

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2557

โครงการการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และปริมาณของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดจากต้นย่านางในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์

Chemical Constituents and Antioxidant Activities Anticancer Activities Including Quantity of the Essential Oil and the Extract from *Tiliacora triandra* Diels. in Nakhonsawan Province

ดร.ดวงสุรีย์ แสนสีระ<sup>1</sup>

ผศ.ดร.กาญจนา ชินสำราญ<sup>1</sup>

ผศ.ดร.วิเชียร กীরตินิจกาล<sup>2</sup>

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผู้ร่วมโครงการ

ผู้ร่วมโครงการ

<sup>1</sup> สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ กรุงเทพฯ 10120

<sup>2</sup> ศูนย์วิทยาการเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

สนับสนุนโดย สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัย  
ในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ  
สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณภายนอก งบประมาณประจำปี 2557 (สกอ.) โครงการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ (ภายใต้โครงการส่งเสริมการวิจัยอุดมศึกษา) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ในสาขาวิชาและกลุ่มวิชาที่ทำการวิจัยด้านสาขา วิทยาศาสตร์เคมีและเภสัช และได้รับความกรุณาจากศูนย์วิทยาการเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร แห่งชาติ สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ในการสนับสนุนด้านเครื่องมือและ สถานที่ในการดำเนินโครงการวิจัยมาโดยตลอดจนเสร็จสิ้นโครงการวิจัยได้สำเร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบ ขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และปริมาณของ น้ำมันหอมระเหย และสารสกัดจากต้นย่านางในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ โดยสกัดส่วนเหนือพื้นดินของ ต้นย่านางด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ตามลำดับ สกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี hydro-distillation และศึกษาองค์ประกอบเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่ได้โดย GC-MS ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS และ DPPH ศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็ง ผลศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบและปริมาณน้ำมันหอมระเหย พบว่า ต้นย่านางจากอำเภอเก้าเลี้ยวมีปริมาณสารสกัดหยาบเมทานอลมากที่สุด ต้นย่านางจาก อำเภอตากสินมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดหยาบ ด้วยวิธี ABTS พบว่า น้ำมันหอมระเหยต้นย่านางในเขตอำเภอบรรพตพิสัย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.53 mg/mL สารสกัดหยาบจากการสกัดด้วยเฮกเซนในเขตอำเภอบรรพตพิสัย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.94 mg/mL ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดหยาบด้วยวิธี DPPH พบว่า น้ำมันหอมระเหยต้นย่านางในเขตอำเภอบรรพตพิสัย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.51 mg/mL ในเขตอำเภอเมืองตากสิน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเมทานอลมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.36 mg/mL ศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี resazurin microplate assay (REMA) พบว่า สารสกัดหยาบเฮกเซน ในเขตอำเภอเมือง มีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด KB-Oral cavity cancer และ MCF7-Breast cancer คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 41.14 และ 38.26  $\mu$ g/mL ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านมะเร็งของน้ำมันหอมระเหย พบว่า น้ำมันหอมระเหย 5 อำเภอ มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง แต่ไม่สามารถคิดค่า  $IC_{50}$  ได้ องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่ได้โดย GC-MS พบว่า อำเภอลาดยาว มีสารประกอบมากที่สุดคือ 14 ชนิด

**คำสำคัญ :** องค์ประกอบทางเคมี, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง, น้ำมันหอมระเหย, สารสกัดหยาบ, ต้นย่านาง

## ABSTRACT

In this research work, chemical constituents and antioxidant activities anticancer activities including quantity of the essential oil and the extract from *Tiliacora triandra* Diels. in Nakhonsawan province were studied. The aerial parts of *Tiliacora triandra* were macerated with hexane, chloroform and methanol, sequentially. The essential oil from the fresh aerial parts of *T. triandra* were isolated by hydrodistillation and analysed by using a combination of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The antioxidant and anticancer activities of the crude extracts and the essential oil of this plant were determined. The percentage yields of the crude extracts and the essential oils were calculated based on a dry weight. The methanol extracts of this plants from Amphoe Kao Liao gave the highest percentage yields. The essential oils of this plants from Amphoe Banphot Phisai gave the highest percentage yields. The antioxidant activity of the crude extracts and the essential oil of this plant were determined by ABTS and DPPH methods. The essential oil of the plant from Amphoe Banphot Phisai exhibited the highest antioxidant activity (ABTS) with an  $IC_{50}$  of  $2.53 \text{ mg mL}^{-1}$ . The extracts of the plant from Amphoe Banphot Phisai exhibited the highest antioxidant activity (ABTS) with an  $IC_{50}$  of  $2.94 \text{ mg mL}^{-1}$ . The essential oil of the plant from Amphoe Banphot Phisai exhibited the highest antioxidant activity (DPPH) with an  $IC_{50}$  of  $2.51 \text{ mg mL}^{-1}$ . The extracts of the plant from Amphoe Ta Khli exhibited the highest antioxidant activity (DPPH) with an  $IC_{50}$  of  $0.36 \text{ mg mL}^{-1}$ . The anticancer activity of the extracts and the essential oils of the plant were performed using the resazurin microplate assay (REMA). Only hexane extract of this plant from Amphoe Mueang showed anticancer activity against of two cancer cell lines: KB-Oral cavity cancer and MCF7-Breast cancer with the  $IC_{50}$  values of 41.14 and  $36.28 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectively. The essential oils of this plant from all 5 Amphoe gave % Inhibition of anticancer activity against all of three cancer cell lines: KB-Oral cavity cancer, MCF7-Breast cancer and NCI-H187 but can not showed with the  $IC_{50}$  values. The essential oil from the fresh aerial parts of the plant were isolated by hydrodistillation and analysed by using a combination of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The essential oils of the plant from Amphoe Lat Yao exhibited the highest of the major components were 14 compounds.

**Keywords :** Chemical Constituents, Antioxidant Activity, Anticancer Activity, Essential oil, Extracts, *Tiliacora triandra* Diels.

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อ	3
สารบัญเรื่อง	5
สารบัญตาราง	6
สารบัญภาพ	7
บทนำ	8
วัตถุประสงค์	8
การทบทวนวรรณกรรม	10
วิธีดำเนินการวิจัย	15
ผลการวิจัยและวิจารณ์	19
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	26
ผลผลิต	28
รายงานการเงิน	29
บรรณานุกรม	30
ภาคผนวก	33
ประวัติคณะผู้วิจัย	39

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลการสกัดสารสกัดหยาบและผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินต้นย่านาง	20
4.2 ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินต้นย่านาง โดยวิธี ABTS และ DPPH	22
4.3 ผลฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินต้นย่านาง	23
4.4 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยต้นย่านาง	24

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานโดยวิธี ABTS	21
4.2 โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานโดยวิธี DPPH	21

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ย่านาง (*Tiliacora triandra* Diels.) เป็นพืชสมุนไพรของไทยอยู่ในวงศ์ Menispermaceae ชื่อสามัญ Bai-ya-nang ลักษณะเป็นไม้เถาเลื้อยขนาดเล็ก ใบรูปรีสีเขียวเข้ม โดยเถาและใบย่านางสามารถนำมาใช้ประกอบอาหารได้หลายชนิด สารเคมีที่พบในย่านาง คือ ในราก มี isoquinolone alkaloid ได้แก่ tilacorine, tiacorinine, nortiliacorinine A, tiliacotinine 2-N-Oxide, tiliandrine, tetraandrine, และ D-isochondrodendrine (isoberberine) ([http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_09\\_13.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_09_13.htm)) และมีรายงานการพบสาร Triterpenes, Flavonoids, Saponins และ Tannins (Phadungkit et al.,2012) สรรพคุณทางยา พบว่า รากแห้งแก้ไข้ทุกชนิด สารสกัดจากรากย่านางมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัม ใบถอนพิษผดผื่นคัน แก้ไข้ ตัวร้อน แก้ไข้ รากสด ไข้พิษ ไข้หัว ไข้กลับซ้ำ แก้ไข้ฝีดาษ ไข้ดำแดง เถาราก แก้ไข้ แก้ไข้รากลสด ไข้กลับ ไข้พิษ ไข้ผื่น ผื่นคัน ไข้เหนือ ไข้หัวจำพวกเหือดหัด สุกใส ผิดาษ ไข้กาฬ แก้พิษเมา บำรุงหัวใจ บำรุงธาตุ แก้กำเดา แก้ลม ทั้งต้นปรุงเป็นยาแก้ไข้กลับ (<http://www.ใบย่านาง.com>) นอกจากนี้มีรายงานกล่าวถึง สารสกัดเอทานอลของย่านางมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ (ชุตินันท์ และคณะ, 2009) และมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholine esterase (Ingkaninan et al.,2003 ; Nanasombat and Teckchuen, 2009; Phadungkit et al.,2012) ปัจจุบันมีรายงานฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในต้นย่านางมากมาย ส่วนรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากต้นย่านาง ยังมีไม่มากนัก โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากต้นย่านางในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการนำสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากย่านาง มาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาตัวยาใหม่และสร้างมูลค่าเพิ่มแก่ผลผลิตทางการเกษตรเพื่อเข้าสู่อุตสาหกรรมการผลิตต่อไป

### 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากต้นย่านาง
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดต้นย่านาง
3. เพื่อศึกษาปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากต้นย่านาง

### 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยในเขตพื้นที่ศึกษาจังหวัดนครสวรรค์
2. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดต้นย่านางในจังหวัดนครสวรรค์
3. ศึกษาปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากต้นย่านางในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์



#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำผลงานวิจัยไปเผยแพร่ในรูปแบบการประชุมวิชาการและเผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับชาติหรือนานาชาติ
2. ได้ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และปริมาณของน้ำมันหอมระเหย จากต้นย่านางในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์
3. ได้ข้อมูลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และปริมาณจากต้นย่านางในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์
4. เป็นข้อมูลเพื่อใช้ประโยชน์ในการวิจัยทางคลินิก และเพื่อพัฒนาไปสู่การค้นพบยาตัวใหม่
5. บูรณาการผลการวิจัยสู่การเรียนการสอนรายวิชาด้านชีววิทยา และรายวิชาด้านสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร

## บทที่ 2

### การทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 ย่านาง (Yanang)

ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels. เป็นพืชอยู่ในวงศ์ (Family) Menispermaceae พบได้ทั่วไปในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และพบกระจายอย่างกว้างขวางในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จึงมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามพื้นที่ เช่น ภาคเหนือ เรียกว่า จ้อยนาง (Joy-Nang) ภาคกลางเรียกว่า เถย่านาง (Tao-Ya-Nang) เถวัลย์เขียว (Tao-Wan-Keaw) และ Tao-Pakinee ในภาคใต้รู้จักกันในชื่อ Wan-Yo ยาดนาง (สุราษฎร์ธานี) ย่านางมักพบในป่าผลัดใบและป่าดิบแล้ง (อุดมการณ์ และ ปารีชาติ, 2549; Smitinand and Larsen, 1991). เป็นพืชขึ้นเขาที่มีใบสีเขียวเข้มและดอกไม้สีเหลืองมักถูกนำมา มาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอาหารหลายชนิดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว (Lao People's Democratic Republic) เช่น ในน้ำซุปหน่อไม้ (bamboo Shoot soup) (Singthong *et al*, 2009)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นไม้เถาเลื้อยพัน มีเหง้าใหญ่อยู่ใต้ดิน โดยเหง้าจะแทงยอดขึ้นมาหลายยอดคุดเป็นกระจุก ซึ่งจะเจริญเป็นเถาต่อไป ต้องการหลักยึดหรือห้างร้าน กิ่งก้านแตกสาขามากมายมีสีเขียว เถที่อ่อนจะมีขนอ่อนสีเทาๆ นุ่มปกคลุม เมื่อแก่แล้วผิวค่อนข้างเรียบ รากมีขนาดใหญ่ ใบเป็นใบเดี่ยว ออกติดกับลำต้นแบบสลับไปตามข้อ รูปร่างคล้ายรูปไข่หรือรูปไข่ขอบขนาน ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบมน โคนใบผายกว้างและมักหยักเป็นรูปหัวใจ เนื้อใบเนียน หนา เป็นมัน ขนาดใบยาว 5-10 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ก้านใบยาว 1 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อสั้นๆ ตรงส่วนยอดของลำต้นและตามง่ามใบ มีกลีบรองกลีบดอก 3 กลีบ มีขนประปรายทางด้านนอก ช่อหนึ่งๆ มีดอกขนาดเล็กสีเหลือง 3-5 ดอก ดอกแยกเพศอยู่คนละต้น ดอกมี 3 กลีบ เกสรตัวผู้และประสานกันเป็นรูปโคมเล็กๆ ผล ลักษณะกลม โตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7 มิลลิเมตร สีเขียว เมื่อแก่จัดสีส้ม (อุดมการณ์ และ ปารีชาติ, 2549)

ย่านางเป็นพืชสมุนไพรของไทยที่มีสารออกฤทธิ์ทางยา ส่วนที่ใช้ในการรักษาโรค เช่น รากแห้ง ใช้แก้ไข้ทุกชนิดหรืออาการเจ็บป่วยต่างๆ สารเคมีที่พบในรากย่านางได้แก่สารในกลุ่ม isoquinolone alkaloid เช่น tilacorine, tiacorinine, nortiliacorinine A, Tiliacotinine 2-N-Oxide, และ tiliandrine, tetraandrine, D-isochondrodendrine (isoberberine) ([http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_09\\_13.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_09_13.htm)) และมีรายงานการพบสาร Triterpenes, Flavonoids, Saponins และ Tannins (Phadungkit *et al.*, 2012) นอกจากนี้ มีรายงานพบว่า สารสกัดจากรากย่านางมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียม ใบใช้ถอนพิษผิดสำแดง แก้ไข้ ตัวร้อน แก้ไข้รากสาด แก้ไข้เชิงงู ไข้พิษ ไข้หัว ไข้กลับซ้ำ แก้ไข้ฝีดาษ ไข้ดำแดง เถรากใช้แก้เบื่อเมา กระทุ้งพิษไข้ แก้ไข้ แก้เมาสุรา ถอนพิษสำแดง ถ้าเอาไปผสมกับสมุนไพรชนิดอื่นๆ จะเป็นยาแก้ไข้รากสาด แก้ไข้กลับ แก้ไข้เหือด แก้ไข้สันนิบาต ไข้สุกใส ฝีดาษ ไข้กาฬ แก้พิษเมา บำรุงหัวใจ บำรุงธาตุ แก้กำเดา แก้ลม ทั้งต้นปรุงเป็นยาแก้ไข้กลับ อีกด้วย (อุดมการณ์ และ ปารีชาติ, 2549; <http://www.ใบย่านาง.com>)

## 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของย่านาง

สารสำคัญในพืช หรือสารเคมีในพืช หรือฟฤทษเคมี (Phytochemical) หมายถึง สารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในพืช ทำให้พืชผักมีสี กลิ่น หรือสมบัติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว (ถนอมศรี และคณะ, 2534) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ไบยานางมีระดับสูงของเบต้าแคโรทีนและแร่ธาตุ เช่น แคลเซียมและเหล็ก สารสกัดจากรากของพืชชนิดนี้ถูกนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรในการรักษาไข้และมาลาเรีย และยังใช้ในการลดไข้ด้วย (ASEAN Center for Biodiversity, 2006; Wiryachitra and Phuriyakorn, 1981) จำนวนของสารอัลคาลอยด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง bisbenzylisoquinoline ซึ่งเป็นกลุ่มสารอัลคาลอยด์ที่มีการจำแนกไว้ในย่านาง รวมทั้ง tiliacorinine, tiliacorine และ nortiliacorinine (Mahidol, Sahakitpichan and Ruchirawat, 1994 ; Wiryachitra and Phuriyakorn, 1981). สารในกลุ่มพอลิแซคคาไรด์/ไฮโดรคอลลอยด์จะถูกใช้เป็นส่วนผสมของอาหารในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากความสามารถในการเป็นสารอิมัลชัน/สารควบคุมคุณสมบัติการทำงานของระบบอาหาร อุตสาหกรรมไฮโดรคอลลอยด์ในอาหารแสดงให้เห็นถึงมูลค่าทางการตลาดมากกว่า สามพันล้านเหรียญสหรัฐอเมริกา (Seisum, 2002) คุณสมบัติที่สำคัญที่สุดของไฮโดรคอลลอยด์ คือ ความหนืด (ได้แก่ การทำให้เกิดความหนาและก่อให้เกิดเจล) และการจับตัวกับน้ำ คุณสมบัติอื่นๆ ที่มีนัยสำคัญ ได้แก่ การก่อให้เกิดความเสถียรของอิมัลชัน การป้องกันการเกิดผลึกของน้ำแข็ง (recrystallisation) และการปรับปรุงคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส สารในกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ที่สกัดจากพืชกำลังได้รับความสนใจ นำมาเป็นสารเติมแต่งสำหรับอุตสาหกรรมหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับอุตสาหกรรมอาหารเพราะผู้บริโภคนิยมใช้ส่วนผสมจากธรรมชาติมากขึ้น ดังนั้น สารสกัดจากไบยานางจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการเป็นแหล่งที่มาของพอลิแซคคาไรด์จากธรรมชาติ (Singthong *et al*, 2009)

## 2.3 น้ำมันหอมระเหย การสกัดและองค์ประกอบทางเคมี

น้ำมันหอมระเหย (essential oil) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติ โดยพืชหอม (aroma bearing plants หรือ aromatic plants) พืชเหล่านี้จะมีเซลล์พิเศษ ต่อมหรือท่อที่สร้างและกักเก็บน้ำมันหอมระเหยไว้ตามส่วนต่างๆ เช่น กลีบดอก ผิวของผล เกสร ราก หรือเปลือกของลำต้น เป็นต้นมักมีกลิ่นหอมระเหยง่าย เวลาที่ได้รับความร้อน อนุภาคเล็กๆ ของน้ำมันหอมระเหยจะระเหยออกมาเป็นไอ ทำให้เราได้กลิ่นหอม น้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรค บรรเทาอาการอักเสบหรือลดบวม คลายเครียด หรือกระตุ้นให้สดชื่น น้ำมันหอมระเหยเป็นสารประกอบที่มีส่วนผสมซับซ้อนขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด ในน้ำมันหอมระเหยชนิดหนึ่งอาจมีองค์ประกอบทางเคมีจำนวนมากตั้งแต่ 50-500 ชนิด องค์ประกอบส่วนใหญ่จะเป็นสารในกลุ่มเทอร์ปีน (terpenes) ที่มีสูตรโครงสร้างทั่วไป คือ  $(C_5H_8)_n$  สารเทอร์ปีนที่พบมากในน้ำมันหอมระเหย เป็นพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ได้แก่ โมโนเทอร์ปีน (monoterpenes) เช่น limonene, sesquiterpenes เช่น caryophyllene, zingiberene เป็นต้น (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2548) คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหย คือ ระเหยได้ที่อุณหภูมิปกติ เป็นของเหลวใส ส่วนใหญ่ไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะ แสดงค่าดัชนีหักเหของแสงเป็นค่าเฉพาะของตัว เป็นสาร optical active มีจุดเดือดอยู่ในช่วง 150-300 องศาเซลเซียส (อ้อมบุญ, 2536) สามารถแยกเป็นกลุ่มของสารได้ 7 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มแอลกอฮอล์ กลุ่มอัลดีไฮด์ กลุ่มเอสเทอร์ กลุ่มคีโตน กลุ่มออกไซด์ กลุ่มฟีนอล และกลุ่มเทอร์ปีน องค์ประกอบทางเคมีแต่ละชนิดก็จะมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป แต่เมื่อมาผสมผสานกันอยู่ก็จะทำให้เกิดคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์

ลักษณะของน้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิดที่มีจุดเด่นความเหมือน และความแตกต่างในการบำบัด ต่างกันออกไป

ชาวกรีกและชาวโรมันได้รู้จักวิธีการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ในการรักษาโรค และบำรุงความงาม จนกระทั่งปลายศตวรรษที่ 10 นายแพทย์ชาวอาหรับ ชื่อ อวิเซนนา ได้ค้นพบวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหย เป็นครั้งแรก ต่อมาชาวกรีก ชื่อ พาราเซลเซียส (ค.ศ. 1493-1541) เป็นผู้นำคำว่า essential oil มาใช้เป็นคนแรก โดยหมายถึง สารหอมที่มีคุณสมบัติเป็นตัวยาหลักในการปรุงยา ในช่วงศตวรรษที่ 12 มีการพัฒนาเครื่องกลั่นโดยเพิ่มส่วนที่เป็นเครื่องควบแน่น เพื่อให้การกลั่นมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และมีการประดิษฐ์เครื่องกลั่นที่ใช้ไอน้ำ การผลิตน้ำมันหอมระเหยได้มีการพัฒนาสู่ภาคอุตสาหกรรมในศตวรรษที่ 17 ในประเทศฝรั่งเศส ปัจจุบันจึงมีองค์ความรู้และพัฒนาการจากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยในด้านต่างๆ ทั้งเทคโนโลยีการผลิต การแยกองค์ประกอบที่สำคัญ เทคนิคการวิเคราะห์และประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2548; [http://www.Plearnthailand.com/how\\_to\\_extract\\_essential\\_oil](http://www.Plearnthailand.com/how_to_extract_essential_oil))

เอ็ม (2546) กล่าวถึง การได้มาซึ่งน้ำมันหอมระเหย มี 6 วิธี คือ

1. การกลั่น (Distillation) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เพราะทำได้ง่ายและประหยัด มี 3 แบบคือ

1.1 การกลั่นด้วยน้ำ (hydrodistillation) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุด นิยมใช้กับชนิดของพืชที่องค์ประกอบทางเคมีจะไม่สูญเสียสลายเมื่อถูกความร้อน

1.2 การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ เป็นการกลั่นที่นิยมใช้กันและไม่ยุ่งยาก ได้คุณภาพน้ำมันดีกว่าวิธีแรก ใช้กับพืชสดหรือแห้งที่องค์ประกอบทางเคมีบางตัวอาจถูกทำลายได้ด้วยความร้อน เป็นวิธีที่เหมาะสมในการแยกน้ำมันหอมระเหยจากเนื้อไม้และส่วนที่เป็นเส้นใย

1.3 การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) เป็นวิธีที่ไม่ใช้น้ำในหม้อกลั่น แต่ต่อท่อส่งไอน้ำจากภายนอกเข้าไป เป็นวิธีที่รวดเร็ว ได้สารปริมาณมาก

การสกัดด้วยวิธีการกลั่น จะได้น้ำมันหอมระเหยกับน้ำแยกตัวออกเป็น 2 ชั้น คือ เป็นชั้นของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) กับชั้นของน้ำ (floral water, aromatic หรือ hydrosols)

2. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (extraction) พบว่า ปีโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด รองลงมา คือ เฮกเซน เบนซิน ซึ่งการสกัดโดยวิธีนี้จะมิต้นทุนการผลิตสูง แต่ข้อดี คือ จะได้องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยเกือบทั้งหมด

3. การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลว เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง นิยมใช้กันในหลายประเทศ

4. การเผา เมื่อใช้ไฟเผา จะมีน้ำมันและยางซึมออกมา

5. การบีบหรือการอัด (expression) เป็นการสกัดเย็น เหมาะกับพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยมาก เป็นวิธีการดั้งเดิมที่ทำกันง่ายๆ โดยนำพืชที่จะสกัดมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ เอาเข้าเครื่องบีบหรืออัด น้ำมันที่ได้เรียกว่า น้ำมันดิบ

6. การสกัดด้วยไขมัน แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

6.1 การสกัดด้วยไขมันเย็น เป็นวิธีการที่เก่าแก่วิธีหนึ่ง โดยเก็บเอาดอกไม้สด เช่น ช่อนกลีนมะลิ ในช่วงที่กำลังส่งกลิ่นหอม นำมาวางบนไขมันที่เตรียมไว้ (ไขมันวัวหรือหมู) ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วนำเอาดอกสดใหม่มาวางบนไขมันอีก ทำซ้ำเช่นนี้หลายๆ ครั้ง จากนั้นใช้แอลกอฮอล์สกัดเอาน้ำมันหอม

ระเหยออกมาจากไขมันเย็น กลิ่นหอมที่ได้เรียกว่า “ปอมเมด” ข้อควรระวัง คือ ไขมันต้องสะอาด ปราศจากกลิ่นและมีความแข็งพอเหมาะ หากแห้งไปจะดูดซับกลิ่นได้ไม่ดี

6.2 การสกัดด้วยไขมันร้อน โดยเตรียมไขมันให้ร้อนประมาณ 80 องศาเซลเซียส แخذดอกไม้ เช่น กุหลาบ ลงไปประมาณครึ่งชั่วโมง แล้วทำให้เย็น จากนั้นอุ่นให้ร้อนอีกครั้ง กรองดอกไม้ออก ล้างไขมันที่ติดอยู่ด้วยน้ำอุ่น หรือใช้ผ้ากรองห่อแล้วราดด้วยน้ำร้อนแล้วบีบ ชั้นของน้ำและไขมันจะแยกกันได้ง่าย จากนั้นใช้แอลกอฮอล์ชนิดดีมาสกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกมาเช่นเดียวกับการสกัดด้วยไขมันเย็น

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหย สามารถทำได้ค่อนข้างแม่นยำโดยอาศัยการเปรียบเทียบ fingerprint ของเลขมวล (Mass number) ของสารตัวอย่างกับข้อมูลที่มีอยู่ใน library โดยเทคนิคโครมาโตกราฟี (chromatography) โครมาโตกราฟี เป็นวิธีการแยกสารโดยอาศัยหลักการกระจายตัวของสารในระหว่างเฟส (phase) 2 ชนิด คือเฟสนิ่ง (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) สารจะเคลื่อนที่ (migrate) ไปบนเฟสนิ่ง โดยการพาของเฟสเคลื่อนที่ GC-MS ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนของเครื่อง GC (Gas chromatography) และส่วนของเครื่อง Mass spectrometer สามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณ (Quantitative analysis) และเชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) Gas chromatography ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ (Volatile organic compounds) ได้เมื่อถูกความร้อน กลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่างๆ ในสารตัวอย่าง อาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อเฟส 2 เฟส คือเฟสนิ่ง และเฟสเคลื่อนที่ Mass spectrometer เป็น Detector ที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยอาศัยกลไก คือ โมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC จะถูกไอออไนซ์ในสภาวะสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง แล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ (<http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html>) GC-MS มีความจำเป็นต่องานวิเคราะห์วิจัยเป็นอย่างมาก ทำให้งานวิเคราะห์ ทดสอบ และวิจัย มีประสิทธิภาพ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยสามารถทำได้ค่อนข้างแม่นยำ โดยอาศัยการเปรียบเทียบ fingerprint ของเลขมวล (Mass number) ของสารตัวอย่างกับข้อมูลที่มีอยู่ใน library โดย GC-MS ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนของเครื่อง GC (Gas chromatography) และส่วนของเครื่อง Mass spectrometer Gas chromatography ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอ (Volatile organic compounds) ได้เมื่อถูกความร้อน กลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบต่างๆ ในสารตัวอย่าง อาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อเฟส 2 เฟส คือ Stationary phase และ Mobile phase Mass spectrometer เป็น Detector ที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยอาศัยกลไก คือ โมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC จะถูกไอออไนซ์ในสภาวะสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง แล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ (<http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html>)

## 2.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านมะเร็งของย่านาง

มีรายงานวิจัยไม่มากนักที่กล่าวถึงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านมะเร็งของย่านาง ดังนี้

ชุตินันท์ และคณะ (2009) รายงานผลการวิจัยสารสกัดเอทานอลของย่านางมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ

กฤตติธำรต์ และ ชุตินันท์ (2555) รายงานการวิจัยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของย่านางมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $72.12 \pm 20.18 \mu\text{g/mL}$  มีค่า TEAC และ VEAC เท่ากับ  $0.77 \pm 0.03$  และ  $2.00 \pm 0.03$  ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังมีรายงานสารสกัดจากย่านางมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholine esterase ด้วย (Ingkaninan *et al.*, 2003 ; Phadungkit *et al.*, 2012)

Nanasombat and Teckchuen (2009) รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดผักพื้นไทยจำนวน 20 ชนิด พบว่า สารสกัดเมทานอลของใบย่านางมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH radical-scavenging activity โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ  $3,903.9 \pm 32.9 \mu\text{g/mL}$

Rattana, S. *et al.* (2010) รายงานผลการวิจัยองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากใบย่านาง โดยใช้สารสกัด 5 ชนิด คือ บีโตรีเลียมอีเธอร์ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เมทานอลและน้ำ พบว่า สารสกัดใบย่านางจากเมทานอลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH ดีที่สุด โดยมีค่า  $EC_{50}$  ของ DPPH เท่ากับ  $9.63 \pm 0.5628 \text{ ppm}$ . และสารที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ คือ อัลคาลอยด์ (alkaloid) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) แทนนิน (tannin) และซาโปนิน (saponin) โดยมีปริมาณฟลาโวนอยด์  $18.67 \pm 0.28 \text{ mg. quercetin equivalent/g}$  ของสารสกัดเมทานอล

Sureram *et al.* (2012) รายงานผลของสารสกัดจากย่านางในกลุ่ม Bisbenzylisoquinoline alkaloids ได้แก่ tiliacorinine, 2'-nortiliacorinine, tiliacorine และ 13'-bromo-tiliacorinine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรควัณโรค (Tuberculosis) สายพันธุ์ดื้อยาที่แยกจากสิ่งส่งตรวจทางการแพทย์ถึง 59 ไอโซเลต โดยสารทั้ง 4 ชนิดมีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.7-6.2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

Phadungkit *et al.* (2012) รายงานผลการวิจัยองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองของสารสกัดจากใบย่านาง (*Tiliacora triandra*) โดยสกัดด้วยบีโตรีเลียมอีเธอร์ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตทและน้ำ ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดที่ได้โดยใช้เทคนิค resazurine ELISA microplate assay (REMA) กับเซลล์มะเร็งช่องปาก (oral cavity cancer; KB) มะเร็งปอด (lung cancer; NCL-H187) และมะเร็งเต้านม (breast cancer; MCF-7) พบว่า องค์ประกอบทางเคมีที่พบส่วนใหญ่จากสารสกัดเมทานอล คือ oxoanolobine สารสกัดจากน้ำมีฤทธิ์สูงสุดในการต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก ขณะที่สารสกัดจากเมทานอลมีประสิทธิภาพสูงสุดในการต้านเซลล์มะเร็งปอด ค่า  $IC_{50}$  ของ oxoanolobine ต่อ NCL-H187 มีค่าเท่ากับ  $27.60 \pm 4.30 \mu\text{g/mL}$

## บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในโครงการวิจัย

#### สารเคมี :

	บริษัทผู้ผลิต
Hexane (AR grade)	Merck
Chloroform (AR grade)	Merck
Methanol (AR grade)	Merck
ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))	Fluka
K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (Dipotassium peroxodisulphate)	Fluka
Absolute ethanol	Merck
DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	Fluka
Trolox	Fluka

#### เครื่องมือ และอุปกรณ์ :

1. ปิเปตอัตโนมัติ (Automatic pipette) พร้อม Tip
2. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
3. ตะแกรงร่อนที่มีความละเอียด 40 เมช (mesh)
4. โถดูดความชื้น (desiccator)
5. ขวดเก็บสารตัวอย่าง (vial)
6. เครื่องปั่นตัวอย่าง (Blender)
7. ถุงมือกันกรด-ด่าง (100% Nitrile)
8. กระดาษชั่งสาร
9. แผ่นเปลวอะลูมิเนียม (Aluminium foil)
10. ถุงกระดาษเก็บตัวอย่าง
11. ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง
12. จุกยางซิลิโคน (Silicone bulb)
13. ปีกเกอร์ (Beaker)
14. กระบอกตวง (Cylinder)
15. ฟลาสก์ (Flask)
16. แท่งแก้วคน
17. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
18. กรวยแก้ว
19. Pear shape
20. เครื่องชั่งหยาบ (2 ตำแหน่ง) และละเอียด (4 ตำแหน่ง)
21. ตู้อบความร้อน (Hot air oven)
22. เครื่องระเหยแห้ง (evaporator)

### 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในโครงการวิจัย (ต่อ)

เครื่องมือ และอุปกรณ์ :

23. Agilent Technologies GC-MSD 7890 A

24. Spectrophotometer

### 3.2 วิธีดำเนินการวิจัย และสถานะที่ทำการวิจัย

#### 3.2.1 พืชที่ทำการศึกษา

ย่านาง (*Tiliacora triandra* Diels.)

#### 3.2.2 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างส่วนเหนือพื้นดิน (aerial parts) ของต้นย่านาง ในแถบอำเภอ 5 อำเภอ ในจังหวัด นครสวรรค์ ได้แก่ อำเภอตากถ้ำ อำเภอเก้าเลี้ยว อำเภอลาดยาว อำเภอบรรพตพิสัย และอำเภอเมือง

#### 3.2.3 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่เก็บได้มาอบที่ตู้อบความร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นตัวอย่าง (blender) นำมากรองผ่านตะแกรง ร่อนที่มีความละเอียด 40 เมช (mesh) เก็บตัวอย่างในโถดูดความชื้น (desiccator)

#### 3.2.4 การสกัดและการแยกสารให้บริสุทธิ์

##### 3.2.4.1 การสกัดสารสกัดหยาบพืชสมุนไพร

นำพืชที่ทำความสะอาดแล้วมาทำให้แห้ง และบดให้ละเอียด จากนั้นนำไปสกัดด้วย เฮกเซน (hexane), คลอโรฟอร์ม (chloroform) และเมทานอล (methanol) ตามลำดับ ในอัตราส่วนพืช ต่อตัวทำละลาย 1 กิโลกรัมต่อลิตร จะได้สารสกัดเฮกเซน, สารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเมทานอล ตามลำดับ คำนวณปริมาณโดยน้ำหนักแห้ง

##### 3.2.4.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (volatile oli)

นำใบและลำต้นสดของพืชมาทำการสกัดแยกน้ำมันหอมระเหย โดยวิธี hydro-distillation คำนวณปริมาณโดยน้ำหนักสด แล้วนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) และฤทธิ์ต้านมะเร็ง (anticancer activity) และทำการศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่ได้โดย GC-MS



### 3.2.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่ได้ด้วยเครื่อง GC-MS โดยฉีดเข้าเครื่อง GC-MS สภาวะดังนี้

คอลัมน์ : DB-5 (30 m x 0.25 mm; 0.25  $\mu$ m thickness)

Carrier gas : He (ฮีเลียม)

Split ratio : 1 : 25

flow rate : 1 mL/min

GC oven temperature : เริ่มที่ 60 °C นาน 1 นาที หลังจากนั้นปรับเป็น 3 °C/min ที่อุณหภูมิ 240 °C คงระยะเวลาไว้นาน 5 นาที

Injector : 180 °C

Interface : 290 °C

MS source : 230 °C

MS quad : 150 °C

Scan mass range : 40 – 650 m/z

บันทึกผลเป็นโครมาโทแกรม ตรวจสอบพิสูจน์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย โดยการเปรียบเทียบ retention times และ mass spectra ของสารที่ได้เทียบกับ retention time และ mass spectra ของค่ามาตรฐานที่มีการบันทึกไว้ของ Wiley (Wiley's library)

### 3.2.6 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activities)

#### 3.2.6.1 การทดสอบด้วยวิธี ABTS assay

โดยการวัดคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Roberta และคณะ (1999) ทำได้โดยเตรียมสารละลาย ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) โดยผสม 7 mM ABTS กับ 2.45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (Dipotassium peroxydisulphate) ให้เข้ากัน แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน ABTS : น้ำ เท่ากับ 1:4.2 วัดค่าการดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.7-0.9 ที่ความยาวคลื่น 734 nm และเตรียมสารสกัดตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้น 5.0 mg/mL ด้วยสารละลาย absolute ethanol ผสมสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้ว 2.0 mL กับสารละลายตัวอย่าง 20  $\mu$ L วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm หลังทิ้งไว้ 5 นาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ คำนวณหา % inhibition จากสมการ

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

#### 3.2.6.2 การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

โดยการวัดคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995) ทำได้โดยการเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น DPPH 6.6 mg/mL (ในสารละลาย absolute ethanol) แล้วเก็บไว้ในที่มืดก่อนใช้ทดสอบ และเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 0.2, 0.3, 0.5 และ 0.7 mg/mL (ในสารละลาย absolute ethanol) เตรียมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นเท่ากับ 5 mg/mL (ในสารละลาย absolute ethanol) เติม 100  $\mu$ L ของสารละลายตัวอย่าง สารละลาย absolute ethanol

0.3 mL และสารละลาย DPPH 3.0 mL หลังทิ้งไว้ 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 nm ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน ในการเปรียบเทียบ คำนวณหา % inhibition จากสมการ

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

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า Inhibition concentration (IC50) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ สารอนุมูลอิสระลดลง 50% จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดกับ % inhibition

### 3.2.7 การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็ง

โดยการวัดคุณสมบัติการต้านมะเร็ง ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Brien และคณะ (2000) ทำได้ โดยนำเซลล์มะเร็งมาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ ให้มีความหนาแน่น  $2 \times 10^4$  cell/mL บ่มเลี้ยงใน 24 well plate โดยให้มีปริมาตรหลุมละ 2 mL บ่มเลี้ยงในตู้บ่ม CO<sub>2</sub> 5% ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ให้เป็นสารอาหารที่มีสารที่ต้องการทดสอบความเข้มข้น 1 mg/mL บ่มเลี้ยงในตู้บ่มนาน 48 ชั่วโมง แล้วนำมาหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี Trypan Blue Exclusion

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและวิจารณ์

#### 4.1 ผลการวิจัย

##### 4.1.1 การสกัดและการแยกสารให้บริสุทธิ์

##### 4.1.1.1 การสกัดสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง

ผลการสกัดสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน (hexane) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และเมทานอล (methanol) ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากาลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว พบว่า ในเขตอำเภอเมืองมีสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 35 % 58 % และ 67 % ตามลำดับ ในเขตอำเภอตากาลีมีสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 28 % 51 % และ 72 % ตามลำดับ ในเขตอำเภอบรรพตพิสัยมีสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 31 % 44 % และ 72 % ตามลำดับ ในเขตอำเภอเก้าเลี้ยวมีสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 29 % 57 % และ 77 % ตามลำดับ และในเขตอำเภอลาดยาวมีสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 27 % 35 % และ 59 % ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.1

##### 4.1.1.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (volatile oli) ส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง

ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางโดยวิธี hydrodistillation ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากาลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว พบว่า มีน้ำมันหอมระเหย คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 25.2 % 27.8 % 20.3 % 25.7 % และ 23.0 % ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1** ผลการสกัดสารสกัดหยาบและผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินต้นย่านาง

ตัวอย่างย่านาง	% Yield (w/w)	
	สารสกัดหยาบ	น้ำมันหอมระเหย
1. อำเภอเมือง	Hexane extract (35.0 %)	25.5 %
	Chloroform extract (58.0 %)	
	Methanol extract (67.0 %)	
2. อำเภอตากลี	Hexane extract (28.0 %)	27.8 %
	Chloroform extract (51.0 %)	
	Methanol extract (72.0 %)	
3. อำเภอบรรพตพิสัย	Hexane extract (31.0 %)	20.3 %
	Chloroform extract (44.0 %)	
	Methanol extract (72.0 %)	
4. อำเภอเก้าเลี้ยว	Hexane extract (29.0 %)	25.7 %
	Chloroform extract (57.0 %)	
	Methanol extract (77.0 %)	
5. อำเภอลาดยาว	Hexane extract (27.0 %)	23.0 %
	Chloroform extract (35.0 %)	
	Methanol extract (59.0 %)	

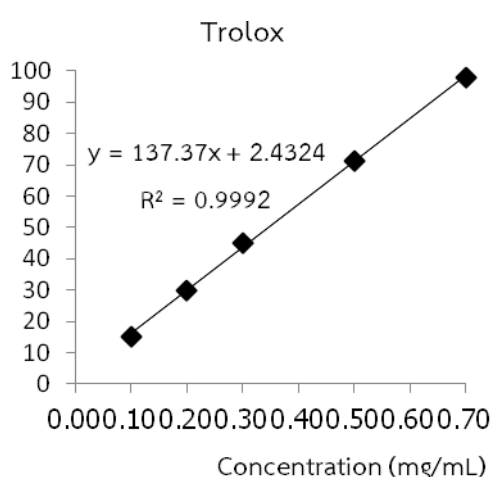
#### 4.1.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

##### 4.1.2.1 การทดสอบด้วยวิธี ABTS assay

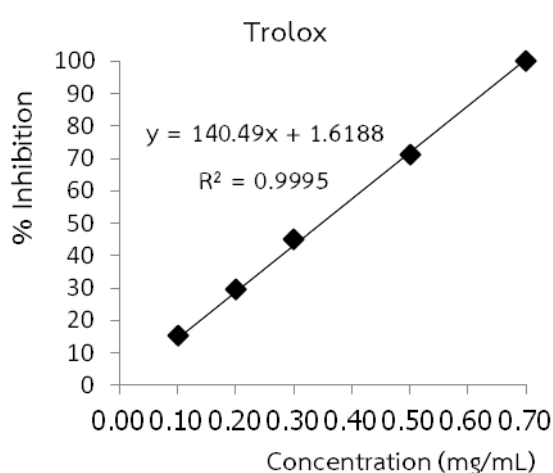
ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของ ต้นย่านางด้วยวิธี ABTS โดยเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (ดังภาพที่ 4.1) พบว่า น้ำมันหอมระเหยในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.89, 3.00, 2.53, 3.72 และ 3.54 mg/mL ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.35 mg/mL แสดงดังตารางที่ 4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว พบว่า ในเขตอำเภอเมือง, อำเภอตากลี และอำเภอเก้าเลี้ยว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล แต่ไม่สามารถคิดเป็นค่า  $IC_{50}$  ได้ (% Inhibition น้อยกว่า 50 %) ในเขตอำเภอบรรพตพิสัย และอำเภอลาดยาว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.94 mg/mL และ 2.97 mg/mL ตามลำดับ ส่วนสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเมทานอล ในเขตอำเภอบรรพตพิสัย และอำเภอลาดยาว ไม่สามารถคิดค่า  $IC_{50}$  ได้ (% Inhibition น้อยกว่า 50 %) เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.35 mg/mL แสดงดังตารางที่ 4.2

#### 4.1.2.2 การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของ ต้นย่านางด้วยวิธี DPPH โดยเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (ดังภาพที่ 4.2) พบว่า น้ำมันหอมระเหยในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากาลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.92, 2.96, 2.51, 3.84 และ 4.90 mg/mL ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.34  $mgmL^{-1}$  แสดงดังตารางที่ 2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากาลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว พบว่า ในเขตอำเภอเมือง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน และเมทานอล คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 4.41 mg/mL และ 0.39 mg/mL ตามลำดับ ส่วนสารสกัดคลอโรฟอร์ม ไม่สามารถคิดเป็นค่า  $IC_{50}$  ได้ (% Inhibition น้อยกว่า 50 %) อำเภอตากาลี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางเมทานอล คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.36 mg/mL ส่วนสารสกัดเฮกเซน และสารสกัดคลอโรฟอร์ม ไม่สามารถคิดเป็นค่า  $IC_{50}$  ได้ (% Inhibition น้อยกว่า 50%) อำเภอบรรพตพิสัย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน และคลอโรฟอร์ม คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 4.28 mg/mL และ 3.33 mg/mL ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเมทานอลไม่สามารถคิดเป็นค่า  $IC_{50}$  ได้ (% Inhibition น้อยกว่า 50%) อำเภอเก้าเลี้ยว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยคลอโรฟอร์ม คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 3.87 mg/mL ส่วนสารสกัดเฮกเซน และสารสกัดเมทานอล ไม่สามารถคิดเป็นค่า  $IC_{50}$  ได้ (% Inhibition น้อยกว่า 50%) อำเภอลาดยาว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 4.27 mg/mL ส่วนสารสกัดคลอโรฟอร์ม และสารสกัดเมทานอลไม่สามารถคิดเป็นค่า  $IC_{50}$  ได้ (% Inhibition น้อยกว่า 50%) เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.34 mg/mL แสดงดังตารางที่ 4.2



