoxytetronic acid	0.50±0.23	1.27±0.11##	0.60±0.17**	1.92±0.55*	1.61±0.41
	L-Homoserine	0.28±0.05	0.49±0.09##	0.33±0.12*	0.35±0.07*	0.38±0.16
	L-Glutamine	2.68±1.13	11.4±4.04##	3.68±0.69**	5.65±1.98*	2.03±1.03**
	Creatine	0.42±0.20	0.88±0.17##	0.77±0.27	1.04±0.54	0.74±0.28
	Glycerophosphoric acid	0.43±0.21	0.73±0.14#	0.31±0.15**	0.56±0.28	0.50±0.24
	Diglycerol	0.28±0.13	0.54±0.18#	0.26±0.12**	0.82±0.40	1.23±0.67*
	Glucose-1-phosphate	3.38±1.42	6.63±2.82#	3.49±1.44*	8.44±2.72	5.16±2.86
	2-deoxy-D-glucose	1.36±0.67	0.53±0.20#	2.21±1.07**	1.66±0.94*	1.16±0.59*
	Ornithine	57.8±17.7	93.5±22.3#	70.5±11.4*	64.3±26.7	88.9±24.1
	N-Acetyl-D-mannosamine	0.42±0.16	0.78±0.15##	0.62±0.28	0.69±0.19	0.64±0.23
	Ergosterol	0.28±0.12	0.57±0.09##	0.49±0.21	0.49±0.24	0.57±0.26
	Succinate	423±174	215±78.3#	365±138*	441±229*	636±255**
Urine	1-Aminocyclopropanecarboxylic acid	4.98±1.45	8.45±2.96#	7.14±3.64	7.91±2.00	11.68±5.76
	L-Allothreonine	3.69±1.38	0.92±0.09##	1.92±0.88*	4.66±2.10**	1.88±0.97*
	D-Threitol	45.3±26.0	19.8±9.41#	48.3±19.3**	79.5±35.6**	65.4±31.8**
	beta-Glutamic acid	41.3±16.7	14.1±6.33##	43.6±14.6**	66.2±28.7**	14.8±6.99
	Benzoylformic acid	4.43±1.79	9.32±3.26##	4.64±2.26	6.59±1.48	8.27±3.93
	Guanidinosuccinic acid	6.06±1.56	4.25±1.03##	6.02±2.38*	5.24±1.38	7.96±4.33
	D-Tagatose	26.0±12.1	15.0±6.25#	18.2±4.05	9.80±3.90	19.3±9.65
	Hippuric acid	7.08±3.20	67.3±29.1##	8.03±1.34**	63.8±32.7	145±58.7*
	D-Fructose	0.71±0.13	2.80±0.88##	1.70±0.59*	5.29±0.97**	4.06±1.75
	D-Glucoheptose	21.0±9.32	3.09±1.59##	11.6±4.20*	9.64±4.95**	9.39±4.80

Because some data were very small, all data were magnified 10^3 times.

Compared with control group, $p< 0.05$.

Compared with control group, $p< 0.01$.

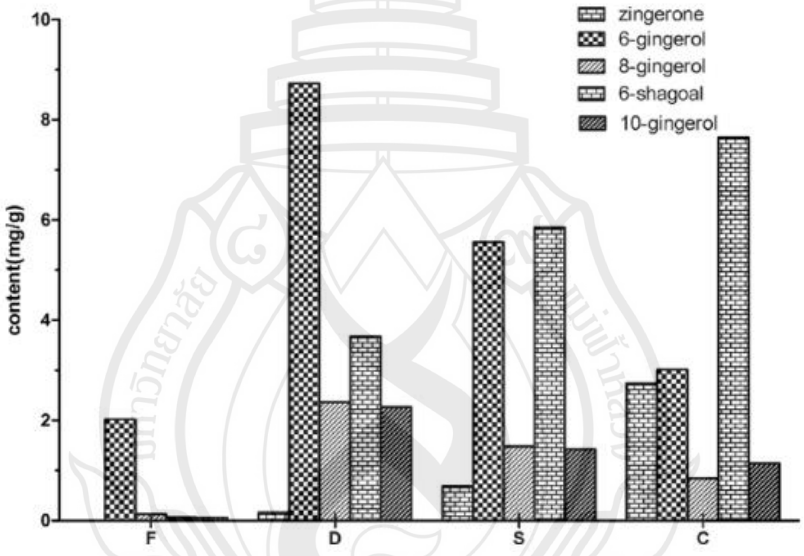
* Compared with model group, $p< 0.05$.

** Compared with model group, $p< 0.01$.

ภาพที่ 2.3 สรุปค่าความเข้มข้นของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในแต่ละกลุ่ม

2.4.2.2 ขิงเป็นยาแผนโบราณของประเทศจีนที่สำคัญด้วยวิธีการแปรรูปที่แตกต่างกันซึ่งส่งผลให้ส่วนประกอบทางเคมีและเภสัชวิทยาแตกต่างกันออกไปด้วย ซึ่งมีงานวิจัยที่ค้นหาองค์ประกอบในขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัด และขิงถ่าน โดยวิธี ultra performance liquid chromatography / quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC/QTOF-MS) มี 5 องค์ประกอบที่สำคัญ (zingerone 6-gingerol 8-gingerol 6-shagaol และ 10-gingerol) ในสารสกัดตัวอย่างขิงทั้ง 4 ชนิด วัดด้วยวิธี UPLC-PDA ผลลัพธ์คือสารประกอบที่สำคัญในขิงสดมีปริมาณต่ำที่สุด โดยส่วนใหญ่เป็นผลมาจากความชื้นในขิงสด ความแตกต่างของสารประกอบที่สำคัญของตัวอย่างขิงทั้ง 4 ชนิด คือเมื่อขิงแห้งผ่านกระบวนการอบ

หรือ ผ่านการผัดด้วยถ่าน สารประกอบ 6-gingerol 8-gingerol 10-gingerol จะมีปริมาณลดลง ขณะที่ shogaol และ zingerone เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน สรุปได้ว่าการผ่านกระบวนการความร้อนจะทำให้สาร gingerol เปลี่ยนเป็น shogaols (ภาพที่ 2.4) ขณะเดียวกันได้มีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัด และขิงถ่าน โดย 3 วิธี (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazolinesulfonic acid) diammonium salt (ABST) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP)) ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขิงแห้งมีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับปริมาณสารฟีนอลลิกสูงกว่าขิงสด ขิงผัด และขิงถ่าน 5.2-,1.1- และ 2.4- เท่าตามลำดับ ผลลัพธ์ของฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระบ่งชี้ถึงแนวโน้มที่คล้ายคลึงกันกับสารฟีนอลิก ดังนี้ ขิงแห้ง > ขิงผัด > ขิงสด > ขิงถ่าน (ภาพที่2.5) (Li et al., 2016)



ภาพที่ 2.4 กราฟแสดงการเปรียบเทียบของสาร zingerone 6-gingerol 8-gingerol 10-gingerol และ 6-shogaol ในขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัด และขิงถ่าน โดยตัวอย่างขิงมีการแทนค่าดังนี้ ขิงสด (F) ขิงแห้ง (D) ขิงผัด (S) ขิงถ่าน (C)

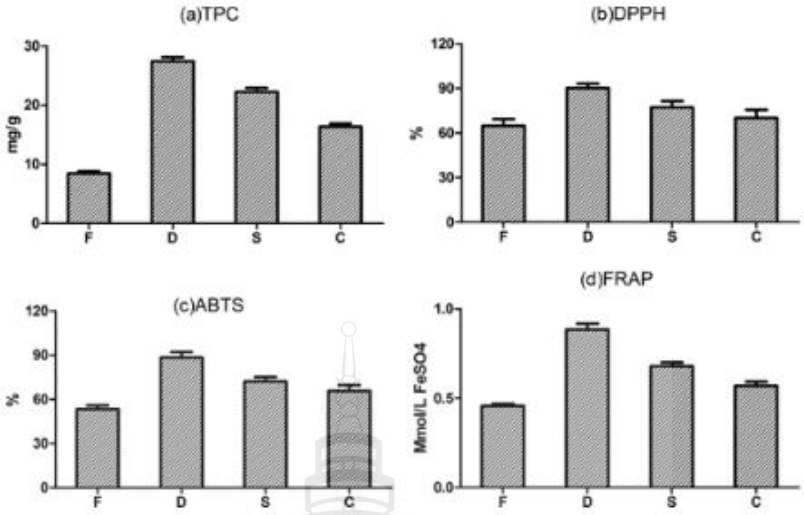


Fig. 7. (a) Total phenolic contents (TPC) and (b) DPPH, (c) ABTS, and (d) FRAP, Antioxidant activity of fresh ginger, dried ginger, stir-frying ginger and carbonized ginger. Values of each represent means ± SD (n = 5). Samples: F-fresh ginger; D-dried ginger; S-stir-frying ginger; C-carbonized ginger.

