สารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของใบเนียมหอมเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในยาหม่องน้ำ

Phytochemical Composition and Biological Activity of Leaves of *Strobilanthes tonkinensis* Lindau for Applying in Balm Oil

นิภาวรรณ พองพรหม* สุกัญญา ใจยาว ศศิธร มณีภาค และ วัฒนา ชัยยะ
Nipawan Pongprom*, Sukanya Chaiyao, Sasithon Maniphak and Watthana Chaiya

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
Department of Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
*E-mail: nipawan.p@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการสกัด การแยกให้บริสุทธิ์ การพิสูจน์เอกลักษณ์เชิงโครงสร้างของสารสำคัญและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบเนียมหอม การสกัดสารสำคัญจากใบเนียมหอมทำได้โดยการแช่หมักในตัวทำละลายเอทานอล จากการศึกษาการแยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี และพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี พบสารสำคัญ 2 ชนิด คือ สารกลุ่มสเตียรอยด์ชนิดไม่อิ่มตัว และสารกลุ่มกรดฟีนอลิก การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่แยกได้ ด้วยวิธี FRAP ผลการทดลองพบว่า สารสเตียรอยด์ และสารกลุ่มกรดฟีนอลิก ให้ค่าต้านออกซิเดชันเท่ากับ 431 และ 438 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสาร ตามลำดับ เนื่องจากใบเนียมหอมมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำเอาใบเนียมหอมมาพัฒนากลิ่นของยาหม่องน้ำที่มีกลิ่นเป็นเอกลักษณ์โดยพัฒนายาหม่องน้ำ 2 สูตร คือสูตรที่ไม่มีส่วนผสมของใบเนียมหอม และสูตรที่มีส่วนผสมใบเนียมหอม การศึกษาค่าความเข้ากัน และความหนืดของยาหม่องน้ำที่ได้ ผลการทดลองพบว่ายาหม่องน้ำที่ได้มีสีเหลือง มีความเข้ากันได้ดีเมื่อตั้งไว้ที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน และค่าความหนืด 20.31 cP เป็นยาหม่องน้ำที่มีกลิ่นหอมหวานที่เกิดจากสารสกัดจากใบเนียม ดังนั้นการนำสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ในของใช้ในชีวิตประจำวันจะเป็นการเพิ่มมูลค่าสมุนไพรและทำให้ไม่สูญพันธุ์ไปจากสังคมไทย

คำสำคัญ: เนียมหอม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ องค์ประกอบทางเคมี ยาหม่องน้ำ

Abstract

The objective of this research was to study phytochemical composition and antioxidant activity of *Strobilanthes tonkinensis* Lindau which is aromatic herb. Leave of fresh *Strobilanthes tonkinensis* Lindau was extracted by maceration method in ethanol. The chemical constituents were isolated by chromatography technique and identified by spectroscopic techniques. We found one unsaturated steroid and one phenolic acid. Antioxidant efficacy of isolated compounds were studied by using Ferric Reducing Ability Power (FRAP) assay which showed antioxidant activity of steroid and phenolic acid acid at value of 431 and 438 mg AAE/g, respectively. Since *Strobilanthes tonkinensis* Lindau is aromatic herb, we were interested in applying *Strobilanthes tonkinensis* Lindau as component in balm oil. Balm oil was developed in 2 formulas: Formula 1 was a formula with *Strobilanthes tonkinensis* Lindau and Formula 2 is a formula

without *Strobilanthes tonkinensis* Lindau. We obtained a yellow balm oil for both Formula. The Formula 2 gave a strong and unique smell of *Strobilanthes tonkinensis* Lindau. Both formulas showed good compatibility after stored in deferent temperature with viscosity of 20.31 cP. Therefore, Thai herbal plants can be applied in many health products to keep values of Thai herb and prevent them from extinction.

Keywords: Strobilanthes Tonkinensis Lindau, Antioxidant Activity, Chemical Constituents, Balm Oil

บทนำ

เนียมหอม (Strobilanthes tonkinensis Lindau) อยู่ในวงศ์ ACANTHACEASE พบมากในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เนียมหอมเป็นไม้ล้มลุกมีลักษณะดังแสดงใน ภาพที่ 1 โดยใบสมุนไพรนี้มีกลิ่นหอมที่ไม่เหมือนใคร คล้ายกลิ่นหอมของใบเตยแต่ลึกกว่า เข้มกว่า และยาวนานกว่า ในอดีต ใบเนียมหอมถูกนำมาใช้ทำน้ำหอม เครื่องสำอางค์ และยาแผนโบราณเพื่อรักษาโรคหวัด ไข้ อาการหอบหืด และอาการวิงเวียนศีรษะ

(a) ต้น (b) ใบ (c) ดอก

ภาพที่ 1 ลักษณะของ (a) ต้นเนียมหอม (b) ใบเนียมหอม (c) ดอกเนียมหอม

เนื่องจากใบเนียมมีกลิ่นหอมที่หาได้ยากในพืชชนิดอื่น รัตนาและคณะ (2562) รายงานการนำใบเนียมมาใช้เป็นชาและศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระและสารสกัดหยาบเนียมหอมร่วมกับสมุนไพรพื้นบ้านต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเนียมหอม รางจืด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ Ali Ghasemzadeh et al. (2015) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากใบของ *Strobilanthes crispus* (L.) Bremek ที่พบในประเทศมาเลเซีย โดยเปรียบเทียบชนิดของกรดฟีนอลิก ที่พบในพืชจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศมาเลเซีย และสารสำคัญที่พบ ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก กรดคาเฟอิก กรดแกลลิก เป็นต้น Xiao-Ling Zhu et al. (2022) รายงานองค์ประกอบทางเคมีที่พบจากพืชในจีนัส Strobilanthes ซึ่งพบสารสำคัญในกลุ่มกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ น้ำมันหอมระเหย และเทอร์ปีน

อย่างไรก็ตาม การศึกษาสารสำคัญในใบเนียมที่ปลูกในประเทศไทยยังมีผู้ศึกษาไม่มากนัก เนื่องจากเป็นใบไม้ที่หาได้ยาก ปลูกได้ในบางพื้นที่ของประเทศไทยเท่านั้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของใบเนียม ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารจากใบเนียม นอกจากนี้ใบเนียมเป็นสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมหวาน ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำสมุนไพรใบเนียมมาเป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นของยาหม่องน้ำ ให้มีกลิ่นที่หอมเป็นเอกลักษณ์มากยิ่งขึ้น

วิธีการวิจัย

1. การทดลองทั่วไป

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองซื้อจากบริษัทผู้ผลิตสารเคมี นำมาใช้โดยไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้น ตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกสารให้บริสุทธิ์ได้รับการกลั่นให้บริสุทธิ์ก่อนใช้ การรวมแฟรกชันของสารโดยใช้เทคนิค Thin Layer Chromatography

(TLC) โดย TLC ที่ใช้คือ Merck TLC Sheets (Silica gel 60 F254) สำหรับการแยกสารให้บริสุทธิ์ใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจล (Merck silica gel 60, 70-230 mesh ASTM, Nr 1.07734) เป็นเฟสคงที่ และใช้สารละลายที่เหมาะสมเป็นเฟสเคลื่อนที่ เช่น สารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับเอทิลอะซิเตท หรือเอทิลอะซิเตทกับ เมทานอล ในอัตราส่วนปริมาตรต่อปริมาตร และสารที่ถูกชะออกจากคอลัมน์จะถูกเก็บไว้ในขวดรูปชมพู่ จากนั้นจึงกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator

การพิสูจน์เอกลักษณ์เชิงโครงสร้างของสารใช้เทคนิค ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR spectroscopy วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 MHz Spectrometer และค่า Chemical Shift (δ) รายงานในหน่วยของ part per million (ppm) โดยใช้ Chloroform-D กับ Methanol-D4 เป็นตัวทำละลาย สำหรับตัวย่อที่ใช้ในการอธิบาย สเปกตรัม ประกอบด้วย s (singlet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet) และ *J* (coupling constant) ในหน่วยของ Hertz (Hz) และ Infrared Spectra วัดด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) spectrum ในโหมดของ Attenuated Total Reflectance (ATR) ซึ่งทำการวัดได้โดยตรงไม่ต้องเตรียมสารตัวอย่าง รายงานในหน่วยของ Wave number (cm^{-1}) หน่วยปริมาตรของสารละลายใช้มิลลิลิตร (mL)

2. การเตรียมสารสกัดจากใบเนียม

นำใบเนียมสดมาหั่นหยาบ ๆ ชั่ง 200 กรัม นำไปสกัดโดยการแช่ (Maceration) ในตัวทำละลายเอทานอล 2 ลิตร เก็บในที่มืดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน นำออกมากวนวันละ 1 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการกรองแยกกากออก แล้วนำสารละลายที่ได้ไปทำการระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ในลำดับต่อไป

3. การแยกสารสกัดหยาบด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ใช้คอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 3 หรือ 5 เซนติเมตร ตามน้ำหนักของสารสกัดหยาบ โดยใช้เฟสคงที่เป็นซิลิกาเจล ในปริมาณ 50:1 กับน้ำหนักสารสกัดหยาบ ตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่โดยใช้ เฮกเซน:เอทิลอะซิเตท ในอัตราส่วน 9:1 ปริมาตร 700 มิลลิลิตร และเพิ่มความมีขั้วทีละ 10 เปอร์เซ็นต์ จนถึงเฮกเซน:เอทิลอะซิเตท ในอัตราส่วน 5:5 เก็บสารที่ออกจากคอลัมน์ในขวดรูปชมพู่ขวดละ 30 มิลลิลิตร รวมแฟรกชันโดยตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC นำสารที่แยกได้ไปทำการระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotatory evaporator

4. การทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของสารด้วยวิธี Ferric Reducing Ability Power (FRAP) assay

ปีเปตสารละลาย L-ascorbic acid หรือ สารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม working FRAP reagent ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ปีเปตน้ำ DI ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร ใส่ใน cuvette เพื่อใช้เป็น blank วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้เทคนิค UV-visible spectroscopy กราฟมาตรฐานของ L-ascorbic acid วัดที่ความเข้มข้น 1000, 500, 250, 100 และ 50 ไมโครโมลาร์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของ L-ascorbic acid กับค่าการดูดกลืนแสงจะได้กราฟมาตรฐาน การคำนวณ โดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานคำนวณจากสูตร y = mx + c แทน y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบเมทานอลของสารตัวอย่างแต่ละชนิด m คือ ค่าความชัน และ c คือ ค่าจุดตัดแกน y เมื่อแทนค่าในสมการ จะได้ค่า x ซึ่งก็คือค่า FRAP value ในการวัดสารตัวอย่างใช้สารตัวอย่าง 5 มิลลิกรัมในตัวทำละลายเมทานอล 1 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่าความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในรูป FRAP value แล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในรูป FRAP value ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด (แกน y) กับชนิดของวิธีการสกัด (แกน x)

5. ขั้นตอนการเตรียมยาหม่องน้ำ

หั่นไพล 200 กรัม และขมิ้น 100 กรัม เป็นชิ้นบาง ๆ ปล่อยให้หมาดสักครู่ สำหรับน้ำมันสมุนไพรสูตรที่ 1 ไม่ใส่ใบเนียมหอม ส่วนน้ำมันสมุนไพรสูตรที่ 2 ให้หั่นใบเนียมหอม 10 กรัม ลงไปเจียวกับไพลและขมิ้น โดยเจียวด้วยน้ำมันมะพร้าว 300 กรัม เป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองเอาน้ำมันสกัดสมุนไพร ชั่งเมนทอล 100 กรัม, พิมเสน 60 กรัม, การบูร 40 กรัม และน้ำมันยูคาลิปตัส 40 กรัม เทรวมกันและกวนให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำมันสมุนไพรที่เตรียมไว้ 160 กรัม แล้วกวนต่อไปอีก 10 นาที ทิ้งให้ของแข็งละลายหมด

6. การทดสอบความเข้ากันของยาหม่องน้ำ

นำยาหม่องน้ำทั้ง 2 สูตร มาแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 24 ชั่วโมง ทำจนครบ 8 วัน แล้วสังเกตความเข้ากัน และการแยกชั้นของยาหม่องน้ำ

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัด และแยกสารสำคัญจากใบเนียมหอม

ใบเนียมสด 50 กรัม มาหั่นยาบ ชั่งน้ำหนักแล้วแช่ด้วยตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) ในอัตราส่วน 1:10 (น้ำหนักตัวอย่างต่อปริมาตรตัวทำละลาย) เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบ 7 วัน แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำไประเหยตัวทำลายเอทานอลออก ด้วยเครื่อง rotary evaporator ทำให้แห้งจนได้เป็นสารสกัดหยาบ (Ethanol crude) ที่ความดัน 90-150 อุณหภูมิ 45-50 องศา ลักษณ์ของสารสกัดหยาบที่ได้ของใบเนียมหอมจะเป็นของแข็งสีเขียว ลักษณะหนืดสีเขียว โดยทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง ได้น้ำหนักของสารสกัดหยาบเป็น 1.4529 กรัม (2.9%) และ 1.6295 กรัม (3.3%)

2. ผลการแยกสารสกัดหยาบเอทานอลและทำให้บริสุทธิ์

แยกสารสกัดจากใบเนียมด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทรกราฟี ใช้คอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจล (Silica gel) เป็นเฟสคงที่ โดยใช้ระบบตัวทำละลายเฮกเซน:เอทิลอะซิเตท บรรจุลงในคอลัมน์และไล่ฟองอากาศโดยการเคาะผิวหน้าซิลิกาเจลให้เรียบทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้ซิลิกาเจลอิ่มตัว นำสารสกัดหยาบเอทานอลที่ชั่งไว้แล้วละลายด้วยตัวทำละลาย เอทิลอะซิเตท อัตราส่วน 100% จากนั้นนำมาลงบนคอลัมน์ที่เตรียมไว้โดยเริ่มชะด้วยระบบตัวทำละลายเฮกเซน:เอทิลอะซิเตท อัตราส่วน 3:7 เก็บส่วนสกัด (fraction) ละ 10 mL ทั้งหมด 12 ขวด และ 11 ขวด แล้วนำมาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC เพื่อรวมสารชนิดเดียวกันเข้าด้วยกัน พบว่ารวมได้ทั้งหมด 3 ขวด ดังแสดงน้ำหนักในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการแยกสารสกัดหยาบเอทานอลของใบเนียมด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

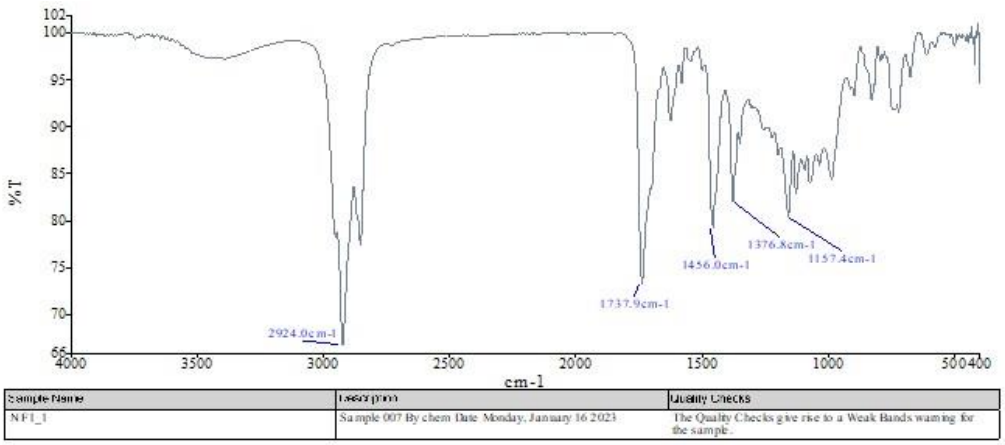
การแยกคอลัมน์โครมาโทกราฟี ครั้งที่ 1		**การแยกคอลัมน์โครมาโทกราฟี ครั้งที่ 2**	
สาร	**น้ำหนัก (กรัม, % yield)**	**สาร**	**น้ำหนัก (กรัม, % yield)**
สารสกัดหยาบ EtOH-1	1.4529	สารสกัดหยาบ EtOH-2	1.6295
EtOH-1-F1	0.0578 (4%)	EtOH-2-F1	0.1888 (11.6%)
EtOH-1-F2	0.0341 (2.3%)	EtOH-2-F2	0.1504 (9.2%)
EtOH-1-F3	0.1214 (8.4%)	EtOH-2-F3	0.0636 (3.9%)

4. ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์เชิงโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

จากการแยกสารสกัดหยาบเอทานอลได้สาร EtOH-1-F1 เป็นของเหลวหนืดสีเขียวเข้มเมื่อนำไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคอินฟราเรด สเปกโตรสโคปี ได้ข้อมูลในตารางที่ 2 และภาพที่ 2

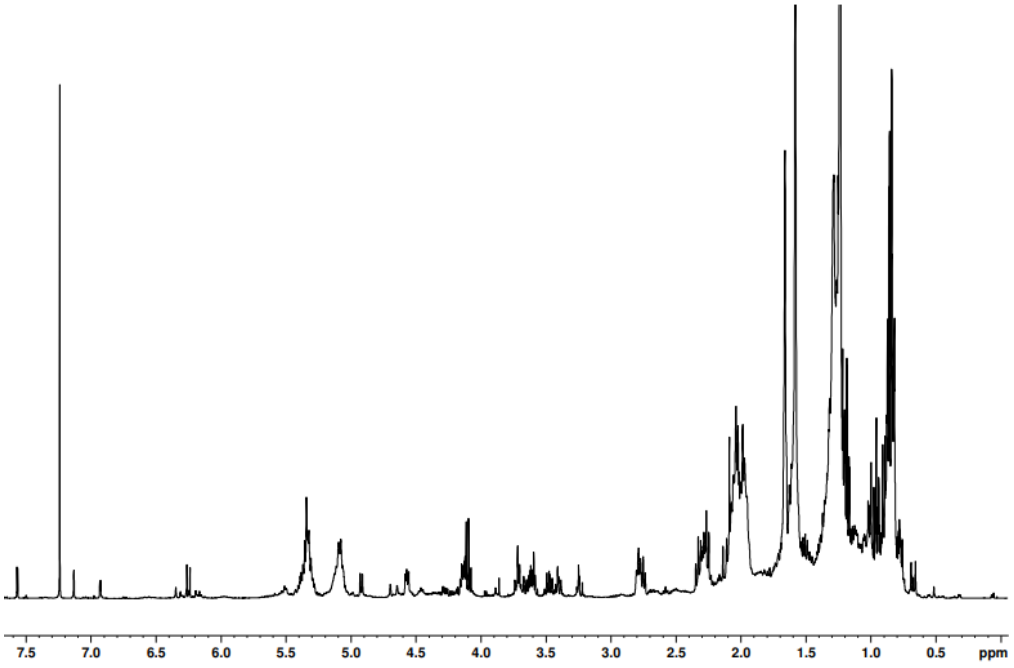
ตารางที่ 2 การแปลผลข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร EtOH-1-F1

เลขคลื่น (Wave number) cm^{-1}	ความเข้มข้นของสเปกตรัม (Intensity)	ชนิดของพันธะที่เกิดการสั่น (Type of Vibration)
3600-3400	Broad	O-H stretching
2924	Strong	C-H stretching
1718	Strong	C=O stretching
1436	Strong	C-H bending
1376	Strong	C-H bending



ภาพที่ 2 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร EtOH-1-F1

จากการแปลผลสเปกตรัมอินฟราเรดของสาร EtOH-1-F1 ดังรูปที่ 2 พบพีคที่สำคัญสามารถอธิบายได้ ดังนี้ พีคการสั่นแบบยืดหดของพันธะ O-H ปรากฏในช่วง 3600-3400 cm^{-1} พีคการสั่นแบบยืดหดของพันธะ C-H ของคาร์บอนอิ่มตัว ปรากฏที่ 2924 cm^{-1} พีคการสั่นแบบยืดหดของพันธะ C=O ของหมู่กรดคาร์บอกซิลิก ปรากฏที่ 1718 cm^{-1} ที่แสดงว่ามีกรดไขมันปนอยู่ในสาร EtOH-1-F1 ด้วย จากข้อมูล ^{1}H-NMR ของสาร EtOH-1-F1 ดังแสดงในรูปที่ 3 ปรากฏค่า δ ที่ 1.20-1.30 ppm เป็นลักษณะของ CH_3 ของโปรตอนตำแหน่งที่ 28 และ 29 ค่า δ ที่ 1.60-1.70 ppm เป็นลักษณะของ CH_2 และ CH_3 ของโปรตอนตำแหน่งที่ 25 และ 26 ค่า δ 3.50-3.70 ppm เป็นลักษณะของ CH ที่เกาะกับหมู่ OH ของโปรตอนตำแหน่งที่ 3 และค่า δ ที่ 5.20-5.50 เป็นลักษณะของ CH ที่เกาะบนพันธะคู่ สอดคล้องกับรายงานของ Xiao-Ling Zhu et al. (2022) ที่พบสารกลุ่มสเตียรอยด์ในพืชที่อยู่ในจีนัส *Strobilanthes* ดังนั้นจึงคาดว่าสาร EtOH-1-F1 เป็นสารกลุ่มสเตียรอยด์ที่มีความไม่อิ่มตัว แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากสารยังไม่บริสุทธิ์ ยังมีกรดไขมันปนอยู่ด้วย จึงยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันโครงสร้างของสารต่อไป



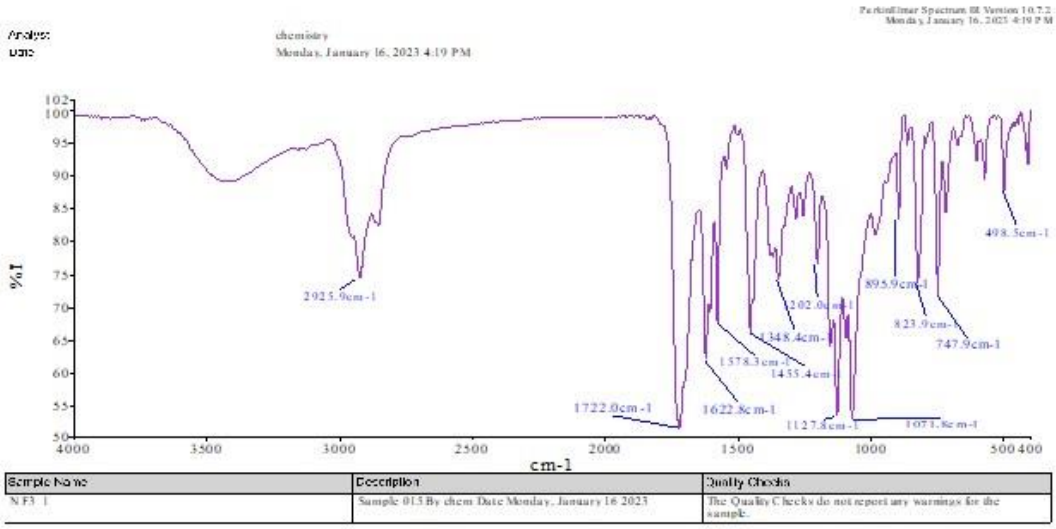
ภาพที่ 3 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร EtOH-1-F1

การแปลผลสเปกตรัมอินฟราเรดของสาร EtOH-1-F*3* (รูปที่ 4) พบพีคที่สำคัญสามารถอธิบายได้ดังนี้ พีคการสั่นแบบยืดหดของพันธะ O-H ปรากฏในช่วง 3600-3400 cm^{-1} พีคการสั่นแบบยืดหดของพันธะ C-H ปรากฏที่ 2926 cm^{-1} พีคการยืดหดของพันธะ C=C ของสารประกอบอะโรมาติก ปรากฏที่ 1578 cm^{-1} ข้อมูลการแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัมแสดงในตารางที่ *3* จากข้อมูล ^{1}H-NMR ของสาร EtOH-1-F3 (รูปที่ 5) ปรากฏค่า δ ที่ 1.10 ppm เป็นลักษณะของ CH_2 ของสารประกอบอะลิฟาติก ค่า δ ที่ 4.30 และ 4.60 ppm เป็นลักษณะของ CH ที่เกาะกับหมู่ OH ค่า δ ที่ 4.90 ppm ค่า δ ที่ 6.30 และ 8.10 ppm เป็นลักษณะของโปรตอน CH ที่อยู่บน C = C ของอัลคีน ค่า δ ที่ 6.90, 7.10 และ 7.60 ppm เป็นลักษณะของ CH ของโปรตอนในวงอะโรมาติก จากการวิเคราะผล ^{1}H-MNR คาดว่าเป็นสารในกลุ่มกรดฟีนอลิก ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อยืนยันโครงสร้างต่อไป

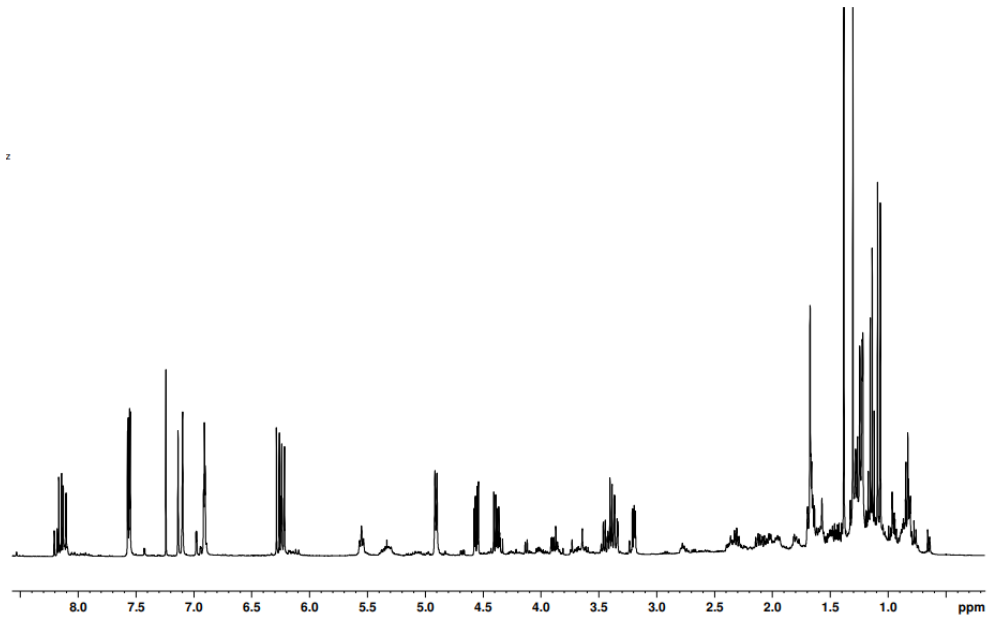
สาร EtOH-1-F2 เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่าเป็นของผสมระหว่างสาร EtOH-1-F1 และ สาร EtOH-1-F3 ดังนั้นจึงไม่ได้มีการพิสูจน์เอกลักษณ์เชิงโครงสร้างของสารดังกล่าว

ตารางที่ 3 การแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร EtOH-1-F3

เลขคลื่น (Wave number) cm-1	**ความเข้มข้นของสเปกตรัม** (Intensity)	**ชนิดของพันธะที่เกิดการสั่น** (Type of Vibration)
3600 - 3400	Broad	O-H stretching
2926	Strong	C-H stretching
1722	Strong	C=O stretching
1578	Variable	C=C stretching



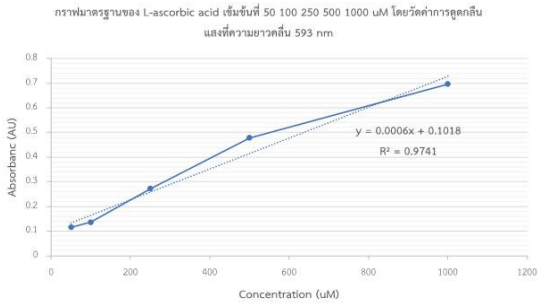
ภาพที่ 4 อินฟราเรด สเปกตรัมของสาร EtOH-1-F3

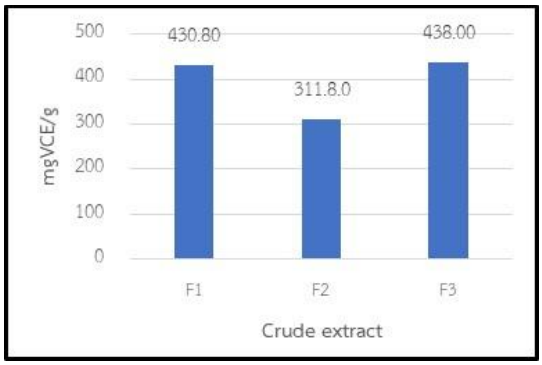


ภาพที่ 5 ^{1}H NMR สเปกตรัมของสาร EtOH-1-F3

5. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดหยาบเทียบกับสารบริสุทธิ์

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค FRAP โดยเทียบกราฟมาตรฐานของสารละลาย *L*-ascorbic ที่ความเข้มข้น 1,000, 500, 250, 100 และ 50 ไมโครโมลาร์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 6 (a) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดหยาบเนียมหอมให้ผลการทดลอง แสดงดังกราฟ 6 (b) ผลการทดลองพบว่าสารสเตียรอยด์ และสารกลุ่มกรดฟีนอลิก ให้ค่าต้านออกซิเดชันเท่ากับ 431 และ 438 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสาร ตามลำดับ ซึ่งจัดว่าสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ในระดับปานกลาง





ภาพที่ 6 (a) กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงของ L-ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay (b) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารจากใบเนียมหอมเมื่อวัดโดยวิธี FRAP assay

***6.* ผลการทดสอบความเข้ากันของยาหม่องน้ำ**

6.1 ผลการทดสอบความเข้ากันของยาหม่องน้ำ สูตรไม่มีเนียมหอมและสูตรมีเนียมหอม

การทดสอบความเข้ากันของยาหม่องน้ำเพื่อดูว่ายาหม่องน้ำที่อุณหภูมิต่ำถึงสูงเกิดการแยกชั้นหรือทำให้ยาหม่องน้ำเสียสภาวะและกลิ่นของยาหม่องน้ำจะมีกลิ่นที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมหรือไม่ จากการทดสอบความเข้ากันของยาหม่องน้ำโดยเอายาหม่องน้ำไปทดสอบในสภาวะเย็นช่วงอุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียสเซลเซียส 24 ชั่วโมง พบว่า ยาหม่องน้ำทั้ง 2 สูตร ที่เกิดการแข็งตัว เนื่องจากน้ำมันมะพร้าวที่เป็นองค์ประกอบ มีจุดเยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นยาหม่องน้ำจึงเกิดการแข็งตัว เมื่อนำยาหม่องน้ำทั้ง 2 สูตร ออกมาไว้ในสภาวะห้อง 25-30 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง พบว่ายาหม่องน้ำทั้ง 2 กลับมาสู่สภาวะเดิม ไม่มีการแข็งตัว และไม่เกิดการแยกชั้นของยาหม่องน้ำ จากนั้นทำการทดสอบในสภาวะอุณหภูมิต่ำสลับสูงเป็นเวลา 8 วัน พบว่า ยาหม่องน้ำทั้ง 2 สูตร มีลักษณะคงเดิมไม่ปรากฏการแยกชั้นและกลิ่นของยาหม่องยังคงเดิม ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ายาหม่องทั้ง 2 สูตรที่ มีความเข้ากันได้ดีและกลิ่นยังคงเดิม โดยได้ยาหม่องน้ำสีเหลืองที่เกิดจากน้ำมันจากไพล และมีกลิ่นเฉพาะตัวที่เกิดจากใบเนียมหอม การศึกษาค่าความหนืดพบว่า ให้ค่าความหนืดที่ 20.31 cP ซึ่งถือว่ามีความหนืดต่ำ ดังนั้นยาหม่องน้ำนี้จึงสามารถใช้ทาถูนวด และซึมเข้าสู่ผิวหนังไม่ดี โดยไม่ทำให้เหนียวเนอะนะที่ผิว และได้ทดลองบรรจุขวด 2 แบบเป็นขวดแบบหยด และขวดแบบหัวลูกกลิ้ง ดังแสดงในภาพที่ 7

ภาพที่ 7 (a) ลักษณะของยางหม่องน้ำทีผ่านการวัดความเข้ากันด้วยการวางในที่ร้อนและเย็นสลับกัน (b) ยาหม่องน้ำที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการการสกัด และแยกสารสำคัญในใบเนียมหอม พบสารสำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ สารกลุ่มสเตียรอยด์ชนิดไม่อิ่มตัว และ สารกลุ่มกรดฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารที่เคยถูกพบในพืชในจีนัส *Strobilanthes* ตามที่ได้รายงานของ Ali Ghasemzadeh et al. (2015) และ Xiao-Ling Zhu et al. (2022) จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ ด้วยวิธี FRAP assay ผลการทดลองพบว่าสารกลุ่มสเตียรอยด์ และกรดฟีนอลิก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง ที่ค่า 431 และ 438 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัม สอดคล้องกับงานวิจัยของ รัตนาและคณะ (2562) เนื่องจากใบเนียมหอมมีกลิ่นหอมเป็นเอกลักษณ์ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำใบเนียมหอมมาเป็นส่วนผสมในยาหม่องน้ำเพื่อพัฒนากลิ่นของยาหม่องน้ำให้มีความหอมมากยิ่งขึ้น และมีการทดสอบความเข้ากัน และความหนืดของยาหม่องน้ำ พบว่า ยาหม่องน้ำที่ได้ให้สีเหลืองนวล มีกลิ่นหอมหวานเย็น ๆ คล้ายกลิ่นใบเตย แต่มีกลิ่นที่เฉพาะที่เข้มกว่าเกิดจากใบเนียมหอม นอกจากนี้ยังพบว่า ยาหม่องน้ำที่ได้มีเป็นสีเหลืองที่เป็นเนื้อเดียวกัน การตั้งในที่เย็นและที่อุณหภูมิห้องสลับไปมาเป็นเวลา 8 วัน ยาหม่องยังมีความเข้ากันได้ดี และกลิ่นยังคงเดิม และความหนืดอยู่ที่ 20.31 cP เป็นยาหม่องน้ำที่ทาได้ง่ายและซึมลงผิวได้ดี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงประสบความสำเร็จในการศึกษาโครงสร้างสารสำคัญในสมุนไพร สมบัติทางชีวภาพ เพื่อให้มีข้อมูลทางวิชาการที่สนับสนุนและสร้างความมั่นใจในการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในการเป็นเครื่องปรุงยา ทำให้สมุนไพรไทยถูกนำมาใช้ สร้างรายได้ให้กับคนทั่วไปและเป็นการอนุรักษ์พันธุ์พืชสมุนไพรให้อยู่คู่บ้านคู่เมืองของไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมือ และอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

รัตนา เพ็งเพราะ, ภาวิณี ศิลาเกษ, สันธยา บุญรุ่ง และปกฉัตร กุศลกรรมบถ. (2562). ผลของสารต้านอนุมูลอิสระและสารสกัดหยาบเนียมหอมร่วมกับสมุนไพรพื้นบ้านต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, *21*(3), 208-224.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. and Rahmat, A. (2015). Phytochemical constituents and biological activities of different extracts of *Strobilanthes crispus* (L.) Bremek leaves grown in different locations of Malaysia. *BMC complementary and alternative medicine*, *15*(1), 1-10. DOI: 10.1186/s12906-015-0873-3.

Zhu, X. L., Xu, Y., Sun, D. J., Li, H. and Chen, L. X. (2022). The genus Strobilanthes: phytochemistry and pharmacology. *TMR Modern Herb Med*, *5*(3), 15. http://doi.org/10.25135/rnp.402.2305.2785.