รายงานการวิจัย

ผลของเวลาในการอบแห้งและการกลั่นต่อปริมาณน้ำมันหอมระเหย และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากว่านน้ำ

Effect of drying and distillation time on essential oil content and antioxidant compositions of sweet flag

สุวรรณา ผลใหม่	Suwanna Pholmai
ฐิติกร จันทร์วุ่น	Thitikorn Chanwun
ศิริวรรณ ปานเมือง	Siriwan Panmuang

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2561

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนทุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณเงินรายได้ประจำปี 2561 เป็นงานวิจัยพื้นฐานเพื่อก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการประเมินความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ ตลอดจนผลการวิจัยสามารถใช้เป็นแนวทางส่งเสริมให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ อาหาร เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรม

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้การช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยในการวิจัยครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใยเป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงาน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาส นี้

สุวรรณา ผลใหม่
ฐิติกร จันทร์วุ่น
ศิริวรรณ ปานเมือง
มกราคม 2562

ผลของเวลาในการอบแห้งและการกลั่นต่อปริมาณน้ำมันหอมระเหยและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากว่านน้ำ.

สุวรรณา ผลใหม[1] ฐิติกร จันทร์วุ่น[1] และศิริวรรณ ปานเมือง[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งและการกลั่นน้ำมันหอมระเหยและศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ จากการศึกษาพบว่า ว่านน้ำให้ปริมาณน้ำมันสูงสุดที่ผ่านการอบ 12 ชั่วโมงและกลั่น 9 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณเบต้าแคโรทีน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin Ciocalteu และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด คือ 1.942 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.017 μl/ml (v/v) และปริมาณเบต้าแคโรทีน เท่ากับ 0.49 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาที่จะเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรมาเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

คำสำคัญ : สารต้านอนุมูลอิสระ ว่านน้ำ น้ำมันหอมระเหย

Effect of drying and distillation time on essential oil content and antioxidant compositions of sweet flag

Suwanna Pholmai Thitikorn Chanwun and Siriwan Panmuang

Abstract

The purpose of this study was determined Effect of drying and distillation time on essential oil content and antioxidant compositions of sweet flag oil (*Acorus calamus* L.). The result show that sweet flag had highest oil content at dried 12 hours and distillated 9 hours. Then evaluated antioxidant compositions of sweet flag oil such as total phenolic contents, β-carotene content and antioxidant activities. Total phenolic contents and antioxidant activity of the essential oil were evaluated by using Folin-Ciocalteu method and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay. The result show that essential oil from Sweet flag had total phenolics content is 1.942 mg gallic acid/ml. The antioxidative activity of essential oil against DPPH showing IC_{50} value of 0.017 μl/ml (v/v) and essential oil had total β- carotene content is 0.49 μg/ml. The results provided evidence that the sweet flag oil might indeed be potential sources of natural antioxidant.

Keywords: antioxidant compositions, essential oil, sweet flag

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

กิตติกรรมประกาศ ก
บทคัดย่อ ข
Abstract ค
สารบัญ ง
สารบัญตาราง จ
สารบัญภาพ ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ช
บทที่ 1 บทนำ 1
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงานวิจัย 27
บทที่ 3 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล 29
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 33
เอกสารอ้างอิง 34
ภาคผนวก 38

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1.1 ชนิดและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหย 7
ตารางที่ 1.2 การรักษาอาการต่าง ๆ ของน้ำมันหอมระเหย 25
ตารางที่ 3.1 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยของว่านน้ำที่ผ่านการอบที่เวลาต่าง ๆ 29
ตารางที่ 3.2 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยของว่านน้ำที่ผ่านกลั่นที่เวลาต่าง ๆ 29
ตารางที่ 3.3 ปริมาณเบต้าแคโรทีน 30
ตารางที่ 3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 31
ตารางที่ 3.5 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 32

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของสารธรรมชาติในน้ำมันหอมระเหยจากพืช	5
ภาพที่ 1.2 isoprenoid pathway	6
ภาพที่ 1.3 โครงสร้างทางเคมีของ BHA	14
ภาพที่ 1.4 โครงสร้างทางเคมีของ BHT	14
ภาพที่ 1.5 โครงสร้างทางเคมีของ trolox	14
ภาพที่ 1.6 โครงสร้างทางเคมีของ gallic acid	15
ภาพที่ 1.7 โครงสร้างทางเคมีของ quercetin	15
ภาพที่ 1.8 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก	17
ภาพที่ 1.9 โครงสร้างทางเคมีของฟลาวาโนน (flavanols)	18
ภาพที่ 1.10 โครงสร้างทางเคมีของฟลาแวน (flanvanes)	18
ภาพที่ 1.11 โครงสร้างทางเคมีของฟลาวานอล (flavanols)	18
ภาพที่ 1.12 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอล (flavonols)	18
ภาพที่ 1.13 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวน (flavonoes)	19
ภาพที่ 1.14 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	19
ภาพที่ 1.15 ปฏิกิริยาของ ABTS	21
ภาพที่ 1.16 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟีนอลิก	22
ภาพที่ 1.17 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์	23
ภาพที่ 1.18 กลไกการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase	23
ภาพที่ 1.19 โครงสร้างปฏิกิริยารีดอกซ์ของวงแหวนควิโนน	24

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

โรคหลายชนิดเกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการเสื่อมทำลายของเซลล์และอวัยวะต่าง ๆ เกิดจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งอนุมูลอิสระนี้สามารถเกิดขึ้นได้เอง เมื่อร่างกายได้รับสารอินทรีย์บางชนิดและในขณะที่มีออกซิเจนจะทำให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันขึ้นได้เอง เรียกว่า ออโทออกซิเดชัน (autooxidation) การเกิดอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากโมเลกุลที่เป็นสารตั้งต้นได้รับความร้อน แสง หรืออิเล็กตรอน จากโมเลกุลที่เป็นสารรีดิวซิง (reducing agent) ถ้าร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระเพิ่มและสะสมในร่างกายมาก ก็ก่อให้เกิดความเสียหายและอันตรายต่อร่างกาย นำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพของโรคบางโรคได้หรือทำให้เซลล์ผิดปกติ โรคที่เกิดจากร่างกายมีอนุมูลอิสระสะสมในระดับสูง เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือด โรคหัวใจ โรคข้ออักเสบ โรคแก่ก่อนวัย โรคอัลไซเมอร์ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันโรคต่าง ๆ ข้างต้นได้ สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี และสารกลุ่มฟีนอลิก

ในปัจจุบันประเทศไทยจึงมีการนำเข้าน้ำมันหอมระเหยสูงถึง 3,600 ล้านบาทต่อปี เนื่องจากการผลิตน้ำมันหอมระเหยของไทยเป็นที่ยอมรับยังมีน้อย ผู้ผลิตยังไม่เข้าใจถึงกระบวนการผลิต ตลอดจนการควบคุมคุณภาพอย่างแท้จริงทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของตลาดต่างประเทศ ดังนั้น การส่งเสริมการผลิตน้ำมันหอมระเหยอย่างจริงจัง ทั้งในด้านการวิจัยและพัฒนาการผลิตเพื่อการส่งออกของประเทศ การตรวจสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารจึงนับเป็นเรื่องจำเป็นที่จะช่วยเพิ่มแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานจึงเป็นสิ่งสำคัญยิ่ง

น้ำมันหอมระเหยเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากพืช มีกลิ่นหอมและระเหยง่ายสามารถสกัดจากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ดอก แก่น ลำต้น ใบ ราก และผล ด้วยวิธีการกลั่นหรือวิธีอื่น ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน น้ำมันหอมระเหยถูกนำมาใช้ในส่วนผสมของน้ำหอม การรักษาโรคทางร่างกายและจิตใจ บำรุงผิวพรรณ เพิ่มรสชาติ เพิ่มรสชาติ เพิ่มความหอมของอาหารและเครื่องดื่ม สุคนธบำบัดหรือการบำบัดด้วยกลิ่นโดยใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบสำคัญ ถือเป็นทางเลือกหนึ่งของการบำบัดรักษาโรคนอกเหนือจากการใช้ยาแพทย์แผนปัจจุบัน เนื่องจากมีรายงานถึงฤทธิ์ทางชีวภาพ การดูดซึมผ่านผิวหนังโดยผ่านการสูดดม การทา หรือการรับประทาน จะช่วยพาน้ำมันหอมระเหยเข้าสู่กระแสเลือด เพื่อไปออกฤทธิ์ในส่วนที่เป็นโรค ช่วยบำบัดรักษาโรคซึมเศร้า โรคท้องผูก อาการปวดหัว นอนไม่หลับ ปวดกล้ามเนื้อ ระบบหายใจขัดข้อง โรคผิวหนัง และโรคมะเร็ง น้ำมันหอมระเหยถูกใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเพื่อใช้ในการดูแลผิวพรรณและน้ำหอม สมุนไพรหลายชนิดที่ให้น้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อผิวพรรณ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Lertsatitthanakorn *et al*., 2006) ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ลดความเข้มของผิว (Matsuura *et al*., 2006) ฤทธิ์ต้านเอนไซม์อีลาสเทส (elastase enzyme) ซึ่งส่งผลลดความหย่อนยานของผิวหนังหรือฤทธิ์ต้านจุลชีพต่าง ๆ (Viyoch *et al*., 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในด้านต่าง ๆ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากกระเพรา โหระพา ตะไคร้หอม ตะไคร้แกง มะกรูด ขิง และไพล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* เป็นเชื้อทำให้เกิดสิว และศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Lertsatitthanakorn *et al*., 2006; Aiemsaard *et al*., 2006) มีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากมะนาว สน และผลไม้จำพวกส้มมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์อีลาสเทสไม่เท่ากัน เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ไม่เท่ากัน (Masashiro *et al*., 2002)

น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่สดจากการต้มกลั่นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) มีค่า % scavenging effect เท่ากับ 97.16% รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งจากการต้มกลั่น 88.79% (วทันยา ลิมปพะยอม และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, 2557) น้ำมันหอมระเหยจากเกสรบัวหลวงราชินีที่สกัดด้วยตัวทำละลายมีค่า IC_{50} เท่ากับ 31.00±0.94 μg/ml มีประสิทธิภาพน้อยกว่าวิตามินซีที่มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.75±0.22 μg/ml [1] น้ำมันหอมระเหยยังถูกใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เป็นจำนวนมาก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นสารเสริมสุขภาพให้แก่สัตว์ ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของอาหารสัตว์ ลดต้นทุนในการใช้สารเสริมสุขภาพสัตว์ และทดแทนการใช้สารสังเคราะห์ที่อาจเป็นอันตรายต่อสัตว์ (Brenes and Roura, 2010).นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย ได้มีการนำวัตถุดิบที่เสริมเติมลงในอาหารสัตว์ (feed additives) โดยเฉพาะสารปฏิชีวนะเร่งการเจริญเติบโต (antibiotic growth promoter) และการรักษาโรค ซึ่งการนำเข้าวัตถุเหล่านี้ ทำให้เสียดุลทางการค้าและมีผลกระทบต่อตัวสัตว์ สิ่งแวดล้อม และมนุษย์ทั้งสิ้น ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการนำสมุนไพรพื้นบ้านมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา เพื่อรักษาสุขภาพสัตว์สารประกอบในพืชที่มีฤทธิ์ทางยาที่สำคัญ คือสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารที่ละลายน้ำ และสามารถสกัดด้วยอีเทอร์และเอทานอล ทำให้ทั้งวงการแพทย์และอุตสาหกรรมกาเลี้ยงสัตว์จึงนำเอาพืชหรือผลไม้ที่มีสารประกอบฟีนอลิกสูงมาใช้ร่วมในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย

สารพฤกษเคมี (phytonunutrients) พบในพืช ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthraquinone glycoside) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย (Sakulpanich and Grissanapan, 2008) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Beer *et al*., 2002; Pourmorad *et al*., 2006) ต้านการอักเสบ (Sharma *et al*., 2011) ในปัจจุบันสารสารพฤกษเคมีที่ได้รับความสนใจมาก ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายโดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (พิชญ์อร, 2549; พิสมัย, 2548; Ghasemzadeh *et al*., 2010)

สารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารแอนติออกซิแดน (antioxidant) เป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดออกซิเดชันซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้มีผลทำลายเซลล์ ซึ่งในทางการแพทย์นั้นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดสาเหตุของหลาย ๆ โรค เนื่องจากโรคหลายชนิดมีสาเหตุมาจากการเสื่อมทำลายของเซลล์และอวัยวะต่าง ๆ เนื่องมาจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระนี้สามารถเกิดขึ้นได้เอง เมื่อร่างกายได้รับสารอินทรีย์บางชนิด และในขณะที่มีออกซิเจนจะทำให้เกิดออโทออกซิเดชันกับไขมัน การเกิดอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากโมเลกุลที่เป็นสารตั้งต้นได้รับความร้อน แสง หรืออิเล็คตรอนจากโมเลกุลที่เป็นสารรีดิวซ์หรืออาจจะเกิดกับเอนไซม์บางชนิด ในคนปกติสารอนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นได้เองและสลายตัวไปในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย แต่ถ้าได้รับอนุมูลอิสระเพิ่มและสะสมในร่างกายมาก นำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพของโรคหรือทำให้เซลล์ผิดปกติ โรคที่เกิดจากร่างกายมีอนุมูลอิสระสะสมอยู่ในระดับสูง เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเกี่ยวกับระภูมิคุ้มกันผิดปกติ โรคไขข้ออักเสบ โรคแก่ก่อนวัย โรคต้อกระจก โรคอัลไซเมอร์ และโรคพาร์กินสัน สารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันและบรรเทาโรคข้างต้นได้ สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่พบได้ในพืช ผัก และผลไม้ทีมีสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) เป็นองค์ประกอบ (ปวันรัตน์และคณะ, 2557) โดยมีรายงานการวิจัยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบในผักและผลไม้มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Dadaung *et al*., 2011)

ว่านน้ำ (*Acorus calamus* L.) อยู่ในวงศ์ Acoraceae ชื่อสามัญ Calamus, Calamus Flargoot, Flag Root, Mytle Grass, Myrtyl sedge, Sweet Flag, Sweet Sedge ชื่อท้องถิ่น ได้แก่ ว่านน้ำเล็ก ตะไคร้น้ำ คาเจียงจี้ ทิสีปุตอ ผมผา สัมชื่น ฮางคาวน้ำ ฮางคาวบ้าน ว่านน้ำมีข้อมูลทางคลีนิค คือ รักษาอาการกระจกตาอักเสบ รักษาอาการลำไส้อักเสบ ข้อมูลทางเภสัชวิทยา คือ มีฤทธิ์ในการรักษาอาการชัก มีฤทธิ์ระงับอาการไอและขับเสมหะ จากคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่มีสารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีประโยชน์ในด้านเวชสำอาง คือนำน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวไปพัฒนาในการตั้งตำรับเพื่อใช้ในการบำรุงผิว เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ลบเลือนริ้วรอย ต้านการอักเสบ หรือลดการเกิดเม็ดสีเมลานิน ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเป็นตำรับที่ใช้ในเวชสำอางต่อไป ดังนั้นการส่งเสริมการผลิตน้ำมันหอมระเหยอย่างจริงจัง ทั้งในด้านการวิจัยและพัฒนาการผลิตเพื่อการส่งออกของประเทศ การตรวจสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารจึงนับเป็นเรื่องจำเป็นที่จะช่วยเพิ่มแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานจึงเป็นสิ่งสำคัญยิ่งโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณเบต้าแคโรทีน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึง ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งและการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ และศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ สำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาและใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ

1.2 หลักการ แนวคิด ทฤษฎี

ชีววิทยาของว่านน้ำ

ชื่อท้องถิ่น: ว่านน้ำเล็ก ตะไคร้น้ำ คาเจียงจี้ ทิสีปุตอ ผมผา สัมชื่น ฮางคาวน้ำ ฮางคาวบ้าน

ชื่อสามัญ:Calamus, CalamusFlargoot, Flag Root, Mytle Grass, Myrtyl sedge, Sweet Flag, Sweet Sedge

ชื่อวิทยาศาสตร์:*Acoruscalamus* L.