ภาพที่ 4.1 โคจรมาโทแกรมของสารมาตรฐานโดยวิธี ABTS



ภาพที่ 4.2 โคจรมาโทแกรมของสารมาตรฐานโดยวิธี DPPH

**ตารางที่ 4.2** ผลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินต้น  
ย่านางโดยวิธี ABTS และ DPPH

ตัวอย่างย่านาง	IC <sub>50</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )			
	สารสกัดหยาบ		น้ำมันหอมระเหย	
	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH
<b>1. อำเภอเมือง</b>				
Hexane extract	-	4.41	2.89	2.92
Chloroform extract	-	-		
Methanol extract	-	0.39		
<b>2. อำเภอตากลี</b>				
Hexane extract	-	-	3.00	2.96
Chloroform extract	-	-		
Methanol extract	-	0.36		
<b>3. อำเภอบรรพตพิสัย</b>				
Hexane extract	2.94	4.28	2.53	2.51
Chloroform extract	-	3.33		
Methanol extract	-	-		
<b>4. อำเภอเก้าเลี้ยว</b>				
Hexane extract	-	-	3.72	3.84
Chloroform extract	-	3.87		
Methanol extract	-	-		
<b>5. อำเภอลาดยาว</b>				
Hexane extract	2.97	4.27	3.54	4.90
Chloroform extract	-	-		
Methanol extract	-	-		
<b>6. Trolox</b>	0.35	0.34	0.35	0.34

หมายเหตุ : % Inhibition Activity < 50% Inactive, ≥ 50% Active (IC<sub>50</sub> included)

#### 4.1.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็ง

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง ในเขตพื้นที่ จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ โดยเทียบกับสารมาตรฐาน Ellipticine Doxorubicin และ Tamoxifen พบว่า สารสกัดเฮกเซน ในเขตอำเภอเมือง มีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด KB-Oral cavity cancer คิดเป็นค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 41.14 µg/mL เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Ellipticine และ Doxorubicin คิดเป็นค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 1.20 µg/mL และ 0.68 µg/mL ตามลำดับ และมีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด MCF7-Breast cancer คิดเป็นค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 38.26 µg/mL เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Doxorubicin และ Tamoxifen คิดเป็นค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 6.64 µg/mL และ 8.23 µg/mL ตามลำดับ ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง ในเขตพื้นที่จังหวัดนคร สวรรค์ 5 อำเภอ พบว่า น้ำมันหอมระเหยในเขตพื้นที่ จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง แต่ไม่ถึง 50 % จึงไม่สามารถหาค่า IC<sub>50</sub> ได้ แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดหยาบและน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินต้นย่านาง

ตัวอย่าง	KB-Oral cavity cancer		MCF7-Breast cancer		NCI-H187-Small cell lung cancer	
	Activity	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	Activity	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	Activity	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
สารสกัดเฮกเซน						
1 อำเภอเมือง	active	41.14	active	38.26	Inactive	-
2 อำเภอตากลี	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
3 อำเภอบรรพตพิสัย	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
4 อำเภอเก้าเลี้ยว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
5 อำเภอลาดยาว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
สารสกัดคลอโรฟอร์ม						
1 อำเภอเมือง	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
2 อำเภอตากลี	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
3 อำเภอบรรพตพิสัย	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
4 อำเภอเก้าเลี้ยว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
5 อำเภอลาดยาว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
สารสกัดเมทานอล						
1 อำเภอเมือง	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
2 อำเภอตากลี	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
3 อำเภอบรรพตพิสัย	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
4 อำเภอเก้าเลี้ยว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
5 อำเภอลาดยาว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
น้ำมันหอมระเหย						
1 อำเภอเมือง	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
2 อำเภอตากลี	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
3 อำเภอบรรพตพิสัย	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
4 อำเภอเก้าเลี้ยว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
5 อำเภอลาดยาว	Inactive	-	Inactive	-	Inactive	-
Ellipticine	active	1.20				
Doxorubicin	active	0.68	active	6.64	active	0.11
Tamoxifen			active	8.23		

หมายเหตุ : % Inhibition Activity < 50% Inactive, ≥ 50% Active (IC<sub>50</sub> included)

#### 4.1.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากาลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว โดย GC-MS พบว่า มีสารประกอบ 6, 3, 4, 10 และ 14 ชนิด ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยต้นย่านางในเขตจังหวัดนครสวรรค์

ต้นย่านาง	Peak	Compound	RT	RA%	References
อำเภอเมือง	1	Toluene	3.32	1.08	94
	2	(1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo-hept-2-ene	6.76	17.87	96
	3	2,4-Decadienal	22.55	14.09	91
	4	Kaur-16-ene	49.05	5.37	98
	5	9,12-Octadecadienoic acid	52.11	7.90	99
	6	Oleic acid	52.28	13.21	98
อำเภอตากาลี	1	2,4-Decadienal	22.54	37.83	91
	2	Butyl-9,12-octadecadienoate	61.21	7.91	96
	3	Squalene	62.20	18.88	93
อำเภอบรรพตพิสัย	1	Toluene	3.33	1.19	91
	2	9,12-Octadecadienoic acid	52.24	8.03	99
	3	2H-1-Benzopyran-6-ol	58.14	27.31	99
	4	Squalene	62.18	20.70	93
อำเภอเก้าเลี้ยว	1	Toluene	3.33	0.30	91
	2	2,4-Decadienal	22.55	3.77	90
	3	n-Hexadecanoic acid	46.78	0.34	98
	4	9,12-Octadecadienoic acid	52.07	1.67	99
	5	9,17-Octadecadienal	52.25	4.11	98
	6	Gamma-Tocopherol	53.85	1.88	99
	7	2H-1-Benzopyran-6-ol	58.16	17.09	99
	8	Butyl-9,12-octadecadienoate	61.21	3.11	95
	9	Squalene	62.19	7.34	99
	10	Vitamin E	65.96	53.71	99
อำเภอลาดยาว	1	2,4-Heptadienal	8.92	0.04	90
	2	2,4-Decadienal	22.55	3.74	90
	3	Triacetin	23.60	6.03	90
	4	Caryophyllene	26.64	0.34	99
	5	6,9- Heptadecadiene	36.48	0.27	98
	6	8-Heptadecene	36.78	0.12	99
	7	n-Hexadecanoic acid	46.82	0.34	98
	8	9,12-Octadecadienoic acid	52.27	3.26	99
	9	Decanedioic acid	53.01	4.27	95
	10	Gamma-Tocopherol	54.05	8.92	99
	11	2H-1-Benzopyran-6-ol	58.26	4.66	99
	12	Campesterol	60.45	10.70	99
	13	Stigmasterol	65.08	11.11	99
	14	Vitamin E	65.83	1.25	96



## 4.2 ข้อวิจารณ์

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยวิธี ABTS และ DPPH พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งในน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดหยาบ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ingkaninan et al. (2003) กล่าวว่า ย่านางมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง พบว่า สารสกัดเฮกเซน ในเขตอำเภอเมือง มีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด KB-Oral cavity cancer และมีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด MCF7-Breast cancer สอดคล้องกับรายงานของ (Susan et al. (2001) กล่าวว่า สารต้านมะเร็ง (Anticancer) มักจะเป็นกลุ่มเดียวกับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง โดย GC-MS พบว่า มีสารประกอบของสารสำคัญคือ Kaur-16-ene, Squalene, Gamma-Tocopherol, Campesterol, Stigmasterol และ Vitamin E ซึ่ง Kaur-16-ene เป็นสารในกลุ่ม Diterpene สอดคล้องกับรายงานของ Tengchaisri et al. (1998) พบว่า สารสกัด triptolide (diterpene) จาก *Tripterygium wilfordii* มีฤทธิ์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี Squalene เป็นสารตั้งต้นของ Cholesterol สอดคล้องกับรายงานของ Das et al. (2003) กล่าวว่า squalene มีฤทธิ์บรรเทาอาการปวด ลดอาการอักเสบ อาการบวมจากโรคไขข้อ ช่วยบำรุงผิวและเส้นผม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Gamma-Tocopherol เป็นวิตามินอีที่มีชื่อทางเคมีว่า tocopherol มีหลาย isomer มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (<http://writer.dek-d.com/pharjung /story/ viewlongc.php?id=161357&chapter=4/>เข้าถึงวันที่ 24 ตุลาคม 2557) Campesterol และ Stigmasterol เป็นสารในกลุ่ม Sterol มีคุณสมบัติต้านมะเร็ง (Atif et al., 2000) Vitamin E เป็นวิตามินที่ช่วยในการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกาย และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยให้เซลล์ต่างๆ รอดพ้นอันตรายจากความเป็นพิษ และช่วยชะลอความแก่ได้ (<http://thai-antiaging.blogspot.com/2012 /11/ e-vitamin-e.html />เข้าถึงวันที่ 24 ตุลาคม 2557)

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

##### 5.1.1 การสกัดและการแยกสารให้บริสุทธิ์

###### 5.1.1.1 การสกัดสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง

การสกัดสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซน (hexane) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และเมทานอล (methanol) ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ พบว่า ในเขตอำเภอเก้าเลี้ยวมีปริมาณสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางเมทานอลมากที่สุด คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 77 % แสดงดังตารางที่ 4.1

###### 5.1.1.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย (volatile oli) ส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง

การสกัดน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยโดยวิธี hydrodistillation ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอตากาลี อำเภอบรรพตพิสัย อำเภอเก้าเลี้ยว และอำเภอลาดยาว พบว่า ในเขตอำเภอตากาลีมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางมากที่สุด คิดเป็น % yield (w/w) เท่ากับ 27.8 % แสดงดังตารางที่ 4.1

##### 5.1.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

###### 5.1.2.1 การทดสอบด้วยวิธี ABTS assay

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยวิธี ABTS พบว่า น้ำมันหอมระเหยในเขตอำเภอบรรพตพิสัย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.53 mg/mL การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ พบว่า ในเขตอำเภอบรรพตพิสัย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางด้วยเฮกเซนมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.94 mg/mL แสดงดังตารางที่ 4.2

###### 5.1.2.2 การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของ ต้นย่านางด้วยวิธี DPPH พบว่า น้ำมันหอมระเหยในเขตอำเภอบรรพตพิสัย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 2.51 mg/mL การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ พบว่า ในเขตอำเภอเมืองตากาลี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านางเมทานอลมากที่สุด คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 0.36 mg/mL แสดงดังตารางที่ 4.2

##### 5.1.3 การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็ง

การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดหยาบส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ พบว่า สารสกัดเฮกเซน ในเขตอำเภอเมือง มีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด KB-Oral cavity cancer คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 41.14  $\mu$ g/mL และมีฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิด MCF7-Breast cancer คิดเป็นค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 38.26  $\mu$ g/mL การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง ในเขตพื้นที่จังหวัดนคร สวรรค์ 5 อำเภอ พบว่า น้ำมันหอมระเหยในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง แต่ไม่ถึง 50 % จึงไม่สามารถหาค่า  $IC_{50}$  ได้ แสดงดังตารางที่ 4.3

#### 5.1.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยส่วนเหนือพื้นดินของต้นย่านาง ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ 5 อำเภอ พบว่า ในเขตอำเภอลาดยาว มีสารประกอบมากที่สุดคือ 14 ชนิด แสดงดังตารางที่ 4.4

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้ พบว่าพื้นที่ทำการศึกษาดังกล่าวมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย อาจมีสาเหตุจากความอุดมสมบูรณ์ของแต่ละพื้นที่ ดังนั้นควรมีการศึกษาในระดับต่อไปถึงสภาวะของพื้นที่ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย เพื่อประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

## ผลผลิต

1. ได้ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากต้นย่านาง ในเขตพื้นที่ศึกษา จังหวัดนครสวรรค์
2. ได้ข้อมูลฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดต้นย่านางในพื้นที่ จังหวัดนครสวรรค์
3. ผลการศึกษาปริมาณของน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากต้นย่านาง ในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ สามารถใช้เป็นแนวทางควบคุมคุณภาพยาเตรียมจากน้ำมันหอมระเหย และสารสกัดจากต้นย่านาง ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านมะเร็ง เพื่อเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการวิจัยทางคลินิก และเพื่อพัฒนาไปสู่การค้นพบยาตัวใหม่
4. เป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับพืชสมุนไพรในท้องถิ่น โดยใช้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในการพัฒนาเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มของผลิตภัณฑ์สู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไป
5. การเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่ชุมชนในท้องถิ่นในรูปแบบสื่อสิ่งพิมพ์
6. การตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารวิชาการ

รายงานสรุปการเงิน ประจำปีงบประมาณ 2557  
 เลขที่โครงการ 2557A16602020  
 โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ  
 สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา  
 ชื่อ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ  
 ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และปริมาณของน้ำมัน  
 หอมระเหย และสารสกัดจากต้นย่านางในเขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ดร.ดวงสุรีย์ แสนสีระ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2557

ระยะเวลาดำเนินการ...1...ปี...-...เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2557

รายจ่าย

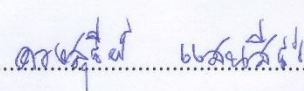
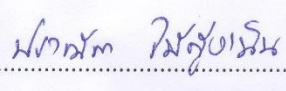
หมวด	งบประมาณ	ค่าใช้จ่าย	คงเหลือ
	รวมทั้งโครงการ	งวดปัจจุบัน	(หรือเกิน)
	250,000 บาท	.....	.....
ค่าตอบแทน	75,000 บาท	.....	.....
ค่าจ้าง	17,840 บาท	.....	.....
ค่าวัสดุ	128,010 บาท	.....	.....
ค่าใช้จ่าย	20,400 บาท	.....	.....
ค่าใช้จ่ายอื่นๆ (สาธารณูปโภค)	8,750 บาท	.....	.....
รวม	250,000 บาท		

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1	150,000 บาท	เมื่อ..... 23 กรกฎาคม 2557
งวดที่ 2	75,000 บาท	เมื่อ..... 9 กันยายน 2557
งวดที่ 3	25,000 บาท	เมื่อ..... 27 เมษายน 2558
รวม	250,000 บาท	

 (ดร.ดวงสุรีย์ แสนสีระ) ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน วันที่..... 31 ส.ค. 57	 (นางสาวปราณีต ไม้สูงเนิน) ลงนามเจ้าหน้าที่การเงินโครงการ วันที่..... 27 เม.ย. 58
--	--

## บรรณานุกรม

- กฤตติญารัตน์ สมวงศ์ และชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริชา. 2555. ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้านบางชนิดเพื่อใช้สำหรับผมทงอกก่อนวัย. การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ The 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012. 11 – 12 กุมภาพันธ์ 2555 “Pharmacy Profession in Harmony” ณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริชา, เอกชัย คำเกลี้ยง, พยุงศักดิ์ สุรินตะ และวสันต์ ตีล้า. 2552. ฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกัน ต้านออกซิเดชัน และต้านจุลชีพของสารสกัดผักพื้นบ้านและสมุนไพรอีสาน. วารสารเภสัชศาสตร์อีสานม 5(2), 99-107.
- ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์ , นันทวัน บุญยประภัสร์ , พรรณีภา ชุมศรี , วันดี กฤษณพันธ์ , วิภา จิรฉริยากุล , อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ และ เอมอร โสมนะพันธ์. 2534. ยาและผลิตภัณฑ์ยาจากธรรมชาติ. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2548. น้ำมันหอมระเหยไทย. กรุงเทพฯ : เซเว่นพรินติ้งกรุ๊ป. 102 น.
- อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536. การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 248 น.
- อุดมการณ์ อินทไสและปาริชาติ ทะนานแก้ว 2549 **สมุนไพรไทย** : ตำรับยา บำบัดโรค บำรุงร่างกาย กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มติชน. น.182-184.
- เอ็ม, ฟรียา 2546 **อโรมาเธอราพี : ศาสตร์และศิลป์ของกลิ่นหอมธรรมชาติ** กรุงเทพฯ : อีกหนึ่งสำนักพิมพ์ 208 น.
- ASEAN Center for Biodiversity. 2006. Checklist of medicinal plants in Southeast Asia [online]. Available from : [http://www.aseanbiodiversity.org/medicinal\\_plants/page8.htm](http://www.aseanbiodiversity.org/medicinal_plants/page8.htm).
- Atif, B. A., Karen, C. C., Arthur, C. D. and Carol, S. F. 2000. Peanuts as a Source of  $\beta$ -Sitosterol, a Sterol With Anticancer Properties. Nutrition and Cancer, 36(2), 238-241.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft u-Technol, 28, 25-30.
- Brien, J. O., Wilson, I., Orton, T. and Pognan, F. 2000. Investigation of the alamar blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. Eur. J. Biochem., 267, 5421-5426.
- Das, B., Yeager, H., Baruchel, H., Freedman, M.H., Koren, G., and Baruchel, S. 2003. *In vitro* cytoprotective activity of Squalene on a bone marrow versus neuroblastoma model of cisplatin-induced toxicity. Implications in cancer chemotherapy. Eur. J. Cancer, 39, 2556-2565.

- Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T., Thongnoi, W. 2003. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 89, 261-264.
- Mahidol, C. Sahakitpichan, P. and Ruchirawat, S. 1994. Bioactive natural products from Thai plants. *Journal of Pure and Applied Chemistry*. 66, 2353-2356.
- Nanasombat, S., Teckchuen, N. 2009. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3, 443-449.
- Phadungkit, M., Somdee, T., Kangsadalampai, K. 2012. Phytochemical screening, antioxidant and antimutagenic activities of selected Thai edible plant extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 662-666.
- Phadungkit, M., Rattana, S., Cushnie, B. and Taepongsorat, L. 2012. Chemical Constituents and in Vitro Anticancer Activity of *Tiliacora triandra* Leaves. *Annals of Nutritional & Metabolism*. 61, 332.
- Rattana, S., Phadungkit, M. and Cushnie, B. 2010. Phytochemical Screening, Flavonoid Content and Antioxidant Activity of *Tiliacora triandra* Leaf Extracts. The 2<sup>nd</sup> Annual International Conference of Northeast Pharmacy Research 2010. February 13-14, 2010, MahaSarakham University, Thailand. pp.60-63.
- Roberta, R., Nicoletta, P., Anna, P., Ananth, P., Min, Y., Catherine, R. E. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *J. Free. Rad. Biol. Med.* 26, 1231-1237.
- Seisum, D. 2002. Market overview. In P.A. Williams & G.O. Phillips (Eds.). *Gums and stabilizers for the food industry*. UK. : The Royal Society of Chemistry. 11, 4-9.
- Singthong, J., Ningsanond, S. and Cui, Steve W. 2009. Extraction and Physicochemical characterization of polysaccharide gum from Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves. *Food Chemistry*. 114, 1301-1307.
- Smitinand, T. and Larsen, K. 1991. *Flora of Thailand*. Bangkok : The Forest Herbarium, Royal Forest Department. 5, Part 3.
- Sureram, S., Senedeera, S.P.D., Hongmanee, P., Mahidol, C., Ruchirawat, S. and Kittakoop, P. 2012. Antimycobacterial activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Tiliacora triandra* against multidrug-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*. 22, 2902-2905.
- Susan, P., Linda, C. and Karen, W. (2001). Diet and Chronic Diseases. In ACSM Resource Manual for Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins.

- Tengchaisri, T., Chawengkirttikul, R., Rachaphaew, N., Reutrakul, V., Sangsuwan, R., Sirisinha, S. (1998). Antitumor activity of triptolide against cholangiocarcinoma growth in vitro and in hamsters. *Cancer Lett*, 133, 169-75.
- Wiriyachitra, P. and Phuriyakorn, B. 1981. Alkaloids of *Tiliacora triandra*. *Australian journal of Chemistry*. 34, 2001-2004.
- Dek-D Writer Knowledge. <http://writer.dek-d.com/pharjung/story/viewlongc.php?id=161357&chapter=4/>  
เข้าถึงวันที่ 24 ตุลาคม 2557
- Thai Anti Aging. <http://thai-antiaging.blogspot.com/2012/11/e-vitamin-e.html/>  
เข้าถึงวันที่ 24 ตุลาคม 2557
- <http://www.ไวย่านาง.com>
- [http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_09\\_13.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_09_13.htm)
- [http://www.plearnthailand.com/how\\_to\\_extract\\_essential\\_oil](http://www.plearnthailand.com/how_to_extract_essential_oil)
- <http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html>



## ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
พืชที่ใช้ในการศึกษา

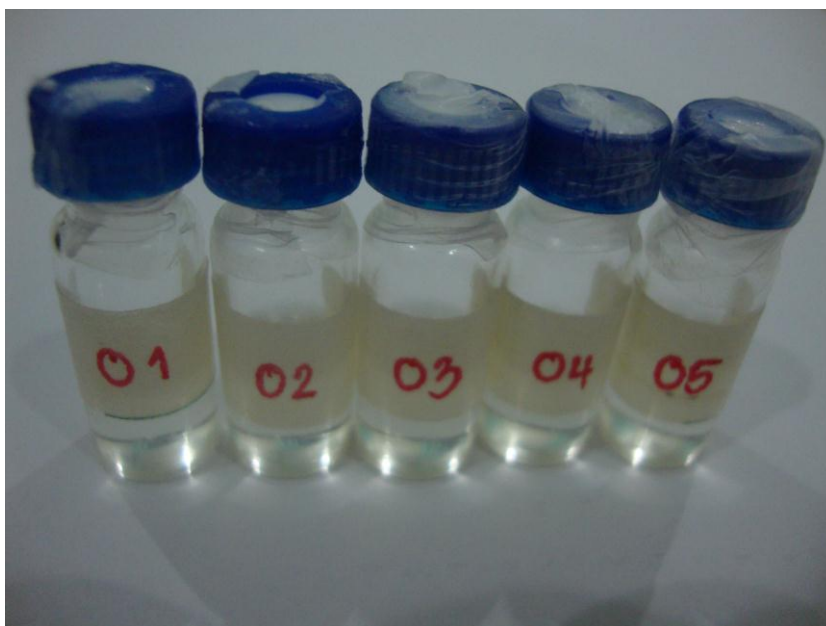
1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นย่านาง



ภาพที่ ก.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นย่านาง

ภาคผนวก ข  
น้ำมันหอมระเหยต้นย่านาง

1. ลักษณะน้ำมันหอมระเหยต้นย่านางในเขตอำเภอเมือง (1) อำเภอตากลี (2)  
อำเภอบรรพตพิสัย (3) อำเภอเก้าเลี้ยว (4) อำเภอลาดยาว (5)

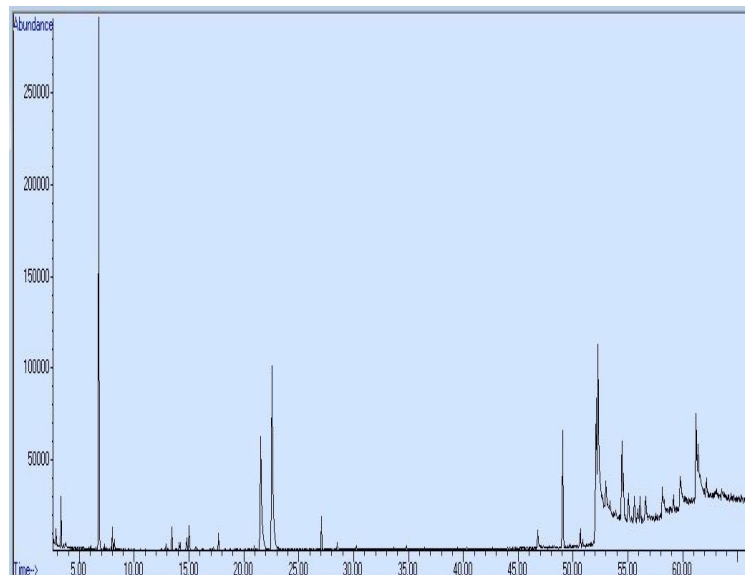


ภาพที่ ข.1 ลักษณะน้ำมันหอมระเหยของต้นย่านางในเขตอำเภอเมือง (1)  
อำเภอตากลี (2) อำเภอบรรพตพิสัย (3) อำเภอเก้าเลี้ยว (4)  
อำเภอลาดยาว (5)

ภาคผนวก ค

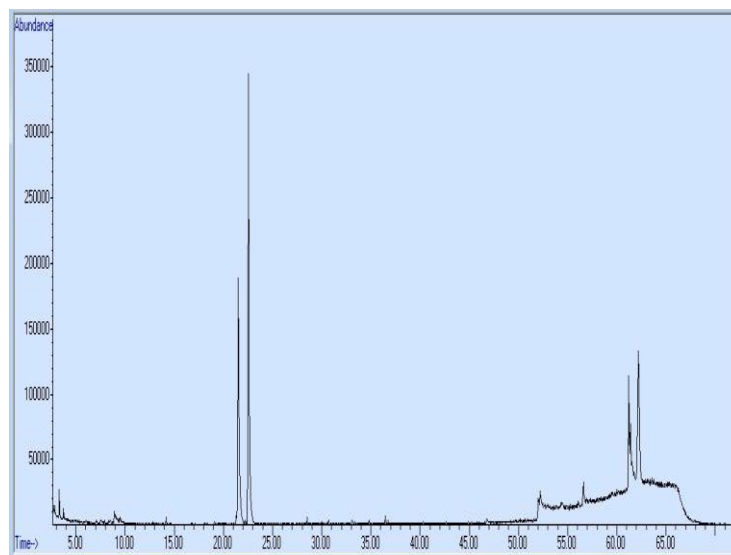
## โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยต้นย่านาง

## 1. โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอเมือง



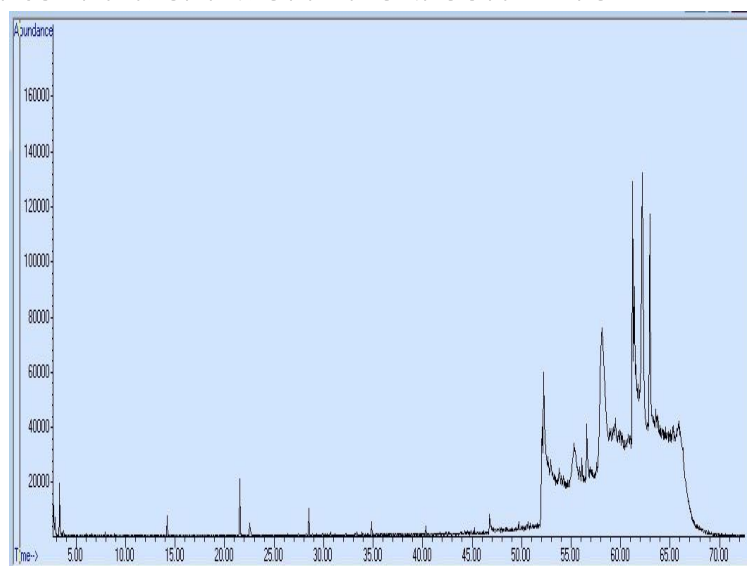
ภาพที่ ค.1 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอเมือง

## 2. โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอดาคลี



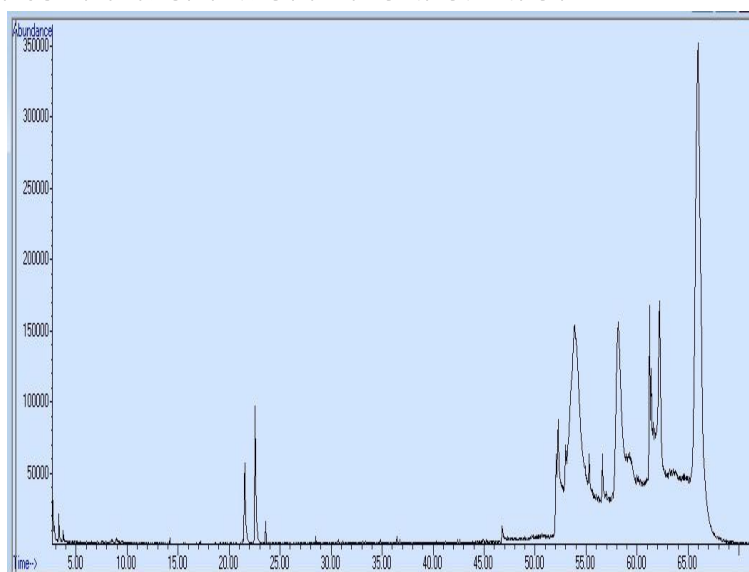
ภาพที่ ค.2 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอดาคลี

### 3. โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอบรรพตพิสัย



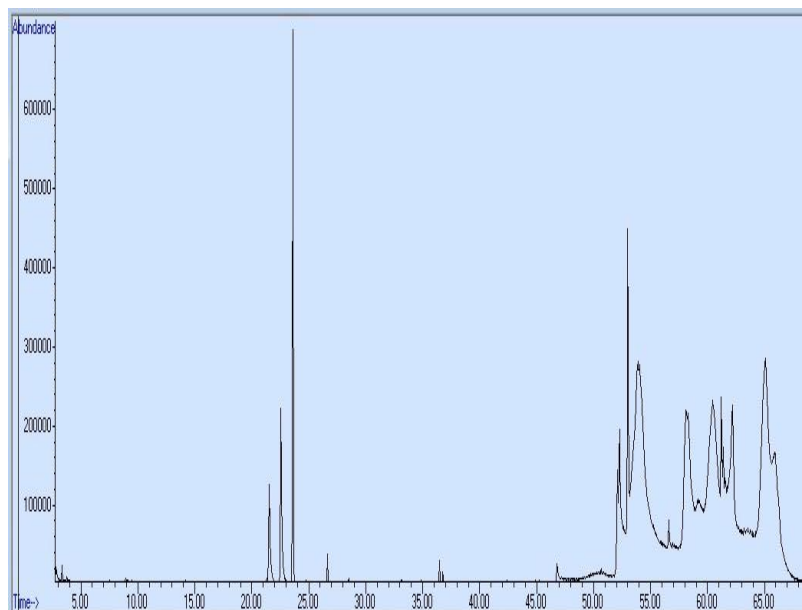
ภาพที่ ค.3 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอบรรพตพิสัย

### 4. โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอเก้าเลี้ยว



ภาพที่ ค.4 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอเก้าเลี้ยว

## 5. โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอลาดยาว



ภาพที่ ค.5 โครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยในพื้นที่อำเภอลาดยาว

## ประวัติคณะผู้วิจัย

### 1. หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ-นามสกุล : ดร.ดวงสุรีย์ แสนสีระ

Dr.Duangsuree Sanseera

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน : 3601101299001

ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ (พนักงานมหาวิทยาลัย)

หน่วยงานที่ติดต่อได้สะดวก :

สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

2 ถนนนางลิ้นจี่ แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120

โทรศัพท์ : 0-8128-32581

Email address : vanmeechai@yahoo.co.th , duangsuree.s@rmutk.ac.th

### ประวัติการศึกษา :

ปริญญาตรี วท.บ.(เกษตรศาสตร์) : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปริญญาโท วท.ม.(เทคโนโลยีชีวภาพ) : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปริญญาเอก วท.ด.(เภสัชศาสตร์) : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ :

เกษตรศาสตร์ เทคโนโลยีชีวภาพ และการสกัดแยกและวิเคราะห์สารสำคัญในสมุนไพร

### ประสบการณ์ในการทำการวิจัย :

- ผู้วิจัยร่วม : โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาประสิทธิภาพในการกักเก็บน้ำไว้ที่ผิวหนังของน้ำมันเมล็ดเสาวรสที่ใช้เป็นส่วนผสมของโลชั่นถนอมผิว พ.ศ. 2548

- หัวหน้าโครงการ : โครงการวิจัยเรื่อง การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในรัชพืชวงศ์ Euphorbiaceae ด้วย HPLC (แบบเสนอโครงการวิจัย ทุนอุดหนุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551 สำนักงานคณะกรรมการ วิจัยแห่งชาติ)

### ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่ :

1. **Duangsuree Sanseera**, Wirat Niwatananun, Boonsom Liawruangrath, Saisunee Liawruangrath, Aphiwat Baramee and Stephen G Pyne, Antimicrobial Activities of Various Medicinal Plant Extracts in Family Euphorbiaceae, Pure and Applied Chemistry International Conference 2010, 21<sup>st</sup>-23<sup>rd</sup> January 2010, 708-711, Ubon Ratchathani, Thailand
2. **Duangsuree Sanseera**, Wirat Niwatananun, Boonsom Liawruangrath, Saisunee Liawruangrath, Aphiwat Baramee and Stephen G Pyne, 2012. Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oil from Leaves of *Cleidion javanicum* Bl., *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 15 (2): 186-194.
3. **Duangsuree Sanseera**, Wirat Niwatananun, Boonsom Liawruangrath, Saisunee Liawruangrath, Aphiwat Baramee, Kongkiat Trisuwan and Stephen G Pyne, 2012. Antioxidant and Anticancer Activities from Aerial Parts of *Acalypha indica* Linn, *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 11(2): 157-168.
4. **Duangsuree Sanseera**, Wirat Niwatananun, Saisunee Liawruangrath, Aphiwat Baramee, Banyong Khantawa, Stephen G Pyne and Boonsom Liawruangrath, 2012. Comparison of Chemical constituents and antibacterial activities and antioxidant activities of the essential oil from leaves and fruits of *Bridelia retusa* (L.) A. Juss. *Journal of Scientific & Industrial Research*. 71 : 733-739.
5. **Duangsuree Sanseera**, 2012. Chemical Constituents and Biological Activities of Some Euphorbiaceae, Ph.D. Thesis, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Thailand. 119 p.

### 2. ผู้วิจัยร่วม

ชื่อ-นามสกุล : ผศ.ดร.กาญจนา ชินสำราญ

: Asst.Prof.Dr.Kanjana Chinsamran

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน : 3250100512278

ตำแหน่งปัจจุบัน : ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงานที่ติดต่อได้สะดวก :

สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

2 ถนนนางลิ้นจี่ แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120

โทร. 02-2879600 ต่อ 1193 email : kanjana.c@rmutk.ac.th

### ประวัติการศึกษา :

ปริญญาตรี วท.บ. (ชีววิทยา) ม. ศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน

ปริญญาโท วท.ม. (จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริญญาเอก วท.ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ) ม.เกษตรศาสตร์



## สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ :

สาขาชีววิทยา จุลชีววิทยา และเทคโนโลยีชีวภาพ

## ประสบการณ์ในการทำวิจัย :

### หัวหน้าโครงการ

- พ.ศ. 2544 : หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่องการศึกษาปัจจัยบางประการในการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำอ้อย งบประมาณผลประโยชน์สะสมของ รร. พ.ศ. 2544.
- พ.ศ. 2554 : หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่องการใช้น้ำมะพร้าวเป็นสารอาหารเสริมในกากน้ำตาลเพื่อผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 งบประมาณแผ่นดิน ปี 2554.
- พ.ศ. 2556 : หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่องการพัฒนาการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในกากน้ำตาลโดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นสารอาหารเสริม และการเติมสารที่ทำให้เกิดเจล งบประมาณแผ่นดิน ปี 2556 (อยู่ระหว่างดำเนินการ)
- พ.ศ. 2556 : หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่องความหลากหลายของสัตว์ขาปล้องขนาดเล็กในดินบริเวณสถานีวิจัย สิ่งแวดล้อมสะแกราช งบ สกอ. ปี 2556 (อยู่ระหว่างดำเนินการ)

### ผู้วิจัยร่วม

- พ.ศ. 2542 : โครงการวิจัย เรื่องการศึกษาความพึงพอใจของนายจ้างบัณฑิตวิทยาลัยเกษตรพระนครใต้
- พ.ศ. 2550 : ชุดโครงการวิจัยการสำรวจข้อมูลพื้นฐาน เพื่อการพัฒนาหลักสูตรของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
- พ.ศ. 2552 : โครงการวิจัย เรื่องการพัฒนาสมรรถนะวิชาชีพด้านเทคโนโลยีและการจัดการความปลอดภัยของอาหาร
- พ.ศ. 2554 : โครงการวิจัย เรื่องการขับเคลื่อนระบบสมรรถนะสูโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร
- พ.ศ. 2556 : โครงการวิจัย เรื่องการวิจัยกระบวนการพัฒนาทักษะการสืบค้นข้อมูลของนักศึกษาคณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

## ผลงานตีพิมพ์ :

1. หัวหน้าโครงการวิจัยเรื่อง : The Role of Lactic Acid Fermentation on Processing and Properties of Sweet Potato and Cassava Starch. /n : Tomasik, P.,V.P.Yuryev and E.Bertoft (Editors). 2004. **Starch: Progress in Structural studies, Modification and Applications.** Polish Society of Food Technologists', Poland.

2. ผู้วิจัยร่วมโครงการวิจัยเรื่อง : Development of a standard protocol for the Processing of high quality sweetpotato starch for noodle production. /n. Fuglie, K.O. and M. Hermann (Editors). 2004.**Sweet potato Post-Harvest Research and Development in China.** Proceedings of an International Workshop held in Chengdu, Sichuan,PR China, Nov. 7-8, 2001. Bogor, Indonesia: International Potato Center (CIP).
3. หัวหน้าโครงการวิจัยเรื่อง : การพัฒนาการผลิตแป้งฟลาวัวร์จากพืชบางชนิดในประเทศไทยและการศึกษาสมบัติบางประการด้านเคมี-ฟิสิกส์ และชีวภาพของแป้งฟลาวัวร์ที่ผลิตได้ งบประมาณผลประโยชน์ มทร.กรุงเทพ ปี 2551 (นำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการ และตีพิมพ์ในวารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปี 2554 )

### 3. ผู้วิจัยร่วม

ชื่อ-นามสกุล : ผศ.ดร.วิเชียร กীরตินิจกาล

Asst.Prof.Dr.Vichien Keeratinijakal

หมายเลขประจำตัวประชาชน : 3409700044816

ตำแหน่งปัจจุบัน : ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาการเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรแห่งชาติ สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก :

ศูนย์วิทยาการเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรแห่งชาติ สำนักงานอธิการบดี  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

50 ถ.พหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ

โทรศัพท์ : 0-2579-4956, 0-2579-2306, 0-2579-2308 E-mail address : agrvck@ku.ac.th

### ประวัติการศึกษา :

ปี	วุฒิการศึกษา	สถานศึกษา	ประเทศ
1979	B.Sc. Agriculture (Honor)	Kasetsart University, Bangkok	Thailand
1982	M.Sc. Plant Breeding	Kasetsart University, Bangkok	Thailand
1990	Ph.D. Plant Breeding and Cytogenetics	Iowa State University, Iowa.	U.S.A

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ : สาขาสีเขียวและสิ่งแวดล้อม

## ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :

### 1. ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

- 1.1 การรวบรวมการคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร ได้รับบออดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติปี 2547
- 1.2 การคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร ได้รับบออดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ ปี 2548
- 1.3 การคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร ได้รับบออดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติปี 2549
- 1.4 การรวบรวมพันธุ์และการเขตกรรมพืชสมุนไพรร ได้รับบออดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติปี 2550

### 2. หัวหน้าโครงการวิจัย

- 2.1 ปีงบประมาณ 2547 : ทุนอุดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ
  - 1) การใช้เทคนิค DNA microsatellite ในการหา marker เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์สมุนไพรร
  - 2) ชนิดปุ๋ยและช่วงเวลาในการใส่ปุ๋ยที่เหมาะสมสำหรับการปลูกขมิ้นชัน
  - 3) ระยะปลูกและชนิดปุ๋ยที่เหมาะสมของการปลูกขมิ้นชัน
  - 4) ชนิดดินการใส่ปุ๋ย และสภาพแวดล้อมการปลูกที่เหมาะสมของขมิ้นชัน
  - 5) ระยะปลูกและชนิดปุ๋ยที่เหมาะสมต่อการปลูกฟ้าทะลายโจร
  - 6) การเพิ่มปริมาณต้นไพล (*Zingiber montanum* (Koen.) Theilade) และการชักนำให้เกิดเหง้าโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- 2.2 ปีงบประมาณ 2548 : ทุนอุดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ
  - 1) การคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมขมิ้นชัน
- 2.3 ปีงบประมาณ 2549 : ทุนอุดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ
  - 1) ความหนาแน่นในการปลูกและการคลุมแปลงปลูกขมิ้นชัน
  - 2) ร่มเงาและระยะปลูกที่ส่งผลต่อการให้ผลผลิตและปริมาณสาร Andrographolide ในสมุนไพรรฟ้าทะลายโจร
  - 3) อิทธิพลของช่วงเวลาในการปลูกที่เหมาะสมต่อการปลูกฟ้าทะลายโจร
  - 4) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกวาวเครือขาว
- 2.4 ปีงบประมาณ 2550 : ทุนอุดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ
  - 1) ผลของชนิดท่อนพันธุ์และวัสดุคลุมแปลงปลูกต่อผลผลิตและ ปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ของขมิ้นชัน
  - 2) อายุเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมในการผลิตฟ้าทะลายโจร
  - 3) การรวบรวมและจำแนกกลุ่มสายพันธุ์ว่านชักมดลูก
- 2.5 ปีงบประมาณ 2551 : ทุนอุดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ
  - 1) การปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันต้านทานโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย

### 3. ผู้ร่วมวิจัย

#### 3.1 ปีงบประมาณ 2551 : ทุนอุดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ

##### 1) อายุการเก็บเกี่ยวไหลที่เหมาะสม

#### งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

Keeratinijakal, V. and K.R. Lamkey. 1993. Responses to reciprocal recurrent selection in BSSS and BSCB1 maize populations. *Crop Sci.* 33: 73-77.

Keeratinijakal, V. and K.R. Lamkey. 1993. Genetic effects associated with reciprocal recurrent selection in BSSS and BSCB1 maize population. *Crop Sci.* 33: 78-82.

**วิเชียร กิรตินิจกาล, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และ สรัญญา วัชรโรทัย. 2548.** การใช้เทคนิค DNA microsatellite ในการหา marker เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์สมุนไพรร. ในรายงานการวิจัย การรวบรวมการคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร. งบประมาณบูรณาการนำร่องปีงบประมาณ 2547. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**วิเชียร กิรตินิจกาล, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และ สรัญญา วัชรโรทัย. 2548.** ชนิดและช่วงเวลาในการใส่ปุ๋ยที่เหมาะสมสำหรับการปลูกขมิ้นชัน. ในรายงานการวิจัย การรวบรวมการคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร. งบประมาณบูรณาการนำร่องปีงบประมาณ 2547. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**วิเชียร กิรตินิจกาล, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และ สรัญญา วัชรโรทัย. 2548.** ระยะปลูก และชนิดปุ๋ยที่เหมาะสมของการปลูกขมิ้นชัน. ในรายงานการวิจัย การรวบรวมการคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร. งบประมาณบูรณาการนำร่องปีงบประมาณ 2547. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**วิเชียร กิรตินิจกาล, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และ สรัญญา วัชรโรทัย. 2548.** ชนิดดิน การใส่ปุ๋ย และสภาพแวดล้อมการปลูกที่เหมาะสมของขมิ้นชัน. ในรายงานการวิจัย การรวบรวมการคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร. งบประมาณบูรณาการนำร่องปีงบประมาณ 2547. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**วิเชียร กิรตินิจกาล, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และ สรัญญา วัชรโรทัย. 2548.** ระยะปลูกและชนิดปุ๋ยที่เหมาะสมต่อการปลูกฟ้าทะลายโจร. ในรายงานการวิจัย การรวบรวมการคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร. งบประมาณบูรณาการนำร่องปีงบประมาณ 2547. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**วิเชียร กิรตินิจกาล. 2548.** การเพิ่มปริมาณต้นไหล (*Zingiber montanum* (Koen.) Theilade) และการชักนำให้เกิดเหง้าโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ในรายงานการวิจัย การรวบรวมการคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร. งบประมาณบูรณาการนำร่องปีงบประมาณ 2547. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**วิเชียร กิรตินิจกาล, โสภิตา ชิตชื่นเชย, ชัยมงคล ตะนะสอน, อารีย์รัตน์ ขุนภิบาล และ วัฒนา อาจวิชัย. 2549.** การคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมขมิ้นชัน. ในรายงานการวิจัย การคัดเลือกพันธุ์และศึกษาการเขตกรรมพืชสมุนไพรร. งบประมาณบูรณาการนำร่องปีงบประมาณ 2548. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**วิเชียร กิรตินิจกาล**, โสภิตา ชิดชื่นเชย, ชลิตา เล็กสมบูรณ์, ชัยมงคล ตะนะสอน, อารีย์รัตน์ ขุนภิบาล, วัฒนา อาจวิชัย และนันทวรรณ ฉิมพลี. 2552. การปรับปรุงพันธุ์ขม้นชั้นต้านทานโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรีย ใน รายงานการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และการเขตกรรมพืชสมุนไพร. งบประมาณปี 2551. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

โสภิตา ชิดชื่นเชย, **วิเชียร กิรตินิจกาล**, อุดมลักษณ์ สุขอัติตะ, ชัยมงคล ตะนะสอน, อารีย์รัตน์ ขุนภิบาล, วัฒนา อาจวิชัย และนันทวรรณ ฉิมพลี. 2552. อายุการเก็บเกี่ยวไหลที่เหมาะสม ใน รายงานการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และการเขตกรรมพืชสมุนไพร. งบประมาณปี 2551. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

**งานวิจัยที่กำลังทำ** : โครงการอายุการเก็บเกี่ยวไหลที่เหมาะสม ในแผนงานการปรับปรุงพันธุ์และการเขตกรรมพืชสมุนไพร ได้รับทุนอุดหนุนจากสภาวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ 2553.