หมายเหตุ (a)Total phenolic contents (TPC) (b)DPPH (c)ABTS และ (d)FRAP โดยค่าเฉลี่ย$\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน (n=5) และตัวอย่างขิงมีการแทนค่าดังนี้ ขิงสด (F) ขิงแห้ง (D) ขิงผัด (S) ขิงถ่าน(C)

ภาพที่ 2.5 กราฟแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัด และขิงถ่าน

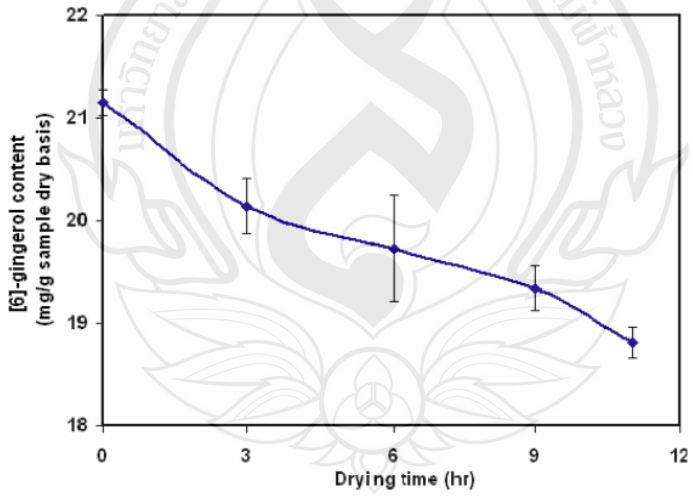
2.4.2.3 มีงานศึกษาวิจัยเปรียบเทียบองค์ประกอบทางชีวภาพและการออกฤทธิ์ระหว่างขิงสดและขิงแห้ง โดยการตรวจสอบปริมาณสาร 6-gingerol ในระหว่างกระบวนการทำให้แห้ง และใช้วิธีการสกัดแบบ supercritical carbon dioxide ที่ความดันมากกว่า 300 เท่าของชั้นบรรยากาศ และอุณหภูมิเหมาะสมประมาณ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย และการวิเคราะห์คุณสมบัติออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยพบว่าขิงสดที่มีค่าความชุ่มชื้นในปริมาณ 94.17 ± 0.16% และทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถังหมุน (rotary air dryer) ที่อุณหภูมิ 55 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 ชั่วโมง จนมีค่าความชุ่มชื้นเหลือ 11.54 ± 0.29% หลังจากผ่านกระบวนการทำให้แห้งแล้วค่า 6-gingerol ในขิงสดลดลงจาก 21.15 ± 0.13 เหลือ 18.81 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง และนำขิงแห้งไปบดให้มีลักษณะเป็นผงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ก่อนนำไปสกัดโดยวิธี supercritical carbondioxide มีการดำเนินการด้วยสองเงื่อนไขคือ 200 บาร์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ 230 บาร์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่าสารสกัดทั้งสองเงื่อนไขมีปริมาณสาร 6-gingerol อยู่ที่ 238.94 ± 0.79 และ 170.50 ± 0.45 mg/g extract ในส่วนปริมาณ total phenolic อยู่ที่ 183.96 ± 1.25 และ 126.04 ± 0.72 mg garlic acid/g extract ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการหาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาร

สกัดขิง โดยวิธีการ DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT แล้วหาค่า EC50 ค่าที่ได้คือ 13.09 ± 1.77 และ 26.68 ± 1.76 µg/ml ตามลำดับ และตรวจหาค่าความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS (2,2'-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) ค่าที่ได้คือ 813.33 ± 6.67 และ 724.44 ± 7.70 µmol Trolox/g extract ตามลำดับ (Puengphian & Sirichote, 2008)

Chemical and bioactive properties	Materials	
	Fresh ginger	Dried ginger
Moisture content (%)	94.17 ± 0.16^{a}	11.54 ± 0.29^{b}
[6]-gingerol content (mg/g dry weight basis)	21.15 ± 0.13^{a}	18.81 ± 0.15^{b}
Total phenolic content (mg gallic acid/g extract)	24.63 ± 0.43^{b}	59.80 ± 0.14^{a}
EC_{50} (µg/ml)[1]	64.60 ± 0.18^{a}	32.95 ± 1.32^{b}
ABTS assay (µmol Trolox/g extract)	169.06 ± 3.96^{b}	403.71 ± 7.24^{a}

[a,b] means ± standard deviation in the same row with different letters is significantly different ($P \leq 0.05$) [1] Efficient Concentration; The amount sample (µg) needed for 50% decreasing in the initial DPPH concentration per 1.0 ml of initial solution.

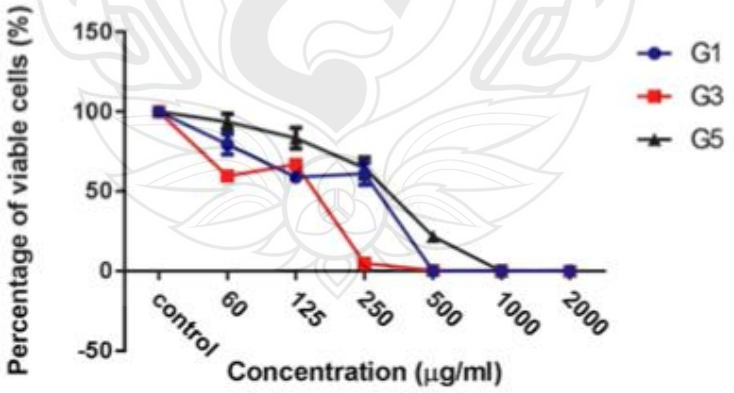
ภาพที่ 2.6 การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของขิงสดและขิงแห้ง



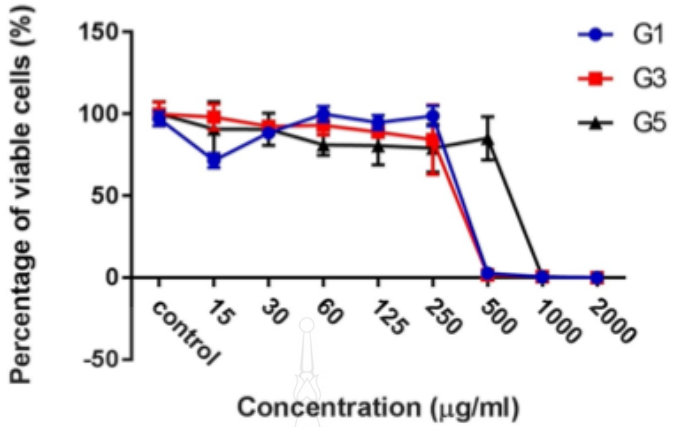
ภาพที่ 2.7 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของสาร 6-gingerol ระหว่างกระบวนการทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 55 ± 2 องศาเซลเซียส

2.4.2.4 มีงานวิจัยที่ได้ศึกษาขิงสดต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic) ที่ถูกผลิตขึ้นโดยเซลล์มะเร็งบริเวณตับของมนุษย์ (HepG2 cell line) วิธีการศึกษาคือแบ่งขิงสดออกเป็น 3 กลุ่ม

ดังนี้ กลุ่มแรกใช้วิธีการ meceration (G1) กลุ่มที่สองใช้วิธีการ Soxhlet (G3) และกลุ่มที่สามใช้วิธีการ ultrasonic (G5) ในการสกัด โดยนำสารสกัดแต่ละตัวมาทดสอบหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวัดจากค่า IC50 หลังจากนั้นมีการย้อมด้วยสารสีเรืองแสง Propidium iodide (PI) แล้วจึงตรวจสอบปริมาณความเข้มของการเรืองแสง (fluorescent) ทั้งแบบ 2D และ 3D ผลลัพธ์ที่ได้คือขิงที่สกัดโดยวิธี Soxhlet (G3) มีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี G1 และ G5 อย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ค่า IC50 ของ G3 เท่ากับ 83.3 ± 0.9189 µg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับ 159 ± 7.6 µg/ml ของ G1 และ 284 ± 5.116 µg/ml ของ G5 โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 2D (ภาพที่2.8) และค่า ICD50 ของ G3 เท่ากับ 228 ± 33.52 µg/ml เมื่อเปรียบเทียบกับ 341± 3.39 µg/ml ของ G1 และ 603.7 ± 56.33 µg/ml ของ G5 โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 3D (ภาพที่ 2.9) และผลลัพธ์ของ PI แสดงให้เห็นว่าสารสกัดของขิงสดมีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งบริเวณตับของมนุษย์ (HepG2) ในการเพาะเชื้อแบบ 2D เมื่อได้รับการรักษาโดยสารสกัดขิง ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (apoptosis) นอกจากนี้ผลลัพธ์ของ Annexin-V staining ยังพบว่าเซลล์มะเร็งบริเวณตับของมนุษย์ (HepG2 cell) ยังมีการ apoptosis เมื่อได้รับการรักษาด้วยสารสกัดขิงสด ผลสรุปคืองานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถของการสกัดด้วยวิธีการ Soxhlet มีผลต่อความเป็นพิษของเซลล์มะเร็งตับของมนุษย์ทั้งการเพาะเชื้อแบบ 2D และ 3D ซึ่งสามารถนำไปสู่การตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (apoptosis) และผลลัพธ์ที่กล่าวมาข้างต้นนั้นแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการรักษาหรือฤทธิ์ในการต้านมะเร็งของขิงสดโดยการสกัดแบบวิธี Soxhlet และมีผลต่อกลไกการออกฤทธิ์ในการต้านเนื้องอก (Nguyen et al., 2019)



ภาพที่ 2.8 กราฟแสดงการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ HepG2 ที่รักษาด้วยสารสกัดขิงจากวิธีการสกัดแบบ Maceration (G1) Soxlet (G3) และ Sonication (G5) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบ 2D ช่วงระยะความเข้มข้นอยู่ที่ 2000 1000 500 250 125 และ 60 µg/ml



ภาพที่ 2.9 กราฟแสดงการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ HepG2 ที่รักษาด้วยสารสกัดขิงจากวิธีการสกัดแบบ Maceration (G1) Soxlet (G3) และ Sonication (G5) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบ 3D ช่วงระยะความเข้มข้นอยู่ที่ 2000 1000 500 250 125 และ 60 µg/ml

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 รูปแบบของวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงปฏิบัติการ (laboratory research)

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

3.2.1 ประชากร

ประชากรในการศึกษานี้ หมายถึงขิงสดและขิงแห้งจากคลินิกแพทย์แผนจีนที่ได้รับรองมาตรฐานจากกระทรวงสาธารณสุข 2 แห่ง ในจังหวัดกรุงเทพมหานคร

3.2.2 กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างได้จากการสุ่มเลือกขิงมาชนิดละ 2 แหล่งจากคลินิกแพทย์แผนจีนที่ได้รับรองมาตรฐานจากกระทรวงสาธารณสุข ในจังหวัดกรุงเทพมหานคร ดังนี้ คลินิกการประกอบโรคศิลปะ สาขาการแพทย์แผนจีนหัวเฉียว (ใบอนุญาตเลขที่ 10309002962) และไพรเวชคลินิกการประกอบโรคศิลปะ สาขาการแพทย์แผนจีน (ใบอนุญาตเลขที่ 12109000259) เนื่องจากแต่ละคลินิกมีแหล่งที่มาหรือแหล่งปลูกขิงที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีผลต่อปริมาณสาร 6-gingerol ดังนั้นจึงนำขิงแต่ละชนิดจากทั้งสองคลินิกมาผสมรวมกันในปริมาณที่เท่ากันอย่างละ 25 กรัม รวมเป็น 50 กรัม หลังจากนั้นแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

3.2.1.1 ขิงสด สายพันธุ์ขิงแดง (red ginger) อายุ 4-6 เดือน

3.2.1.2 ขิงแห้ง สายพันธุ์ขิงแดง (red ginger) อายุ 8-12 เดือน ทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถังหมุน (rotary air dryer)

3.3 ขนาดกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง

ขนาดขิงตัวอย่างเท่ากับ 10 ตัวอย่าง / ชนิดขิง

การศึกษานี้ใช้ขนาดตัวอย่างทั้งหมด $10 \times 2 = 20$ ตัวอย่าง

3.4 เครื่องมืออุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ในการศึกษา

3.4.1 การสกัดสารสำคัญจากขิง

3.4.1.1 Vacuum Rotary evaporator, Buchi R-210

3.4.1.2 Erlenmeyer flask ขนาด 250 mL

3.4.1.3 Blender, Philips รุ่น HR2011 มอเตอร์ขนาด 250 W. ความถี่ 50 Hz.

3.4.1.4 Beaker ขนาด 50-500 mL

3.4.1.5 Glass funnel ขนาด 100 mm

3.4.1.6 Whatman qualitative filter paper No.1 Cat No 1001-070 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 mm.

3.4.1.7 Vial ขนาด 2 mL

3.4.1.8 Parafilm ยี่ห้อ Bemis

3.4.1.9 Aluminum Foil

3.4.1.10 Balance

3.4.1.11 Ethanol (commercial grade) 95%

3.4.2 การหาปริมาณสาร 6-gingerol ด้วย TLC และ HPTLC

3.4.2.1 ตู้ดูดควัน (Hood)

3.4.2.2 ยูวี (UV Box) ความยาวคลื่น 256 และ 366 นาโนเมตร

3.4.2.3 TLC tank

3.4.2.4 HPTLC; Camag (Muttenz, Switzerland)

3.4.2.5 Thin layer chromatography plates 20x20 cm, silica gel 60 F254 (E. Merck)

3.4.2.6 Aluminumbacked HPTLC plates 20x20 cm with 0.2 mm layers of silica gel 60 F254 (E. Merck)

3.4.2.7 capillary tube

3.4.2.8 Anisaldehyde reagent

3.4.2.9 Methanol

3.4.2.10 Diethyl ether

3.4.2.11 n-Hexane

3.4.2.12 สารมาตรฐาน 6-gingerol (G1046-5MG)

3.5 วิธีการที่ใช้ในการวัดปริมาณสาร 6-gingerol

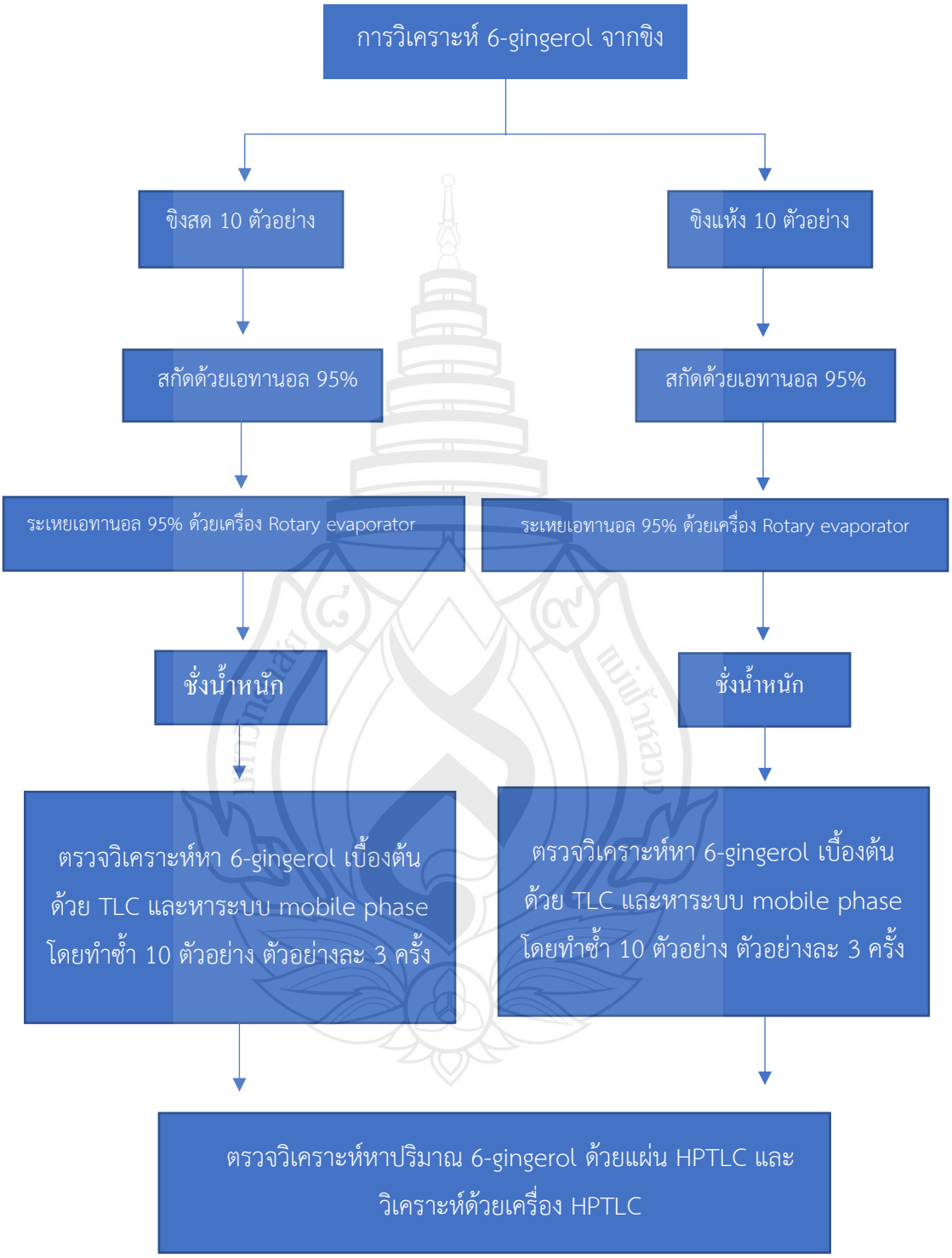
3.5.1 วิธี HPTLC

High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) เป็นเครื่องมือที่นิยมในการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหาร วัตถุเจือปนต่าง ๆ ของอาหาร จัดเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ โดยอาศัยการเคลื่อนที่บนชั้นดูดซับที่ประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็กกว่า TLC ทั่วไป ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 ไมโครเมตร จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการแยกดีกว่า การเตรียมและการใช้ตัวอย่างในการวิเคราะห์จะง่ายและไม่ยุ่งยาก เนื่องจากชั้นของตัวดูดซับที่ใช้ในการวิเคราะห์จะถูกใช้เพียงครั้งเดียว โดยตัวอย่างจะถูกนำมาหยดลงบนชั้นของตัวดูดซับโดยตรง หรือบางครั้งอาจจะต้องเจือจางก่อนนำมาวิเคราะห์ และมีการเลือกใช้ TLC Silica gel 60 F 254 เป็นเฟสติดตั้ง (stationary phase) ซึ่งมีการพัฒนารูปแบบของตัวดูดซับและเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ระหว่าง n-hexane: diethyl ether (40:60 v/v) ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตรของรังสีอัลต้าไวโอเลต (ultraviolet) เพื่อนำมาตรวจสอบองค์ประกอบสำคัญในตัวอย่าง (ณัฏฐิกา ศิลาลาย และชัชวาล โชติมากร, 2548)

3.5.2 สถานที่ที่ใช้ในการศึกษาและวัดค่าปริมาณสาร 6-gingerol

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ

3.6 ขั้นตอนการศึกษา



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการศึกษา

3.6.1 การสกัดสารสำคัญจากขิง

3.6.1.1 นำขิงตัวอย่าง มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง Blender ยี่ห้อ Philips รุ่น HR2011 มอเตอร์ขนาด 250 W. ความถี่ 50 Hz.

3.6.1.2 ชั่งขิงตัวอย่าง 50 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 mL และเติมเอทานอล 95% ลงไป จำนวน 150 mL และปิดปากขวดด้วยกระดาษฟอยล์ และพาราฟิล์ม หมักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชม.

3.6.1.3 นำส่วนสกัดมากรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman Cat No 1001-070 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 mm.

3.6.1.4 นำสารละลายส่วนที่สกัดได้ ไประเหยเอทานอล 95% ออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator หรือเครื่องกลั่นหาปริมาณน้ำมันหอมระเหย “BUCHI” รุ่น R210

3.6.1.5 บันทึกค่าน้ำหนักสารสกัดที่ได้ เก็บใส่ขวดเล็ก (Vial) เก็บใส่ตู้แช่เย็น 2 บาน ประตู ยี่ห้อ Panasonic รุ่น SBC-P2DB ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ต่อไป

3.6.2 การทดสอบหาสาร 6-gingerol เบื้องต้นจากสารสกัด ด้วย TLC

3.6.2.1 เตรียมสารสกัดและสารมาตรฐาน 6-gingerol แต่ละชนิด ปริมาณ 1 mg ละลายด้วยเมทานอล 1 mL

3.6.2.2 สปอตสาร แต่ละชนิด ลงบนแผ่น TLC ด้วยหลอดรูเล็ก (capillary tube)

3.6.2.3 นำแผ่น TLC จุ่มลงไปในแท่ง (development chamber) ที่มีสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ระหว่าง n-hexane: diethyl ether (40:60 v/v)

3.6.2.4 นำแผ่น TLC มาตรวจวิเคราะห์ด้วย UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm และ 366 nm พร้อมบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายรูป

3.6.2.5 นำแผ่น TLC มาสเปรย์ด้วย anisaldehyde reagent และให้ความร้อน บน hot plate พร้อมบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายรูป

3.6.3 การทดสอบหาสาร 6-gingerol เบื้องต้นจากสารสกัด ด้วย HPTLC

3.6.3.1 เตรียมสารสกัดและสารมาตรฐาน 6-gingerol แต่ละชนิด ปริมาณ 1 mg ละลายด้วยเมทานอล 1 mL

3.6.3.2 สเปรย์สารมาตรฐาน 6-gingerol ลงบนแผ่น HPTLC ปริมาตร 4 mL ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

3.6.3.3 สเปรย์สารมาตรฐาน 6-gingerol และสารสกัดแต่ละชนิด ลงบนแผ่น HPTLC ขนาด 20x20 cm ปริมาตรสารละลาย 4 mL สารแต่ละชนิดทำ 3 ซ้ำ ทั้งหมด 15 tracks /แผ่น

3.6.3.4 จุ่มแผ่น HPTLC ลงในแท่งที่มีสารละลายเฟสเคลื่อนที่ของ n-hexane: diethyl ether (40:60 v/v)

3.6.3.5 ตรวจวัด ด้วย Camag TLC scanner 3 at 254 nm

3.6.3.6 หาปริมาณสาร 6-gingerol ในสารสกัดแต่ละชนิดเทียบกับสารมาตรฐาน

3.7 การเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บรวบรวมข้อมูลเป็นการเก็บข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative Data) ที่ได้จากการวัดปริมาณ 6-gingerol ของขิงแห้งและขิงสด โดยทำซ้ำ 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ครั้ง รายงานผลเป็นค่ามิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง (mg/g dries weight)

3.8 สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

3.8.1 ประชากรใช้สถิติพรรณนา (Descriptive analysis) ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.8.2 เปรียบเทียบปริมาณสาร 6-gingerol ระหว่างขิงสดและขิงแห้งโดย t-test หรือ u-test

3.8.3 ระดับความเชื่อมั่นที่ใช้ในการวิเคราะห์ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้คือร้อยละ 95

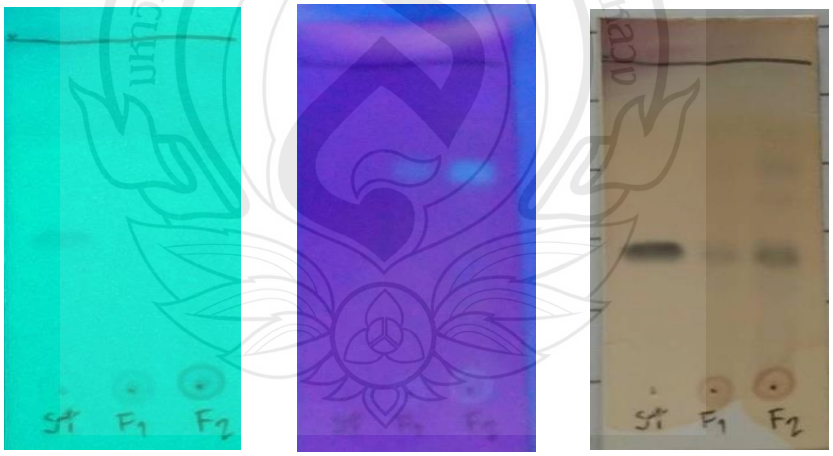
บทที่ 4

ผลการศึกษา

จากการนำขิงทั้ง 2 ชนิด คือขิงสดและขิงแห้ง มาทำการศึกษาเพื่อนำมาเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-gingerol ผลการศึกษาดังนี้

4.1 ผลการตรวจหาสาร 6-gingerol ด้วย TLC เบื้องต้น โดยแผ่น TLC เทียบกับสารมาตรฐาน

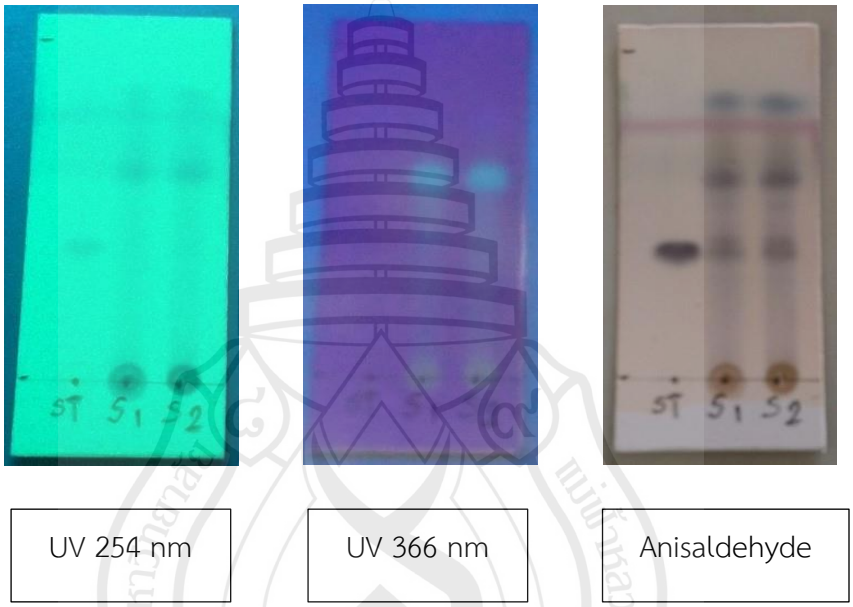
Chromatographic condition ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร 6-gingerol ในสารตัวอย่างขิงสกัด โดยมีสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1 mg/ml ด้วยตัวทำละลายเมทานอล และสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 5 mg/ml ด้วยตัวทำละลายเมทานอล



UV 254 nm | UV 366 nm | Anisaldehyde

ภาพที่ 4.1 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงสด เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน 6-gingerol โดยแสดงผ่าน UV 254 nm 366 nm และรูปสเปรย์ด้วยน้ำยา anisaldehyde

จากภาพที่ 4.1 แสดงภาพแผ่น TLC เทียบกับสารมาตรฐาน 6-gingerol ที่ผ่านUV 254 nm 366 nm และรูปสเปรย์ด้วยน้ำยา anisaldehyde โดยให้เฟสติดตั้ง (stationary phase) เป็น TLC plates silica gel 60 F254 ขนาด 2 x 5 เซนติเมตร และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น hexane: diethyl ether ในอัตราส่วน 1.5: 3.5 โดยปริมาตร ผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างขิงสดมีสาร 6-gingerol เป็นองค์ประกอบ



ภาพที่ 4.2 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงแห้ง เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน 6-gingerol โดยแสดงผ่าน UV 254 nm 366 nm และรูปสเปรย์ด้วยน้ำยา anisaldehyde

จากภาพที่ 4.2 แสดงภาพแผ่น TLC เทียบกับสารมาตรฐาน 6-gingerol ที่ผ่านUV 254 nm 366 nm และรูปสเปรย์ด้วยน้ำยา anisaldehyde โดยให้เฟสติดตั้ง (stationary phase) เป็น TLC plates silica gel 60 F254 ขนาด 2 x 5 เซนติเมตร และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น hexane: diethyl ether ในอัตราส่วน 1.5: 3.5 โดยปริมาตร ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดตัวอย่างขิงแห้งมีสาร 6-gingerol เป็นองค์ประกอบ

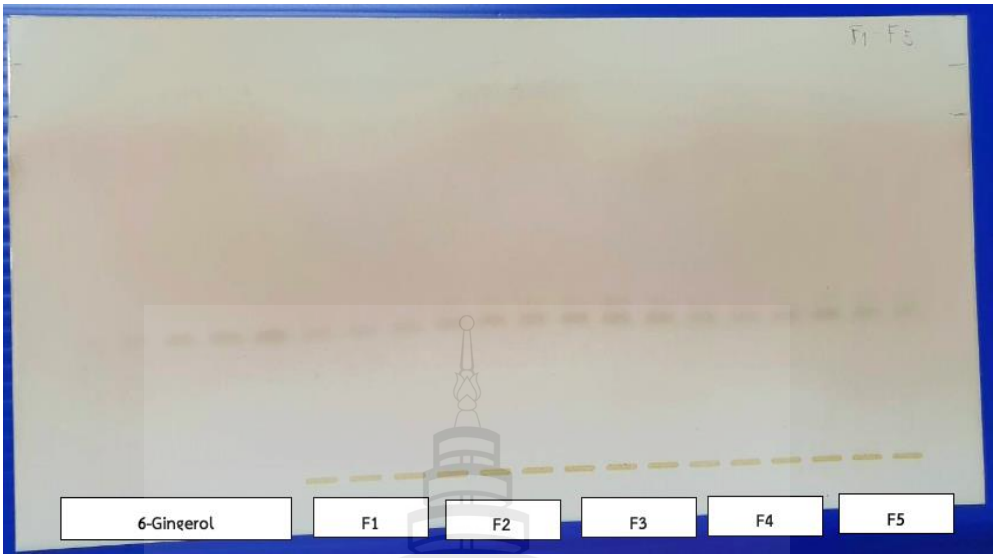
4.2 ผลการตรวจหาปริมาณสาร 6-gingerol ในสารตัวอย่างขิงสกัด

Chromatographic condition ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร 6-gingerol ในสารตัวอย่างขิงสกัด โดยมีสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0.2 mg/ml ด้วยตัวทำละลายเมทานอล และสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10 mg/ml ด้วยตัวทำละลายเมทานอล

ตารางที่ 4.1 ค่า Rf และปริมาณสาร 6-gingerol ของตัวอย่างสารสกัดขิงสด

ตัวอย่าง	ค่า Rf	ปริมาณสาร 6-gingerol (µg)	SD (n=3)
F1	0.41	1.216	1.211
F2	0.42	1.568	2.812
F3	0.42	1.863	1.705
F4	0.41	1.288	1.59
F5	0.42	1.937	1.132
F6	0.46	1.500	2.021
F7	0.46	1.430	1.376
F8	0.46	0.9291	0.588
F9	0.46	1.257	0.599
F10	0.47	1.279	0.729

ตารางที่ 4.1 นี้ แสดงค่า Rf ซึ่งเป็นค่าคงที่สำหรับสารชนิดหนึ่ง ๆ ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ และตัวทำละลายชนิดหนึ่ง ๆ ทำให้การคำนวณค่า Rf สามารถชี้บอกได้ว่าสารตัวนั้นคืออะไร เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative) จากตารางนี้แสดงถึงค่า Rf ที่ใกล้เคียงกันแสดงว่าสารตัวอย่างF1-F10 มีสารชนิดเดียวกันอยู่และค่าปริมาณสาร 6-gingerol ของตัวอย่างสารสกัดขิงสด โดยเฟสติดตั้ง (stationary phase) คือ TLC plates silica gel 60 F254 และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ hexane: diethyl ether ในอัตราส่วน 1.5:3.5 โดยปริมาตร



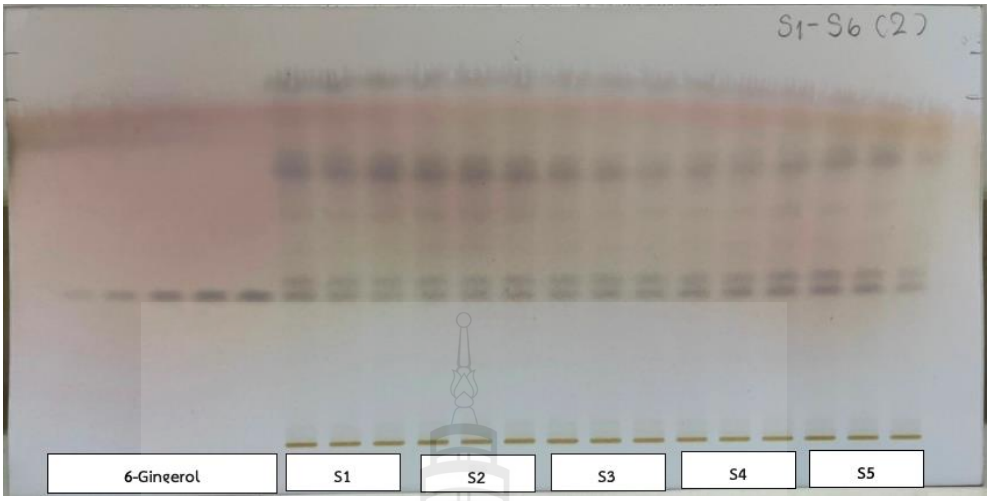
ภาพที่ 4.3 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงสด แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงสด (F1-F5)

ภาพที่ 4.4 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงสด แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงสด (F6-F10)

ตารางที่ 4.2 ค่า Rf และปริมาณสาร 6-gingerol ของตัวอย่างสารสกัดขิงแห้ง

ตัวอย่าง	ค่า Rf	ปริมาณสาร 6-gingerol (µg)	SD (n=3)
S1	0.43	1.198	0.548
S2	0.43	1.291	1.166
S3	0.43	1.269	3.266
S4	0.44	1.294	1.688
S5	0.44	1.253	2.291
S6	0.49	1.094	0.684
S7	0.49	1.075	2.354
S8	0.48	1.080	1.979
S9	0.47	0.984	2.78
S10	0.46	0.9392	3.688

ตารางที่ 4.2 นี้ แสดงค่า Rf ซึ่งเป็นค่าคงที่สำหรับสารชนิดหนึ่ง ๆ ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ และตัวทำละลายชนิดหนึ่ง ๆ ทำให้การคำนวณค่า Rf สามารถชี้บอกได้ว่าสารตัวนั้นคืออะไร เป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative) จากตารางนี้แสดงถึงค่า Rf ที่ใกล้เคียงกันแสดงว่าสารตัวอย่าง S1-S10 มีสารชนิดเดียวกันอยู่ และค่าปริมาณสาร 6-gingerol ของตัวอย่างสารสกัดขิงแห้ง โดยเฟสติดตั้ง (Stationary phase) คือ TLC plates silica gel 60 F254 และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ hexane: diethyl ether ในอัตราส่วน 1.5:3.5 โดยปริมาตร



ภาพที่ 4.5 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงแห้ง แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงแห้ง (S1-S5)

ภาพที่ 4.6 ภาพแผ่น TLC ในสารสกัดตัวอย่างขิงแห้ง แสดงลักษณะสีของสารตัวอย่างขิงแห้ง (S6-S7)

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลสาร 6-gingerol (µg) ในตัวอย่างสารสกัดขิงสดและขิงแห้งเชิงพรรณนา

ประเภทของขิง	n	$\bar{X}$	S.D.	Min	Max
ขิงสด	10	1.43	0.31	0.93	1.94
ขิงแห้ง	10	1.15	0.13	0.94	1.29

จากตารางที่ 4.3 พบว่า เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยพบว่า ค่าเฉลี่ยของระดับ 6-gingerol ของขิงที่ใช้ในการทดลอง เมื่อจำแนกตามประเภทของขิงอันประกอบไปด้วยขิงสด และขิงแห้ง พบว่าเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ย ขิงสดมีค่า 6-gingerol มากกว่า ขิงแห้ง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.43 และ 1.15 ตามลำดับ โดยขิงสดมีค่า 6-gingerol ต่ำที่สุดที่ 0.93 มีค่าสูงที่สุดอยู่ที่ 1.94 และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ที่ 0.31 และขิงแห้งมีค่า 6-gingerol ต่ำที่สุดที่ 0.94 มีค่าสูงที่สุดอยู่ที่ 1.29 และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ที่ 0.13 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามความแตกต่างของค่าเฉลี่ยไม่สามารถบอกได้ว่า ขิงสดและขิงแห้งมีความแตกต่างกันในระดับของ 6-gingerol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ Independent Sample t-test มาทดสอบความแตกต่าง โดยสามารถสรุปผลการวิเคราะห์ข้อมูลได้ดัง ต่อไปนี้

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบความแตกต่างในระดับของ 6-Gingerol ด้วย Independent Sample t-test

ตัวแปรต้น		n	$\bar{X}$	S.D.	df	t	p-value
ประเภทขิง	ขิงสด	10	1.43	0.31	18	2.658	0.016
	ขิงแห้ง	10	1.15	0.13			

จากตาราง 4.4 วิเคราะห์ข้อมูลด้วย Independent Sample t-test พบว่า ความแตกต่างของระดับ 6-gingerol ในขิงสดและขิงแห้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณ 6-gingerol ในขิงสดมากกว่าขิงแห้ง ($p = 0.016$)

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา อภิปราย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาการเปรียบเทียบปริมาณสาร 6-gingerol นั้น พบว่าขิงทั้ง 2 ชนิด คือขิงสดและขิงแห้งที่สุ่มตัวอย่างจากคลินิกแพทย์แผนจีนที่ได้รับรองมาตรฐานจากกระทรวงสาธารณสุขในจังหวัดกรุงเทพมหานคร ทั้ง 2 แห่ง พบว่าเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของขิงสดมีค่า 6-gingerol มากกว่าขิงแห้ง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.43 และ 1.15 ตามลำดับและจากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Independent Sample t-test พบว่าความแตกต่างของระดับ 6-gingerol ในขิงสดและขิงแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.2 อภิปรายผลการศึกษา

ขิง (Zingiber officinale Roscoe) เป็นพืชที่สำคัญที่ใช้ในครัวเรือน มีกลิ่นฉุนรสเผ็ดและมีสรรพคุณหลากหลาย เช่น รักษาระบบย่อยอาหารผิดปกติ อาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย และผลการศึกษาในครั้งนี้จึงได้ตรวจหาสาร 6-gingerol ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) หลักที่พบมากที่สุดในขิง ด้วยวิธีการ Thin Layer Chromatography (TLC) โดยใช้แผ่น TLC เทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าขิงสดมีสาร 6-gingerol เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Wang et al. (2014) ที่ได้ศึกษาสาร 6-gingerol พบว่าสารนี้เป็นส่วนประกอบหลักทางเคมีในขิงสด และงานวิจัยของ Peng et al. (2012) ก็ได้ทำการศึกษาถึงสารประกอบที่แยกได้ออกจากขิงสด ซึ่งพบว่าในขิงสดมีสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) เช่น gingerol เช่นเดียวกัน และมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ ต่อต้านมะเร็ง และต่อต้านการอักเสบ

ขิงแห้ง เป็นการนำขิงสดที่นำมาผ่านกระบวนการแปรรูปให้แห้ง ในสมัยโบราณขิงถูกทำให้แห้งโดยวิธีการตากแดด แต่เนื่องจากขิงแห้งที่ได้มีลักษณะแห้งแตกและมีสีน้ำตาลที่ไม่สม่ำเสมอกัน ปัจจุบันจึงมีวิธีการหลายรูปแบบเพื่อลดปัญหาดังกล่าว เช่น เครื่องอบแห้ง การใช้ถาดตู้ ซึ่งแต่ละวิธีก็

จะทำให้คุณภาพของขิงแห้งแตกต่างกันออกไปเช่นกัน และงานวิจัยในครั้งนี้ผลการศึกษาตรวจสอบหาปริมาณสาร 6-gingerol ในสารสกัดขิงแห้งด้วยแผ่น TLC เบื้องต้น โดยเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าในขิงแห้งมีส่วนประกอบของสาร 6-gingerol เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Jayashree et al. (2014) ได้ทำการศึกษาถึงสถานที่ปลูกขิงเป็นสิ่งที่สำคัญต่อคุณสมบัติภายในและการตรวจสอบคุณภาพของขิงแห้ง เช่น ปริมาณเส้นใย ปริมาณน้ำมันภายในขิง และขนาดของขิง พบว่าการแปรรูปของขิงสดให้กลายเป็นขิงแห้งในบางพื้นที่ที่มีขนาดขิงใหญ่เกินไปซึ่งไม่เหมาะต่อการนำมาแปรรูป เนื่องจากขิงสดมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่ำกว่ามาตรฐาน มีความชื้นสูงเกิน โดยงานวิจัยนี้ได้ทดลองนำขิงมาหั่นให้มีขนาดแตกต่างกัน คือ 10 15 20 30 40 50 มิลลิเมตร และจากความชุ่มชื้นเบื้องต้น 81.3% จนกลายเป็นความชุ่มชื้นสุดท้ายที่ต่ำกว่า 10 % ด้วยวิธีการแตกต่างกัน เช่น การตากแดด การใช้อุโมงค์แสงอาทิตย์ (solar tunnel) และการใช้ถาดตู้ (cabinet tray) ในอุณหภูมิที่ 50 55 60 และ 65 องศาเซลเซียส ซึ่งการหั่นขิงขนาดต่าง ๆ ก็ส่งผลต่อการใช้เวลาทำให้แห้งอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีการสังเกตว่าวิธีการทำให้ขิงแห้งโดยแสงแดดใช้เวลาสูงสุด (9 วัน) ตามมาด้วยการใช้อุโมงค์แสงอาทิตย์ (8 วัน) และองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหย เช่น zingiberene limonene linalool geraniol และ nerolidol โดยใช้ gas chromatography ในการตรวจสอบพบว่ามีปริมาณลดลงซึ่งสัมพันธ์กับการหั่นและอุณหภูมิที่เพิ่มมากขึ้น และมีการศึกษาถึงส่วนประกอบ oleoresin ในขิง เช่น gingerol โดยใช้วิธี reverse phase high performance liquid chromatography ในการตรวจสอบพบว่าในขิงแห้งมีสาร 6-gingerol เป็นส่วนประกอบ แต่จะมีแนวโน้มที่ลดลงต่อการหั่นและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในการทำให้แห้ง และสังเกตได้ว่าขิงที่ถูกทำให้แห้งโดยแสงแดดหรืออุโมงค์แสงอาทิตย์ (solar tunnel) สามารถรักษาน้ำมันหอมระเหยได้สูงสุด (13.9 mg/g) และองค์ประกอบ oleoresin (45.2 mg/g) ของขิงแห้ง ในกระบวนการทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวจะมีการสูญเสียน้ำมันหอมระเหยประมาณ 12.2 % ที่อุณหภูมิดังกล่าว

ผลการศึกษาในครั้งนี้ยังได้ตรวจหาปริมาณสาร 6-gingerol ในสารตัวอย่างขิงสกัดทั้งขิงแห้งและขิงสดเพื่อนำมาเปรียบเทียบกัน ด้วยวิธีการ High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) พบว่าขิงสดและขิงแห้งมีปริมาณสาร 6-gingerol แตกต่างกัน โดยขิงสดมีปริมาณสาร 6-gingerol มากกว่าขิงแห้ง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Li et al. (2016) ได้ทำการศึกษาขิงสดที่นำมาแปรรูปให้เป็นขิงแห้งเพื่อนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณในประเทศจีน ด้วยวิธี ultra performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC/QTOF-MS) พบว่าในขิงสด ขิงแห้ง ขิงผัดและขิงถ่าน มีความแตกต่างของสารประกอบที่สำคัญของตัวอย่างสารสกัดขิงทั้ง 4 ชนิดที่แตกต่างกัน ผลมาจากความชื้นในขิงสด และการแปรรูป เช่น ขิงแห้งที่ผ่านกระบวนการอบหรือผ่านการผัดด้วยถ่าน กระบวนการเหล่านี้ส่งผลให้ส่วนประกอบทางเคมีและทาง

เภสัชวิทยาแตกต่างกันออกไป โดยสารประกอบ 6-gingerol 8-gingerol และ 10-gingerol จะมีปริมาณลดลง ขณะที่ shogaol และ zingerone เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน สรุปได้ว่าการผ่านกระบวนการความร้อนจะทำให้สาร gingerol เปลี่ยนเป็น shogaols และงานวิจัยของ Puengphian and Sirichote (2008) ได้ทำการศึกษาวิจัยเปรียบเทียบองค์ประกอบทางชีวภาพและการออกฤทธิ์ระหว่างขิงสดและขิงแห้ง โดยพบว่าขิงสดที่มีค่าความชุ่มชื้นในปริมาณ 94.17 ± 0.16% และทำให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถังหมุน (rotary air dryer) ที่อุณหภูมิ 55 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 ชั่วโมง จนมีค่าความชุ่มชื้นเหลือ 11.54 ± 0.29% หลังจากผ่านกระบวนการทำให้แห้งแล้วค่า 6-gingerol ในขิงสดลดลงจาก 21.15 ± 0.13 เหลือ 18.81 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง ซึ่งสามารถนำมาอธิบายผลการศึกษาในครั้งนี้ได้ว่าขิงสดมีปริมาณสาร 6-gingerol มากกว่าขิงที่ถูกนำไปแปรรูปให้กลายเป็นขิงแห้ง

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการควบคุมสถานที่ปลูก กระบวนการปลูก การเก็บเกี่ยวผลผลิตตลอดจนกระบวนการนำมาแปรรูปของขิงแต่ละชนิดที่นำมาใช้ในการศึกษา

5.3.2 ศึกษาเปรียบเทียบในมนุษย์หรือในสัตว์ทดลอง หลังจากผ่านขบวนการดูดซึมในร่างกาย เพื่อตรวจวัดสาร 6-gingerol ได้แม่นยำมากขึ้น

5.3.3 ศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้วิธีที่แตกต่างจากวิธี HPTLC เพื่อนำมาเปรียบเทียบและเป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาต่อไปในอนาคต

5.3.4 ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับองค์ประกอบหลักอื่น ๆ ในขิงสดและขิงแห้ง เช่น 8-, 10-gingerol และ 6-shogoal

5.4 ข้อจำกัด

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในเรื่องการควบคุมสถานที่ปลูกขิงตัวอย่างทั้งสองชนิดเนื่องจากกระบวนการปลูก เก็บเกี่ยวผลผลิตตลอดจนกระบวนการนำมาแปรรูปเป็นขิงแห้งนั้น จากการศึกษาจึงไม่ทราบแน่ชัดว่าแหล่งปลูกมีต้นสายมาจากที่ใด ผู้ทำการศึกษาจึงเห็นว่าควรจะมีการศึกษาต่อไปในเรื่องของการควบคุมสถานที่ปลูกขิงเพิ่มเติมเพื่อลดความขัดแย้ง (bias) ในเรื่องนี้อีกทั้งยังเป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ซึ่งไม่ได้เกิดในร่างกายมนุษย์อาจจะทำให้ผลลัพธ์ที่ได้แตกต่างกัน

รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

ณัฏฐิกา ศิลาลาย และชัชวาล โชติมากร. (2548). การใช้ Thin Layer Chromatography ในการวิเคราะห์ทางด้านอาหารและการเกษตร. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม, 1*(1), 7-10.

Abusarah, J., Benabdoune, H., Shi, Q., Lussier, B., Martel-Pelletier, J., Malo, M., . . . Benderdour, M. (2017). Elucidating the role of protandim and 6-Gingerol in protection against osteoarthritis. *J Cell Biochem, 118*(5), 1003-1013. https://doi.org/10.1002/jcb.25659

Alqasoumi, S. I. (2009). Quantification of 6-gingerol in Zingiber officinale extract, ginger-containing dietary supplements, teas and commercial creams by validated HPTLC densitometry. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences, 34*, 33-42.

Alsahli, M., Almatroodi, S., Almatroudi, A., Khan, A., Anwar, S., Almutary, A., . . . Rahmani, A. (2021). 6-Gingerol, a major ingredient of ginger attenuates diethylnitrosamine-induced liver injury in rats through the modulation of oxidative stress and anti-inflammatory activity. *Mediators of Inflammation, 2021*, 1-17. https://doi.org/10.1155/2021/6661937

Attimarad, M., Ahmed, K. K., Aldhubaib, B. E., & Harsha, S. (2011). High-performance thin layer chromatography: A powerful analytical technique in pharmaceutical drug discovery. *Pharm Methods, 2*(2), 71-75. https://doi.org/10.4103/2229-4708.84436

Bhaskar, A., Kumari, A., Singh, M., Kumar, S., Kumar, S., Dabla, A., . . . Prakash Dwivedi, V. (2020). [6]-Gingerol exhibits potent anti-mycobacterial and immunomodulatory activity against tuberculosis. *Int Immunopharmacol, 87*, 106809. https://doi.org/1016/j.intimp.2020.106809

de Lima, R. M. T., Dos Reis, A. C., de Menezes, A. P. M., Santos, J. V. O., Filho, J. W. G. O., Ferreira, J. R. O., . . . Melo-Cavalcante, A. A. C. (2018). Protective and therapeutic potential of ginger (Zingiber officinale) extract and [6]-gingerol in cancer: A comprehensive review. *Phytother Res, 32*(10), 1885-1907. https://doi.org/10.1002/ptr.6134

Fang, W. T., Zhan, Z. L., Peng, H. S., & Huang, L. Q. (2017). Historical evolution and change of differentiation on dried ginger, fresh ginger and baked ginger. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 42*(9), 1641-1645. https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.2017.0065.

Han, Y., Li, Y., Wang, Y., Gao, J., Xia, L., & Hong, Y. (2016). Comparison of fresh, dried and stir-frying gingers in decoction with blood stasis syndrome in rats based on a GC-TOF/MS metabolomics approach. *J Pharm Biomed Anal, 129*, 339-349. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.07.021.

Haniadka, R., Saldanha, E., Sunita, V., Palatty, P. L., Fayad, R., & Baliga, M. S. (2013). A review of the gastroprotective effects of ginger (Zingiber officinale Roscoe). *Food Funct, 4*(6), 845-855. https://doi.org/10.1039/c3fo30337c.

Jayashree, E., Visvanathan, R., & John Zachariah, T. (2014). Quality of dry ginger (Zingiber officinale) by different drying methods. *J Food Sci Technol, 51*(11), 3190-3198. https://doi.org/10.1007/s13197-012-0823-8.

Lete, I., & Allué, J. (2016). The effectiveness of ginger in the prevention of nausea and vomiting during pregnancy and chemotherapy. *Integr Med Insights, 11*, 11-7. https://doi.org/10.4137/IMI.S36273

Li, Y., Hong, Y., Han, Y., Wang, Y., & Xia, L. (2016). Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 1011*, 223-232. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.01.009

Nguyen, S., Vo, P., Nguyen, T., Do, N., Le, B., Dinh, D., . . . Pham, P. (2019). Ethanol extract of Ginger Zingiber officinale Roscoe by Soxhlet method induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line. *Biomedical Research and Therapy, 6*(11), 3433-3442. https://doi.org/10.15419/bmrat.v6i11.572

Peng, F., Tao, Q., Wu, X., Dou, H., Spencer, S., Mang, C., . . . Hao X. (2012). Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effects of isolated phenolic compounds from fresh ginger. *Fitoterapia, 83*(3), 568-585. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.12.028.

Puengphian, C., & Sirichote, A. (2008). (6)-gingerol content and bioactive properties of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) extracts from supercritical CO_2 extraction. *As. J. Food Ag-Ind, 1*(01), 29-36.

Sang, S., Snook, H. D., Tareq, F. S., & Fasina, Y. (2020). Precision research on ginger: the type of ginger matters. *J Agric Food Chem, 68*(32), 8517-8523. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03888.

Shewiyo, D. H., Kaale, E., Risha, P. G., Dejaegher, B., Smeyers-Verbeke, J., & Vander Heyden, Y. (2012). HPTLC methods to assay active ingredients in pharmaceutical formulations: A review of the method development and validation steps. *J Pharm Biomed Anal, 66*, 11-23. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.03.034

Ullah, Q., & Mohammad, A. (2020). Vitamins determination by TLC/HPTLC—a mini-review. *JPC-J Planar Chromat, 33*, 429–437. https://doi.org/10.1007/s00764-020-00051-y

Wang, S., Zhang, C., Yang, G., & Yang, Y. (2014). Biological properties of 6-gingerol: A brief review. *Nat Prod Commun, 9*(7), 1027-1030.

Yamahara, J., Huang, Q. R., Li, Y. H., & Xu, L. (1990). Fujimura H. Gastrointestinal motility enhancing effect of ginger and its active constituents. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 38*(2), 430-431. https://doi.org/10.1248/cpb.38.430

Young, H. Y., Luo, Y. L., Cheng, H. Y., Hsieh, W. C., Liao, J. C., & Peng, W. H. (2005). Analgesic and anti-inflammatory activities of [6]-gingerol. *J Ethnopharmacol, 96*(1-2), 207-210. https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.009

Zhang, F., Zhang, J. G., Yang, W., Xu, P., Xiao, Y. L., & Zhang, H. T. (2018). 6-Gingerol attenuates LPS-induced neuroinflammation and cognitive impairment partially via suppressing astrocyte overactivation. *Biomed Pharmacother, 107*, 1523-1529. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.136