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ต้นว่านน้ำกำเนิดในทวีปยุโรป จัดเป็นพรรณไม้ขนาดเล็ก มีความสูงของต้นประมาณ 50-80 เซนติเมตร และมีเหง้าเจริญเติบโตไปตามยาวขนานกับพื้นดิน เหง้าเป็นรูปทรงกระบอกค่อนข้างแบน ลักษณะเป็นข้อ ๆ ผิวนอกเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลอมชมพู มีรากฝอยเป็นเส้นเล็กยาวติดอยู่ทั่วไป พันรุงรังไปตามข้อปล้องของเหง้า เนื้อภายในเป็นสีเนื้อแก่ มีกลิ่นหอม รสเผ็ดร้อนฉุนและขม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-10 มิลลิเมตร ขยายพันธ์โดยวิธีการแยกหน่อ มักพบขึ้นเองตามบริเวณริมหนองน้ำ สระ บ่อ คู คลอง ในที่ที่มีน้ำท่วมขัง หรือที่ชื้นแฉะหรือแหล่งน้ำตื้น

ใบว่านน้ำใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับกันซ้ายขวาแบบทแยงกัน ใบแตกออกมาจากเหง้าเป็นเส้นตรงและยาวลักษณะของใบเป็นรูปเรียวแหลม ปลายใบแหลม ใบมีขนาดกว้างประมาณ 1-2 เซนติเมตร และยาวประมาณ 80-110 เซนติเมตร แผ่นใบเรียบ

ดอกว่านน้ำออกดอกเป็นช่อ แทงออกจากเหง้า ลักษณะดอกเป็นแท่งทรงกระบอก เป็นสีเหลืองออกเขียว ดอกมีขนาดประมาณ 0.7-1.5 เซนติเมตร และยาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร ประกอบด้วยดอกย่อยเรียงตัวติดแน่น กลีบเลี้ยงดอกมี 6 กลีบ ลักษณะเป็นรูปกลม ปลายกลีบโค้งงอ

น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย (essential oil) คือน้ำมันที่พืชสังเคราะห์ขึ้น เป็นกลุ่มสารอินทรีย์และเก็บไว้ในส่วนต่าง ๆ เช่น ดอก ใบผล ลำต้น และเมล็ดซึ่งพบแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด น้ำมันหอมระเหยมักมีกลิ่นหอมและระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ ในอดีตชาวอียิปต์สกัดน้ำมันหอมระเหยได้โดยวิธีการแช่ ชาวกรีกและชาวโรมันใช้วิธีการกลั่นจากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในการนวดบำบัดโรคและผลิตน้ำหอมเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับน้ำมันหอมระเหย (Osborn, 2007) ประเทศบราซิล จีน อเมริกา อินโดนีเซีย อินเดีย และเม็กซิโก เป็นประเทศที่มีการผลิตน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดในโลก ส่วนประเทศอเมริกา ญี่ปุ่น เยอรมันนี และฝรั่งเศส เป็นกลุ่มประเทศที่มีการใช้น้ำมันหอมระเหยมากที่สุดในโลก (Djilani and Dicko, 2012) ความหอม องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากพืชในแต่ละปีอาจจะแปรผันได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น พื้นที่เพาะปลูก ดิน สภาพอากาศ ความสูงจากระดับน้ำทะเล ปริมาณน้ำฝน ฤดูกาล (ก่อนและหลังก่อนออกดอก) โรคพืช และช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว (Daviet and Schalk, 2010; Andrade *et al*., 2011) ตลอดจนเทคนิคและวิธีการสกัดและการกลั่นล้วนมีผลต่อปริมาณและคุณภาพน้ำมันหอมระเหย ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยจึงมีราคาสูงเนื่องจากมีปริมาณจำกัดและใช้เทคนิคหลายขั้นตอน ในปัจจุบันน้ำมันหอมระเหยที่ได้รับความนิยมอย่างมากในตลาดผู้บริโภคทั่วโลก ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์ อาหารและเครื่องดื่ม สปาและการผ่อนคลาย การทำความสะอาด น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในครัวเรือน ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ คาโมมายล์ เปเปอร์มินต์ กุหลาบ มะลิ ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากส้ม ยูคาลิปตัส มะนาว และตะไคร้หอม (Hunter, 2009)

น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการช่วยบรรเทาความเครียด ทำให้สดชื่นและเพิ่มพลังงานแก่ผู้ใช้ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อจุลินทรีย์ เชื้อไวรัส และมีการอ้างว่าสามารถบรรเทาอาการของโรคอัลไซเมอร์ โรคหลอดเลือดอุดตัน โรคปวดกล้ามเนื้อ ปวดท้องก่อนคลอด และโรคมะเร็ง (Perry and Perry, 2006; Jimbo *et al*., 2009; Smith *et al*., 2011; Lai *et al*., 2011) นอกจากนี้ พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยธรรมชาติจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดโรคได้ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยสังเคราะห์ซึ่งมักมีสารระคายเคืองผิวผสมอยู่ด้วย (Celeiro *et al*., 2014)

1) สมบัติของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยจะระเหยได้ง่าย ส่วนใหญ่จะเป็นของเหลวที่มีลักษณะเป็นน้ำมัน มีส่วนน้อยที่เป็นของแข็ง ไม่ละลายน้ำ ละลายใน ethyl alcohol น้ำมันหอมระเหยประกอบขึ้นด้วยสารประกอบออกซิเจน เช่น แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์และคีโทน มีจุดเดือด อยู่ระหว่าง 150-300 องศาเซลเซียส แบ่งชนิดของน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบได้ดังนี้

1.1) hydrocarbon volantile oilน้ำมันหอมระเหยมีไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักพบได้ทั้งในรูปไฮโดรคาร์บอนโมโนไซคลิกเทอร์ปีน เช่น limoneneซึ่งพบได้ในน้ำมันมิ้นต์ น้ำมันจากส้ม กระวาน และน้ำมันสน และ p-cymene ซึ่งพบได้ในน้ำมันลูกผักชี อบเชย ยังพบไฮโดรคาร์บอนในรูปไดไซคลิกโมโนเทอร์ปีน เช่น pineneซึ่งพบในน้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันดอกส้ม และน้ำมันลูกผักชี

1.2) alcohol volantile oilน้ำมันหอมระเหยที่มีแอลกอฮอล์ เป็นองค์ประกอบหลัก ที่สำคัญได้แก่น้ำมันมินต์ น้ำมันลูกผักชี น้ำมันดอกส้ม ดอกกุหลาบ น้ำมันสน ได้แก่ geraniolcitronellolซึ่งเป็น acyclic alcohol ส่วน menthol ซึ่งเป็น acyclic alcohol

1.3) aldehyde volantile oilน้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกแอลดีไฮด์ ได้แก่ น้ำมันอบเชย ส้ม มะนาว และตะไคร้หอม ตัวอย่างของ aldehyde ที่พบได้แก่ geranial, neral

1.4) ketone volantile oilมีสารจำพวกคีโทน ตัวอย่างคีโทน ได้แก่ menthone, pule gone เป็น monocyclic terpene ketone นอกจากนี้ยังพบ camphor, fenchoneซึ่งเป็น dicyclic ketone น้ำมันหอมระเหยที่สำคัในกลุ่มนี้ ได้แก่ การบูร มินต์

1.5) phenol volantile oilฟีนอลที่พบ ได้แก่ eugenol, thymol, carvacrolน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มนี้ ได้แก่ น้ำมันกานพลู

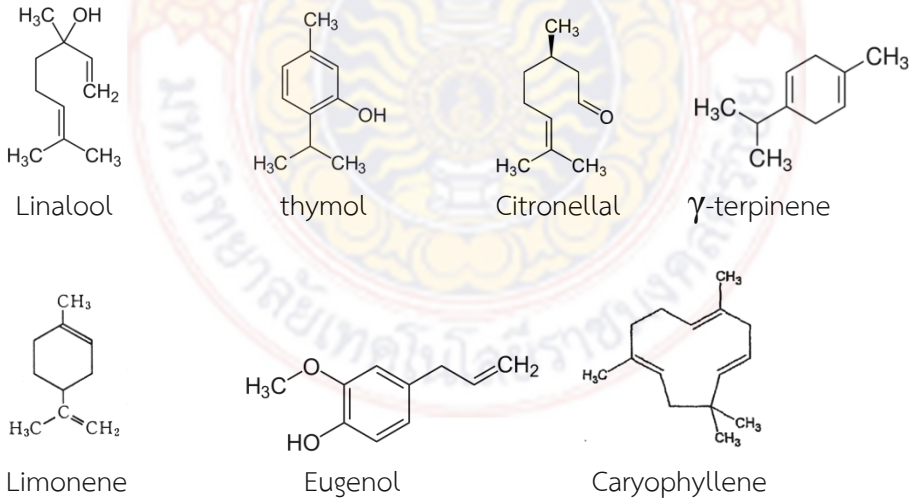
1.6) phenolic volantile oilตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ น้ำมันโป๊ยกั๊ก ซึ่งพบสาร anetholeน้ำมันจันเทศ และน้ำมัน sassafras

1.7) oxide volantile oilตัวอย่างของสารออกไซด์ที่พบในน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ cineole ซึ่งพบในน้ำมันยูคาลิปตัส

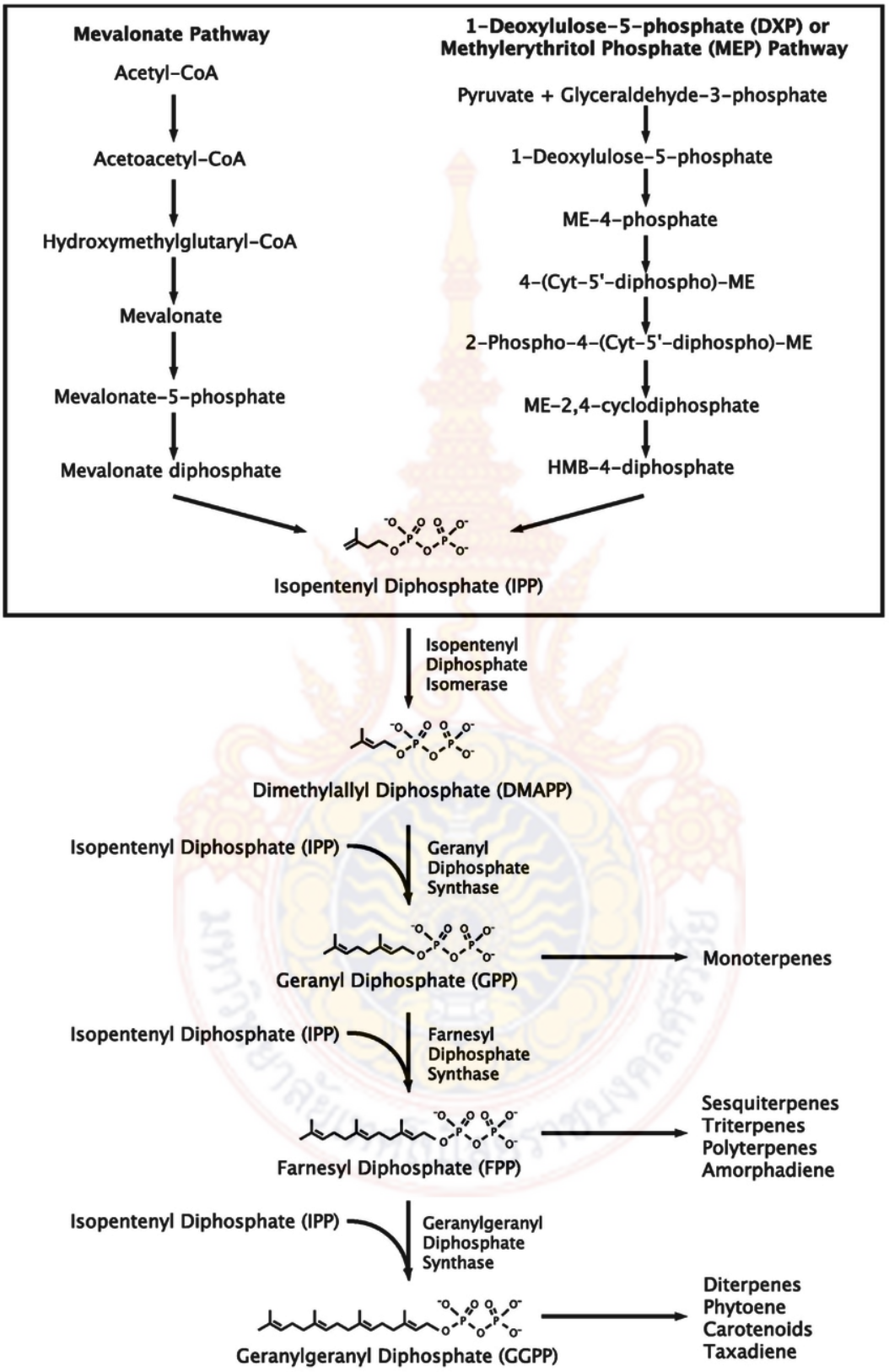
1.8) ester volantile oilตัวอย่างได้แก่ allylisothiocyanateพบในน้ำมันมัสตาด methyl salicylate พบได้ใน wintergreen oil

ชีวสังเคราะห์น้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย เป็นสารที่ไม่ชอบน้ำ ละลายในแอลกอฮอล์ เป็นสารไม่มีขั้ว มีส่วนผสมของสารไฮโดรคาร์บอน มีหมู่ฟังก์ชันประเภทแอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ เอสเตอร์ อีเทอร์ คีโตน ฟีนอล และเทอร์พีน ส่วนมากไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อน ๆ ยกเว้น คาโมมายล์ ที่มีสีน้ำเงิน มีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ ยกเว้น น้ำมันหอมระเหยจากต้นแซสซาฟรัส (*Sassafras albidum*) แฝกหอม (*Vetiveria zizanioides*) อบเชย (*Cinnamomum velum*) และกานพลู (*Syzygium aromaticum*) (Gupta *et al.,* 2010; Martin *et al.,* 2010) สารระเหยง่ายที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยที่เป็นที่นิยม ได้แก่ สาร linalool (ลาเวนเดอร์) thymol (ต้นทีทรี) Citronellal (ตะไคร้หอม) limonene (มะนาว) Eugenol (กานพลู) β-Caryophyllene (โรสแมรี่) และ γ-terpinene (มะกรูด)



ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของสารธรรมชาติในน้ำมันหอมระเหยจากพืช



ภาพที่ 1.2 isoprenoid pathway
(Zuzarte and Salgueiro, 2015)

สารทุติยภูมิกลุ่มใหญ่ที่พืชสังเคราะห์โดย isoprenoid pathway ได้แก่ monoterpene และ sesquiterpene เป็นสารที่ได้มาจากการควบแน่นของ isopentanyl diphosphate (IPP) และ dimethyllyl diphosphate (DMAPP) วิถีที่จะนำไปสู่การผลิตสารตั้งต้นสองตัวนี้ คือ วิถี 1-deoxyxylulose –D-5-phosphate (DXP) หรือ 2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate pathway (MEP) และ mevalonate pathway (MVA) วิถี MVA พบในเห็ด เชื้อรา สัตว์ และไซโตซอลของเซลล์พืชเท่านั้น ส่วนวิถี MEP พบในแบคทีเรียและพลาสติดในเซลล์พืช การควบแน่นของ IPP และ DMAPP อาศัยเอนไซม์ prenyltransferase ได้เป็น geranyl diphosphate (GPP) farnesyl diphosphate (FPP) และ geranylgeranyl diphosphate (GGPP) จากนั้นเกิดปฏิกิริยาไซโคลเซชั่นของ GPP, FPP และ GGPP ได้เป็น mono-, sesqui- และ diterpenes จากนั้นอาศัยเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenase และ oxidoreductases ในการทำหน้าที่ปรับเปลี่ยนโครงสร้างเพื่อให้ได้เป็นเทอร์พีนอีกหลายชนิดที่พบได้ในธรรมชาติ

ประเภทของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหย

โครงสร้างของน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยพันธะคู่โอลีฟีนิก (olefenic double bond) และหมู่ฟังก์ชัน เช่น หมู่ไฮดรอกซิล อัลดีไฮด์หรือเอสเตอร์ เมื่อได้รับแสงแดดและความร้อนจะถูกออกซิไดซ์ได้โดยง่าย สารประกอบในน้ำมันหอมระเหยแบ่งได้เป็น 8 ประเภท ดังแสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ชนิดและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหย (Djilani and Dicko, 2012)

ชนิดของสารประกอบ	ตัวอย่างสารประกอบ	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
1.ไฮโดรคาร์บอน	Limonene, pinene, sabinene, cymene, myrcene, phellandrene	เป็นสารกระตุ้น ต้านไวรัส ต้านมะเร็ง ต้านแบคทีเรีย ป้องกันโรคตับ
2.เอสเตอร์	Linalyl acetate, geraniol acetate, eugenol acetate, bornyl acetate	ผ่อนคลายกล้ามเนื้อ ต้านการอักเสบ
3.ออกไซด์	Bisabolone oxide, linalool oxide, scareol oxide, ascaridole	เป็นสารกระตุ้น ต้านการอักเสบ แก้ไอ
4. แลคโตน	Nepetalactone, bergaptene, costuslactone, dihydronepetalactone, alantrolactone	ต้านจุลชีพ ต้านไวรัส บรรเทาเจ็บปวด ลดไข้
5. แอลกอฮอล์	Linalool, menthol, borneol, santalol, nerol, citronellol, geraniol	ต้านจุลชีพ ผ่อนคลายกล้ามเนื้อ ต้านอักเสบ
6. ฟีนอล	Thymol, eugenol, carvacrol, chavicol	ต้านจุลชีพ ผ่อนคลายกล้ามเนื้อ กระตุ้นระบบภูมิคัน
7. อัลดีไฮด์	Citral, myrtenal,	ต้านจุลชีพ ต้านเชื้อรา ช่วยให้หลอดเลือด

	cuminaldehyde, citronellal, cinnamaldehyde, benzaldehyde	ขยายตัว ผ่อนคลายกล้ามเนื้อ ลดไข้
8. คีโตน	Carvone, methone, pulegone, fenchone, camphor, thujone, verbenone	ละลายเสมหะ สร้างเซลล์ใหม่ ต้านไวรัส ช่วยย่อยอาหาร บรรเทาอาการปวด

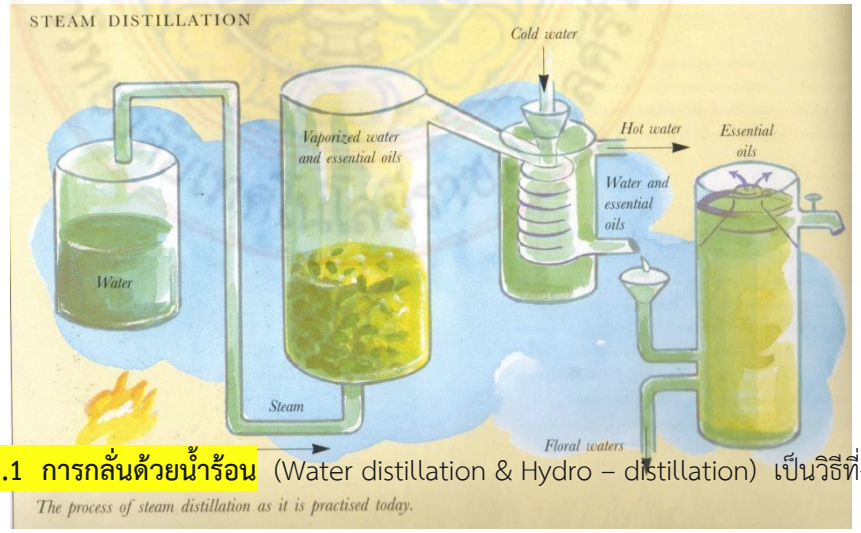
วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย

1. การกลั่นน้ำมันหอมระเหย (distillation)

การกลั่นเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการสกัดน้ำมันหอมระเหย หลักการของการกลั่น คือ ใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเข้าไปแยกน้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืช โดยการแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช ความร้อนจะทำให้สารละลายออกมากลายเป็นไอ ปนมากับน้ำร้อนหรือไอน้ำ อย่างไรก็ดี การกลั่นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีนั้น ต้องอาศัยเทคนิคและขบวนการทางเคมีและกายภาพหลายอย่างประกอบกัน โดยทั่วๆ ไปเทคนิคการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่ใช้กันอยู่มี 3 วิธี ได้แก่

1.1 การกลั่นด้วยน้ำร้อน (Water distillation & Hydro – distillation) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดของการกลั่นน้ำมันหอมระเหย การกลั่นโดยวิธีนี้ พื้นที่กลั่นต้องจุ่มในน้ำเดือดทั้งหมด อาจพบพืชบางชนิดเบา หรือให้ท่อไอน้ำผ่านการกลั่น น้ำมันหอมระเหยนี้ใช้กับของที่ติดกันง่ายๆ เช่น ใบไม้บางๆ กลีบดอกไม้อ่อนๆ

ข้อควรระวังในการกลั่นโดยวิธีนี้คือ พืชจะได้รับความร้อนไม่สม่ำเสมอ ตรงกลางมักจะได้ความร้อนมากกว่าด้านข้าง จะมีปัญหาในการไหม้ของตัวอย่าง กลิ่นไหม้จะปนมากับน้ำมันหอมระเหยและมีสารไม่พึงประสงค์ติดมาในน้ำมันหอมระเหยได้ วิธีแก้ไข คือ ใช้ไอน้ำ หรืออาจใช้ closed steam coil จุ่มในหม้อต้ม แต่การใช้ steam coil นี้ไม่เหมาะกับดอกไม้บางชนิด เพราะเมื่อกลีบดอกไม้ถูก steam coil จะหดกลายเป็น glutinous mass จึงต้องใช้วิธีใส่ลงไปในน้ำ กลีบดอกไม้จะสามารถหมุนเวียนไปอย่างอิสระในการกลั่นเปลือกไม้ก็เช่นกัน ถ้าใช้วิธีกลั่นด้วยน้ำ น้ำจะซึมเข้าไปและนำกลิ่นออกมา หรือกลิ่นจะแพร่กระจายออกจากเปลือกไม้ได้ง่ายขึ้น ดังนั้นการเลือกใช้วิธีการกลั่นจึงขึ้นกับชนิดของพืชที่นำมากลั่นด้วย



The process of steam distillation as it is practised today.

1.1 การกลั่นด้วยน้ำร้อน (Water distillation & Hydro – distillation) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดของ

การกลั่นน้ำมันหอมระเหย การกลั่นโดยวิธีนี้ พื้นที่กลั่นต้องจุ่มในน้ำเดือดทั้งหมด อาจพบพืชบางชนิดเบา หรือให้ท่อไอน้ำผ่านการกลั่น น้ำมันหอมระเหยนี้ใช้กับของที่ติดกันง่ายๆ เช่น ใบไม้บางๆ กลีบดอกไม้อ่อนๆ

1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) การกลั่นโดยวิธีนี้ใช้ตะแกรงรองของที่จะกลั่นให้เหนือระดับน้ำในหม้อกลั่น ต้มให้เดือด ไอน้ำจะลอยตัวขึ้นไปผ่านพืชหรือตัวอย่างที่จะกลั่น ส่วนน้ำจะไม่ถูกกับตัวอย่างเลย ไอน้ำจากน้ำเดือดเป็นไอน้ำที่อิ่มตัว หรือเรียกว่า ไอเปียก ไม่ร้อน จัดเป็นการกลั่นที่สะดวกที่สุด คุณภาพของน้ำมันออกมาดีกว่าวิธีแรก การกลั่นแบบนี้ใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตน้ำมันหอมระเหยทางการค้า

1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำ (direct steam distillation) วิธีนี้วางของอยู่บนตะแกรงในหม้อกลั่น ซึ่งไม่มีน้ำอยู่เลย ไอน้ำภายนอกที่อาจจะเป็นไอน้ำเปียก หรือไอร้อนจัดแต่ความดันสูงกว่าบรรยากาศ ส่งไปตามท่อใต้ตะแกรง ให้ไอผ่านขึ้นไปถูกกับของบนตะแกรง ไอน้ำต้องมีปริมาณเพียงพอที่จะช่วยให้น้ำมันแพร่ระเหยออกมาจากตัวอย่าง ตัวอย่างบางชนิดอาจใช้ไอร้อนได้ แต่บางชนิดก็ใช้ไอเปียก น้ำมันจึงจะถูกปล่อยออกมา

ข้อดีของการกลั่นวิธีนี้ คือ สามารถกลั่นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเอาพืชใส่หม้อกลั่นไม่ต้องเสียเวลารอให้ร้อน ปล่อยไอร้อนเข้าไปได้เลย ปริมาณของสารที่นำเข้ากลั่นก็ได้มาก ปริมาณทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยมาก

การกลั่นทั้ง 3 วิธี ผู้ปฏิบัติควรพิจารณาด้วยว่า การแพร่กระจายของน้ำมันหอมระเหยและน้ำร้อยผ่านเยื่อบาง ๆ ของพืช การไฮโดรไลซ์สาร องค์ประกอบต่างๆ เนื่องจากสัมผัสกับน้ำตลอดเวลา ตลอดจนการสลายตัวของสารในน้ำมันหอมระเหย อันเนื่องมาจากความร้อนถึงแม้ว่าก่อนนำพืชมากลั่นจะต้องหั่นหรือทำให้เซลล์แตกก่อน เพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยออกมาจากเซลล์ได้ง่าย แต่ถึงกระนั้น ก็ยังมีน้ำมันหอมระเหยบางส่วนที่อยู่ที่ผิวและถูกทำให้กลายเป็นไออย่างรวดเร็วด้วยไอน้ำ น้ำมันส่วนที่เหลือภายในจะออกมาสู่ผิวได้โดยการซึมผ่านผนังบางๆ ของพืช และจะดำเนินไปได้ดีที่อุณหภูมิสูง สารประกอบพวกเอสเทอร์จะถูกไฮโดรไลซ์ให้เป็นกรด และแอลกอฮอล์ได้ง่าย ดังนั้นเพื่อให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพดีที่สุด ควรกลั่นที่อุณหภูมิต่ำสุดเท่าที่จะทำได้ หากได้น้ำมันน้อย ควรใช้อุณหภูมิสูงขึ้น ใช้เวลาให้สั้นที่สุด การกลั่นจะต้องพิจารณาให้รอบคอบ วัดอุณหภูมิและเวลาให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมที่สุด

ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 วิธีนี้ สามารถทำเองได้ อุปกรณ์ที่สำคัญสำหรับใช้กลั่น มี 3 อย่าง คือ หม้อกลั่น (still) เครื่องควบแน่น (condenser) และภาชนะรองรับ (receiver) การกลั่นด้วยไอน้ำจะต้องมีหม้อต้มน้ำ (boiler) สำหรับทำไอน้ำเพิ่มอีกอย่างหนึ่ง

หม้อกลั่น (still) น้ำหรือไอน้ำ จะสัมผัสกับพืชในภาชนะ ซึ่งมีรูปร่างที่ง่ายที่สุดเป็นถังทรงกระบอก ทำด้วยเหล็กหรือทองแดง เส้นผ่าศูนย์กลางเท่าหรือน้อยกว่าความสูงเล็กน้อย มีฝาเปิด – ปิดได้ ด้านบนมีท่อต่อสายรัดให้ไอน้ำพาน้ำมันหอมระเหยไปสู่เครื่องควบแน่น ถ้าเป็นการกลั่นแบบใช้น้ำผสมไอน้ำ ต้องมีตะแกรงวางตัวอย่างที่จะกลั่นให้สูงกว่าก้นหม้อกลั่น ส่วนการกลั่นด้วยไอน้ำ น้ำจะถูกฉีดเข้าไปใต้ตะแกรงนั้น ก้นหม้อกลั่นจะต้องมีท่อก๊อกระบายน้ำที่กลั่นตัวลงหม้อกลั่น และฝาควรมีฉนวนหุ้มกันความร้อนสูญหาย

เครื่องควบแน่น (condenser) ส่วนผสมของไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยที่ออกมาจากหม้อกลั่น จะถูกส่งผ่านไปยังเครื่องควบแน่น ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยให้เป็นของเหลว ลักษณะเป็น coil ม้วนอยู่ใต้ถังที่มีน้ำเย็นผ่านจากด้านล่าง สวนทางกับไอน้ำ และน้ำมันหอมระเหยที่นิยมอีกแบบหนึ่ง คือ ให้ไอน้ำและน้ำมันหอมระเหยผ่านในท่อ (tube) ให้น้ำเย็นไหลเวียนรอบๆ tube เครื่องควบแน่นควรมีขนาดใหญ่พอให้ไอกลั่นตัวเร็ว เพื่อจะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพ ถ้านานไปจะทำให้เกิดไฮโดรไลซ์ของเอสเทอร์ วัสดุที่เป็น coil หรือ tube ควรใช้ทองแดงผสมดีบุกที่รองรับน้ำหรือน้ำมันหอมระเหย (receiver) น้ำมีปริมาณมากกว่าน้ำมันจึงต้องมีการไขน้ำทิ้งตลอดเวลา ส่วนนี้จึงทำหน้าที่แยกน้ำ และน้ำมันหอมระเหย ถ้าน้ำมันเบากว่าน้ำ น้ำมันก็จะอยู่ที่ส่วนบน ไขน้ำด้านล่างออก ถ้าน้ำมันหนักกว่าน้ำ น้ำมันจะอยู่ด้านล่าง ก็ไขน้ำด้านบนออก เครื่องมือในห้องปฏิบัติการมักเป็นแก้วมองเห็นได้ง่าย ปริมาณน้อยกว่า 10 ลิตร แต่ถ้ามากกว่า 10 ลิตร ควรเป็นทองแดงผสมดีบุก ไม่ควรใช้ตะกั่ว เพราะตะกั่วจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมัน เกิดเป็นเกลือที่เป็นพิษ การกลั่นน้ำมันหอมระเหยไม่ควรใช้สายยางต่อ เพราะสายยางจะละลายไปติดน้ำมันหอม ทำให้กลิ่นผิดไปจากความจริง หากน้ำมันหอมระเหยไม่ค่อยแยกจากกัน ต้องใช้กรวยยาวๆ รองรับ distillate ปลายกรวยงอขึ้น การไหลของ distillate จะไม่ไปรบกวนชั้นของน้ำมัน และหยดน้ำมันจะลอยขึ้นช้าๆ ไปอยู่ในชั้นของน้ำมัน น้ำมันควรแยกออกจากน้ำให้เร็วที่สุดเก็บไว้ในภาชนะสุญญากาศที่อากาศเย็น

การกลั่นดังกล่าวแม้จะเป็นวิธีที่ใช้กันมาก แต่มีข้อเสียหลายประการอันเนื่องมาจากความร้อนทำให้ปฏิกิริยาสลายตัวต่างๆ เกิดขึ้น กลิ่นที่ได้อาจผิดเพี้ยนไปจากธรรมชาติ สารประกอบบางตัวในน้ำมันหอมระเหยที่ละลายได้ดี มีจุดเดือดสูง จะไม่ถูกพามาโดยไอน้ำ ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นอาจไม่ใช่ที่เกิดในธรรมชาติเสมอไป โดยเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากดอกไม้ทั้งหลายซึ่งเสียได้ง่าย เช่น มะลิ ซ่อนกลิ่น ไวโอเลต ดอกพุด ไฮยาซิน เป็นต้น เมื่อเวลากลั่นจะไม่ได้น้ำมันหรือน้ำมันที่ได้มีปริมาณน้อยมาก และคุณภาพไม่ดี การใช้วิธีกลั่นจึงไม่เหมาะสม ต้องใช้วิธีอื่นที่ทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยใกล้เคียงที่เกิดในธรรมชาติมากที่สุด

ตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหย

ไพล เหมาะสมกับการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (Water and steam distillation) ใช้เหง้าในการกลั่น ก่อนจะทำการกลั่นควรมีการหั่นบางๆ เพื่อให้ไปน้ำผ่านได้ง่าย และได้น้ำมันที่มีคุณภาพและปริมาณมาก เมื่อกลั่นแล้วจะได้เป็นของเหลว ไม่มีสี หรือมีสีเหลืองอ่อน ปราศจากตะกอน และสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัวของไพล

ขมิ้น เหมาะสมกับการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้ส่วนเหง้าในการกลั่น ก่อนจะทำการกลั่นควรมีการหั่นบางๆ เพื่อให้ไอน้ำผ่านได้ง่ายและได้น้ำมันที่มีคุณภาพและปริมาณมาก เมื่อกลั่นแล้วจะได้เป็นของเหลวใส มีสีเหลืองอ่อนปราศจากตะกอนและสารแขวนลอย ไม่มีการแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัวของขมิ้น

ตะไคร้หอม เหมาะสมกับการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้ส่วนใบของตะไคร้หอมในการกลั่น เมื่อกลั่นแล้วจะได้ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน ปราศจากตะกอนและแยกชั้นของน้ำ มีกลิ่นเฉพาะตัวของตะไคร้

2. การสกัดด้วยน้ำมันสัตว์ (extraction by animal fat)

ใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ระเหยได้ง่ายเมื่อใช้วิธีกลั่นด้วยไอน้ำ วิธีนี้จะใช้เวลานานเพราะต้องแช่พืชไว้ในน้ำมันหลายวัน ซึ่งน้ำมันจะช่วยดูดเอากลิ่นหอมของน้ำมันหอมระเหยออกมา วิธีนี้ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกมะลิ ดอกกุหลาบ เป็นต้น

3. การสกัดด้วยสารเคมี (solvent extraction)

วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูง แต่คุณภาพไม่ดีเท่าการกลั่นเพราะหลังจากการสกัดจะได้สารอื่นปนออกมาด้วย การสกัดแบบนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า absolute oil วิธีนี้ใช้กับพืชใช้กับพืชทนความร้อนสูงไม่ได้ เช่น มะลิ และที่สำคัญคือ หลังจากการสกัดต้องทำการระเหยสารเคมีที่ใช้เป็นตัวสกัดออกให้หมด สารเคมีที่นิยมใช้เป็นตัวสกัดคือ แอลกอฮอล์

4. การคั้นหรือบีบ

ทำให้น้ำมันที่อยู่ในเปลือกของผลไม้ เช่น เปลือกพืชตระกูลส้ม ออกมาแต่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีปริมาณน้อยและไม่ค่อยบริสุทธิ์

5. การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลว

โดยปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกทำให้เป็นของเหลวที่ความดันสูงเป็นวิธีที่ปัจจุบันนิยมใช้มากเพราะจะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นดี มีความบริสุทธิ์สูง แต่วิธีนี้จะมีต้นทุนการผลิตที่สูง

วิธีการนำน้ำมันหอมระเหยเข้าสู่ร่างกาย

น้ำมันหอมระเหยสามารถเข้าสู่ร่างกายผ่านทางสารอาหารหรือผ่านทางผลิตภัณฑ์ และสามารถผ่านโครงสร้างที่กั้นระหว่างเลือดและสมองได้ง่ายเนื่องจากมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (lipophilic) การออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยเริ่มต้นจากการเข้าสู่ร่างกาย โดยการสูดดม การรับประทาน และการแพร่ผ่านเนื้อเยื่อผิวหนัง การสูดดมเป็นวิธีการที่รวดเร็วที่สุดที่น้ำมันหอมระเหยเข้าสู่ร่างกาย (Moss *et al*., 2003) รองลงมาเป็นการแพร่ผ่านเนื้อเยื่อผิวหนังเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยสามารถละลายได้ในไขมัน ดังนั้นจึงซึมผ่านเนื้อเยื่อผิวหนังที่มีฟอสโฟลิปิดที่เรียงตัวเป็นสองชั้น (phospholipid bilayer) จากนั้นเข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือดเพื่อส่งต่อไปยังอวัยวะเป้าหมาย (Baser and Buchbauer, 2010) เมื่อน้ำมันหอมระเหยเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับฮอร์โมนและเอนไซม์ต่าง ๆ หรือน้ำมันหอมระเหยบางชนิดออกฤทธิ์เหมือนกับฮอร์โมน เช่น น้ำมันหอมระเหยจากเม็ดยี่หร่าประกอบด้วยสารประกอบที่คล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจน ทำให้เมื่อได้รับน้ำมันหอมระเหยชนิดนี้จะทำให้กระตุ้นน้ำนมและการมีประจำเดือน ในจมูกจะมีเซลล์ตัวรับ (receptor) โดยน้ำมันหอมระเหยจะส่งสัญญาณให้ตัวรับและสัญญาณจะถูกถ่ายทอดไปยังระบบลิมปิกและไฮโปทาลามัสของสมอง ผ่านทางออลแฟคทอรี บัลบ์ สัญญาณเหล่านี้ทำให้สมองปล่อยสารสื่อประสาท เช่น โซโรโทนิน (serotonin) เอ็นดอร์ฟิน (endorphin) และ นอร์อะดรีนาลิน (noradrenaline) เพื่อทำให้รู้สึกผ่อนคลาย (Buchbauer, 1993)

อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุลหรือไอออนซึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวหรือการจัดเรียงเป็นเชลล์เปิด (open shell) อนุมูลอิสระอาจมีประจุเป็นบวก ลบหรือเป็นศูนย์ก็ได้ ด้วยข้อยกเว้นบางประการ อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวเหล่านี้ทำให้อนุมูลอิสระว่องไวต่อปฏิกิริยาสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อกันไปเรื่อย ๆ อนุมูลอิสระมีสมบัติเหมือนสารทั่วไป คือ มี

ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรด ด่าง และความชื้น อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการสันดาป เคมีบรรยากาศ พอลิเมอไรเซชัน เคมีพลาสมา ชีวเคมี และกระบวนการทางเคมีอีกหลายอย่าง ในสิ่งมีชีวิต ซูเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์และผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของมันควบคุมหลายกระบวนการ เช่น ควบคุมการบีบตัวของหลอดเลือด ซึ่งควบคุมความดันโลหิตอีกต่อหนึ่ง นอกจากนี้ อนุมูลอิสระยังมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมตัวกลางของสารประกอบทางชีวภาพหลายชนิด

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นปกติจากปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อมีธาตุเหล็ก ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์ โครเมียม นิเกิลน้อย มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยร่างกายจะมีระบบกำจัดอนุมูลอิสระ แต่หากร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอก เช่น ได้รับจากอาหารบางชนิด จากขบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีไขมันประกอบสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่อุณหภูมิสูง ๆ มาใช้อีก หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเลต การแผ่รังสี รังสีเอกซ์ หรือจากมลพิษ เช่น ควันบุหรี่ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์จากไอเสียรถยนต์ มากเกินไป หรือในภาวะที่ร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ลดลง ก็จะทำให้มีอนุมูลอิสระมากเกินไป เป็นสาเหตุของโรคภัยได้

อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ) โปรตีน หน่วยพันธุกรรม และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะไม่กล่าวถึงรายละเอียดในที่นี้ ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด โรคอัลไซเมอร์ โรคไขข้ออักเสบ โรคความแก่ เป็นต้น

ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่า ขั้นตอนอินนิทิเอชัน (initiation step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อ ๆ กันไป เรียกว่าขั้นพรอพพาเกชัน (propagation step) และขั้นสุดท้ายเรียกว่า ขั้นเทอร์มิเนชั่น (termination step) เป็นขั้นหยุดของอนุมูลอิสระ เป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร โดยทั่วไปการที่โมเลกุลหรืออะตอมของสารที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบเสียอิเล็กตรอนไปกลายเป็น อนุมูลอิสระได้นั้น ต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง

โทษของอนุมูลอิสระ

กระบวนการหายใจของคนมีการสร้างอนุมูลอิสระ เช่นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไฮดรอกซิลแรดิคัล เปอร์ออกซิลแรดิคัล และซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัล ในร่างกายคนปกติมีเอนไซม์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ superoxide dismutase, catalase และ phospholipase เพื่อรักษาสมดุลย์ระหว่างอนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระ แต่ถ้าในร่างกายระดับอนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระไม่สมดุล เรียกว่า สภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (oxidative stress) ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคพาร์คินสัน โรคอัลไซม์เมอร์ โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคแก่ก่อนวัย

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระ หรือ สารต้านออกซิเดชัน คือ สารที่มีสมบัติในการป้องกันหรือช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธี เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน การจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) (บุหรัน, 2556) ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชัน แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1) ป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, และ phospholipase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียมโปรตีน

2) สารต้านออกซิเดชัน เป็นกลุ่มสารที่ทำลายระบบลูกโซ่ ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี อัลบูมิน ซิสเตอีนในโปรตีนของเนื้อสัตว์ ยูบิควิโนน หมู่ซัลไฮดริล

ร่างกายสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเองได้ เช่น กลุ่มเอนไซม์ superoxide dismutase, glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดในผัก ผลไม้และสมุนไพร เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และวิตามินซี (วาริน, 2546) สารที่จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids), ฟลาโวนด์ (flavones), กรดแกลลิก (gallic acid), กรดเอลลาจิก (ellagic acid), แอนโธไซยานินส์ (anthocyanins), แคโรทีนอยด์ (carotenoids) และอนุพันธ์ของกรดซินนามิก (cinnamic acid) (Indu and Alan, 2009) สารในกลุ่มนี้ทำให้พืชผักและผลไม้มีสีสัน เช่น สารแคโรทีนอยด์ ให้สีส้มเหลืองในแครอท ฟักทอง มะละกอ สารแอนโธไซยานินส์ พบในผลเชอร์รี่ทำให้มีสีแดง ผลองุ่น ดอกอัญชันมีสีม่วง ในพืชวงศ์ขิงหลายชนิดมีรายงานว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระมาก นอกจากสารประกอบฟีนอลิกจะมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังมีสมบัติอื่นๆ อีก เช่น ช่วยขยายหลอดเลือด ลดการอักเสบ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดความเสี่ยงสำหรับโรคเรื้อรัง รวมทั้งโรคมะเร็งและหัวใจ การรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระมาก ทำให้ร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นในกระแสเลือด (Cao et al, 1998) การรับประทานอาหารประเภทผักใบเขียว ผลไม้และสมุนไพรเป็นประจำทำให้ร่างกายสามารถป้องกันโรคที่มีสาเหตุจากการทำลายของอนุมูลอิสระ เช่น โรคไขมันในเลือดสูง โรคหัวใจ เบาหวาน โรคมะเร็ง โรคไตรวมทั้งความแก่ชราได้ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้ 2 ประเภท ดังนี้

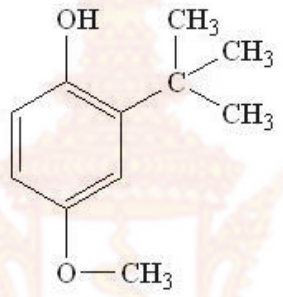
1) สารต้านอนุมูลสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ส่วนใหญ่จะมีโมเลกุลขนาดเล็ก และใช้โครงสร้างจากสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในธรรมชาติ และสมุนไพร มาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมี และมีฤทธิ์ที่ดีขึ้น (พัชรี, 2550) โดยพัฒนามาจากโครงสร้างของวิตามินอี และโครงสร้างสารพอลิฟีนอล ตัวอย่างสารต้านอนุมูลสังเคราะห์ เช่น

1.1 บีเอชเอ (BHA : butylated hydroxyanisole) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นฉุน ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในแอลกอฮอล์ เป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระที่นิยมใช้กันมากในโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร สารบีเอชเอมีฤทธิ์ในการรีดิวซ์สูงกว่าสารบีเอชที และการแทนที่แบบต่าง ๆ ในโครงสร้างพื้นฐานของสารทั้งสอง พบว่าการแทนที่ด้วยหมู่เมทอกซี (-OCH_3) จะเพิ่มความสามารถในการรีดิวซ์ และการจับกับอนุมูล DPPH (พัชรี, 2550)

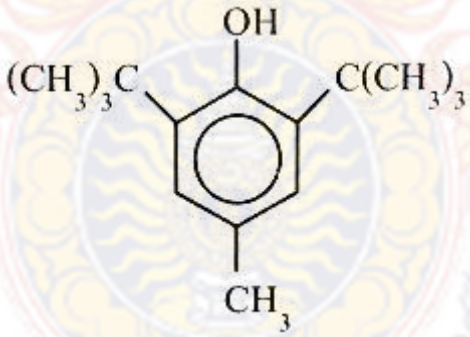
1.2 Trolox หรือ 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid ($C_{14}H_{18}O_4$) เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี โดยการเปลี่ยนสายอัลเคนเป็นหมู่คาร์บอกซิลิก ละลายน้ำได้ดี ออกฤทธิ์เร็วกว่าวิตามินอี นิยมใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานในการตรวจสอบกิจกรรมต้านออกซิเดชัน

1.3 Gallic acid หรือ 3,4,5-hydroxybenzoic acid ($C_7H_6O_5$) เป็นสารประกอบอินทรีย์ของแทนนินพบมากในองุ่น ใบชา เปลือกไม้โอ้ค ใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของ gallic acid สามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และเป็นสารต้านออกซิเดชัน

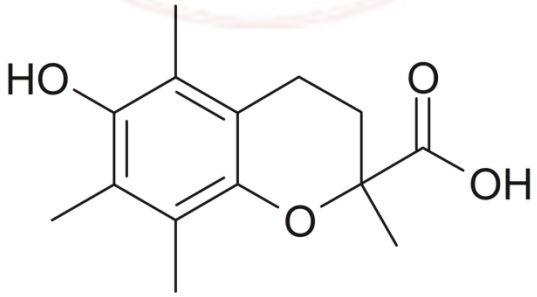
1.4 Quercetin ($C_{15}H_{10}O_7$) เป็นสารต้านออกซิเดชัน จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ พบมากในหัวหอม หอมแดง และพืชตระกูลถั่ว มีฤทธิ์ป้องกันการอักเสบ การแพ้ การแข็งตัวของเลือด ป้องกันแบคทีเรีย และไวรัส ช่วยกระตุ้นการทำงานของหัวใจให้มีประสิทธิภาพสูง



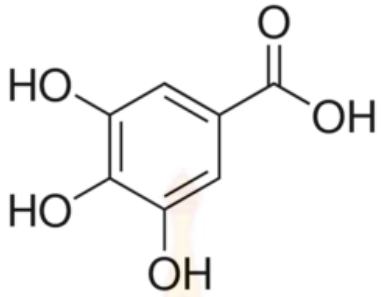
ภาพที่ 1.3 โครงสร้างทางเคมีของ BHA



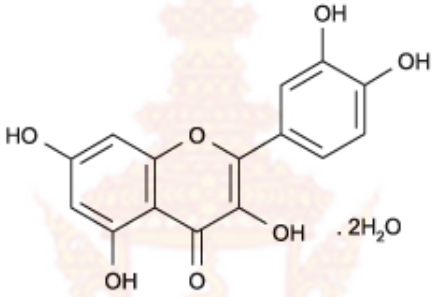
ภาพที่ 1.4 โครงสร้างทางเคมีของ BHT



ภาพที่ 1.5 โครงสร้างทางเคมีของ trolox



ภาพที่ 1.6 โครงสร้างทางเคมีของ gallic acid



ภาพที่ 1.7 โครงสร้างทางเคมีของ quercetin

สารต้านอนุมูลในธรรมชาติ (natural antioxidant) สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติได้รับความสนใจ และมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช (เจนจิราและประสงค์, 2554) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลในธรรมชาติ เช่น

วิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) พบมากในผักและผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี ในโครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ ที่สามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจน โดยกลไกในการต้านอนุมูลอิสระ คือ วิตามินซีที่อยู่ในร่างกาย จะให้อิเล็กตรอน 1 ตัว แต่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ เพราะจะไปทำหน้าที่เป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้นวิตามินซีจึงช่วยควบคุมระบบการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ โดยเฉพาะเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ และการเผาผลาญ ดังนั้นวิตามินซีจึงเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอนุภาพสูงในการขจัดฤทธิ์ของอนุมูลอิสระที่มีผลมาจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงแดด หมอก และควัน (พัชรี, 2550)

นอกจากนี้ USDA ได้ให้คำนิยามของสารต้านออกซิเดชันว่า เป็นสารที่ใช้สำหรับยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร โดยชะลอการเสื่อมเสีย การเกิดกลิ่นหืน หรือการเปลี่ยนแปลงสี อันเป็นผลมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Shahidi and Wanasundara, 1996) สามารถแบ่งชนิดของสารต้านออกซิเดชันได้เป็นประเภทต่างๆ คือ สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (Primary or chain-breaking antioxidants) สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (Secondary antioxidants) หรือสารต้านอนุมูลอิสระที่เสริมฤทธิ์ (Synergist antioxidants) เป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ป้องกัน

ไม่ให้อนุมูลอิสระไปมีผลทำลายเซลล์ในร่างกายซึ่งก่อให้เกิดโรคหลายชนิด โดยปกติในร่างกาย มีระบบควบคุมหรือป้องกันอนุมูลอิสระแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มของเอนไซม์ กลุ่มของสารและโปรตีนบางชนิด และกลุ่มของสารอาหารบางชนิด (อัญชนา, 2546) ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระ ถูกนำมาใช้ในการส่งเสริมสุขภาพป้องกันและรักษาโรคต่างๆ ในรูปของอาหารและสมุนไพร โดยเฉพาะประเภทที่มีวิตามินซี อี และเอ ซีลีเนียมและเบต้า-แคโรทีน รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระได้ดี

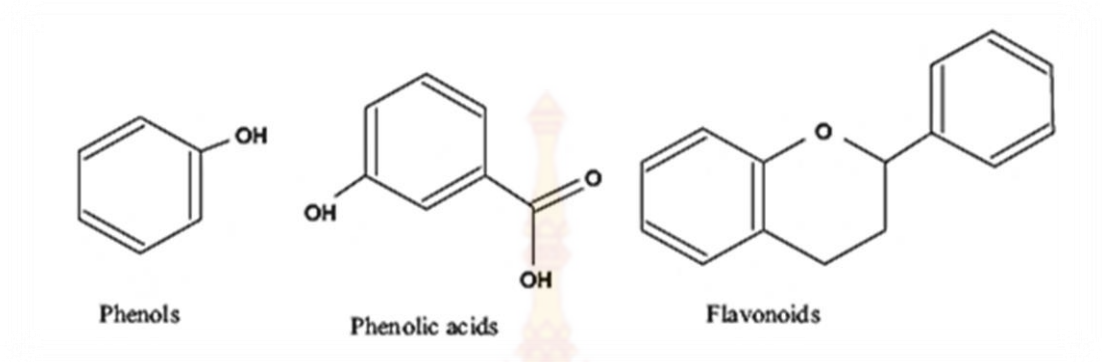
Ilkay and Osman, (2011). ได้ศึกษาการหาปริมาณรวมฟีนอลและสารต้านอนุมูลอิสระที่ยับยั้งเอนไซม์ในเห็ดจากตุรกี ในการศึกษาปัจจุบันการตรวจสอบเอนไซม์ (AChE) สามารถยับยั้งสารสกัดจากเอทานอลในสายพันธุ์ของเห็ด ที่เจริญเติบโตในประเทศตุรกี ส่วนใหญ่ เป็นสายพันธุ์ Polyporus ได้แก่ (Polyporus gilvus, Polyporus sulphureus, Polyporus annosus, Polyporus radiates, Polyporus Pinicola, Polyporus volvatus, Polyporus fomentarius, Polyporus stevenii, Polyporus badius) รวมทั้ง Cantharellus cibarius, Lactarius deliciosus, and Trametes versicolor. การดำเนินการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค spectrophotometric จาก Ellman ใน ELISA อ่าน microplate reader ที่ 500 mg/ml เนื่องจากโรคอัลไซเมอร์ (AD) มีความเกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของเซลล์ วิธีการของสารต้านอนุมูลอิสระได้นำไปใช้กับสารสกัดจากเห็ด เช่น 1,1-diphenyl-2-picrylhydazyl (DPPH) ผลการจับไอออนเหล็กเฟอริกจะช่วยลดสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) การทดสอบการฟอกสีเบต้าแคโรทีนและปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด นอกจากนี้ยังพบว่า Folin-Ciocalteu reagent ช่วยในการป้องกัน AChE assa ที่ใช้งานมากที่สุดคือ *P.sulphureus* มี 31.44% ของการยับยั้ง *P.voluatus* แสดงให้เห็นถึงผลการขับที่ดีที่สุดกับ DPPH ในขณะที่ทุกสารสกัดมีความจุต่ำในคีเลติ้งไอออนเหล็กและลดไอออนเฟอริก

Nick K. *et al*, (2013). องค์ประกอบของน้ำมันดิบ กรดไขมัน สเตอรอยด์ และปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) พบว่ามีอยู่ในเห็ดทั้งห้าสายพันธุ์ คือ (Lactarius deliciosus, Lactarius sanguifluus, Lactarius semisanguifluus, Russula delica, Suillus bellinii) ที่เกาะ Lesvos ในกรีซ นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการขับไล่ DPPH, เฟอริกไอออน (FRAP) และ สารสกัดจากเมทานอลที่มีหมู่สเตอรอยด์ ergosterol predominated ที่ระดับความเข้มข้น 9.2-18.0 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม/น้ำหนักสด ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเห็ดอยู่ระหว่าง 6.0-20.8 มิลลิกรัม GAE/100 gfw ถึง19 ตัวอย่าง พบว่าในสารสกัดจากเห็ดเป็น p-OH-benzoic acid, -OH-phenylacetic acid, o-coumaric acid ferulic acid และ chrysin นอกจากนี้กรด oleanolic triterpenic และ ursolic ที่ได้รับการตรวจฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและธาตุเหล็กคีเลตไอออนเป็นครั้งแรกในเห็ดทุกชนิด ความสามารถในการวิเคราะห์และองค์ประกอบหลักมีความสัมพันธ์ที่ดีระหว่าง TPC

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลิก มีโภชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ

โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก



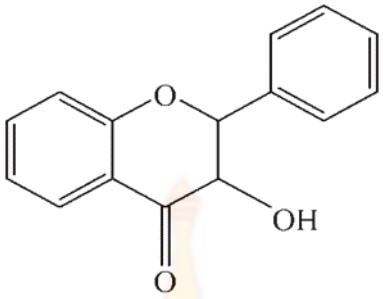
ภาพที่ 1.8 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก

(ที่มา http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound)

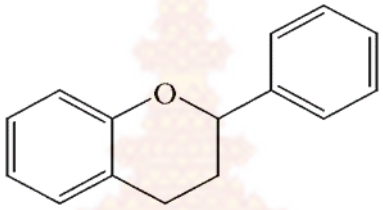
สารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่พบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ และชาเขียว เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น (ปริยานุช, 2551) ตัวอย่างสารที่จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก เช่น

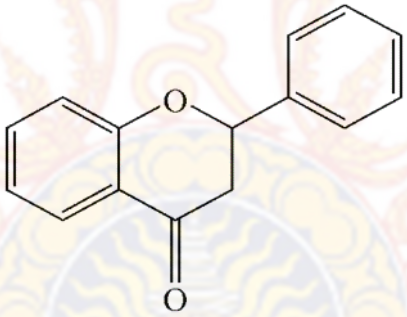
สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่าง ของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งการมรหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (flanvanes), ฟลาวาโนน (flavanols), ฟลาวานอล (flavanols), ฟลาโวนอล (flavonols), ฟลาโวน (flavonoes) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เป็นต้น โครงสร้างของกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิด ดังภาพ



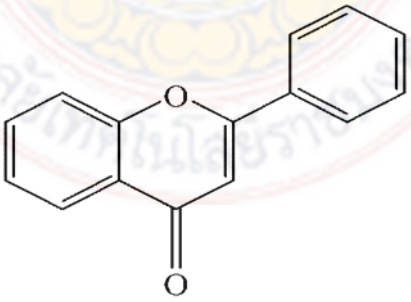
ภาพที่ 1.9 โครงสร้างทางเคมีของฟลาวาโนน (flavanols)



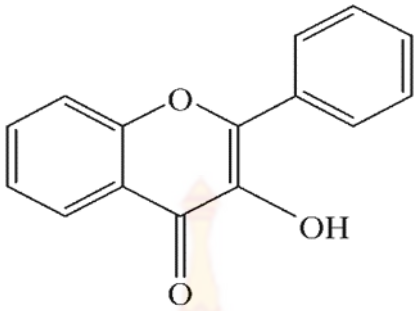
ภาพที่ 1.10 โครงสร้างทางเคมีของฟลาแวน (flanvanes)



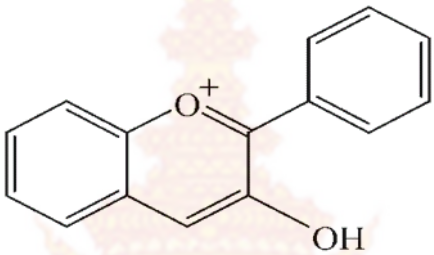
ภาพที่ 1.11 โครงสร้างทางเคมีของฟลาวานอล (flavanols)



ภาพที่ 1.12 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอล (flavonols)



ภาพที่ 1.13 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวน (flavonoes)



ภาพที่ 1.14 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)

Palacios I. *et al*, (2011) ได้ทำการประเมินผลรวมของปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่เกิดขึ้นในเห็ดทั้งแปดชนิด (*Agaricus bisporus, Boletus edulis, Calocybe gambosa, Cantharellus cibarius, Craterellus cornucopiodes, Hygrophorus marzuolus, Lactarius deliciosus and Pleurotus ostreatus*) ตามลำดับ โดยการทดสอบ Folin-Ciocalteau และสีจากปฏิกิริยาของ $NaNO_2$ และ $AlCl_3$ ในขั้นพื้นฐาน โดยทั่วไปการวิเคราะห์เห็ดที่มีความเข้มข้น ระหว่าง 1 และ 6 มิลลิกรัมของฟีนอลิกต่อกรัมของเห็ดแห้ง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ในขณะที่ความเข้มข้นของปริมาณฟลาโวนอยด์ อยู่ระหว่าง 0.9 และ3.0 มิลลิกรัมต่อกรัม ของน้ำหนักแห้ง รายละเอียดและความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิก ที่ได้จากวิธี liquid chromatography ที่มีประสิธิภาพสูง กรด Homogentisic เป็นกรดฟีนอลิกอิสระที่มีอยู่ในเห็ดทั้งหมด แม้ว่ามีปริมาณแตกต่างกันเป็นอย่างมากในสายพันธุ์ที่นำมาวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ เช่น myricetin และ catechin ที่ถูกตรวจพบในเห็ด ได้ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากเห็ดได้รับการประเมินโดยการตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระ กรดไลโนเลอิก และเห็ดสายพันธุ์ที่มีการยับยั้งด้วย *C. cibarius* ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดกับระดับการเกิดออกซิเดชันในไขมัน (74% ของการยับยั้ง) และ *A.bisporus* สายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำสุด (10%ของการยับยั้ง)

อรวัสสา และคณะ (2547) ได้ทำการวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดเห็ดด้วยเอทานอลในช่วงเวลาการสกัดและอุณหภูมิต่างๆกันพบว่าสารสกัดเห็ดฟางที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 6 ชั่วโมง ให้ปริมาณร้อยละของผลผลิตต่อน้ำหนักแห้งสูงสุด จากนั้นนำสารสกัดเห็ดฟางมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและปริมาณฟีนอลิกรวม พบว่าในสารสกัดเห็ดฟางที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (ร้อยละ 82.08+3.17 ที่ 250 mg/ml

และ 324.48+2.70 mgGAE/100 g crude ตามลำดับ) และสารสกัดเห็ดฟางที่อุณภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง แสดงร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด (ร้อยละ 57.66+0.90 ที่ 1000 mg/ml) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณฟีนอลิกรวม (R^2 =0.6919)

สรรพคุณของสารประกอบฟีนอลิก

1) ประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagrns) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย

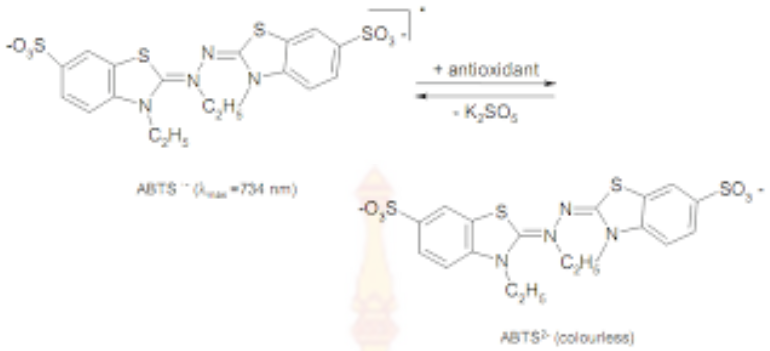
2) ใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

วิธีการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

งานวิจัยส่วนใหญ่ประเมินประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวม (total antioxidant capacity, TAC) การวิเคราะห์ค่าโดยทั่วไปจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน และวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือขจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือ สารที่นิยมใช้เป็นตัวกำเนิดอนุมูลอิสระมักจะใช้สารประกอบ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) หรือใช้สารประกอบกลุ่มเอโซ เช่น 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS)

ABTS

ใช้สาร ABTS หรือ 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid ($C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$) โดยถูกออกซิไดซ์ด้วย potassium persulfate ให้กลายเป็น ABTS เก็บไว้ในที่มืด 1 คืน ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เมื่อทดสอบสารที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชัน รวมทั้งโพลีฟีนอล ไทออล และวิตามินซี ทำให้ ABTS จางลง สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง จะวัดค่าดูดกลืนแสงได้น้อย ฤทธิ์การจับอนุมูลอิสระ ABTS ค่าที่บ่งชี้ความแรงของฤทธิ์จะเป็นค่าที่เทียบกับสารมาตรฐาน trolox



ภาพที่ 1.15 ปฏิกิริยาของ ABTS

Total phenolic compound (TPC)

เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ ละลายน้ำได้ พบได้ในพืชทั่วไปมักรวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) พบช่องว่างภายในเซลล์ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติ กลุ่มใหญ่สุด คือสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) นอกจากนี้ก็จะมีสารประกอบพวก monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic quinine และ polyphenolic ได้แก่ lignin, tannin และยังพบสารประกอบฟีนอลรวมอยู่กับโปรตีนอัลคาลอยด์ และเทอร์ปินอยด์ สารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิก และแทนนิน สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่ขับไล่อนุมูล peroxyl โดยอาศัยกลไก 2 แบบ เมื่อมีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิไดซ์ นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ทำให้สามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนพรอพาเกชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทิน (quercetin) สารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่เป็นสารให้อิเล็กตรอน หรือ เป็นตัวให้ไฮโดรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่ง

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu reagent โดยทำปฏิกิริยากับสารทดสอบ เติมสารละลาย Folin-ciocalteu phenol reagent เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) รายงานผลเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมกรดแกลลิก (mg/g gallic acid equivalent, GAE)

Total Flavonoid Content (TFC)

เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในผักและผลไม้ มีหน้าที่เป็นรงควัตถุ ทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจง และทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยกำจัดอนุมูลอิสระในเซลล์พืชออกไป ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอยด์ยังมีคุณสมบัติต้าน

การอักเสบ ช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัว ต่อต้านแบคทีเรียและไวรัส ลดโคเลสเตอรอล พบในส้ม พริกไทย และพวกเบอรี่ต่าง ๆ ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 5 ประเภท คือ

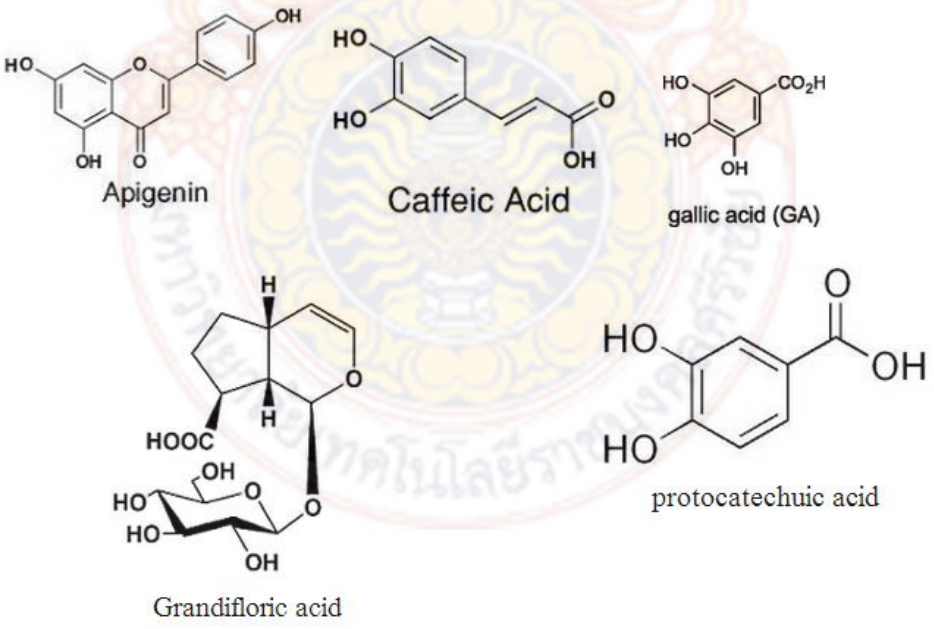
1. แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin), แอนโทคลอร์ส (anthochlors) และออโรนัส (auronus) เป็นสารที่เป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง ขึ้นกับชนิดของพืช ได้แก่ บลูเบอร์รี่ เชอรี่ องุ่นแดง หัวหอม กะหล่ำปลี ส่วน แอนโทคลอร์สเป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลืองพบมากในดอกไม้

2. ฟลาโวโนน (flavonones) ฟลาวาน-3-ออล (flava-3-ols) ไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone) และไดไฮโดรชาล์โคน (dihydrochalcones) เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ พบในพืชตระกูลส้ม องุ่น

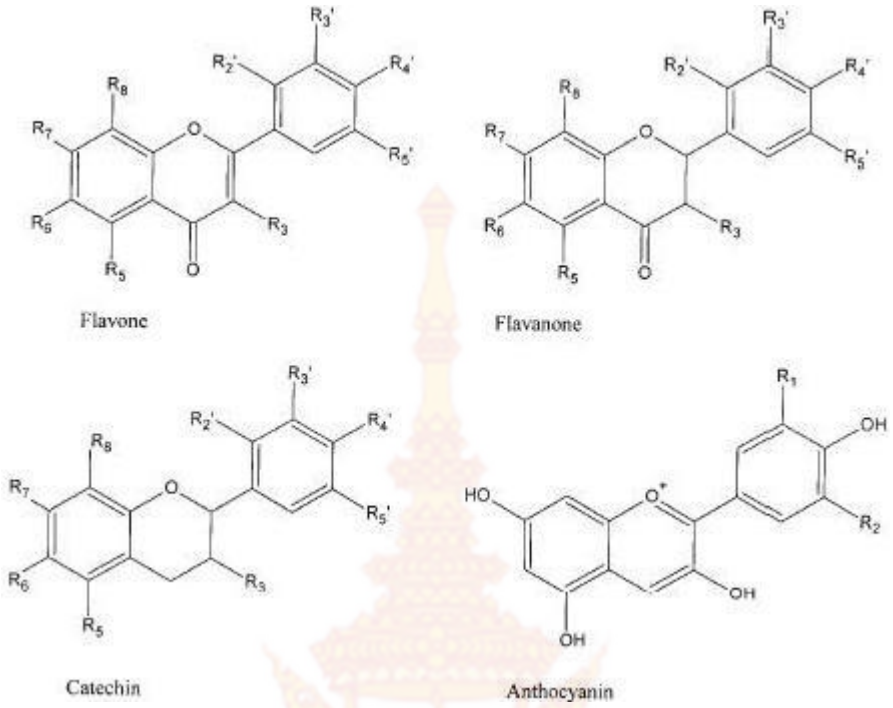
3. ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonols) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของฟลาโวนอยด์ พบในบลูเบอร์รี่ เชอรี่หวาน บรอคคอลี่ หัวหอม ชาดำ ชาเขียว มันฝรั่ง แครอท ผักขม ส้ม องุ่น

4. ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid) พบมากในพืชตระกูลถั่ว

การตรวจสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธี aluminum chloride colorimetric assay ขึ้นอยู่กับการต่อตัวของสารประกอบเชิงซ้อน aluminum-flavonoid โดยนำสารสกัดมาทำปฏิกิริยากับ $AlCl_3$, $NaNO_2$, น้ำกลั่น, NaOH ตามขั้นตอน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน quercetin equivalent ต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง 1 กรัม (QE/g crude extract)

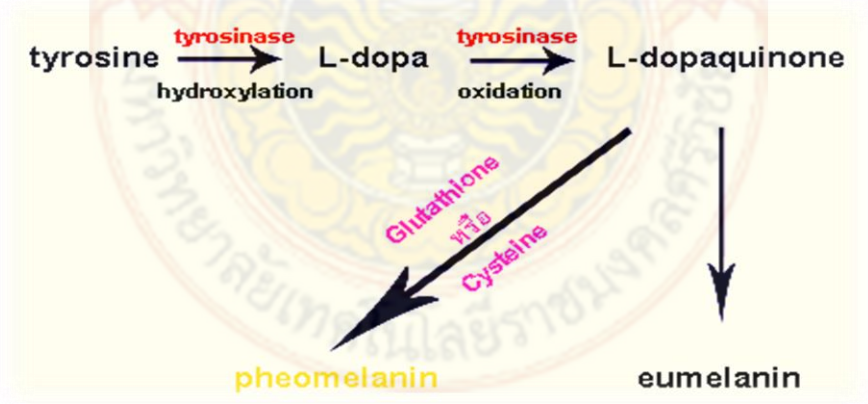


ภาพที่ 1.16 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟีนอลิก



ภาพที่ 1.17 ตัวอย่างสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

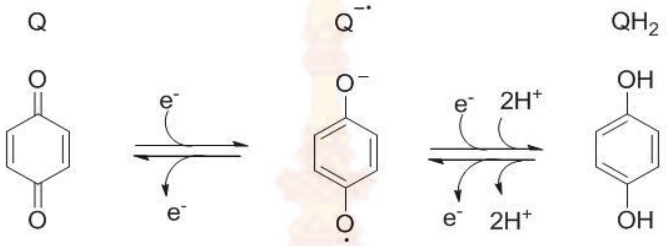
เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase)



ภาพที่ 1.18 กลไกการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase
(ที่มา http://supplement-to-health.blogspot.com/2013/11/glutathione-and-skin-whitening.html)

Tyrosinase จัดเป็น Enzyme ที่ใช้ในการสร้าง Melanin หรือเม็ดสี ซึ่งจะมีสารที่สารมารถยับยั้งการสร้างเม็ดสี (Tyrosinase Inhibitor) ได้แก่

1) ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone) หรือ 1,4-dihydroxybenzene เป็นสารไวท์เทนนิ่งที่ดีที่สุดแต่อันตรายมาก ที่ในประเทศไทยนั้นไม่สามารถผสมในเครื่องสำอางได้ กลไกการออกฤทธิ์ที่ทำให้ผิวขาวของสารกลุ่มนี้ โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase inhibitor)



ภาพที่ 1.19 โครงสร้างปฏิกิริยารีดอกซ์ของวงแหวนควิโนน
(ที่มา https://www.google.co.th/ไฮโดรควิโนน)

2) Hydroquinone เรียกได้ว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเป็นไวท์เทนนิ่ง เพราะการทำงานที่กว้าง

กระตุ้นการสร้าง ROS ขึ้นมาเพื่อทำลายเยื่อหุ้มและโปรตีนของเอนไซม์ Tyrosinase ลดการสร้าง DNA และ RNA ของเซลล์เมลาโนไซด์ และอาร์บูติน (Arbutin) พบมากในผลไม้พวกตระกูลเบอร์รี่และลูกแพร์ เป็นอนุพันธ์หนึ่งของไฮโดรควิโนน ชื่อว่า Hydroquinone-Beta-D-Glucoside มีผลข้างเคียงน้อยกว่าหรือแทบไม่มีเลยเมื่อเทียบกับไฮโดรควิโนน Arbutin ซึ่งมีคุณสมบัติที่คล้ายกับ Hydroquinone แต่ว่ามีความปลอดภัยกว่า (คือเกิด Melanocyte Cytotoxicity น้อยกว่า และไม่ส่งผลกระทับกับ mRNA) Arbutin ปกป้องผิวด้วยการต่อต้านการทำลายผิวจากอนุมูลอิสระ Arbutin เป็นสารกลุ่ม whitening ที่เป็นที่นิยมใน Japan และ Asian สำหรับการลดเลือนความหมองคล้ำจากเม็ดสี โดยมันจะไปยับยังการฟอร์มเป็นเม็ดสีโดยไปบล็อกการทำงานของ Tyrosinase Inhibitor ดังนั้น Arbutin เป็นสารที่ปลอดภัยสำหรับการใช้ทาภายนอกซึ่งไม่ก่อให้เกิดพิษเหมือน Hydroqinone. (บริษัท ซีดีไอพี (ประเทศไทย) จำกัด 131 อาคารกลุ่มนวัตกรรม1 ห้อง 204 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120.)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหย

การออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหย (ตารางที่ 1.2)

ตารางที่ 1.2 การรักษาอาการต่าง ๆ ของน้ำมันหอมระเหย (Buckle, 2007; Price and Price, 2011; Varney and Buckle, 2013)

สภาวะ/อาการ	แหล่งของน้ำมันหอมระเหย
วิตกกังวล สั่น เครียด	*Angellica archangelica* (โกฏหัวบัว) *Cistus ladaniferus* (แลบดานัม) *Citrus bergamia* (มะกรูด) *Citrus sinensis* (ส้มเกลี้ยง) *Lavandula angustifolla* (ลาเวนเดอร์) *Ocimum basilicum* (โหระพา) *Origanum majorana* (มาโจแรม) *Pelargonium graveolens* (เจอราเนียม)
อาการกระสับกระส่าย กระวนกระวาย	*Pogostemon patchouli* (พิมเสน) *Lavandula angustifolia* (ลาเวนเดอร์) *Santalum album* (ไม้จันทร์) *Boswellia carteri* (กำยาน)
เหนื่อย เมื่อยล้า	*Citrus paradise* (เกรปฟรุต) *Coriandrum sativum* (ผักชี) *Cymbopogon nardus* (ตะไคร้หอม) *Eucalyptus radiate* (เปปเปอร์มิ้นดำ)
นอนไม่หลับ	Zingiber officinate (ขิง) *Cananga odorata* (กระดังงา) *Chamaemelum nobile* (คาโมมายส์)
เหนื่อยทางจิตใจ	*Mentha piperita* (เปปเปอร์มินต์) *Helichrysum angustifolium* (บานไม่รู้โรย) *O. basilicum* (โหระพา)
ความจำเสื่อม	Litsea cubeba (เมแชง) *R. officinalis cineole* (โรสแมรี่) *M. piperita* (เปปเปอร์มินต์)
อาการปวด	*Z. officinale* (ขิง) *Chamaemelum nobile* (คาโมมายส์) *Lavandula angustifolia* (ลาเวนเดอร์)

ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยถูกนำมาทดสอบการออกฤทธิ์กับจุลชีพทั้งแบคทีเรียและยีสต์ ทำให้น้ำมันหอมระเหยกลายเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นยาปฏิชีวนะได้เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ ทำให้สามารถทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียทำให้เซลล์เกิดความเสียหาย ไซโทพลาสซึมเกิดการแข็งตัว โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์เกิดความเสียหาย เกิดการรั่วไหลของเนื้อเซลล์ ลดแรงขับเคลื่อนของโปรตอน ลดการสร้าง ATP ทำให้น้ำมันยั้งหอมระเหยสามารถเจาะเข้าไปภายในเซลล์ของจุลชีพ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำงานของเซลล์ ทำให้จุลชีพตาย (Nazzaro *et al*., 2013) เช่น การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Fusobacterium nucleatum*, Porphyromonas gingivalis, *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* และ *Streptococus sobrinus* เป็นแบคทีเรียที่ติดต่อทางช่องปาก (Karbach *et al*., 2015)

ฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันจากต้นทีทรี (*Melaleuca alternifolia*) สามารถยับยั้งปฏิกิริยาของฮิสตามีน (histamine) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดผื่นแดงในมนุษย์ น้ำมันหอมระเหยไม่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์โดยตรง แต่จะเพิ่มการผลิตไซโตไคน์ interleukin-10 ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Murbach Teles Andrade *et al*., 2014) จากการทดลองของ Aazza และคณะ (2014) พบน้ำมันหอมระเหยจากมะนาว (*Citrus limon*) ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globulus*) และจากต้นไทม์ (*Thymus vulgaris*) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของน้ำมันหอมระเหย

กระบวนการตายของเซลล์มะเร็งอาศัยกลไก caspase-dependent ในเซลล์มะเร็ง น้ำมันหอมระเหยจากกระวานมีสารประกอบ geraniol มีฤทธิ์รักษาเนื้องอกในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Carnessecchi, *et al*., 2002) เซลล์มะเร็งผิวหนังเมลาโนมา (melanoma M14 WT) ถูกยับยั้งด้วยน้ำมันทีทรีและ terpinen-4-ol (Calcabrini *et al*., 2004)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย

อนุมูลอิสระที่ผลิตขึ้นระหว่างที่เกิดอาการอักเสบ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีน ถ้าอนุมูลอิสระเหล่านี้ไม่ถูกกำจัดออกไป อนุมูลอิสระก็จะแพร่กระจายก่อให้เกิดความเสียหายต่อร่างกาย น้ำมันจากต้นทีทรี น้ำมันคานูก้า (*Kunzzea ericoides*) มานูก้า (*Leptospermum scoparium*) และน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดเทียนดำ (*Nigella sativa* L.) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยไปเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ superoxide dismutase (Baratta *et al*., 1998)

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งและการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ
2. เพื่อศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับ

ได้น้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ ที่รู้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ ตลอดจนช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับวัชพืชได้อีกทางหนึ่งด้วย

บทที่ 2
วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 สารเคมี

Tris (hydroxymethyl) aminomethane ยี่ห้อ Sigma Chemical Co.
HCl (hydrochloric acid) ยี่ห้อ Merch
NaCl ยี่ห้อ Fluka
Citric acid ยี่ห้อ Ajax chemical
KOH ยี่ห้อ Ajax chemical
Sodium carbonate ยี่ห้อ Fluka
Ethanol ยี่ห้อ Merch
Folin -Ciocalteu colorimetric
DPPH [2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl]

2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

กระดาษกรองเบอร์ 1
เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Biochrom รุ่น Libra S22
เครื่องปั่น ยี่ห้อ PHILIPS รุ่น HR-2001
เครื่องเซนตริฟิวจ์
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น PB 153-s/FACT
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น BSA2202S
ตู้อบ (Hot air oven) ยี่ห้อ BINDER รุ่น FED, BF
เตาให้ความร้อน
เครื่องกวนสารละลาย ยี่ห้อ CAT รุ่น M6
ไมโครปิเปต ยี่ห้อ SOCOREX

2.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.3.1 เวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งและการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ

1) เวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งว่านน้ำ

นำเหง้าและรากของว่านน้ำมาล้างทำความสะอาด แล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลาตั้งแต่ 12-60 ชั่วโมง จากนั้นนำเหง้าและรากที่อบแห้งแล้วไปกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่เวลาต่าง ๆ

2) เวลาที่เหมาะสมในการกลั่นว่านน้ำ

นำเหง้าและรากของว่านน้ำที่อบแห้ง 1 กิโลกรัม มากลั่นต่อเนื่องตั้งแต่ 6-24 ชั่วโมง วัดปริมาตรของน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้ คำนวณเปอร์เซ็นน้ำมันหอมระเหยที่ได้

2.3.2 ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ

1) วิเคราะห์หาปริมาณเบต้าแคโรทีน

วิเคราะห์หาปริมาณเบต้าแคโรทีนในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ ดัดแปลงตามวิธีของ [3] ชั่งน้ำมันหอมระเหย 1 กรัม สกัดด้วยอะซิโตน 5 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 10 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บสารละลายส่วนบนมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณเบต้าแคโรทีนจากกราฟมาตรฐานเบต้าแคโรทีน (0.1-2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

2) วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ดัดแปลงตามวิธีการของ [19] ทำโดยผสมน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม กับ Folin-Ciocalteu reagent บ่มในที่มืดเป็นเวลา 7 นาที เติม สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5% แล้วบ่มต่อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย mg gallic acid equivalents (GAE)/ml เทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid (1-25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

2.3.3 วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำด้วยวิธี DPPH radical scavenging method ดัดแปลงตามวิธีของ [17] ทำโดยผสมน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม 1 มิลลิลิตร กับ 0.1 mM DPPH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า 10 นาที วางไว้ที่มืด 30 นาที นำสารละลายที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของ blank (ไม่เติมสารละลาย DPPH) และค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุมที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหยซึ่งทำการทดลองในทำนองเดียวกัน สำหรับสารมาตรฐาน BHT, α-tocopherol, commercial-holy basil essential oil สามารถทดสอบได้ตามขั้นตอนเดียวกัน นำผลที่ได้มาคำนวณ DPPH radical scavenging activity (%) ตามสมการ

$$\% \text{ radical scavenging activity} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

บทที่ 3
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. เวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งและการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ

1.1 เวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งว่านน้ำ

นำเหง้าของว่านน้ำมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำว่านน้ำ 1 กิโลกรัม มาอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 6, 12, 18, และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเหง้าที่อบแห้งแล้ว 150 กรัม ไปกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่เวลา 8 ชั่วโมง และคำนวณเปอร์เซ็นน้ำมันหอมระเหยที่ได้

ตารางที่ 3.1 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยของว่านน้ำที่ผ่านการอบที่เวลาต่าง ๆ

ตัวอย่างว่านน้ำ	ปริมาตรน้ำมันหอมระเหย (ml)	% yield (v/w)
ว่านน้ำสด	0.5	0.33
ว่านน้ำผ่านการอบ 6 ชั่วโมง	0.8	0.53
ว่านน้ำผ่านการอบ 12 ชั่วโมง	1.4	0.93
ว่านน้ำผ่านการอบ 18 ชั่วโมง	1.0	0.67
ว่านน้ำผ่านการอบ 24 ชั่วโมง	1.0	0.67

1.2 เวลาที่เหมาะสมในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ

นำเหง้าของว่านน้ำอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำเหง้าที่อบแห้งแล้ว 150 กรัม มากลั่นต่อเนื่องตั้งแต่ 6, 9, 12 และ 15 ชั่วโมง วัดปริมาตรของน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้และคำนวณเปอร์เซ็นน้ำมันหอมระเหยที่ได้

ตารางที่ 3.2 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยของว่านน้ำที่ผ่านกลั่นที่เวลาต่าง ๆ

ระยะเวลาในการกลั่น	ปริมาตรน้ำมันหอมระเหย (ml)	% yield (v/w)
6 ชั่วโมง	1.0	0.67
9 ชั่วโมง	1.4	0.93
12 ชั่วโมง	1.5	1.00
15 ชั่วโมง	1.5	1.00

2. ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ

2.1 ปริมาณเบต้าแคโรทีน

วิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนที่อยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีปริมาณปริมาณเบต้าแคโรทีนเท่ากับ 0.42-0.49 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบมีค่าน้อยกว่าในน้ำมันปาล์มจากจังหวัดกาญจนบุรีมีค่าเท่ากับ 3.05 มิลลิกรัมต่อ100 กรัมน้ำหนักสด (สิรินภาและคณะ, 2557) จากการทดลองของเสาวลักษณ์และศักดิ์ศรี (2560) เนื้อฟักทองสายพันธุ์ทองอำไพให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนเท่ากับ 7.197 มิลลิกรัมต่อกรัม ให้ปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำเช่นกัน

ตารางที่ 3.3 ปริมาณเบต้าแคโรทีน

ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยว่านน้ำ	ปริมาณเบต้าแคโรทีน (μg/ml)
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 6 ชั่วโมง	0.48
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 12 ชั่วโมง	0.49
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 18 ชั่วโมง	0.45
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 24 ชั่วโมง	0.42
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 6 ชั่วโมง	0.45
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 9 ชั่วโมง	0.47
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 12 ชั่วโมง	0.48
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 15 ชั่วโมง	0.46

2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่อยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.87 - 1.94 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร พบมีค่าน้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราที่มีค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 19.46±1.97 mg GAE/g dry weight (Brenes and Rou, 2010) และมีค่าน้อยกว่าน้ำมันหอมระเหยจากดอกและเมล็ดของข่าคม (*Alpinia zerumbet*) พบมีค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 56.7 และ 13.7 mg GAE/g สารสกัด (Abdelnaser *et al.*, 2007) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำมีค่าน้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของพืชชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ใบบัวบกพบมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 56.254 mg/g (สุวรรณีและคณะ, 2555) ผงผักแขยงพบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 2.62±0.53 กรัมกรดแกลลิกต่อ100 กรัมผงแห้ง (อรนุชและคณะ, 2555) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติจำพวกที่มีฟีนอล ซึ่งมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจน ทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ได้จะไปแทนที่ในตำแหน่งออโทด้วยหมู่ที่สามารถให้อิเล็คตรอนได้ง่าย โดยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมีความสามารถในการให้อิเล็คตรอน หรือความสามารถในการให้ไฮโดรเจนเพื่อต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

ตารางที่ 3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยว่านน้ำ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร)
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 6 ชั่วโมง	1.89
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 12 ชั่วโมง	1.87
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 18 ชั่วโมง	1.92
น้ำมันว่านน้ำผ่านการอบ 24 ชั่วโมง	1.94
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 6 ชั่วโมง	1.93
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 9 ชั่วโมง	1.90
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 12 ชั่วโมง	1.91
น้ำมันว่านน้ำผ่านการกลั่น 15 ชั่วโมง	1.88

3. วิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

นำน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging อาศัยการฟอกจางสีของ DPPH และติดตามผลการทดลองโดยวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงของ DPPH ซึ่งรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50% จากความเข้มข้นเริ่มต้น (IC_{50}) โดยพิจารณาจากค่าน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.017 $\pm$0.15 μl/ml (v/v) โดยน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า α-tocopherol (2.93$\pm$0.53 μl/ml) และ BHT (0.42$\pm$0.19 μl/ml) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ ประภัสสร และวัชรี (2554) ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรามีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 0.037$\pm$0.003 μl/ml เปรียบเทียบกับ IC_{50} ของ vitamin e acetate และ BHT เท่ากับ 42.500$\pm$7.280 และ 0.076$\pm$0.012 μl/ml จากการศึกษาของ Lertsatitthanakorn และคณะ (2006) พบว่า IC_{50} ของกะเพรา เท่ากับ 0.03$\pm$0.00 เช่นเดียวกับการทดลองของ Jirovetz และคณะ (2006) พบว่า IC_{50} ของใบพลู (clove leaf essential oil) เท่ากับ 0.08 μl/ml นอกจากนี้ยังพบว่า IC_{50} จากดอกของข่าคมมีค่า เท่ากับ 0.08 mg/ml (Abdelnaser *et al*., 2007) ซึ่งพบมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ จากผลการทดลองยังพบว่า IC_{50} ของน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพมากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากเกสรบัวหลวงราชินีที่แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 31.00$\pm$0.094 μl/ml (บุษราคัมและคณะ, 2560) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพมากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากแฝกหอม ซึ่งพบค่า IC_{50} เท่ากับ 7.79$\pm$0.094 μl/ml (Kim, J.H. and Kim, B.J. , 1997) จากคุณสมบัติที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ยิ่งไปกว่านั้นคุณสมบัติดังกล่าวจะมีประโยชน์ในด้านเวชสำอาง คือนำน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวไปพัฒนาในการตั้งตำรับเพื่อใช้ในการบำรุงผิว เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ลบเลือนริ้วรอย ต้านการอักเสบ หรือลดการเกิดเม็ดสีเมลานิน ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเป็นตำรับที่ใช้ในเวชสำอางต่อไป

ตารางที่ 3.5 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

sample	$IC_{50} \pm$ SD (μl/ml)
น้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำ	0.017±0.15
BHT	0.42±0.19
α-tocopherol	2.93±0.53
น้ำมันกะเพรา	5.30±0.20

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งและการกลั่นน้ำมันหอมระเหยและศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ จากการศึกษาพบว่า ว่านน้ำให้ปริมาณน้ำมันสูงสุดที่ผ่านการอบ 12 ชั่วโมงและกลั่น 9 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณเบต้าแคโรทีน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin Ciocalteu และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด คือ 1.87 - 1.94 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.017$\pm$0.15 μl/ml (v/v) และปริมาณเบต้าแคโรทีน เท่ากับ 0.42-0.49 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาที่จะเป็นแนวทางในการนำสมุนไพรมาเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ จากธรรมชาติ

บรรณานุกรม

บุษราคัม สิงห์ชัย, นิศา ตระกูลภักดี, และสาวิตรี ทองลิ้ม. (2560). น้ำมันหอมระเหยจากเกสรบัวหลวงราชินี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 25(1): 27-34.

ประภัสสร วีระพันธ์, และวัชรี คุณกิตติ. (2554). คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยในหลอดทดลอง. วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน. 7(3): 30-38.

ปวันรัตน์ วิหงส์, พัชริน ส่งศรี, พลัง สุริหาร, คุมศร ลมไธสง, และกมล เลิศรัตน์ .(2557). ปริมาณสารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในตัวอย่างฟักข้าวสายต้นต่าง ๆ. แก่นเกษตร. 42: 166-171.

วทันยา ลิมปพะยอม, และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. (2557). องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยขิง. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 37(30): 297-303.

วรัญญา ชูขาวและนภาพร รัตนาถ. 2558. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเนื้อผลไม้. การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ สร้างสรรค์และพัฒนา เพื่อก้าวหน้าสู่ประชาคมอาเซียน ครั้งที่ 2. 127-134.

สิรินภา คงเจริญ, วีระพันธุ์ ศรีดอกจันทร์, พัชรินทร์ ตัญญะ, พรศิริ เลี้ยงสกุม และรณฤทธิ์ ฤทธิรณ. (2557). การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนในผลปาล์มน้ำมันแบบรวดเร็ว. Khon kaen agriculture J. 42: 375-381.

สุวรรณี แสนทวีสุข, ดวงใจ จงตามกลาง, ทัศน์วรรณ สมจันทร์, และปิติพงษ์ โตบันลือภพ. (2555). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของพืชสมุนไพรบางชนิด. แก่นเกษตร. 40(2): 480-483.

อัญชนา เจนวิถีสุข. 2546. ป้องกันโรคด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ .ในจดหมายข่าว RISE–AT New sletter. กรกฎาคม–สิงหาคม. [Online] Availablehttp : //www.ist.cmu.ac.th/

อรนุช นาคชาติ, วรรณา เอกทอง, และอรนุช คงลัก. (2555). สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผงผักแขยง. วาราวิทยาศาสตร์ คชสาส์น. 36(2): 55-64.

โอภา วัชระคุปต์. 2549. *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ*. โรงพิมพ์ พี เอส ปริ้นท์. กรุงเทพฯ.

Aazza, S., Lyoussi, B., Megias, C., Cortes-Giraldo, I., Vioque, J., Figueiredo, A.C. and Miguel, M.G. 2014. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of Moroccan commercial essential oils. Natural Product Communication, 9(4): 587-594.

Abdelnaser, A.E., Tran, D.X., Haruo, K. & Shinkichi, T. (2007). Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers) B. L. Burtt. & R.M. Sm

Aiemsaard, J., Aiumiamai, S., Taweechaisuppapong, S., Aromdee, C. & Khunkitti, W. (2010). Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial action of eight essential oils against clinical isolates of mastitis pathogens. Int J Essent Oil Ther. 4:37-43.

Andrade, E.H.A., Alves, C.N., Guimaraes, E.F., Carreira, L.M.M. and Main, J.G.S. (2011) Variability in essential oil composition of Piper dilatatum L.C. Rich. Biochemical Systematics and Ecology. 39(4-6): 669-675.

Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Dean, S.G., Brondi, D.M. and Ruberto, G. (1998). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. Journal of Essential Oil Research, 10(6): 618-627.

Baser, K.H.C. and Buchbauer, G. (2010). Handbook of essential oils: Science, Technology and Applications. Florida: CRC Press.

Brenes, A. & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. Animal Feed Science and Technology. 158(1): 1-14.

Buchbauer, G. (1993). Molecular interaction: biological effects and modes of action of essential oils. International. Journal of Aromatherapy. 5(1): 11-14.

Buckle, J. (2007). Literature review: should nursing take aromatherapy more seriously. Brittish Journal of Nursing. 16(2): 116-120.

Calcabrini, A., Stringaro, A., Toccacieli, L., Meschini, S., Marra, M., Colone, M., Salvatore, G., Mondello, F., Arancia, G. and Molinari, A. (2004). Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells. Journal of Investigative Dermatology, 122(2): 349-360.

Carnesecchi, S., Langley, K., Exinger, F., Gosse, F. and Raul, F. (2002). Geraniol, a component of plant essential oils sensitizes human colon cancer cells to 5-fluorouracil treatment. IARC Scientific Publications. 156: 407-409.

Celeiro, M., Guerra, E., Lamas, J.P., Lores, M., Garcia-Jares, C. and Llompart, M. (2014). Development of a multianalyte method based on micro-matrix-solid-phase dispersion for the analysis of fragrance allergens and preservatives in personal care products. Journal of Chromatography A. 1344: 1-14.

Dadaung, J., Vichitphan, S., Dadaung, S., Hongsprabhas, P. & Boomsiri, P. (2011). High phenolics and antioxidants of some tropical vegetable related to antibacterial and anticancer activities. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 5(5): 608-615.

Daviet, L. and Schalk, M. (2010). Biotechnology in plant essential oil production progress and perspective in metabolic engineering of the terpene pathway. Flavour and Fragrance Journal. 25(3): 123-127.

Djilani, A. and Dicko, A. (2012). The therapeutic benefits of essential oils, nutrition, well-being and health. In J. Bouayed (Ed.), InTech. DOI. 10:

Gupta, V., Mittal, P., Bansal, P., Khokra, S.L. and Kaushik, D. (2010). Pharmacological potential of *Matricaria recutita*. Internation Jounal of Pharmaceutiical Sciences and Drug Reseach. 2(1): 12-16.

Halliwell, B. 1994. Antioxidant : sense or speculation. Nutrition Today. 29: 15-19.

Hunter, M. (2009). Essential oils: art, agriculture, science, industry and entrepreneurship. New York: Nova Science Publishers.

Jimbo, D., Kimura, Y., Taniguchi, M., Inoue, M. and Urakami, K. (2009). Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. Psychogeriatrics. 9(4): 173-179.

Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A. & Schmidt. (2006). Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. J. Agric Food Chem. 54(17): 6303-6307.

Karbach, J., Ebenezer, S., Warnke, P.H., Behrens, E. and Al-Nawas, B. (2015). Antimicrobial effect of Australian antibacterial essential oils as alternative to common antiseptic solutions against clinically relevant oral pathogens. Clinical Laboratory. 61(1): 61-68.

Kim, J.H. & Kim, B.J. (1997). Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use: antioxidative activity and free radical scavenging activity. Int J. CosmetSci.19: 299-307.

Kumar, R., Sharma, S., Sharma, S. and Kumar, N. 2016.Drying methods and distillation time affects essential oil content and chemical compositions of Acoruscalamus L. in the westwrn Himalayas. J.ApplyReserch on Medicinal and Aromatic Plant. 3:136-141.

Kumar, R., Sharma, S., Sharma, S., Kumari, A., Kumar, G.N., Padwad, Y., Ogra, R.K. and Kumar, N. 2016. Chemical composition, cytotoxicity and insecticidal activities of *Acorus calamus* accessions from the western Himalayas. Industrial Crops and Product. 94:520-527.

Lai, T.K., Cheung, M.C., Lo, C.K., Ng, K.L., Fung, Y.H., Tong, M. and Yau, C.C. (2011). Effectiveness of aroma massage on advanced cancer patients with constipation: a pilot study. Complementary Therapies in Clinical Practice. 17(1): 37-43.

Lertsatitthanakorn, P., Taweechaisupapong, S., Aromdee, C. & Khunkitti, W. (2006). In vitro bioactivities of essential oils used for acne control. Int J.Aromather, 16: 43-49.

Martin, A., Varona, S., Navarrete, A. and Cocero, M.J. (2010). Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: applications with essential oils. Open Chemical Engineering Journal. 4: 31-41.

Masashiro, M., Norikazu, I., Yoshiko, K., Miki, M. & Kazuhito, W. (2002). Inhibition activity of Citrus essential oils. J. Cosmet Derm. 1: 183-187.

Masuda, T., Yonemeri, S. & Nakata, M. (1999). Evaluation and Antioxidant Activity of Environmental plant: Activity of the Leaf Extracts from Seashore Plants. J. Agri. Food Chem. 47(4): 1749-1754.

Matsuura, R., Ukeda, H. & Sawamura, M. (2006). Tyrosinase inhibition activity of Citrus essential oils. J. Agric Food Chem. 54: 2309-2313.

Moss, M., Cook, J., Wesnes, K. and Duckett, P. (2003). Aroma of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. International Jounal of Neuroscience. 113(1): 15-38.

Murbach Teles Andrade, B.F., Conti, B.J., Santiago, K.B., Fernandes Junior, A. and Sforcin, J.M. (2014). Cymbopogon martini essential oiland geraniol at noncytotoxic concentrations exerted immunomodulatory anti-inflammatory effects in human monocytes. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 66(10): 1491-1496.

Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L.D., Coppola, R. Feo, V.D. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals. 6(12): 1451-1474.

Perry, N. and Perry, E. (2006). Aromatherapy in the management of psychiatric disorders clinical and neuropharmacological perspectives. CNS Drugs. 20(4): 257-280.

Price, S. and Price, L. (2011). Aromatherapy for health professionals. New York: Elsevier Churchill Livingstone.

Slinkard, K. & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture. 28(1): 49-55.

Smith, C.A., Colins, C.T. and Crowther, C.A. (2011). Aromatherapy for pain management in labour. Cochrane Database of Systematic Reviews, 7. DOl: 10.1002/14651858. CD009215.

Varney, E. and Buckle, J. (2013). Effect of inhaled essential oils on mental exhaustion and moderate burnout: a small pilot study. Journal of Alternative & Complementary Medicine. 19(1): 69-71.

Viyoch, J., Pisutthanan, N., Faikrea, A., Nupangta, K., Wangtopol, K. & Ngokkuen, J. (2006). Evaluation of in vitro antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against Propionibacterium acnes. Int J. Cosmet Sci. 28: 125-133.

Wangcharoen, W. & Morasuk, W. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content of holy basil. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 29(5): 1407-1415.

Zuzarte, M. and Salqueiro, L. (2015). Essential oils chemistry. In de Sousa D. (Eds). Bioactive essential oils and cancer. (pp. 19-61). Cham: Springer.

ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

1. เตรียมสารละลาย 0.1 M Tris Base ในน้ำกลั่น ปริมาตร 250 ml (M.W. = 121.14)

จาก g / M.W.= CV / 1000

g = (0.1 M) x 250 ml x 121.4 / 1000

g = 3.0285 g

ดังนั้น ต้องชั่งสาร Tris Base มา 3.0285 g มาละลายกับน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 250 ml แล้วนำไปปรับ pH 6.8 ด้วย HCl

2. เตรียมสารละลาย 6×10^{-5} M DPPH ในเมทานอล ปริมาตร 25 ml (M.W. = 394.32)

จาก g / M.W.= CV / 1000

g = $(6 \times 10^{-5}) \times 25 \times 394.32 / 1000$

g = 0.0006 g

ดังนั้น ต้องชั่งสาร DPPH มา 0.0006 g มาปรับปริมาตรกับเมทานอลให้ได้ 25 ml

3. เตรียมสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 100 µg/ml

โดยชั่งกรดแกลลิกมา 0.0015 g ละลายในเมทานอล ปริมาตร 1 ml จากนั้นเติมสารละลาย Folin – Ciocalteu reagent จำนวน 1 ml แล้วเติม 10% Na_2CO_3 จำนวน 1 ml แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 40 ml ด้วยน้ำกลั่น

4. เตรียมสารละลาย 7% Sodium carbonate ปริมาตร 40 ml

โดยชั่งสารละลาย Sodium carbonate 25 g ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 200 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 ml ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

5. เตรียมสารละลาย Folin – Ciocalteu reagent (เจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำกลั่น) ปริมาตร 10 ml

โดยใช้ Folin – Ciocalteu reagent ปริมาตร 1 ml ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 9 ml

6. เตรียมสารละลาย 2.5 mM *L*-Dopa ปริมาตร 10 ml

จาก *L*-Dopa 2.5×10^{-3} M x 10 ml = 25×10^{-6} M

ถ้า 25×10^{-6} M = 25×10^{-6} M x 197.19 g

= 0.0049 g

7. เตรียมสารละลาย 5% DMSO ปริมาตร 10 ml

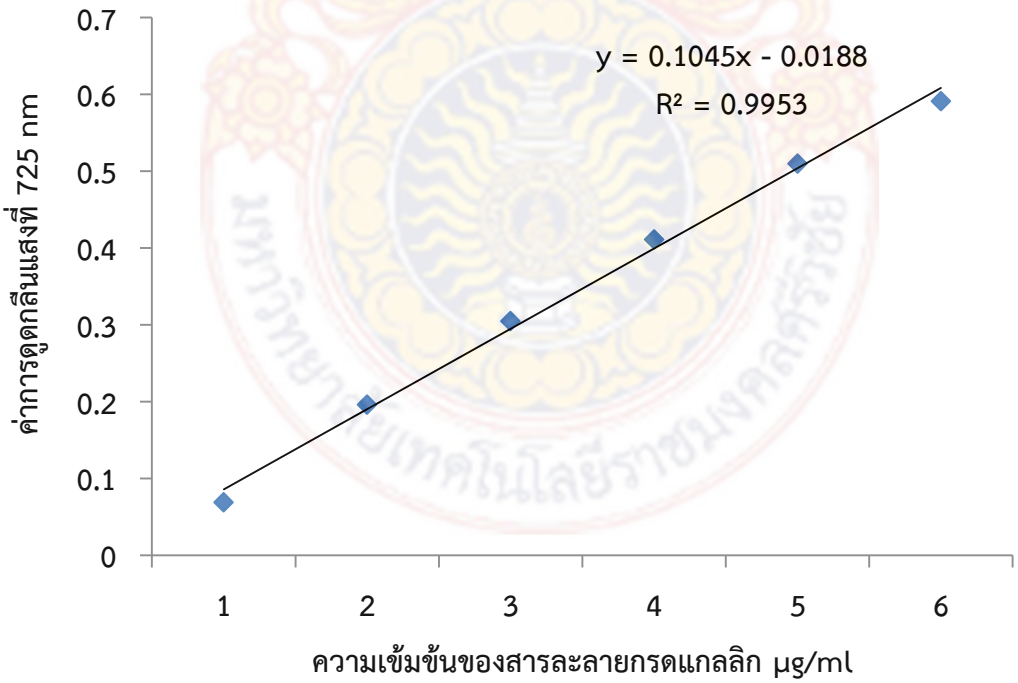
โดยเติมสารละลาย DMSO 5 ml แล้วเติมน้ำกลั่น 10 ml

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

ตารางผนวกที่ 1 ตารางบันทึกผลของความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารมาตรฐาน (Gallic acid)

ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิก (µg/ml)	ค่าเฉลี่ย
1	0.069
5	0.196
10	0.305
15	0.411
20	0.510
25	0.591

จากกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน gallic acid จะได้สมการ y = 0.1045x - 0.0188



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกในการทดสอบสารประกอบฟีนอลิกรวม

ตารางผนวกที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร ของว่านน้ำที่ผ่านการอบที่เวลาต่าง ๆ

เวลาในการอบ (ชม.)	$O.D_{725}$
3	0.459
6	0.604
12	0.540
24	0.594

ตารางผนวกที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร ของว่านน้ำที่ผ่านการกลั่นที่เวลาต่าง ๆ

เวลาในการกลั่น (ชม.)	$O.D_{725}$
6	0.702
8	0.642
10	0.523
12	0.528

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ตารางผนวกที่ 4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันว่านน้ำ

ระยะเวลา	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm		
		0.025%	0.05%	0.075%
การอบ	6	1.217	0.903	0.781
	12	0.681	0.443	0.303
	18	0.657	0.414	0.366
	24	0.631	0.432	0.332
การกลั่น	6	0.604	0.455	0.307
	8	0.742	0.479	0.407
	10	0.737	0.473	0.385
	12	0.763	0.423	0.322

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย