บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างว่านสาวหลงจาก 5 แหล่ง ซึ่งในการคัดเลือกแหล่งนั้นมาจากผลการสำรวจถึงการใช้ว่านสาวหลง และปริมาณของว่านสาวหลงที่มีการปลูกในพื้นที่จริง เมื่อเก็บตัวอย่างมาในทุกแหล่งจะทำการปลูกในพื้นที่เดียวกัน ณ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อให้มีสภาพแวดล้อมเดียวกันก่อนทำการตรวจสอบชนิด ซึ่งว่านสาวหลงที่ทำการเก็บตัวอย่างและได้ทำเป็นตัวอย่างพืชแห้ง (herbarium specimen) และว่านสาวหลงที่ปลูกจนโตเต็มที่นำไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างพืช ณ หอพรรณไม้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และตรวจสอบยืนยันโดยนักพฤกษศาสตร์คือ Maxwell J.F. ได้รับการยืนยันว่าเป็น *A. uliginosum*

จากนั้นได้ทำการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ ก้านใบ และลำต้นใต้ดินเพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางในสัตว์ทดลอง

จากการค้นคว้าพบว่ายังไม่มีการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการควบคุมคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลง ในการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพเพิ่มเติมได้แก่ ค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ ค่าดัชนีหักเห ค่าการเบี่ยงเบนแสง ค่าความเข้ากันได้กับเอทานอล ปริมาณน้ำ และปริมาณน้ำมันหอมระเหย โดยอ้างอิงกับมาตรฐานของน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น จากผลที่ได้พบว่า

ค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบอยู่ในช่วง 0.9554-0.9561 โดยน้ำมันหอมระเหยจากส่วนอื่นและแหล่งอื่นๆ ไม่สามารถทำการศึกษาได้ เนื่องจากการในการหาค่าหนาแน่นสัมพัทธ์ใช้ pycnometer ขนาด 10.0 ml ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่มีเพียงพอสำหรับการศึกษา คือ จากส่วนใบของแหล่ง CM1, LPN และ PRA

ค่าดัชนีหักเหของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ, ก้านใบ และลำต้นใต้ดิน อยู่ในช่วง 1.5455-1.5476, 1.5437-1.5477 และ 1.5381-1.5466 โดยพบว่าค่าดัชนีหักเหของน้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 3 ส่วนนั้นมีค่าที่ใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 1.5381-1.5477

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่าการเบี่ยงเบนแสงของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ, ก้านใบ และลำต้นใต้ดิน อยู่ในช่วง -3.21-0.48, -4.53-2.00 และ -2.01-1.16 โดยพบว่าค่าการเบี่ยงเบนแสงของน้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 3 ส่วนมีค่าที่ใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง -4.53-2.00 ในการศึกษานี้ได้ทำการเตรียมสารละลายน้ำมันหอมระเหย ความเข้มข้น 5% แล้วใช้ polarimeter tube ขนาด 100 mm ทำการทดลอง อาจทำให้ค่าการเบี่ยงเบนแสงไม่เหมาะสม เนื่องจากสีของน้ำมันหอมระเหยมีสีอ่อน ถ้าสามารถใช้น้ำมันหอมระเหยโดยไม่ต้องเจือจาง และใช้ polarimeter tube ที่ยาวขึ้น เช่นขนาด 200 mm อาจทำให้ค่าการเบี่ยงเบนแสงอยู่ในช่วงที่แคบลง

ค่าความเข้ากันได้กับเอทานอลพบว่าปริมาตร 80% เอทานอลที่ทำให้น้ำมันหอมระเหยจากใบ, ก้านใบ และลำต้นใต้ดินมีค่า 0.1 ml ปริมาตร 80% เอทานอลที่ทำให้น้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 3 ส่วนขุ่นมีค่า 0.2 ml และปริมาตร 80% เอทานอลที่ทำให้น้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ และลำต้นใต้ดินกลับมาใสอีกครั้งอยู่ในช่วง 7.0-8.0 และ 6.8-7.4 และในส่วนของก้านใบมีค่า 7.0 จากการทดลองพบว่าการเลือกความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อความเข้ากันได้กับเอทานอล และการศึกษานี้ทำการเลือกความเข้มข้นที่ 80% เนื่องจากใช้ปริมาตรรวมไม่สูง และจากผลการศึกษาพบว่าปริมาตรของเอทานอลไม่ต่างกันมากนัก เนื่องจากองค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยมีความใกล้เคียงกันมาก และจากวิธีการมาตรฐานกำหนดให้หยดสารละลายเอทานอลครั้งละ 0.1 ml ซึ่งเป็นหน่วยที่ยังไม่ละเอียด หากลดปริมาณหยดการลงอาจทำให้เห็นความแตกต่าง

ปริมาณน้ำเมื่อเทียบกับน้ำหนักพืชสดจากส่วนใบ, ก้านใบ และลำต้นใต้ดิน อยู่ในช่วงร้อยละ 69.96-78.97, 79.87-88.50 และ 77.63-87.05 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าในส่วนก้านใบและลำต้นใต้ดินมีปริมาณน้ำที่ใกล้เคียงกันและสูงกว่าจากส่วนใบ โดยในส่วนก้านใบและลำต้นใต้ดินมีน้ำเป็นองค์ประกอบสูงกว่า หรืออาจเนื่องจากมีการคายน้ำในระหว่างการขนส่ง จึงทำให้ส่วนใบมีน้ำลดลง

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยเมื่อเทียบกับน้ำหนักพืชสดจากส่วนใบ, ก้านใบ และลำต้นใต้ดิน อยู่ในช่วงร้อยละ 0.86-1.23, 0.25-0.30 และ 0.37-0.50 และเมื่อเทียบกับน้ำหนักพืชแห้งจากส่วนใบ, ก้านใบ และลำต้นใต้ดินอยู่ในช่วงร้อยละ 2.96-5.12, 1.02-2.11 และ 1.79-3.08 โดยเมื่อพิจารณาทั้ง 3 ส่วนพบว่าปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบจะมีปริมาณสูงที่สุด

จากศึกษา TLC, IR Spectroscopy, Gas Chromatography/ Mass spectrometry พบว่า chromatogram ของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ส่วนมีความคล้ายกัน และจาก GC chromatogram ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ ก้านใบ และลำต้นใต้ดิน มีองค์ประกอบของสารที่ใกล้เคียงกัน โดยส่วนใหญ่จะเป็นสารในกลุ่ม monoterpene โดย

จากส่วนก้านใบไม่พบ γ-epoxy-elemene

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากส่วนลำต้นใต้ดินไม่พบ tran-α-bergamotene, γ-epoxy-elemene

โดยสารที่พบในน้ำมันจากทุกส่วนคือ α-thujene, α-pinene, camphene, β-pinene, α-fenchene, 1,8,cineole, bicyclo(2.21) heptane-2-on, 1-methoxy-4-(tran-2-butenyl)benzene, ρ-(1-buteny) anisole, β-santalol, γ-elemene

พบว่ามีสารที่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นสารใดเนื่องจากมีปริมาณ %Relative area ที่ต่ำเกินไป และพบว่า γ-epoxy-elemene พบเฉพาะน้ำมันหอมระเหยจากใบ

สารที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ส่วนคือ ρ-(1-buteny) anisole โดย %Relative area ที่พบจากน้ำมันหอมระเหยจากใบ ก้านใบ และลำต้นใต้ดิน คือ 85.23-89.50, 87.93-90.88 และ 67.17-84.44% ตามลำดับ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธีคือ ABTS และ FRAP จากผลการศึกษาพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงโดยวิธี ABTS เมื่อเทียบกับ Trolox ของใบมีค่าระหว่าง 0.69-2.54 mg Trolox/ml sample (เฉลี่ย 1.34 mg Trolox/ml sample) ของก้านใบมีค่าระหว่าง 0.09-0.25 mg Trolox/ml sample (เฉลี่ย 0.16 mg Trolox/ml sample) ของลำต้นใต้ดินมีค่าระหว่าง 0.21-0.42 mg Trolox/ml sample (เฉลี่ย 0.29) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงโดยวิธี FRAP เมื่อเทียบกับ $FeSO_4$ ของใบมีค่าระหว่าง 0.28-1.21 mg $FeSO_4$/ml sample (เฉลี่ย 0.65 mg $FeSO_4$/ml sample) ของก้านใบมีค่าระหว่าง 0.06-0.14 mg $FeSO_4$/ml sample (เฉลี่ย 0.09 mg $FeSO_4$/ml sample) ของลำต้นใต้ดินมีค่าระหว่าง 0.09-0.16 mg $FeSO_4$/ml sample (เฉลี่ย 0.12 mg $FeSO_4$/ml sample) และเมื่อเทียบกับ Trolox ของใบมีค่าระหว่าง 0.10-0.52 mg Trolox/ml sample (เฉลี่ย 0.28 mg Trolox/ml sample) ของก้านใบมีค่าระหว่าง 0.01-0.05 mg Trolox/ml sample (เฉลี่ย 0.03 mg Trolox/ml sample) ของลำต้นใต้ดินมีค่าระหว่าง 0.03-0.06 mg Trolox/ml sample (เฉลี่ย 0.04 mg Trolox/ml sample)

จากการศึกษาพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากทั้งวิธี ABTS และ FRAP ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบมีฤทธิ์ดีที่สุด และเมื่อพิจารณาจากแต่ละแหล่ง แหล่ง CM1 จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด

จากวิธี ABTS จะเกิดปฏิกิริยา 2 ปฏิกิริยาไปพร้อมกันคือ สารต้านอนุมูลอิสระให้ไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer) และอิเล็คตรอน (single electron transfer) แก่ ABTS radical ส่วนวิธี FRAP จะเกิดเพียงปฏิกิริยาเดียวเท่านั้นคือ สารต้านอนุมูลอิสระให้อิเล็คตรอน (single

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

electron transfer) เพื่อรีดิวซ์ Ferric-tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) ไปเป็น ferrous-tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) และจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน่าจะมาจากสารประกอบกลุ่ม monoterpene

แม้ว่าจากการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมี ยังไม่สามารถอธิบายเหตุผลของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากใบของแหล่ง CM1 ที่สูงกว่าแหล่งอื่นได้ในขณะนี้ แต่เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลแล้วสามารถกล่าวได้ว่า สารองค์ประกอบหลักคือ *p*-(1-buteny) anisole ไม่ใช่สารออกฤทธิ์ จึงน่าจะมาจากสารอื่น ซึ่งหากจะศึกษาต่อไปควรทำการแยกองค์ประกอบสารสำคัญให้เป็นส่วนๆ และทำการทดสอบฤทธิ์ เพื่อหาส่วนที่ให้ฤทธิ์ที่ดีต่อไป

ฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง

การศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์ทดลอง โดยวิธี Open field test และทำการศึกษา locomotor activities ของสัตว์ทดลองในตอนกลางคืน เนื่องจากการพฤติกรรมของสัตว์ทดลองในตอนกลางวันจะนอนหลับ และในตอนกลางคืนจะตื่น การศึกษา Open field จะทำในตอนกลางวันซึ่งทำในที่มืด จะมีเพียงแสงจากหลอดไฟข้างบน animal activity cage เท่านั้น ส่วนการศึกษา locomotor activities จะทำการศึกษาในตอนกลางคืน เพื่อจะศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยในช่วงที่สัตว์ทดลองตื่น

จากการศึกษาฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางของน้ำมันหอมระเหยในสัตว์ทดลองด้วยวิธี Open filed test เมื่อทำการทดลองในช่วงกลางวันพบว่าเมื่อสัตว์ทดลองได้รับน้ำมันหอมระเหยจากใบ ที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง ค่า distance traveled ลดลงจากกลุ่มควบคุม โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อเทียบร้อยละของจำนวนครั้งของหนูที่อยู่ในพื้นที่ตรงกลางเทียบกับด้านข้างพบว่าสัตว์ทดลองเดินอยู่ในพื้นที่ตรงกลางลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากการศึกษา locomotor activities ทำการทดลองในช่วงกลางคืน พบว่าเมื่อสัตว์ทดลองได้รับน้ำมันหอมระเหยจากใบ ที่ระยะเวลา 1 ชั่วโมง ค่า distance traveled เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทำให้สามารถสรุปได้ว่าผลจากการศึกษา locomotor acitivities เมื่อสัตว์ทดลองได้รับน้ำมันหอมระเหยจากใบว่านสาวหลงสามารถเพิ่ม locomotor activities ได้

จากผลข้างต้นพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบว่านสาวหลงจะลด locomotor activity ในสัตว์ทดลอง น้ำมันหอมระเหยดังกล่าวน่าจะมีฤทธิ์สงบระงับ (sedative) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการศึกษาในช่วงเวลากลางคืน ซึ่งเป็นช่วงที่สัตว์ทดลองตื่นและมีกิจกรรมต่างๆ เช่น การกินอาหาร น้ำมันหอมระเหยไม่มีฤทธิ์สงบระงับ ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากสัตว์ทดลองมีการเคลื่อนที่มากอยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แล้ว จึงไม่สามารถสังเกตเห็นผลของน้ำมันหอมระเหยได้ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าน้ำมันหอมระเหยอาจจะมีฤทธิ์แตกต่างกันในแต่ละช่วงของวัน

จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาที่สัตว์ทดลองนอนหลับ และระยะเวลาของการนอนหลับเมื่อให้น้ำมันหอมระเหยจากใบและลำต้นใต้ดิน ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบและลำต้นใต้ดินของว่านสาวหลงไม่มีฤทธิ์ในการเพิ่มระยะเวลาในการนอนหลับของสัตว์ทดลองเมื่อถูกกระตุ้นโดย Pentobarbital

จากผลการศึกษาพบว่าค่าคงที่ทางเคมีและกายภาพ รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางพบว่ามีค่าที่ใกล้เคียงกัน อาจมีบางส่วนที่ต่างกันบ้างตามแหล่ง และส่วนของพืช ซึ่งสอดคล้องกับภูมิอากาศ ความชื้น ภูมิประเทศ แร่ธาตุ โดยค่าคงที่รวมถึง Chromatogram สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการกำหนดมาตรฐานของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงโดยมีคุณลักษณะดังนี้

1. ความหนาแน่นสัมพัทธ์

น้ำมันหอมระเหยจากใบ	มีค่าระหว่าง	0.9554-0.9561

2. ดัชนีหักเห

น้ำมันหอมระเหยจากใบ	มีค่าระหว่าง	1.5455-1.5476
น้ำมันหอมระเหยจากก้านใบ	มีค่าระหว่าง	1.5437-1.5454
น้ำมันหอมระเหยจากลำต้นใต้ดิน	มีค่าระหว่าง	1.5381-1.5466

3. การเบี่ยงเบนแสง

น้ำมันหอมระเหยจากใบ	มีค่าระหว่าง	-3.21-0.93
น้ำมันหอมระเหยจากก้านใบ	มีค่าระหว่าง	-4.53-2.00
น้ำมันหอมระเหยจากลำต้นใต้ดิน	มีค่าระหว่าง	-2.01-1.16

4. ความเข้ากันได้กับเอทานอล

เมื่อละลายน้ำมันหอมระเหย 1 ml ใน 80% เอทานอล 0.1 ml แล้วได้สารละลายใส

5. ปริมาณน้ำ

ใบว่านสาวหลง	มีค่าระหว่าง	69.96-78.97%
ก้านใบว่านสาวหลง	มีค่าระหว่าง	79.89-88.50%
ลำต้นใต้ดิน	มีค่าระหว่าง	77.63-87.05%

6. ปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่อน้ำหนักพืชสด

น้ำมันหอมระเหยจากใบ	มีค่าระหว่าง	0.86-1.23%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำมันหอมระเหยจากก้านใบ มีค่าระหว่าง 0.20-0.30%
น้ำมันหอมระเหยจากลำต้นใต้ดิน มีค่าระหว่าง 0.37-0.50%

7. ปริมาณน้ำมันหอมระเหยต่อน้ำหนักพืชแห้ง

น้ำมันหอมระเหยจากใบ มีค่าระหว่าง 2.96-5.12%
น้ำมันหอมระเหยจากก้านใบ มีค่าระหว่าง 1.02-2.11%
น้ำมันหอมระเหยจากลำต้นใต้ดิน มีค่าระหว่าง 1.79-3.08%

ข้อเสนอแนะ

1. แม้ว่าจะทำการตรวจสอบชนิดว่านสาวหลงจากลักษณะทางพฤกษศาสตร์แล้ว แต่พืชในวงศ์ขิงมีความใกล้เคียงกันของพืชหลายชนิด จึงเห็นว่าหากมีข้อมูลเพิ่มเติมหรือตรวจพิสูจน์ด้วยวิธีการอื่นเพิ่มเติมน่าจะช่วยยืนยันได้ดียิ่งขึ้น
2. จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง อาจต้องมีการแยกหาสารองค์ประกอบที่มีฤทธิ์สำคัญ
3. ในการศึกษาผลต่อระบบประสาทส่วนกลางเนื่องจากผลที่ได้เป็นข้อมูลเบื้องต้น หากจะทำการยืนยันผล ควรเพิ่มจำนวนของสัตว์ทดลองให้มากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved