



ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดด้วยน้ำจากสมุนไพรไทย

ประไพ วงศ์สินคงมัน*, จารีย์ บันลือฤทธิ์*, สมชาย แสหนหลวงอินทร์*
ธนวัฒน์ ทองจีน†, พันัสดา อิศรางกูร ณ อยุธยา‡, นพมาศ สุนทรเจริญนนท์§

บทคัดย่อ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรไทย 12 ชนิด จาก 9 วงศ์ ซึ่งเตรียมเป็นน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำและสารสกัดด้วยน้ำด้วยวิธีระเหิดให้แห้งด้วยความเย็น ถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธียับยั้งอนุมูล 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เปรียบเทียบกับวิตามินซี โดยวัดการดูดกลืนแสงด้วยวิธี ยูวี-วิส สเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่าน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ได้แก่ น้ำมันใบพลู น้ำมันใบมะขามแดง และน้ำมันใบเสมา โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.04, 0.23 และ 3.24 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ ได้ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของน้ำมันหอมระเหยในหัวข้อต่าง ๆ ได้แก่ การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีวิโครมาโทกราฟีใญ่บางและวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี การละลายใน 85% เอทานอล ความหนาแน่นสัมพัทธ์ และค่าดัชนีหักเห สำหรับผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยน้ำพบว่าสารสกัดน้ำที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดใบเสมาและใบฝรั่ง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.72 และ 4.17 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านไวรัสเอดส์ (HIV-1) ในหลอดทดลองของสารสกัดด้วยน้ำดังกล่าว พบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดใบฝรั่งและใบเสมา โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 15 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลจากการศึกษานี้เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดด้วยน้ำเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านเอดส์, น้ำมันหอมระเหย, สารสกัดด้วยน้ำจากสมุนไพร

ภูมิหลังและเหตุผล

น้ำมันหอมระเหย คือ น้ำมันที่พืชสร้างขึ้นและเก็บสะสมไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล

ลำต้น เหง้า ราก และเมล็ด มีคุณสมบัติเฉพาะตัว คือ มีกลิ่นเฉพาะตัว และระเหยได้ง่ายแม้แต่ในอุณหภูมิห้อง มักเป็นของเหลวใส ไม่มีสีหรือมีสีเหลืองอ่อน

*สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี 11000, †ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดพิษณุโลก 65000, ‡สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี 11000, §คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

ผู้รับผิดชอบบทความ: prapai.w@dmsc.mail.go.th

น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นจากพืชสดมักจะมีคุณภาพดีกว่าพืชแห้ง องค์ประกอบทางเคมีที่พบในน้ำมันหอมระเหยเป็นสารเคมีประเภทมอโนเทอร์ปีนส์ (monoterpenes), เซสควิเทอร์ปีนส์ (sesquiterpenes) และออกซิจีเนตเทอร์ปีนส์ (oxygenated terpenes) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยของพืชแบ่งเป็น 7 ประเภท ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) แอลกอฮอล์ (alcohol) แอลดีไฮด์ (aldehyde) คีโตน (ketone) ฟีนอล (phenol) ออกไซด์ (oxide) และเอสเทอร์ (ester) (รูปที่ 1) องค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้ ทำให้มีคุณสมบัติและกลิ่นที่แตกต่างกัน ซึ่งถูกนำไปใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกันออกไป¹ ในการแพทย์แผนไทย นิยมใช้สมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยผสมในสูตรตำรับเพื่อใช้เป็นยาขับลม กระตุ้นหรือแต่งกลิ่น¹ ปัจจุบันน้ำมันหอมระเหยมีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างมากทั้งในอาหาร ยา เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร นอกจากนี้ มีรายงานถึงประโยชน์ที่หลากหลายของน้ำมันหอมระเหย เช่น ฤทธิ์ขับปัสสาวะ¹ ใช้เพื่อป้องกันกำจัดแมลงทาง การแพทย์²⁻⁸ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁹⁻¹² ฤทธิ์ต้านออกซิเดนท์¹³⁻²² ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ เชื้อราและเชื้อไวรัส¹⁵⁻²⁰ ฤทธิ์ต้านอักเสบ²² สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้น มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นกลุ่มไฮดรอกซิลของสารกลุ่มฟีนอลิกจะมีฤทธิ์ดังกล่าว เช่น ไทมอล (thymol), คาร์วาคโรล (carvacrol), ยูจีนอล (eugenol), คาร์วอน (carvone), ทุโจน (thujone) อาจเนื่องมาจากสารฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลแอลคอกซี (alkoxy radicals) หรืออนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl radicals) ผลผลิตที่ได้ คืออนุมูลอิสระ ฟีนอกซีที่มีความคงตัว

สูง เนื่องจากการไม่ประจำที่ (delocalisation) ของอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวในวงแหวนอะโรมาติก ซึ่งจะยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ หากมีกลุ่มไฮดรอกซีเพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งออร์โทหรือพาราของสารฟีนอลิกจะยิ่งเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล ซึ่งช่วยให้อนุมูลฟีนอกซิลมีความคงตัวมากขึ้น²¹⁻²⁴

เนื่องจากอนุมูลอิสระที่ผลิตมากเกินไปจนสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในธรรมชาติของเซลล์ไม่สามารถต้านทานได้ จะทำให้เกิดผลเสียหายรุนแรงต่อโมเลกุลชีวภาพ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน ซึ่งภาวะความเครียดที่เกิดจากอนุมูลอิสระนี้อาจมีผลต่อความก้าวหน้าของโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น เอ็ดส์ (acquired immune deficiency syndrome; AIDS) ภาวะเปลี่ยนตามวัย มะเร็ง การอักเสบ โรคหลอดเลือดหัวใจ เบาหวาน รวมทั้งการเสื่อมของเซลล์ประสาท²⁵ ในขณะที่มีรายงานวิจัยว่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยในวงศ์ต่างๆ ที่มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบทางเคมีและเป็นพืชที่ได้ไม่ยากจำนวน 9 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Araliaceae, Compositae, Lauraceae, Magnoliaceae, Myrtaceae, Piperaceae, Rutaceae, Zingiberaceae รวม 12 ชนิด ได้แก่ ผักแปม หนุมานประสานกาย สาบเสือ ตะไคร้ต้น มณฑาแดง ประยงค์ เสม็ด ฝรั่ง พลู แก้วขมิ้นชัน และมหาหงส์ โดยใช้วิธีการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมศึกษาในห้องปฏิบัติการเนื่องจากสะดวก และสามารถบอกได้ทั้งเชิงคุณภาพด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง (Thin-layer Chroma-

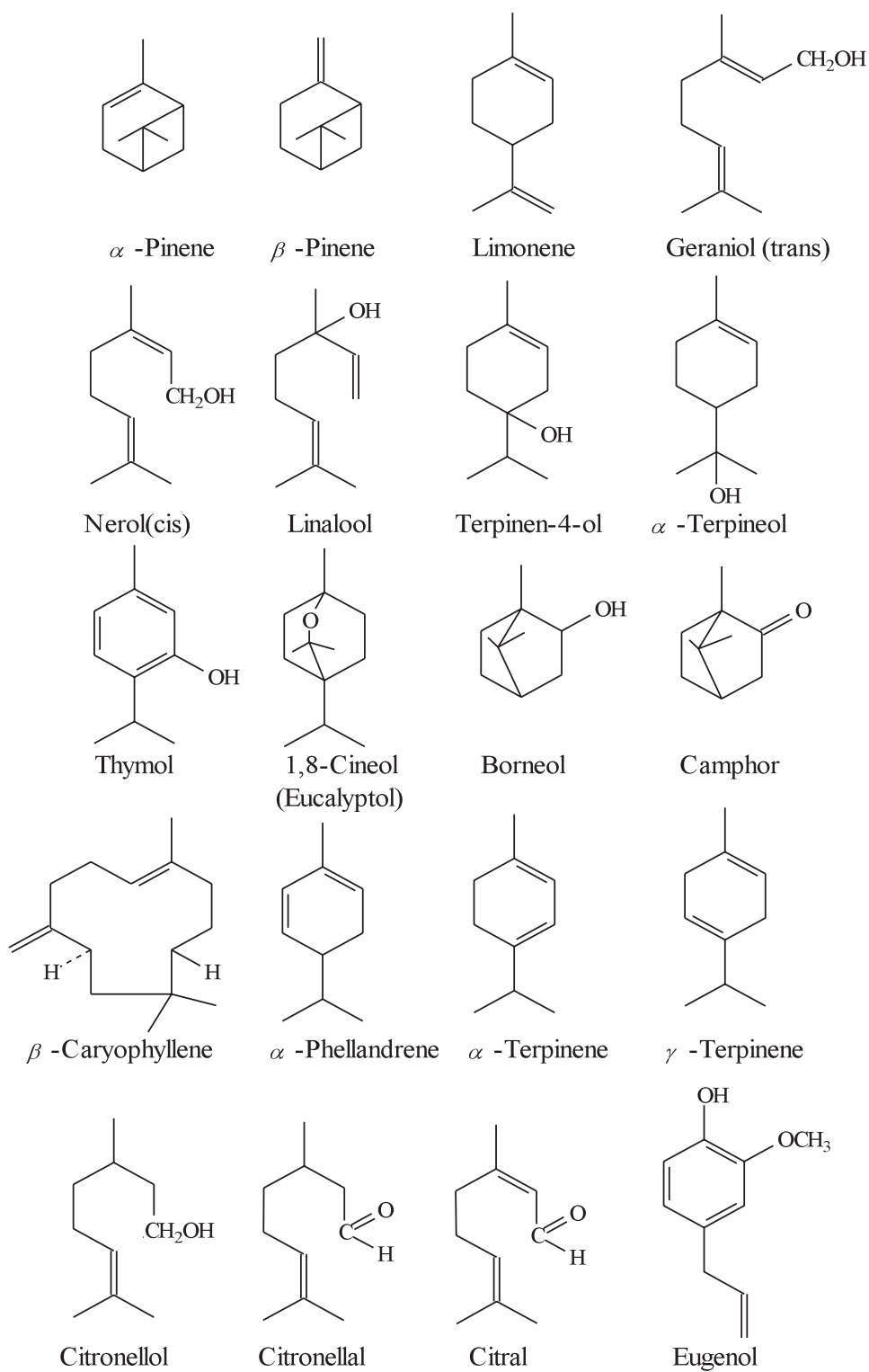
tography, TLC) และเชิงปริมาณด้วยวิธีวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยวิธียูวี-วิสสเปกโตรโฟโตเมทรี (UV-VIS Spectrophotometry) เนื่องจากการผลิตน้ำมันหอมระเหยแต่ละครั้งนั้น อาจได้ผลผลิตที่มีคุณภาพแตกต่างกัน ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เป็นต้นว่า แหล่งที่มาของพืช อายุในการเก็บเกี่ยวพืช เทคนิค วิธีการกลั่น เวลาที่ใช้ในการกลั่น และการเก็บรักษาตัวอย่าง ดังนั้น ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ที่จะควบคุมคุณภาพทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่นำมาทดสอบ โดยศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย โดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (Gas chromatography-Mass spectrometry, GC-MS) ตลอดจนศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ เอกลักษณ์ทางเคมี การละลายใน 85% เอทานอล ค่าดัชนีหักเห และความหนาแน่นสัมพัทธ์ นอกจากนี้ เพื่อให้เกิดความคุ้มค่าในการเตรียมตัวอย่าง เนื่องจากพืชสดหลายชนิดมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยไม่มากนัก จึงนำตัวอย่างที่เหลือจากการกลั่นน้ำมันหอมระเหยมาเตรียมสารสกัดด้วยการรีฟลักซ์ด้วยน้ำ และระเหิดให้แห้งด้วยความเย็นแล้วนำสารสกัดน้ำที่ได้ไปศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และฤทธิ์ยับยั้งเอดส์ เนื่องจากโรคเอดส์เป็นปัญหาสาธารณสุขที่ยังมีความรุนแรงในการระบาดในประเทศไทยและยาที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อเอชไอวีที่ใช้ในการรักษามีราคาแพง ดังนั้น หากมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ว่าสมุนไพรไทยมีฤทธิ์ดังกล่าว จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์และเป็นทางเลือกให้แก่ผู้ป่วยเอดส์ในอนาคต รวมทั้งศึกษาถึงประโยชน์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระว่าสามารถใช้ในการคัดกรองเบื้องต้นของฤทธิ์ยับยั้งเอดส์ในหลอดทดลองได้หรือไม่ หาก

เป็นไปได้จะทำให้มีความสะดวก รวดเร็วและมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่ามาก

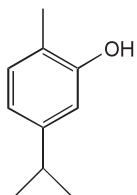
ระเบียบวิธีศึกษา

วัสดุ

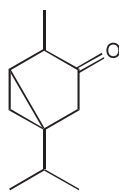
1. ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหยชนิด Clevenger ประกอบด้วย เตาบุนวม ขวดแก้ว ชุดเครื่องแก้ว รีฟลักซ์ที่มีท่อต่อกับเครื่องหล่อเย็นด้วยน้ำ และหลอดแก้วรองรับตัวอย่างน้ำมันที่ได้จากการกลั่น
2. แผ่นโครมาโตกราฟีผิวบาง ชนิด GF254 ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร บริษัท Merck, Darmstadt, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี (Merck Number 1.05715)
3. UV cabinet ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร รุ่น UV-Cabinet II ของบริษัท Camag ประเทศสมาพันธรัฐสวิส
4. ขวดชั่งพิกโนมิเตอร์ (pycnometer) ขนาด 1 มิลลิลิตร บริษัทเอ็นเคแลบอราทอรีส์ ประเทศไทย
5. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC-MS) รุ่น QP 2010 บริษัท Shimadzu ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. แคปิลลารีคอลัมน์ที่ใช้สำหรับเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ ชนิด DB-1MS (30 เมตร × 0.25 มิลลิเมตร × 0.25 ไมโครเมตร) บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. เครื่องยูวี-วิสสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer) รุ่น Biomate 5 บริษัท Thermospectronic นิวยอร์ก ประเทศสหรัฐอเมริกา
8. เครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์ รุ่น 56690 ของบริษัท Carl Zeiss ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี



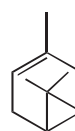
รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์บางชนิดที่พบในน้ำมันหอมระเหย



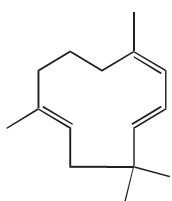
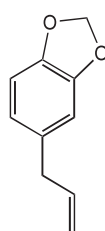
Carvacrol



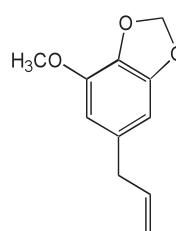
Thujone



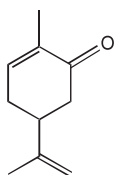
Carene

 α -Caryophyllene

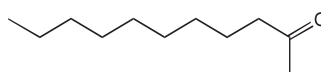
Safrole



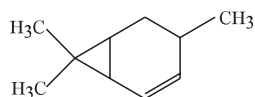
Myristicin



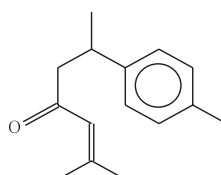
Carvone



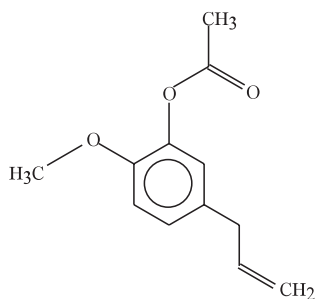
Methyl n-nonyl ketone



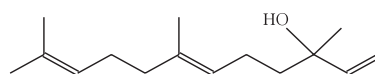
4-Carene



ar-Turmerone



3-allyl-6-methoxyphenyl acetate



trans-nerolidol

รูปที่ 1(ต่อ) สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มเทอร์ปีโนอิดบางชนิดที่พบในน้ำมันหอมระเหย

9. เครื่องชั่งไฟฟ้า พิกัด 0.1-0.01 มิลลิกรัม รุ่น Genius series 215SME ของบริษัท Sartorius AG ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี
10. เครื่องระเหิดให้แห้งด้วยความเย็น (Freeze-dried Apparatus) รุ่น Freezone 6 บริษัท Labconco, Kansascity, ประเทศสหรัฐอเมริกา

สารเคมี

1. สารเคมีทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองต่างๆ เป็นชนิดที่ใช้กับงานวิเคราะห์ (analytical grade, AR grade)
2. น้ำบริสุทธิ์ที่ใช้ในงานทดลองเป็นน้ำที่ได้จากการกรองเอาอนุภาคที่มีประจุออก (deionized water)
3. วิตามินซี (ascorbic acid) (AR grade) ของบริษัทชิกมา เซนต์หลุยส์ ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. ดีพีพีเอช [2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, ความบริสุทธิ์ประมาณ 90%) ของบริษัทชิกมา เซนต์หลุยส์ ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการศึกษา

การเตรียมพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรได้ถูกคัดเลือกตามข้อมูลการใช้พื้นบ้านหรือตามภูมิปัญญาท้องถิ่นที่เกี่ยวข้องกับน้ำมันหอมระเหย โดยรวบรวมตัวอย่างวัตถุดิบสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยจากแหล่งธรรมชาติ รวม 12 ชนิด จาก 9 วงศ์ (ตารางที่ 1) และตรวจสอบชื่อชนิดตามหลักอนุกรมวิธานโดยใช้เอกสารประกอบด้านพรรณพฤกษชาติของประเทศไทยและต่างประเทศ²⁶⁻³² นำส่วนสดของตัวอย่างพืชที่ต้องการ ไปล้างด้วยน้ำให้สะอาด แล้วหั่นหยาบ ๆ นำไปกลั่นด้วยน้ำ โดยใช้ชุดกลั่น Clevenger เมื่อน้ำมันหอม

ระเหยกลายเป็นไอจะกระทบถูกคอนเดนเซอร์ที่มีน้ำหล่อเย็นอยู่ภายใน ทำให้ไอของน้ำมันหอมระเหยควบแน่นเป็นของเหลวสะสมลงบนชั้นน้ำที่ใสไว้ในหลอดแก้วรับตัวอย่าง ถ้าย่อยใส่กระบอกตวง และตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นจนชั้นน้ำและชั้นน้ำมันหอมระเหยแยกตัวออกจากกัน แล้วดูดสารละลายชั้นบนซึ่งเป็นชั้นน้ำมันออกด้วยหลอดดูดสารตัวอย่าง เก็บน้ำมันหอมระเหยไว้ในขวดแก้วสีชา มีฝาปิดสนิท ปิดฉลากระบุชื่อสมุนไพร แหล่งที่มา วันที่เก็บ และวันที่เตรียมตัวอย่าง เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนสารสกัดน้ำเตรียมโดยการนำสมุนไพรสดที่แยกน้ำมันออกแล้วโดยการต้มในน้ำด้วยวิธีพลักซ์ ที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง กรองนำสารละลายที่กรองได้ไประเหิดให้แห้งโดยใช้วิธีระเหิดด้วยความเย็น ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นำสารสกัดน้ำที่เตรียมได้เก็บในขวดแก้วสีชา มีฝาปิดสนิท ปิดฉลากระบุชื่อสมุนไพร แหล่งที่มา วันที่เก็บ และวันที่เตรียมตัวอย่าง เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

วิธีการทดสอบ

1. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของน้ำมันหอมระเหย

1.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมี

- (1) การตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี

เติมเมทานอล 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำมันหอมระเหยด้วยหลอดหยดจำนวน 2 หยด ผสมให้เข้ากันดี แล้วเติมสารละลายวานิลลิน-กรดกำมะถัน³³⁻³⁴ (เตรียมโดยละลายวานิลลิน 1 กรัม ในเอทานอล 100 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถัน 0.5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน) จำนวน 2 หยด สังเกต

และบันทึกผลสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลง

(2) การตรวจสอบด้วยวิธีโครมาโทกราฟี
ผิวบาง (Thin-layer Chromatography)

- การเตรียมน้ำยาตัวอย่าง เจือจางตัวอย่าง
น้ำมันหอมระเหยให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดย
ปริมาตรในเมทานอล

- อุปกรณ์และน้ำยาแยก ใช้แผ่นกระจก
ขนาด 20×20 เซนติเมตร ที่ฉาบด้วยสารดูดซับซิลิ
กาเจลจีเอฟ 254 หนา 0.25 มิลลิเมตร

- น้ำยาแยก (Developing solvent) ผสม
เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และกรดอะซิติก ในอัตราส่วน
90:10:1 ตามลำดับ ให้เข้ากันดี

- ถังโครมาโทกราฟี (Chromatographic
tank) ใส่ น้ำยาแยกลงในถังให้มีความสูงจากก้นถึง
ประมาณ 1 เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง
ก่อนใช้ เพื่อให้บรรยากาศในถังอิ่มตัวด้วยน้ำยาแยก

วิธีการ ใช้หลอดรูเล็กบรรจุ น้ำยาตัวอย่างของ
แต่ละชนิดหลอดละ 5 ไมโครลิตร มาแต้มบนแผ่น
กระจกฉาบสารดูดซับในแนวระดับเดียวกัน ให้ห่าง
จากขอบล่างของกระจกประมาณ 1.5 เซนติเมตร และ
ห่างจากด้านข้างของกระจกประมาณ 2 เซนติเมตร
นอกจากนี้ระยะห่างระหว่างแถวไม่น้อยกว่า 1
เซนติเมตร ผึ่งให้แห้ง นำไปตั้งในถังโครมาโทกราฟี
ที่เตรียมไว้ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้น้ำยาแยกซึม
ขึ้นไปตามผิวที่ฉาบสูง 15 เซนติเมตร นำแผ่น
กระจกออกจากถัง ทิ้งไว้ให้แห้ง ฟันด้วยน้ำยา
อะนิลีนไฮดรอกไซด์-กรดกำมะถัน (เตรียมโดยผสม
อะนิลีนไฮดรอกไซด์ 0.5 มิลลิลิตร กรดอะซิติก 10 มิลลิลิตร
เมทานอล 85 มิลลิลิตร และกรดกำมะถัน 5 มิลลิลิตร
เข้าด้วยกันตามลำดับ³⁵) ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำ
แผ่นกระจกไป อัดด้วยเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105

องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำไปตรวจสอบ
โดยการดูภายใต้แสงมองเห็นได้

ผลการตรวจสอบ

สังเกตตำแหน่งและสีของจุดสีต่างๆบนแผ่น
กระจก บันทึกผลค่า R_f (100 Rf) โดยค่า R_f (retar-
dation factor หรือ relative factor) หมายถึง
อัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่ต่อระยะทางที่
น้ำยาแยกเคลื่อนที่

(3) การตรวจสอบด้วยวิธีแก๊สโครมาโท
กราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-
Mass Spectrometry, GC-MS)

- การเตรียมน้ำยาตัวอย่าง เจือจางน้ำมัน
หอมระเหยของตัวอย่างให้มีความเข้มข้นร้อยละ 3.33
โดยปริมาตรใน tetrachloroethylene ปริมาณที่ใช้
ในการฉีดตัวอย่างชนิดละ 0.1 ไมโครลิตร

วิธีการ ฉีดน้ำยาตัวอย่างผ่านคอลัมน์ DB-
1MS ขนาด 30 เมตร $\times$ 0.25 มิลลิเมตร $\times$ 0.25
ไมโครเมตร โดยตั้งค่าอุณหภูมิของส่วนฉีด (injector)
เท่ากับ 200 องศาเซลเซียส การตรวจสอบโครมาโท
แกรมทำได้โดยใช้เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ ที่ตั้ง
ค่าอุณหภูมิที่ตัวตรวจวัดเท่ากับ 230 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของตู้อบที่ใช้เริ่มจาก 50, 100, 150 และ 200
องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยมีอัตราการเพิ่มขึ้น
ของอุณหภูมิเป็น 10, 2.5 และ 15 องศาเซลเซียส ต่อ
นาที นาน 3, 1, 1 และ 3 นาทีตามลำดับ แก๊สพา
(carrier gas) ที่ใช้เป็นแก๊สฮีเลียมซึ่งมีอัตราเร็วเป็น
1.22 มิลลิลิตรต่อนาที แรงดันบรรยากาศที่ 69.4 กิโล
พาสคาล และอัตราการแยก (split ratio) ที่อัตราส่วน
1:100 การค้นหาส่วนยอดที่พบ (peak found)
เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NIST ที่มีในเครื่อง
แมสสเปกโตรมิเตอร์

1.2 การละลายด้วย 85%เอทานอล³⁶

ทดสอบการละลายของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยด้วย 85% เอทานอล โดยเริ่มจากอัตราส่วน 1:1 หากพบว่าสารละลายขุ่น ให้เพิ่มปริมาณตัวทำละลาย บันทึกค่าการละลายที่ทำให้เกิดสารละลายใส

1.3 ความหนาแน่นสัมพัทธ์³⁷⁻³⁸

ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density) เป็นเอกลักษณ์ของตัวอย่างที่เป็นของเหลว ความหนาแน่นสัมพัทธ์ของตัวอย่าง คืออัตราส่วนของมวลของตัวอย่างต่อมวลของน้ำกลั่นโดยเปรียบเทียบในปริมาตรที่เท่ากันของตัวอย่างและน้ำกลั่น โดยใช้ขวดชั่งฟิโคนมิเตอร์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาคำนวณหาความหนาแน่นสัมพัทธ์ ดังนี้

ความหนาแน่นสัมพัทธ์ของตัวอย่าง

$$= \frac{\text{น้ำหนักของตัวอย่างและภาชนะ} - \text{น้ำหนักภาชนะ}}{\text{น้ำหนักของน้ำกลั่นและภาชนะ} - \text{น้ำหนักภาชนะ}}$$

1.4 ค่าดัชนีหักเห^{37,39}

ค่าดัชนีหักเหเป็นการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางกายภาพของตัวอย่างที่เป็นของเหลว และทดสอบความบริสุทธิ์ของตัวอย่างโดยใช้เครื่องรีแฟรกโทมิเตอร์ ความยาวคลื่นที่ใช้ในการวัดเป็นแสงโซเดียม D (589.3 นาโนเมตร) และอ่านค่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย⁴⁰

- **การเตรียมสารละลายควบคุมบวก** (positive control) เตรียมสารละลายวิตามินซี ที่มีความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใน 50% เอทานอล และเจือจางให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56, 5.12 และ 10.24 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

- การเตรียมสารละลายตัวอย่าง เตรียมสารละลายตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเอทานอล และตัวอย่างที่เป็นสารสกัดน้ำเตรียมให้มีความเข้มข้น 0.22 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใน 50% เอทานอล

- **การเตรียมสารละลายดีพีพีเอช** เตรียมสารละลายดีพีพีเอช ให้มีความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ ในเอทานอล

วิธีการ เตรียมสารละลายตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยทุกตัวอย่างยกเว้นน้ำมันมณฑาแดงและพลูให้เจือจางด้วยเอทานอลและมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 และ 12.8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างแต่ละขวด 5.0 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายดีพีพีเอช จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในตู้ที่บแสงเป็นเวลา 30 นาที ส่วนน้ำมันมณฑาแดงและน้ำมันพลู ให้เจือจางด้วยเอทานอลและมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.016, 0.032, 0.064, 0.128, 0.256 และ 0.512 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับสารละลายตัวอย่างที่เป็นสารสกัดน้ำ เตรียมสารละลายเจือจางให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วย 50% เอทานอล แล้วทำการทดสอบเช่นเดียวกับข้างต้น สารละลายควบคุม (control) เตรียมโดยใช้สารละลายดีพีพีเอช 5.0 มิลลิลิตร และเอทานอล 5.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 30 นาที สำหรับสารละลายควบคุมบวก ใช้สารละลายวิตามินซีที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำไปเติมสารละลายดีพีพีเอชเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่าง จากนั้นนำสารละลายตัวอย่าง สารละลายควบคุม และสารละลายควบคุมบวกมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิส สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รวม 3 ครั้ง หา

ค่าเฉลี่ยที่วัดได้ แล้วนำไปคำนวณตามสมการ

การคำนวณ

นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลดีฟิฟิเอซ ดังนี้

Radical scavenging activity (%)

$$= \{ (OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}) / OD_{\text{control}} \} \times 100$$

OD_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายควบคุม

OD_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายควบคุมบวก

นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟที่มีแกน Y แสดงฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่มีหน่วยเป็นร้อยละ [Radical scavenging activity, %] และแกน X แสดงค่าความเข้มข้นเป็นลอจ (Log C, ไมโครลิตร/มิลลิลิตร สำหรับน้ำมันหอมระเหยหรือ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับสารสกัดน้ำ) คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอซที่ร้อยละ 50 (Log IC₅₀) โดยใช้โปรแกรมปริซึม (prism) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง ทำโดยนำน้ำมันหอมระเหยไปทดสอบด้วยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ (2) แต่นำไปตรวจสอบโดยการพ่นด้วยน้ำยาดีฟิฟิเอซ โดยใช้ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ทั้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปตรวจสอบด้วยการดูภายใต้แสงมองเห็นได้ (visible light) สังเกตผลภายใน 30 นาที ซึ่งหากมีองค์ประกอบทางเคมีที่ยับยั้งอนุมูลดีฟิฟิเอซ จะพบว่าการเกิดจุดไม่มีสีบนพื้นสีม่วง

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเอชไอวี (Anti-Human Immunodeficiency Virus, HIV)⁴¹

ตัวอย่างสารสกัดน้ำถูกส่งไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอดส์ที่ฝ่ายปฏิบัติการด้านเชื้ออันตรายสูงและภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อเอชไอวี ด้วยวิธี Immunofluorescence Assay หรือ HIV-1 p24 antigen ELISA detection เซลล์ที่ใช้ในการทดสอบเชื้อเอชไอวี คือ MT4 cells ซึ่งเป็น HTLV-1 carrying adult T-cell leukemia cell line และเซลล์ที่ใช้ในเตรียมไวรัส คือ MOLT-4 cells ซึ่งเป็น acute lymphocytic leukemia-derived HTLV-1 negative T-cell line วิธีการทดสอบทำโดยเจือจางสารสกัดน้ำโดยใช้ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีค่าร้อยละของเซลล์ที่หลุดไปจากเซลล์ควบคุมน้อยกว่า 10%) ผสมกับไวรัสเอชไอวีที่มีค่า HIV infectivity titer $> 1 \times 10^4$ TCID₅₀/มิลลิลิตร ซึ่งนำมาเจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำเลี้ยงเซลล์ที่มี 20% FBS โดยผสมสารสกัด 100 ไมโครลิตรกับไวรัสแต่ละความเจือจางของไวรัส 100 ไมโครลิตรที่เติมไว้ในถาด 96 หลุม ความเจือจางละ 4 หลุม ขณะเดียวกันผสมเซลล์เลี้ยง MT-4 (1×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร) กับน้ำยาสารสกัดสมุนไพรในหลอดทดสอบด้วย แล้วนำถาด 96 หลุมและหลอดทดสอบไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, 5% คาร์บอนไดออกไซด์ นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมเซลล์ 50 ไมโครลิตรที่ผสมกับสารสกัดสมุนไพรลงไปทุกหลุม นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, 5% คาร์บอนไดออกไซด์ นาน 5 วัน แล้วในเซลล์ในแต่ละหลุมมาทดสอบหา HIV antigen ด้วยวิธี Immunofluorescence Assay คำนวณหาปริมาณของไวรัส มีค่าเป็น TCID₅₀/มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับปริมาณไวรัสที่ผสมกับเซลล์แต่ไม่มีสารสกัดสมุนไพร (virus control) และคำนวณปริมาณไวรัสที่ลดลงจาก virus control (%reduction of HIV infectivity) สารสกัดสมุนไพรที่มี

ฤทธิ์ยับยั้งไวรัสได้มากกว่าร้อยละ 90 ถือว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเอชไอวีได้ ซึ่งคำนวณได้จากสมการดังนี้

%Reduction of HIV Infectivity

$$= \frac{\text{TCID}_{50}/\text{ml of virus control} - \text{TCID}_{50}/\text{ml of sample} \times 100}{\text{TCID}_{50}/\text{ml of virus control}}$$

ผลการศึกษา

จากผลการสกัดสมุนไพร 12 ชนิด จาก 9 วงศ์ ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์และส่วนที่ใช้แสดงในตารางที่ 1 และนำมาเตรียมน้ำมันหอมระเหยด้วยการกลั่นด้วยน้ำโดยใช้วิธี cleavenger และนำสมุนไพรสดที่สกัดน้ำมันออกมาเตรียมสารสกัดน้ำต่อด้วยวิธีการต้มในน้ำและการระเหิดให้แห้งด้วยความเย็น (freeze-dried

method) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส โดยมีค่าร้อยละของผลผลิตน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นด้วยน้ำจากตัวอย่างสดและสารสกัดน้ำ (% yield) แสดงในตารางที่ 2 พบว่า สมุนไพรสดที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากน้อยที่สุดไปมากที่สุดในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 0.04-3.16 โดยปริมาตร/น้ำหนัก คือ ใบหนุमान ประสานกาย, ส่วนเหนือดินสาบเสือ, ใบประยงค์ < ใบแก้ว, ส่วนเหนือดินผักแปม < ใบมณฑาแดง < ใบฝรั่ง < เหง้าขมิ้นชัน < เหง้ามหาหงส์ < ใบพลู < ใบเสมีด < ผลตะไคร้ต้น ตามลำดับ และสมุนไพรสดที่มีปริมาณสารสกัดน้ำจากน้อยที่สุดไปมากที่สุดในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 0.38-5.20 โดยน้ำหนัก คือ ส่วนเหนือดินผักแปม < ใบหนุमानประสานกาย

ตารางที่ 1 พืชสมุนไพรและส่วนที่ใช้นำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดด้วยน้ำ

ลำดับที่	ชื่อไทย	ชื่ออังกฤษ	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้ (สด)	แหล่งที่มา
1	ผักแปม	Phak Pam	<i>Eleutherococcus</i> sp.	Araliaceae	ส่วนเหนือดิน	เชียงใหม่
2	หนุमान	Hanuman	<i>Schefflera leucantha</i> R.Vig.	Araliaceae	ใบ	เพชรบุรี
	ประสานกาย	Prasan Kai				
3	สาบเสือ	Sap suea	<i>Chromolaena odoratum</i> (L.) R.M.King & H.Rob.	Compositae	ส่วนเหนือดิน	นนทบุรี
4	ตะไคร้ต้น	Ta Khrai Ton	<i>Litsia cubeba</i> (Lour.) Pers.	Lauraceae	ผล	เพชรบูรณ์
5	มณฑาแดง/ มณฑาดอย/ มณฑาป่า	Montha Dang	<i>Manglietia garrettii</i> Craib	Magnoliaceae	ใบ	เชียงใหม่
6	ประยงค์	Prayong	<i>Aglaia odorata</i> Lour.	Meliaceae	ใบ	นนทบุรี
7	เสมีด	Cajuput Tree	<i>Melaleuca cajuputi</i> Powell	Myrtaceae	ใบ	จันทบุรี
8	ฝรั่ง	Guava	<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae	ใบ	นนทบุรี
9	พลู	Betel Pepper	<i>Piper betle</i> L.	Piperaceae	ใบ	ราชบุรี
10	แก้ว	Orange Jasmine	<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack	Rutaceae	ใบ	นนทบุรี
11	ขมิ้นชัน	Turmeric	<i>Curcuma longa</i> L.	Zingiberaceae	เหง้า	จันทบุรี
12	มหาหงส์	Butterfly Lily	<i>Hedychium coronarium</i> J. Konig	Zingiberaceae	เหง้า	จันทบุรี

ตารางที่ 2 ค่าร้อยละของผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดด้วยน้ำและคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของน้ำมันหอมระเหย

ชนิดของสมุนไพร	ค่าร้อยละของผลผลิตน้ำมันหอมระเหย (% โดยปริมาตร/น้ำหนัก), สารสกัดด้วยน้ำ (% โดยน้ำหนัก)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหย	ความสามารถของการละลายใน 85% เอทานอล	ค่าเฉลี่ยของค่าดัชนีหักเหที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (n*=3)	ค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (n*=3)
ผักแปม	0.05, 0.38	ใส สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว	Slightly soluble (1:450)	1.4810	0.8737
หนุมาน	0.04, 0.39	ใส เหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว	Slightly soluble (1:500)	1.5054	0.9296
ประสานกาย	0.04, 2.63	ใส สีน้ำตาลแดง มีกลิ่นเฉพาะตัว	Very slightly soluble (1:7500)	1.5096	0.9289
ตะไคร้ต้น	3.16, -**	ใส ไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะตัว	Freely soluble (1:1)	1.4880	0.8836
มณฑาแดง	0.07, 0.84	ใส สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว	Sparingly soluble (1:80)	1.4964	0.9256
ประยงค์	0.04, 2.68	ใส สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว	Very slightly soluble (1:4500)	1.5118	0.9343
เสมีด	0.43, 1.06	ใส ไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะตัว	Freely soluble (1:8)	1.5012	0.9416
ฝรั่ง	0.16, 5.20	ใส สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว	Freely soluble (1:3)	1.4981	0.9462
พลู	0.37, 3.22	ใส สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว	Freely soluble (1:1)	1.5168	1.0522
แก้ว	0.05, 1.68	ใส สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเฉพาะตัว	Slightly soluble (1:900)	1.5069	0.9094
ขมิ้นชัน	0.18, 2.08	ใส สีเหลือง มีกลิ่นเฉพาะตัว	Freely soluble (1:1)	1.5071	0.9282
มหาหงส์	0.20, -**	ใส สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นฉุนเล็กน้อย	Freely soluble (1:2)	1.4700	0.8965

* n = จำนวนครั้งที่ทำซ้ำ ** เนื่องจากมีตัวอย่างไม่เพียงพอจึงไม่ได้เตรียมสารสกัดน้ำ

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของน้ำมันหอมระเหย

ลำดับที่	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	สีของสารละลายที่เกิดจากการทดสอบด้วยสารละลายวานิลลิน-กรดกำมะถัน
1	ผักแปม	น้ำเงินอ่อน
2	หนุมานประสานกาย	ม่วง
3	สาบเสือ	ม่วงอมน้ำเงิน
4	ตะไคร้ต้น	เขียวอ่อน
5	มณฑาแดง	ม่วง
6	ประยงค์	ม่วงอ่อนปนแดง
7	เสม็ด	น้ำเงินอ่อน
8	ฝรั่ง	ม่วงอมน้ำเงิน
9	พลู	ม่วงอ่อน
10	แก้ว	ม่วงอมน้ำเงิน
11	ขมิ้นชัน	ม่วงแดง
12	มหาหงส์	น้ำเงินอ่อน

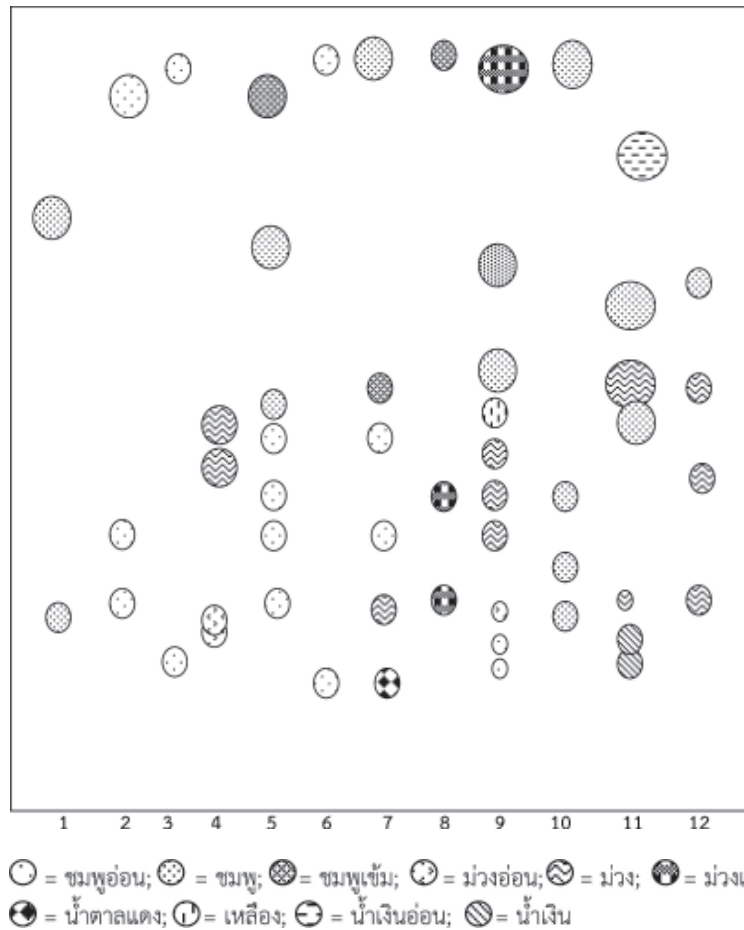
< ใบมณฑาแดง < ใบเสม็ด < ใบแก้ว < เหง้าขมิ้นชัน < ส่วนเหนือดินสาบเสือ < ใบประยงค์ < ใบพลู < ใบฝรั่ง ตามลำดับ

จากผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ซึ่งทดสอบ 3 วิธี ได้แก่ การตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี ทดสอบได้โดยการหยดสารละลายวานิลลินและกรดกำมะถันพบว่าได้สีต่าง ๆ กัน ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางของน้ำมันหอมระเหยโดยพ่นด้วยน้ำยาอะนิลีนไฮดรอกไซด์-กรดกำมะถัน แล้วนำไปอังบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส และสังเกตสีที่เกิดขึ้นด้วยแสงมองเห็นได้ ผลการวิเคราะห์สีและค่า hR_f ขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแสดงในรูปที่ 2 ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเมื่อตรวจสอบด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี โดยการเปรียบเทียบพีคจากฐานข้อมูล NIST

แสดงในรูปที่ 3 ตารางที่ 5

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ การละลายใน 85% เอทานอล การทดสอบค่าดัชนีหักเห และความหนาแน่นสัมพัทธ์แสดงในตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ซึ่งตรวจสอบด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายควบคุมและสารละลายควบคุมบวก (รูปที่ 4-5, ตารางที่ 6) และผลการตรวจสอบด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางด้วยการหยดสารละลายตัวอย่างที่เป็นน้ำมันหอมระเหยบนแผ่น โครมาโทกราฟีผิวบางแล้วพ่นด้วยน้ำยาดีพีพีเอช พบจุดไม่มีสีบนพื้นสีม่วง (รูปที่ 6, ตารางที่ 7)

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอดส์ของสารสกัดน้ำโดยการยับยั้งเชื้อเอชไอวี-1 ในหลอดทดลอง โดยทดสอบด้วยวิธี Immunofluorescence Assay พบ



1 = ผักแปม; 2 = หนุมานประสานกาย; 3 = สาบเสือ; 4 = ตะไคร้ตัน; 5 = มณฑาแดง; 6 = ประยงค์; 7 = ฝรั่ง; 8 = พลุ; 9 = เส่มีด; 10 = แก้ว; 11 = ขมิ้นชัน; 12 = มหาหงส์

รูปที่ 2 ลักษณะทางโครมาโทแกรมผิวบางของสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ในน้ำมันหอมระเหยเมื่อใช้เฮกเซน/เอทิลอะซิเตท/กรดอะซิติก (90:10:1) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่และพ่นด้วยน้ำยาอะนีสลิตไฮด์-กรดกำมะถันแล้วอังให้ร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีแล้วดูภายใต้แสงมองเห็นได้

ว่ามีเพียงสารสกัดน้ำ 2 ชนิดที่แสดงฤทธิ์ได้แก่ สารสกัดใบเสมีด และใบฝรั่ง โดยมีค่า IC_{90} เท่ากับ 15 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดอื่น ๆ ที่ความเข้มข้นสูงสุด 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อเอชไอวี-1 ได้ถึงร้อยละ 90 จึงถือว่าไม่ให้ผลบวกในการทดสอบนี้ ในการวิเคราะห์ฤทธิ์นี้ใช้ยาเอแซดที (azidothymidine; zidovudine; AZT) เป็นสารควบคุมบวก โดยมีค่า

IC_{90} เท่ากับ 0.26 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

วิจารณ์

ในงานวิจัยนี้ ได้คัดเลือกพืชสมุนไพรไทยจากวงศ์ต่าง ๆ ที่มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยและเป็นสมุนไพรที่หาได้ไม่ยากในท้องถิ่น โดยได้เลือกตัวอย่างที่เป็นสมุนไพรสดรวม 12 ชนิด จาก 9 วงศ์ ได้แก่ ผักแปม (ส่วนเหนือดิน), หนุมานประสานกาย

ตารางที่ 4 ค่า hR_f และผลการตรวจสอบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ในน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง เมื่อใช้เฮกเซน: เอทิลอะซิเตท: กรดอะซิติก (90:10:1) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่แล้วพ่นด้วยน้ำยาอะนีสล-ดีไฮด์-กรดกำมะถัน อังให้ร้อนด้วยเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส และสังเกตด้วยแสงมองเห็นได้

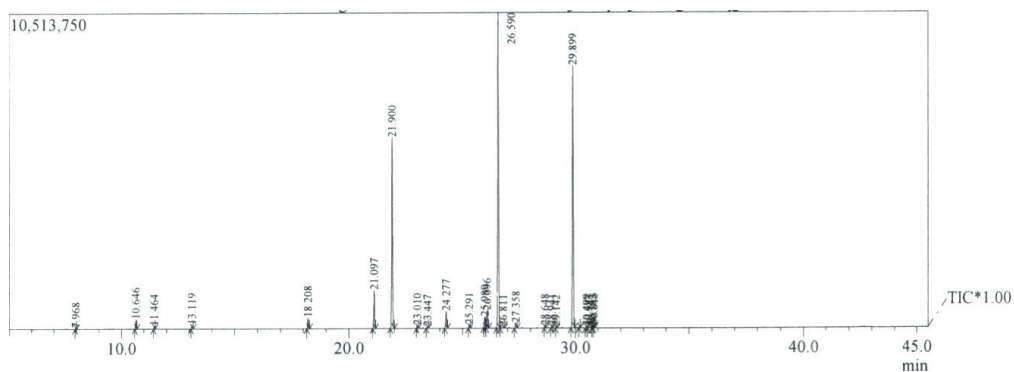
ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	จุดที่	ค่า hR_f	สี
1. ผักแปม	1	12	ชมพู
	2	63	ชมพู
2. หนุমানประสานกาย	1	15	ชมพูอ่อน
	2	21	ชมพูอ่อน
	3	88	ชมพูอ่อน
3. สدابเสื่อ	1	19	ชมพูอ่อน
	2	89	ชมพูอ่อน
4. ตะไคร้ต้น	1	10	ม่วงอ่อน
	2	15	ม่วงอ่อน
	3	33	ม่วง
	4	37	ม่วง
5. มณฑาแดง	1	16	ชมพูอ่อน
	2	23	ชมพูอ่อน
	3	27	ชมพูอ่อน
	4	35	ชมพูอ่อน
	5	43	ชมพู
	6	60	ชมพู
	7	87	ชมพูเข้ม
6. ประยงค์	1	19	ชมพูอ่อน
	2	89	ชมพูอ่อน
7. ฝรั่ง	1	19	น้ำตาลแดง
	2	24	ชมพูอ่อน
	3	29	ม่วง
	4	34	ชมพูอ่อน
	5	45	ชมพูเข้ม
	6	90	ชมพู
8. พลู	1	18	ม่วงเข้ม
	2	29	ม่วงเข้ม
	3	90	ชมพูเข้ม
9. เสมีด	1	3	ชมพูอ่อน
	2	11	ชมพูอ่อน
	3	17	ม่วงอ่อน
	4	23	ม่วงเข้ม

ตารางที่ 4(ต่อ) ค่า hR_f และผลการตรวจสอบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ในน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง เมื่อใช้เฮกเซน: เอทิลอะซิเตท: กรดอะซิติก (90:10:1) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่แล้วพ่นด้วยน้ำยาอะนีสล-ดีไฮด์-กรดกำมะถัน อังให้ร้อนด้วยเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส และสังเกตด้วยแสงมองเห็นได้

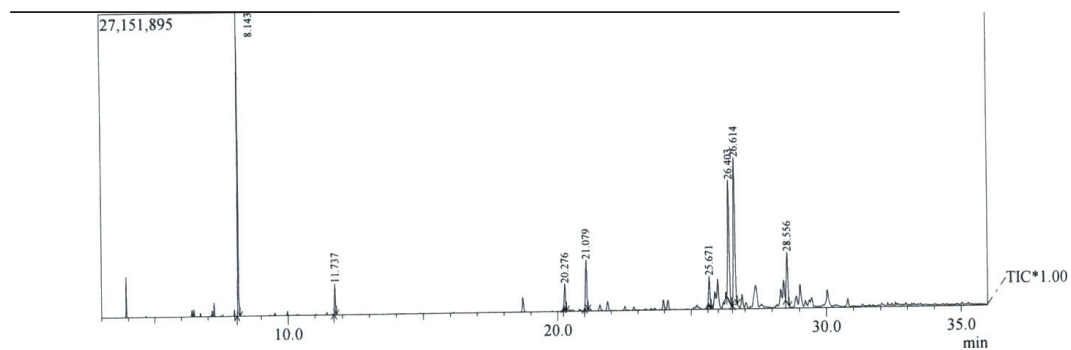
ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	จุดที่	ค่า hR_f	สี
10. แก้ว	5	28	ม่วงเข้ม
	6	33	ม่วงเข้ม
	7	39	เหลือง
	8	47	ชมพู
	9	58	ชมพูเข้ม
	10	87	ม่วงเข้ม
	1	19	ชมพู
	2	23	ชมพู
	3	28	ชมพู
	4	90	ชมพู
11. ขมิ้นชัน	1	8	น้ำเงิน
	2	12	น้ำเงิน
	3	18	ม่วง
	4	38	ชมพู
	5	43	ม่วง
	6	53	ชมพู
	7	77	น้ำเงินอ่อน
12. มหาหงส์	1	19	ม่วง
	2	31	ม่วง
	3	46	ม่วง
	4	56	ชมพู

(ใบ), สาบเสือ (ส่วนเหนือดิน), ตะไคร้ต้น (ผล), มณฑาแดง (ใบ), ประยงค์ (ใบ), เสมีด (ใบ), ฝรั่ง (ใบ), พลู (ใบ), แก้ว (ใบ), ขมิ้นชัน (เหง้า) และมหาหงส์ (เหง้า) (ตารางที่ 1) ถูกนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการกลั่นสมุนไพรสดด้วยน้ำ และตัวอย่างสดที่แยกน้ำมันออกแล้วถูกนำมาเตรียมสารสกัดน้ำโดยการต้มกากที่เหลือด้วยน้ำโดยใช้วิธีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่าง

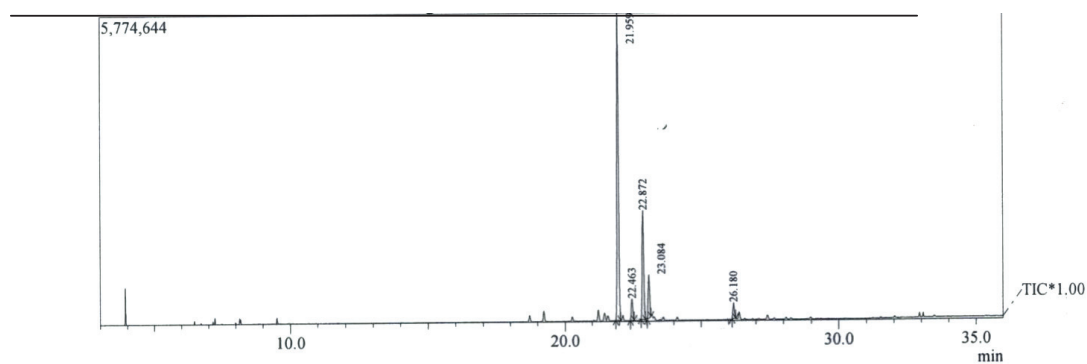
มาระเหิดน้ำให้แห้งด้วยความเย็นที่ -80 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง lyophilizer โดยมีค่าร้อยละของผลผลิตแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งพบว่าสมุนไพรสดที่มีน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด คือ ผลตะไคร้ต้น ซึ่งมีค่าร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 3.16 โดยปริมาตร/น้ำหนัก รองลงมา คือ ใบเสมีด และใบพลู ซึ่งมีค่าร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 0.43 และ 0.37 โดยปริมาตร/น้ำหนัก ตามลำดับ สำหรับสมุนไพรสดที่เตรียมสาร



1



2



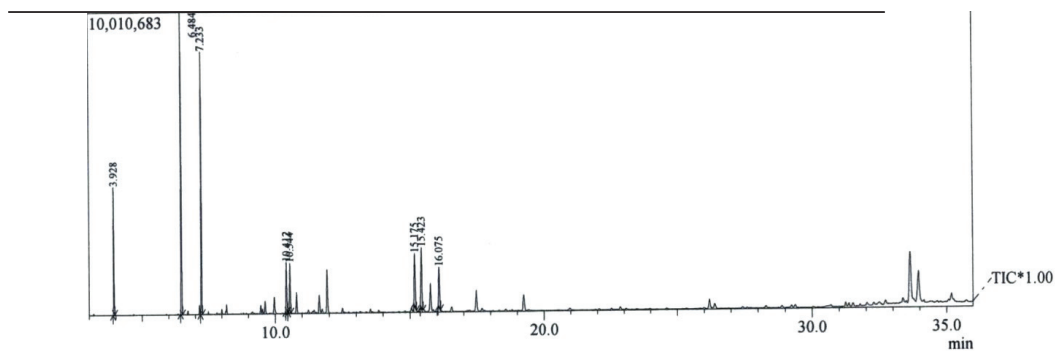
3

รูปที่ 3 ลักษณะโครมาโทแกรมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีของน้ำมันหอมระเหยบางชนิดเมื่อใช้แคปิลลารีคอลัมน์ชนิด DB-1MS

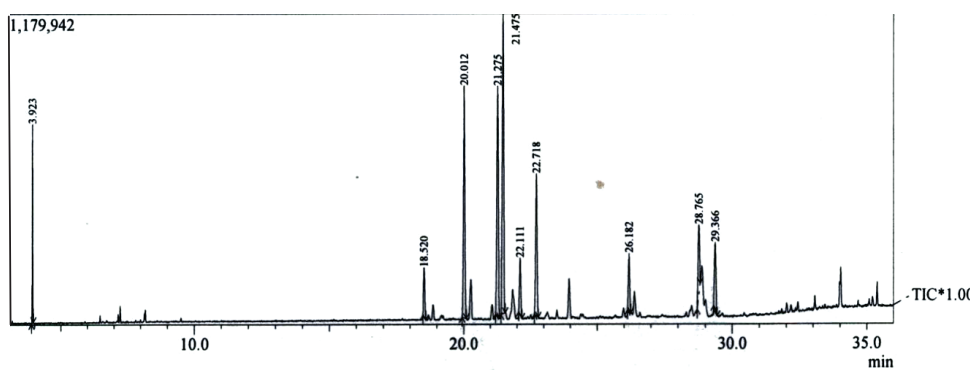
1 = น้ำมันหอมระเหยใบพลู

2 = น้ำมันหอมระเหยใบฝรั่ง

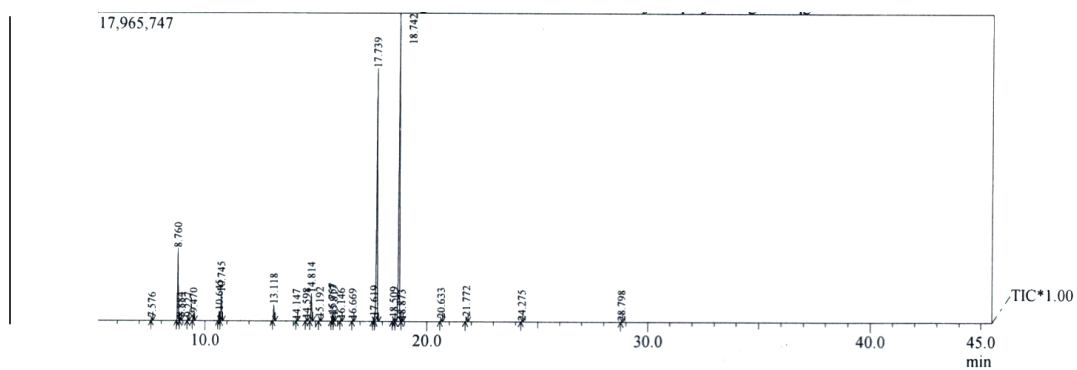
3 = น้ำมันหอมระเหยใบหนุมานประสานกาย



4



5



6

รูปที่ 3(ต่อ) ลักษณะโครมาโทแกรมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีของน้ำมันหอมระเหยบางชนิดเมื่อใช้แคปิลลารีคอลัมน์ชนิด DB-1MS

4 = น้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือดินผักแปม

5 = น้ำมันหอมระเหยใบประยงค์

6 = น้ำมันหอมระเหยเมล็ดตะไคร้ต้น

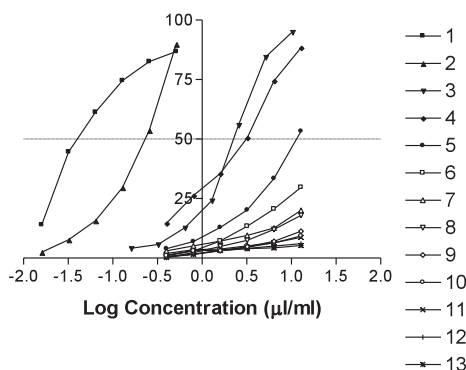
ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี โดยสืบค้นจากฐานข้อมูล NIST

ชนิดของน้ำมัน หอมระเหย	องค์ประกอบทางเคมี (%relative area)
1. ผักแปม	1R- α -pinene (26.56), (-)- β -pinene (23.16), bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1 α ,3 α ,5 α)]- (10.26), limonene epoxide (8.78), 2-pinen-10-ol (6.77), bicyclo[3.1.1] heptan-3-ol, 6, 6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1 α ,3 α ,5 α)]- (6.36), cis-verbenol (6.24)
2. หนุมาน ประสานกาย	azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,7 α ,8a β)]- (62.01), spiro[5.5]undec-2-ene, 3,7,7-trimethyl-11-methylene, (-)- (22.49), naphthalene, 2,3,4,a,5,6-hexahydro-1,4a-dimethyl-7- (1-methylethyl)- (8.23), azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,7 α ,8a β)]- (4.23), naphthalene, 2,3,4,4a,5,6-hexahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)- (3.03)
3. สาบเสือ	caryophyllene (22.01), $\pm$ -trans-nerolidol (21.76), (-)-globulol (6.53), α -cadinol (4.04), τ -cadinol (3.99), germacrene B (3.78), cadina-1,10,4-diene (3.71), naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1(1-methylethyl)-, (1 α ,4 α , 8a α)- (3.23)
4. ตะไคร้ต้น	2,6-octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)- (41.93), 2,6-octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (33.98), 5-hepten-2-one, 6-methyl- (8.03), (R)-(+)-citronellal (3.32), D-limonene (3.15), β -linalool (1.87), eucalyptol (1.13), 1-terpinen-4-ol (0.99), β -myrcene (0.80), cis-geraniol (0.57), 2-isopropenyl-5-methylhex-4-enal (0.62), trans-geraniol (0.46), 2,7-dimethyl-2,7-octanediol (0.38), cis-verbenol (0.35), (-)- β -pinene (0.32), 1,3-heptadiene, 2,3-dimethyl- (0.31), 1R- α -pinene (0.27), isopregol (0.23), limonene oxide, trans- (0.11), trans-p-2,8-menthadien-1-ol (0.09), caryophyllene (0.09), caryophyllene oxide (0.08)
5. มณฑาแดง	caryophyllene (22.01), $\pm$ -trans-nerolidol (21.76), α -caryo-phyllene (13.83), (-)-globulol (6.53), α -cadinol (4.04), τ -cadinol (3.99), germacrene B (3.78), cadina-1(10),4-diene (3.71), naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1(1-methylethyl)-, (1 α ,4 α ,8a α)- (3.23), β -pinene (2.51), caryophyllene oxide (1.92), isocaryophyllene (1.85), 1-naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α ,4 α ,4a β ,8a β)]- (1.73), cubenol (1.72), eucalyptol (1.28), 10s,11s-himachala-(3(12),4-diene (1.03), geraniol acetate (0.61), α -pinene (0.81)
6. ประยงค์	1H-3a,7-methanoazulene, 2,3,6,7,8,8a-hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, (1 α ,3a α ,7a,8a β)-(23.46), 1H-3a,7-methanoazulene, octahydro-3,8,8-trimethyl-6-methylene-, [3R-(3 α ,3a β ,7 β ,8a α)]- (17.97), 1,4-methano-1H-indene, octahydro-4-methyl-8-methylene-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α ,3a β ,4 α ,7 α 7 β)]- (17.96), 1H-cyclopro[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a α ,4a β ,7 α 7a β ,7b α)]- (11.61), longipinane, (E)- (5.50), α -cadinol (5.34), (-)-spathulenol (4.32), spiro[4,5]dec-7-ene,1,8-dimethyl-4-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,4 β ,5 α)]-

ตารางที่ 5(ต่อ) องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี โดยสืบค้นจากฐานข้อมูล NIST

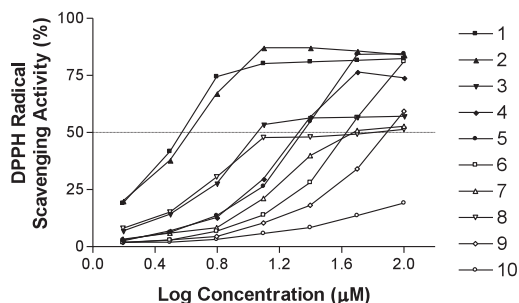
ชนิดของน้ำมัน หอมระเหย	องค์ประกอบทางเคมี (%relative area)
7. เสริมัด	(4.24), ylangene (3.33) 4-carene (17.10), γ -terpinene (13.45), cymene (7.19), unidentified (6.06), α -pinene (4.50), terpinen-4-ol (4.09), caryophyllene (3.18)
8. ฝรั่ง	(-)-globulol (27.62), eucalyptol (22.09), caryophyllene oxide (21.70), tetracyclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)] tridecan-9-ol, 4,4-dimethyl- (8.70), 1H-cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a α , 4a β , 7 α , 7a β , 7b α)]- (7.94), epiglobulol (4.97), caryophyllene (3.76), p-menth-1-en-8-ol, (S)-(-)- (3.23)
9. พลู	3-allyl-6-methoxyphenyl acetate (35.86), 4-allyl-1,2-diacetoxy benzene (28.95), 3-allyl-6-methoxyphenol (20.46), 4-allylphenyl acetate (3.96), 1H,cyclopenta[1,3] cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3a α , 3b β)] (2.03), caryophyllene (1.88), naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6, 8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methyl ethyl)-, (1 α , 4a α , 8a α)- (1.19), 4-allylphenyl acetate (1.02), eucalyptol (0.89), naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α , 4a β , 8a α)]- (0.54), α -caryophyllene (0.37), linalool (0.35), copaene (0.31), 1,3,6-octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-(0.25), 1,5-cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methyl ethenyl)-, [S-(Z, E)]-, (0.20), α -cadinol (0.30), 1,3,6-octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-(0.25), τ -muurolol (0.21), 1,5-cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethenyl)-, [S-(Z, E)]-, (0.20), 1H-cycloprop[e]azulene-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methyl ene-, [1aR-(1a α , 4a α , 7 β , 7a β , 7b α)]- (0.19), (-)-globulol (0.19), bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene- (0.18), 1,5-cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methyl ethenyl)-, [S-(Z, E)]- (0.17), camphene (0.08)
10. แก้ว	caryophyllene (34.65), germacrene D (24.59), cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)- (11.58), α -caryophyllene (4.90), germacrene B (4.80), 1H-cyclopenta[1,3]-cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4(1-methylethyl)-, [3aS-(3a α , 3b β)]- (3.65), τ -cadinol (3.10), caryophyllene oxide (2.26), α -cadinol (1.97), 1H-cycloprop[e]azulene-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a α , 4a α , 7 β , 7a β , 7b α)]- (1.78), cadina-1(10), 4-diene (1.72), τ -cadinol (1.19), cyclohexanemethanol, 4-ethenyl- α , α , 4-tri methylethenyl)-, [1R-(1 α , 3 α , 4 β)]- (1.05), copaene (0.85), cubenol (0.62), cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α , 2 β , 4 β)]- (0.50), (-)- β -pinene (0.20), eucalyptol (0.19), d-limonene (0.15)
11. ขมิ้นชัน	ar-turmerone (35.45), eucalyptol (10.68), curlone (9.07), benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)- (6.51), (+)-4-carene (2.38)
12. มหาหงส์	eucalyptol (25.74), α -terpineol (24.14), 1-terpinen-4-ol (8.75), borneol (2.69)

DPPH Radical Scavenging Activity (%)



1 = พลู; 2 = มณฑาแดง; 3 = วิตามินซี; 4 = เสม็ด; 5 = ตะไคร้ต้น; 6 = ฝรั่ง; 7 = ขมิ้นชัน; 8 = แก้ว; 9 = หนุ่ฆานประสานกาย; 10 = ผักแปม; 11 = มหาหงส์; 12 = สาบเสื่อ; 13 = ประยงค์

รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิพีเอช (DPPH Radical Scavenging Activity, %) และความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย (Log Concentration, ไมโครลิตร/มิลลิลิตร)

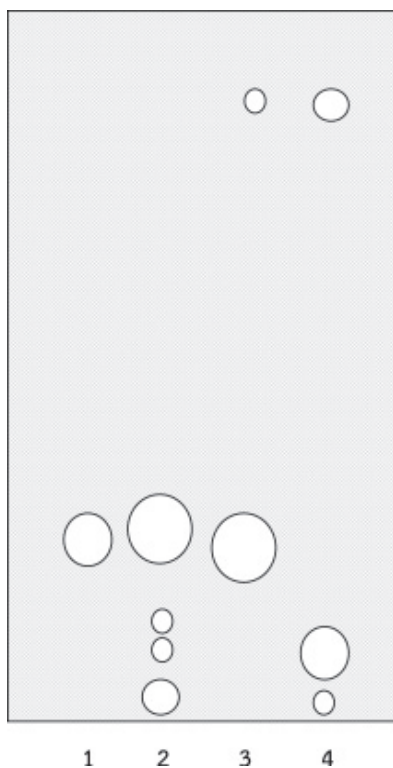


1 = เสม็ด; 2 = ฝรั่ง; 3 = ผักแปม; 4 = ประยงค์; 5 = สาบเสื่อ; 6 = หนุ่ฆานประสานกาย; 7 = มณฑาแดง; 8 = พลู; 9 = แก้ว; 10 = ขมิ้นชัน

รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิพีเอช (DPPH Radical Scavenging Activity, %) และความเข้มข้นของสารสกัดน้ำ (Log Concentration, ไมโครโมลาร์)

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีฟิพีเอชของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดด้วยน้ำจากสมุนไพรไทย

ลำดับที่	ชื่อสมุนไพร	ค่า Log ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (Log IC ₅₀) (ไมโครลิตร/มิลลิลิตร)	ค่า Log ความเข้มข้นของสารสกัดน้ำที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 % (Log IC ₅₀) (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
1	ผักแปม	>1.5	1.05
2	หนุ่ฆานประสานกาย	>1.5	1.63
3	สาบเสื่อ	>1.5	1.34
4	ตะไคร้ต้น	1.06	-
5	มณฑาแดง	-0.64	1.68
6	ประยงค์	>1.5	1.32
7	เสม็ด	0.51	0.57
8	ฝรั่ง	>1.5	0.62
9	พลู	-1.40	1.8
10	แก้ว	>1.5	1.89
11	ขมิ้นชัน	>1.5	>2
12	มหาหงส์	>1.5	-
13	วิตามินซี	0.19	0.19



1 = β -caryophyllene; 2 = น้ำมันใบพลู; 3 = น้ำมันใบเสมีด;
4 = น้ำมันใบมณฑาแดง

รูปที่ 6 ลักษณะทางโครมาโทแกรมผิวนางขององค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยเมื่อใช้เฮกเซน/เอทิลอะซิเตท/กรดอะซิติก (90:10:1) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ แล้วพ่นด้วยน้ำยาดีฟิฟิเอช 0.2 โมลาร์

สกัดน้ำได้มากที่สุด คือ ใบฝรั่ง ซึ่งมีค่าร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 5.20 โดยน้ำหนัก รองลงมา คือ ใบพลูและใบประยงค์ ซึ่งมีค่าร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 3.22 และ 2.68 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยทั้งหมดถูกนำมาศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเคมี ได้แก่ การละลายใน 85% เอทานอล ดัชนีหักเห และความหนาแน่นสัมพัทธ์ (ตารางที่ 2) ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี (ตารางที่ 3) วิธี

โครมาโทกราฟีผิวนาง (รูปที่ 2, ตารางที่ 4) และวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี (รูปที่ 3, ตารางที่ 5) พบว่า น้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบทางเคมีประเภทเทอร์ปีนส์จากการให้ผลบวกกับน้ำยาอะนิลีนดีไฮด์-กรดกำมะถัน และผลจากการศึกษาด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 12 ชนิด ซึ่งน้ำมันบางชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีมากถึง 22 ชนิด เช่น น้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต้น ส่วนน้ำมันหอมระเหยบางชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีเพียง 4 ชนิด เช่น น้ำมันหอมระเหยมหาหงส์ ผลจากการศึกษาดังกล่าวของน้ำมันหอมระเหย เป็นการบ่งบอกถึงคุณสมบัติทางกายภาพเคมีและองค์ประกอบทางเคมีซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว และเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมคุณภาพของน้ำมันหอมระเหย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอช ด้วยการวัดค่าการดูด

ตารางที่ 7 ค่า hR_f ของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยเมื่อใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ที่เป็นเฮกเซน: เอทิลอะซิเตท: กรดอะซิติก (90:10:1) และพ่นด้วยน้ำยาดีฟิฟิเอชความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	จุดที่	ค่า hR_f
1. พลู	1	2
	2	11
	3	18
	4	25
2. เสมีด	1	22
	2	88
3. มณฑาแดง	1	1.4
	2	11
	3	88

กลืนแสงด้วยวิธียูวี-วิส สเปกโทรโฟโตเมทรี ของ น้ำมันหอมระเหย เกิดจากอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง ซึ่งสามารถให้ไฮโดรเจนแก่ออนุมูลอิสระ ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) และเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีม่วงเป็นไม่มีสี แล้วนำไปวัดที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายควบคุม โดยใช้วิตามินซีเป็นสารควบคุมบวก (รูปที่ 4, ตารางที่ 6) ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากมากไปน้อย ได้แก่ พลู > มณฑาแดง > เสม็ด > ตะไคร้ต้น > ฝรั่ง โดยน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ได้แก่ น้ำมันใบพลู น้ำมันใบมณฑาแดง และน้ำมันใบเสม็ด โดยมีค่า Log IC_{50} เท่ากับ -1.40, -0.64 และ 0.51 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ หรือคิดเป็น IC_{50} เท่ากับ 0.04, 0.23 และ 3.24 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนวิตามินซีที่ใช้เป็นสารควบคุมบวกมีค่า Log IC_{50} เท่ากับ 0.19 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือคิดเป็น IC_{50} เท่ากับ 1.55 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะเห็นได้ว่า น้ำมันใบพลูและน้ำมันใบมณฑาแดงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าวิตามินซีประมาณ 35 และ 7 เท่า ตามลำดับ เมื่อตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางพบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ให้ผลบวกกับน้ำยาดิฟิฟิเอชชัดเจนโดยเกิดจุดไม่มีสีบนพื้นสีม่วง ได้แก่ น้ำมันใบพลู น้ำมันใบมณฑาแดง และน้ำมันใบเสม็ด (รูปที่ 6) โดยค่า R_f แสดงในตารางที่ 7 จากผลการศึกษาด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรีของน้ำมันหอมระเหยเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า น้ำมันใบพลูซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชดีที่สุด มีองค์ประกอบทางเคมี 20 ชนิด โดยองค์ประกอบหลัก คือ 3-allyl-6-methoxyphenyl ac-

etate (35.86%), 4-allyl-1,2-diacetoxy benzene (28.95%) และ 3-allyl-6-methoxyphenol (20.46%) ส่วนน้ำมันใบมณฑาแดงมีองค์ประกอบทางเคมี 17 ชนิด โดยองค์ประกอบหลัก คือ caryophyllene (22.01%), $\pm$ -trans-nerolidol (21.76%) และ α -caryophyllene (13.83%) น้ำมันใบเสม็ดมีองค์ประกอบทางเคมี 7 ชนิด โดยองค์ประกอบหลัก คือ 4-carene (17.10) และ γ -terpinene (13.45) ซึ่งองค์ประกอบหลักทางเคมีที่กล่าวมาทั้งหมดนั้นไม่มีองค์ประกอบที่เป็นสารฟีนอลิกที่มีกลุ่มไฮดรอกซิล แต่เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันสาบเสือซึ่งมี caryophyllene (22.01%) และ $\pm$ -trans-nerolidol (21.76%) กลับมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชน้อยกว่า ($\text{Log IC}_{50} > 1.5 \mu\text{l/ml}$) ส่วนน้ำมันใบแก้วซึ่งพบว่ามี caryophyllene สูงถึง 34.65% ก็มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอชน้อยกว่า ($\text{Log IC}_{50} > 1.5 \mu\text{l/ml}$) ดังนั้น caryophyllene และ $\pm$ -trans-nerolidol อาจไม่ใช่สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันใบมณฑาแดง สำหรับผลการศึกษาด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบางของน้ำมันหอมระเหยทั้งสามชนิดดังกล่าว พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีจำนวน 2-3 ชนิด ที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีฟิฟิเอช แต่ไม่ทราบว่าเป็นสารใด เนื่องจากไม่ได้ศึกษาการแยกสารและพิสูจน์สูตรโครงสร้างทางเคมี อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ทำให้สามารถคัดกรองตัวอย่างที่น่าสนใจเพื่อนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพิ่มเติม และทำให้ทราบว่าองค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยอาจเกิดจากสารที่มี functional groups อื่น ๆ ที่นอกเหนือจากสารฟีนอลิกที่มีกลุ่มไฮดรอกซิลโดยอาจเกิดจากสารที่มีกลุ่มอัลลิล เช่น 3-allyl-6-methoxyphenyl acetate หรืออาจ

เกิดจากการเสริมฤทธิ์ขององค์ประกอบทางเคมีชนิดต่างๆ ในน้ำมันหอมระเหย หรืออาจเกิดจากองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่น้อย (minor compounds) ในน้ำมันหอมระเหยก็ได้

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของผลผลิตในการน้ำมันหอมระเหยจากพืชสดทั้ง 12 ชนิด นั้น พบว่า ใบพลู ใบมะณฑาแดง ใบเสมีด และผลตะไคร้ต้นสกัดได้น้ำมันหอมระเหย คือร้อยละ 0.37, 0.07, 0.43 และ 3.16 โดยปริมาตร/น้ำหนัก ตามลำดับ โดยฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของใบพลู > ใบมะณฑาแดง > ใบเสมีด > ผลตะไคร้ต้น ตามลำดับ (รูปที่ 4, ตารางที่ 6) ดังนั้น หากต้องการนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพต่าง ๆ นั้น ผลตะไคร้ต้นมีความน่าสนใจ เนื่องจากมีความคุ้มค่าในเชิงพาณิชย์มากกว่า แต่หากต้องการใช้ประโยชน์ในด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฤทธิ์ต้านอักเสบ เนื่องจากมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอักเสบของน้ำมันหอมระเหย⁴² น้ำมันหอมระเหยใบพลูและใบมะณฑาแดงซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีมากและแรงกว่าวิตามินซีประมาณ 35 เท่าและ 7 เท่า ตามลำดับ จึงน่าสนใจที่อาจจะนำไปศึกษาวิจัยและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาต้านอักเสบต่อไป

สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำ 10 ชนิด ที่เตรียมจากการสกัดสมุนไพรสดที่ได้กลั่นน้ำมันหอมระเหยออกแล้วโดยการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชด้วยการวัดการดูดกลืนแสงด้วยวิธียูวี-วิสสเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่า เสมีด > ฝรั่ง > ผักเปม > ประยงค์ > สาบเสือ > หนุมานประสานกาย (รูปที่ 5, ตารางที่ 6) โดยสารสกัดน้ำใบเสมีดและสารสกัดน้ำใบฝรั่ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ซึ่งมีค่า Log

IC₅₀ เท่ากับ 0.57 และ 0.62 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ หรือคิดเป็น IC₅₀ เท่ากับ 3.72 และ 4.17 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดน้ำทั้งหมดถูกนำไปศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ในหลอดทดลองด้วยการการยับยั้งเชื้อ เอชไอวี-1 โดยเกณฑ์ในการตัดสินคือ ไม่ให้ติดเชื้อในเซลล์ที่ใช้ทดสอบได้มากกว่าหรือเท่ากับ 90% ขึ้นไป จึงจะถือว่ามียฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเอชไอวี-1 ได้ ซึ่งผลจากการทดสอบพบว่า มีสารสกัดน้ำเพียง 2 ชนิดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดน้ำใบฝรั่งและสารสกัดน้ำใบเสมีด โดยมีค่า IC₉₀ เท่ากับ 15 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยยาเอแซดที่ใช้เป็นสารควบคุมบวก มีค่า IC₉₀ เท่ากับ 0.26 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้น จากผลการทดสอบนี้จึงมีประโยชน์ในการคัดกรองสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์เพื่อแยกสารบริสุทธิ์ต่อไป จากการทบทวนรายงานการวิจัยพบว่า การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชจะไม่เหมาะสมกับตัวอย่างที่ไม่มีสารฟีนอลิก⁴² ดังนั้น สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ในหลอดทดลองและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชได้ดีในสารสกัดน้ำใบเสมีดและใบฝรั่งอาจเป็นสารกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งน่าจะศึกษาเพิ่มเติมในการแยกสารออกฤทธิ์ต่อไป

ข้อสรุป

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นด้วยน้ำของสมุนไพรสด 12 ชนิดจาก 9 วงศ์ ได้แก่ ผักเปม (ส่วนเหนือดิน), หนุมานประสานกาย (ใบ), สาบเสือ (ส่วนเหนือดิน), ตะไคร้ต้น (ผล), มะณฑาแดง (ใบ), ประยงค์ (ใบ), เสมีด (ใบ), ฝรั่ง (ใบ), พลู (ใบ), แสมนางวาน (ใบ), แก้ว (ใบ) และมหาหงส์ (เหง้า) พบว่า น้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด ที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ได้แก่

น้ำมันใบพลู น้ำมันใบมะณฑาแดง และน้ำมันใบเสมีด โดยมีค่า Log IC_{50} เท่ากับ -1.40, -0.64 และ 0.51 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ หรือคิดเป็น IC_{50} เท่ากับ 0.04, 0.23 และ 3.24 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยอีก 9 ชนิด มีค่า $\text{Log IC}_{50} > 1.5$ ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ส่วนวิตามินซีที่ใช้เป็นสารควบคุมบวกมีค่า Log IC_{50} เท่ากับ 0.19 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือคิดเป็น IC_{50} เท่ากับ 1.55 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ได้ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 12 ชนิดในหัวข้อเอกลักษณ์ทางเคมี ลักษณะทางกายภาพของตัวอย่าง การละลายด้วย 85% เอทานอล ค่าดัชนีหักเห และความหนาแน่นสัมพัทธ์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรดังกล่าวต่อไป สำหรับสารสกัดด้วยน้ำที่เตรียมจากการนำตัวอย่างสมุนไพรสด 10 ชนิด ที่กลั่นน้ำมันหอมระเหยออกแล้วมาต้มกลั่นด้วยน้ำโดยใช้วิธีฟลักซ์แล้วทำให้แห้งด้วยการระเหิดด้วยความเย็นด้วยเครื่อง lyophilizer พบว่าสารสกัดน้ำ 2 ชนิด ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่พีเอชที่ดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดน้ำใบเสมีดและฝรั่ง ซึ่งมีค่า Log IC_{50} เท่ากับ 0.57 และ 0.62 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ หรือคิดเป็น IC_{50} เท่ากับ 3.72 และ 4.17 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ สารสกัดน้ำทั้งหมด ได้ถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเอชไอวี โดยใช้วิธี Immunofluorescence Assay ซึ่งพบว่ามีเพียงสารสกัดน้ำ 2 ชนิดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ได้แก่ สารสกัดน้ำใบฝรั่งและเสมีด ซึ่งมีค่า IC_{90} เท่ากับ 15 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งน่าสนใจที่จะนำไปศึกษาเพื่อแยกสารออกฤทธิ์ต่อไป จากผลการศึกษาดังกล่าวนี้นี้ จะเห็นได้ว่า การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดีที่

พีเอช มีประโยชน์ในการคัดกรองเบื้องต้นเพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ได้ ช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายและช่วยให้รวดเร็วขึ้น รวมทั้งมีประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรและทำให้ทราบถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดด้วยน้ำจากสมุนไพรไทย

เอกสารอ้างอิง

1. วันดี กฤษณพันธ์. พฤษเคมีเบื้องต้น. ใน: วิชาจิรัชยาภูล. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2534. หน้า 25-72, 307.
2. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: บริษัท ดีไซน์ จำกัด; 2546. 72 หน้า.
3. สถาบันวิจัยสมุนไพร สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. สมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงทางการแพทย์ 2: น้ำมันหอมระเหย. กรุงเทพฯ: บริษัท ดีไซน์ จำกัด; 2548. 80 หน้า.
4. Tawatsin A, Wratten SD, Scott RR, Thavara U, Techadamrongsin Y. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *J Vector Ecol.* 2001; 26(1):76-82.
5. Tawatsin A, Thavara U, Chansang U, Chavalittumrong P, Boonruad T, Wongsinkongman P, et al. Field evaluation of deet, Repel Care, and three plant based essential oil repellents against mosquitoes, black flies (Diptera: Simuliidae) and land leeches (Arhynchobdellida: Haemadipsidae) in Thailand. *J Am Mosq Control Assoc.* 2006;22:306-13.
6. Tawatsin A, Asavadachanukorn P, Thavara U, Wongsinkongman P, Bansidhi J, Boonruad T, et al. Repellency of essential oils extracted from plants in Thailand against four mosquito vectors (Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2006;37:915-31.
7. Thavara U, Tawatsin A, Bhakdeenuan P, Wongsinkongman P, Boonruad T, Bansidhi J, et al. Repellent activity of essential oils against cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae, and Blaberidae) in Thailand. *Southeast Asian*

- J Trop Med Public Health. 2007;38:663-73.
8. Trongtokit Y, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Apiwathnasorn C. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytother Res.* 2005;19:303-9.
 9. Choi HS, Song HS, Ukeda H, Sawamura M. Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J Agri Food Chem.* 2000;48:4156-61.
 10. Tominaga H, Kobayashi Y, Goto T, Kasemura K, Nomura M. DPPH Radical-scavenging effect of several phenylpropanoid compounds and their glycoside derivatives. *Yakugaku Zasshi.* 2005;154:371-5.
 11. Rajakumar DV, Rao MN. Dehydrozingerone and isoeugenol as inhibitors of lipid peroxidation and as free radical scavengers. *Biochem Pharmacol.* 1993;46(11):2067-72.
 12. Ko FN, Liao CH, Kuo YH, Lin YL. Antioxidant properties of demethyldiisoeugenol. *Biochim Biophys Acta.* 1995;1258:145-52.
 13. Masuda Y, Kikuzaki H, Hisamoto M, Nakatani N. Antioxidant properties of gingerol related compounds from ginger. *Biofactors.* 2004;21:293-6.
 14. Chen YY, Liu JF, Chen CM, Chao PY, Chang TJ. A Study of the antioxidative and antimutagenic effects of *Houttuynia cordata* Thunb. using an oxidized frying oil-fed model. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2003;49:327-33.
 15. Ito M, Murakami K, Yoshino M. Antioxidant action of eugenol compounds: Role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. *Food Chem Toxicol.* 2005;43:464-6.
 16. Lean LP, Mohamed S. Antioxidative and Antimycotic effects of turmeric, Lemon-grass, betel leaves, clove, black pepper leaves and *Garcinia atrovirens* on butter cakes. *J Sci of Food and Agri.* 1999;79:1817-22.
 17. Ricci D, Fraternali D, Giamperi L, Bucchini A, Epifano F, Burini G, et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *J Ethnopharmacol.* 2005;98:195-200.
 18. Simic A, Sokovic MD, Ristic M, Grujic-Jovanovic G, Vukojevic J, Marin PD. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. *Phytother Res.* 2004;18:713-7.
 19. Sokmen M, Serkedjieva J, Daferra D, Gullace M, Polissiou M, Tepe B, et al. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J Agri Food Chem.* 2004;56:677-81.
 20. Sun W, Xu Z, Wang C, Qu W, Lin C. Study on antioxidant activity of essential oils and its monomer from *Pelargonium graveolens*. *Zhong Yao Cai.* 2005;28:87-9.
 21. Politeo O, Juki M, and Milo M. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Twelve Spice Plants. *Croatica Chemica ACTA.* 2006;79:545-52.
 22. Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules.* 2010;15:9252-87.
 23. Priyadarsini KI, Guha SN, Rao MN. Physico-chemical properties and antioxidant activities of methoxyphenols. *Free Radic Biol Med.* 1998;24:933-41.
 24. Risch SJ, Ho C. Spices flavor chemistry and antioxidant properties. Washington, DC: American Chemical Society; 1997. p.176-87.
 25. Ndhala AR, Finnie JF, Staden JV. In vitro antioxidant properties, HIV-1 reverse transcriptase and acetylcholinesterase inhibitory effects of traditional herbal preparations sold in South Africa. *Molecules.* 2010;15:6888-904.
 26. เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย(ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม 2544). กรุงเทพฯ: ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้; 2544. 810 หน้า
 27. Backer CA, Bakhuizen van Den Brink RC. Rutaceae. *Flora of Java.* 1965;2:107-8.
 28. Backer CA, Bakhuizen van Den Brink RC. Zingiberaceae. *Flora of Java.* 1968;3:64-9.
 29. Burtt BL, Smith RM. Zingiberaceae. A Revised handbook to the Flora of Ceylon. 1983;4:498,508-9.
 30. Kochummen KM. Myrtaceae. *Tree Flora of Malaya.* 1978; 3:248-9.
 31. Mabberley DJ. The Plant-Book. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1997. p. 749.
 32. Parnell J, Chantaranothai P. Myrtaceae. *Flora of Thailand.* 2002;7:801-4.
 33. Jork H, Funk W, Fischer W, Wimmer H. Thin-layer chromatography, reagents and detection methods, Vol. 1a, 1990. p.194-8.
 34. Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. Plant drug analysis; 1990.
 35. Thai Herbal Pharmacopoeia. Vol. 2. Bangkok: Department of Medical Sciences, Public Health Ministry; 2000. p.19, 37.
 36. ISO 875-1999. Essential oils- Evaluation of miscibility in ethanol.
 37. Thai Pharmacopoeia. Vol.1. Bangkok: Department of Medical Sciences, Public Health Ministry; 1987. p.388-91.
 38. ISO279-1998. Essential oils-Determination of relative

- density at 20 °C (Reference Method)
39. ISO280-1998. Essential oils-Determination of refractive index.
 40. Aquino R, Morelli S, Lauro MR, Abdo S, Saija A, Tomaino A. Phenolic constituents and antioxidant activity of an extract of *Anthurium versicolor* leaves. *J Nat Pro.* 2001; 64:1019-23.
 41. รายงานการศึกษาวิจัยโครงการต้านเฮดส์. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2546. หน้า 18-19.
 42. Miguel MG. Ani-oxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules.* 2010;15:9252-87.

Abstract**Free-Radical Scavenging Activities of Essential Oils and Aqueous Extracts from Thai Herbs**

Prapai Wongsinkongman*, Jaree Bansiddhi*, Somchai Sanluangin*, Tanawat Tongchin[†], Panasda Israngkoon Na Ayudhaya[‡], Noppamas Soonthornchareonnon[§]

**Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000.*

[†]Regional Medical Sciences Center 2 Phitsanulok, Department of Medical Sciences, Phitsanulok 65000.

[‡]National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000.

[§]Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400.

Corresponding author: prapai.w@dmsc.mail.go.th

The essential oils obtained by hydrodistillation and the aqueous extracts using freeze-drying apparatus from 12 types (9 families) of fresh Thai herbs were tested for free-radical scavenging activities using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay. It was found that 3 types of essential oils from betel, *monthadaeng* and cajuput leaves exhibited potent free-radical scavenging activities with IC₅₀ at 0.04, 0.23, and 3.24 μ l/ml, respectively. The physico-chemical properties of these oils were studied using identification (color test, thin-layer chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, miscibility in 85% ethanol, relative density, and refractive index). For the aqueous extracts, it was shown that guava and cajuput leaves exhibited the best free-radical scavenging activities with IC₅₀ at 3.72 and 4.17 μ g/ml, respectively, while those from cajuput and guava leaves possessed the anti-HIV-1 activity with IC₉₀ at 15 and 30 μ g/ml, respectively. The results of this study will be useful for further development as herbal products.

Keywords: free-radical scavenging activity, anti-HIV-1 activity, essential oils, herbal aqueous extract