

ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยเพื่อสุขภาพจากมะกรูดและส้มโอ และการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้

จักรพันธ์ จุลศรีไคววัล*, สรินยา ชัดชุ่มแสง, เอื้อพร ไชยวรรณ และ สุวรรณา เวชอภิกุล

สายวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

* Corresponding author: jakaphun@gmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: การวิจัยนี้ได้พัฒนาตำรับน้ำมันนวดเพื่อสุขภาพจากพืชตระกูลส้ม

วิธีการศึกษา: สกัดน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) และส้มโอ (*Citrus maxima* Merr.) โดยวิธีกลั่นด้วยน้ำ กลั่นด้วยไอน้ำ และกลั่นโดยการบีบคั้น แล้วศึกษาคุณภาพน้ำมันหอมระเหยทั้งคุณสมบัติทางกายภาพและสีขององค์ประกอบทางเคมี สุดท้ายตั้งตำรับน้ำมันนวดทั้ง 3 ตำรับและประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้อาสาสมัครชาย 6 คน หญิง 13 คน เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดที่มีขายในท้องตลาด

ผลการศึกษา: ผลการกลั่นได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยคิดเป็นร้อยละปริมาตรต่อน้ำหนักพืชสด ดังนี้ น้ำมันใบมะกรูดจากการกลั่นด้วยน้ำ 1.21%, น้ำมันผิวมะกรูดจากการกลั่นด้วยไอน้ำ 1.20%, น้ำมันผิวมะกรูดจากการบีบคั้น 1.05% และน้ำมันผิวส้มโอจากการกลั่นด้วยไอน้ำ 0.40% นำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและสีขององค์ประกอบทางเคมี ในการตั้งตำรับน้ำมันนวด จะใช้น้ำมันหอมระเหยที่ได้มาผสมในอัตราส่วนต่าง ๆ โดยเลือกน้ำมันหอมระเหยผสม 3 ตำรับจาก 20 ตำรับผสมกับน้ำมันตัวพา ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันก๊วยเหลือง 45%, น้ำมันเมล็ดทานตะวัน 45%, น้ำมันมะพร้าว 5% และน้ำมันงา 5% โดยอัตราส่วนของน้ำมันหอมระเหยผสม:น้ำมันตัวพาเท่ากับ 5:95 พบว่าตำรับที่อาสาสมัครมีความพึงพอใจมากที่สุดคือ ตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันผิวมะกรูดจากการบีบคั้น:น้ำมันผิวมะกรูดจากการกลั่นด้วยไอน้ำ:น้ำมันผิวส้มโอจากการกลั่นไอน้ำ ในอัตราส่วน 15:25:60

สรุป: ตำรับน้ำมันนวดจากพืชตระกูลส้มมีความเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดเพื่อสุขภาพในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ: *Citrus hystrix* (มะกรูด), *Citrus maxima* (ส้มโอ), น้ำมันหอมระเหย, ความพึงพอใจ

Thai Pharm Health Sci J 2008;3(2):203-209

บทนำ

ปัจจุบันมีการนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้เพื่อส่งเสริมสุขภาพมากขึ้น โดยแต่ละชนิดมีการใช้ตามคุณสมบัติที่แตกต่างกันไป โดยเฉพาะน้ำมันจากพืชตระกูลส้ม ซึ่งพืชในตระกูลนี้มีคุณสมบัติที่สำคัญคือ ฆ่าเชื้อโรค (antiseptic), กระตุ้น (stimulating), บำรุง (tonic) และช่วยให้ผ่อนคลาย¹⁻⁵ ตัวอย่างเช่น bergamot oil และ orange oil มีการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยรูปแบบต่าง ๆ เช่น สเปรย์ สบู่ แชมพู รวมทั้งน้ำมันนวดตัว ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะใช้ในการบำบัดอาการทางจิตใจ เช่น ในตำรับน้ำมันนวดที่ช่วยผ่อนคลายจิตใจสำหรับสตรี และใช้ในรูปแบบการอาบน้ำที่ช่วยผ่อนคลายอารมณ์ในช่วงก่อนมีประจำเดือน นอกจากนี้ ยังมีการนำ

bergamot oil และ orange oil ผสมในตำรับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นอีกด้วย⁶⁻⁷ การศึกษาพบว่าการสูดดมน้ำมันส้ม (sweet orange oil) ทำให้อาสาสมัครรู้สึกตื่นตัว และการนวดด้วยน้ำมันส้มและน้ำมันมะกรูด (kaffir lime oil) มีผลแสดงฤทธิ์ harmonization มากกว่าฤทธิ์ผ่อนคลายหรือสงบระงับ และไม่พบการก่อการแพ้หรือการระคายเคือง⁸ นอกจากนี้ มีการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มสายน้ำผึ้งและส้มโอมีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางของหนูขาว⁹ ดังนั้น ในความพัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลส้ม ผู้วิจัยจึงสกัดและประเมินคุณภาพน้ำมันหอมระเหยจากผิวและใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) และน้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มโอ (*Citrus maxima* Merr.) ซึ่งเป็นพืชที่หาได้ง่ายใน

§ 13th year of Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science

ท้องถิ่นและราคาไม่แพง เพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดตัวเพื่อความสะดวก และช่วยผ่อนคลาย โดยใช้น้ำมันพืชเป็นน้ำมันตัวพา เนื่องจากน้ำมันพืชกลุ่มน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันงา น้ำมันเมล็ดทานตะวัน และน้ำมันมะพร้าว ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามินเอ และอี ซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มความชุ่มชื้น ทำให้ผิวหนังนุ่มนวล และวิตามินอีในน้ำมันพืชยังเป็นสารต้านออกซิเดชันในตำรับด้วย^{3, 6-7}

วิธีการวิจัย

1. การศึกษาวิธีสกัด

ทำการศึกษาศักยภาพการสกัด 3 วิธี คือ วิธีกลั่นด้วยน้ำ กลั่นด้วยไอน้ำ และ กลั่นโดยการบีบคั้น โดยการวิธีกลั่นด้วยน้ำนั้น ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด โดยกลั่นจนกระทั่งไม่มีน้ำมันออกมา ส่วนวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผิวสดของผลมะกรูดและส้มโอ โดยกลั่นจนกระทั่งไม่มีน้ำมันออกมา และท้ายที่สุด วิธีการบีบคั้นนั้นใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผิวสดของผลมะกรูด

2. การประเมินคุณภาพน้ำมันหอมระเหย

ศึกษาคุณภาพน้ำมันหอมระเหยทั้งคุณสมบัติทางกายภาพและศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งการศึกษาคงสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ความหนาแน่นสัมพัทธ์ ความหนืด การละลายในเอทานอล ค่าดัชนีหักเห และ Optical Rotation โดยอ้างอิงวิธีการวิเคราะห์ที่ระบุใน British Pharmacopoeia ปี 2004 เล่ม 2¹⁰

ส่วนการศึกษาค่าองค์ประกอบทางเคมีโดย 3 วิธี ได้แก่ 1) การศึกษาโดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ใช้ Silica gel GF 254 เป็น stationary phase และใช้ mobile phase เป็น chloroform จากนั้นนำไปพ่นด้วยน้ำยาเจ็ดพัน anisaldehyde in sulfuric acid อบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 5 นาที 2) โดยวิธี Infrared Spectroscopy (IR) โดยใช้เครื่อง NICOLET NEXUS A70 FT-IR และ 3) โดยวิธี Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) โดยใช้สภาวะดังนี้ ใช้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 0.5% ปริมาตร 2 µL และใช้คอลัมน์ชนิด DB-5 column (30 x 0.25 mm, 0.25 µm film thickness) อุณหภูมิ 70 - 280 °C ทำการวิเคราะห์โดยเครื่อง Shimadzu GC-MS QP 2010 Plus

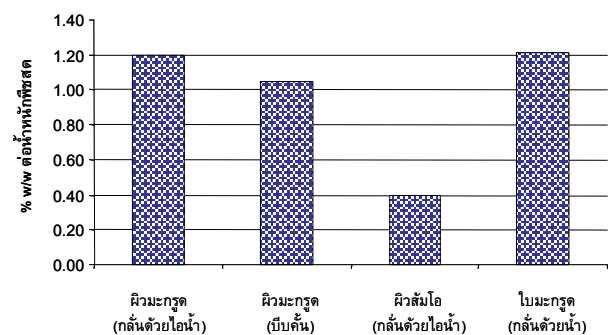
3. การตั้งตำรับน้ำมันนวดและการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้

นำน้ำมันหอมระเหยมาผสมกันในอัตราส่วนต่าง ๆ และคัดเลือกตำรับน้ำมันหอมระเหย 3 ตำรับที่มีกลิ่นดีที่สุด และเตรียมน้ำมันตัวพา โดยนำน้ำมันตัวพาผสมกันในอัตราส่วนต่าง ๆ และคัดเลือกตำรับน้ำมันตัวพาจำนวน 1 ตำรับที่ดีที่สุด จากนั้นเตรียมตำรับน้ำมันนวดเพื่อสุขภาพ โดยใช้ตำรับน้ำมันตัวพาและตำรับน้ำมันหอมระเหยผสมที่เลือกมาผสมกันในอัตราส่วนของน้ำมันตัวพาต่อน้ำมันหอมระเหยผสม (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เท่ากับ 95:5 และประเมินความคงตัวของกายภาพที่อุณหภูมิห้อง ที่ 45 °C และที่ 4 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัครโดยใช้แบบสอบถาม ในด้านสี กลิ่น ความหนืด และการซึมซาบเข้าสู่ผิวหนังของแต่ละตำรับน้ำมันนวด ในอาสาสมัครชาย 6 คน หญิง 13 คน เปรียบเทียบผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดที่ได้ทั้ง 3 ตำรับกับผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดที่มีขายในท้องตลาด 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมันกลิ่น Bergamot และ น้ำมันกลิ่น Orange

ผลการวิจัย

1. ปริมาณและลักษณะน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำและการบีบคั้นได้แสดงในรูปที่ 1 พบว่าปริมาณน้ำมันผิวมะกรูดที่สกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำมี %yield สูงกว่าวิธีการบีบคั้น อาจเนื่องจากการบีบคั้นมีขั้นตอนที่มากกว่า ซึ่งอาจสูญเสียน้ำมันได้ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของน้ำมันผิวมะกรูดที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำและการบีบคั้น พบว่าน้ำมันที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำจะใส ไม่มีสี และมีกลิ่นคล้ายมะกรูด แต่ น้ำมันที่ได้จากการบีบคั้นจะมีสีเขียวเข้ม ใส และมีกลิ่นหอมเหมือนมะกรูดมากกว่า ส่วนน้ำมันผิวส้มโอที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำและน้ำมันใบมะกรูดที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำมีลักษณะใส ไม่มีสี และมีกลิ่นเฉพาะตัว



รูปที่ 1 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้

2. คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้

ในการตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหยนั้น ค่าคงที่ทางกายภาพที่สำคัญ ได้แก่ ค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ ค่าการละลายในเอทานอล ค่าดัชนีหักเห และค่าการเบี่ยงเบนแสง (ตารางที่ 1) ซึ่งค่าคงที่ทางกายภาพ

เหล่านี้จะช่วยบ่งบอกชนิดและความบริสุทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยชนิดนั้น ๆ ได้ จากการวัดคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิด พบว่าค่าดังกล่าวที่ได้อยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกัน ยกเว้นค่า optical rotation ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหย

ชนิด	ความหนาแน่นสัมพัทธ์ที่ 30 °C	ความหนืดที่ 30 °C η (poise)	ค่าการละลายในเอทานอล	ค่าดัชนีหักเห	ค่า optical rotation
น้ำมันผิวมะกรูด (กลั่นด้วยไอน้ำ)	0.8593	0.0164	>2,000	1.4658	+15.65
น้ำมันผิวมะกรูด (บีบคั้น)	0.8990	0.0144	>2,000	1.4837	+60.00
น้ำมันผิวส้มโอ (กลั่นด้วยไอน้ำ)	0.8383	0.0097	>2,000	1.4698	+83.05
น้ำมันใบมะกรูด (กลั่นด้วยน้ำ)	0.8549	0.0138	>2,000	1.4476	-5.65

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

3.1 Thin layer chromatography

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ ผลดังตารางที่ 2 โดยน้ำมันผิวมะกรูดที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำจะพบ citronellol และ citronellal ที่ชัดเจน ส่วนน้ำมันผิวมะกรูดที่ได้จากการบีบคั้นจะพบ citronellol ที่ชัดเจน

ส่วนน้ำมันผิวส้มโอที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำจะพบ limonene ที่ชัดเจนกว่าสารชนิดอื่น และน้ำมันใบมะกรูดที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำจะพบ citronellal ที่ชัดเจน ซึ่งจะใช้เป็นตัวมาตรฐานในการตรวจสอบองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดได้

ตารางที่ 2 ค่า R_f ของการหาองค์ประกอบทางเคมีจากการวิเคราะห์โดยวิธี TLC

จุดที่	สีและ R _f		น้ำมันหอมระเหย				สารมาตรฐาน			
	สี	R _f	ผิวมะกรูด (กลั่นด้วยไอน้ำ)	ผิวมะกรูด (บีบคั้น)	ผิวส้มโอ (กลั่นด้วยไอน้ำ)	ใบมะกรูด (กลั่นด้วยน้ำ)	citronellol	citronellal	limonene	α-pinene
1	น้ำเงิน	0.05	-	-	+	-	-	-	-	-
2	น้ำตาล	0.09	+	-	-	+	-	-	-	-
3	น้ำตาล	0.11	+	-	-	-	-	-	-	-
4	ฟ้า	0.23	+	-	+	-	-	-	-	-
5	ฟ้า	0.26	-	-	+	-	-	-	-	-
6	น้ำตาล	0.32	+	+	-	+	+	-	-	-
7	ฟ้า	0.39	-	-	+	-	-	-	-	-
8	น้ำตาล	0.47	+	-	+	+	-	-	-	-
9	น้ำตาล	0.51	+	-	-	-	-	-	-	+
10	ฟ้า	0.54	-	-	+	-	-	-	-	-
11	ชมพู	0.66	+	-	-	+	-	-	-	-
12	ฟ้า	0.67	-	-	+	-	-	+	-	-
13	น้ำตาล	0.71	+	+	-	+	-	+	-	-
14	ชมพู	0.80	+	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: + หมายถึง ตรวจพบจุดสีบนโครมาโตแกรม, - หมายถึง ไม่พบจุดสีบนโครมาโตแกรม

3.2 IR spectroscopy

IR spectrum ของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด มีค่า wavenumbers (cm^{-1}) ดังนี้

A) น้ำมันผิวมะกรูดกลั่นด้วยไอน้ำ: 3406 (br, w), 3046 (w), 2959 (s), 2924 (s), 2870 (m), 1734 (m), 1641 (m), 1469 (m), 1359 (m) และ 883 (m) ดังรูป 2a

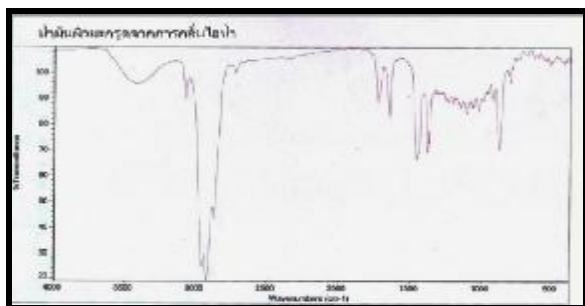
B) น้ำมันผิวมะกรูดกลั่นด้วยการบีบคั้น: 3046 (w), 2960 (s), 2924 (s), 2870 (m), 1750 (m), 1640 (m), 1455 (m), 1375 (m) และ 890 (m) ดังรูป 2b

C) น้ำมันผิวส้มโอกกลั่นด้วยไอน้ำ: 3330 (br, m), 3062 (w), 2965 (s), 2920 (s), 2857 (m), 1734 (m), 1644 (m), 1437 (s), 1375 (s), 1156 (m), 1034 (m) และ 888 (s) ดังรูป 2c

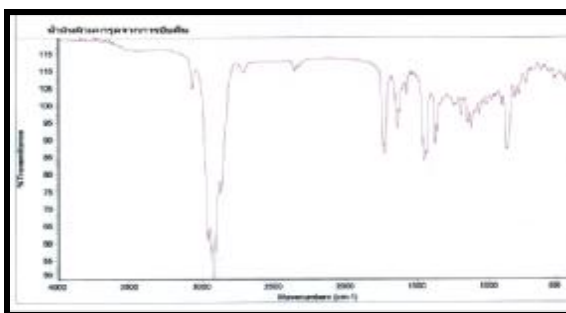
D) น้ำมันใบมะกรูดกลั่นด้วยน้ำ: 3437 (br, w), 2962 (s), 2925 (s), 2873 (m), 1726 (s), 1455 (m), 1378 (m), 1187 (w) และ 1093 (w) ดังรูป 2d

โดยคำย่อสำหรับลักษณะของ spectrum มีดังนี้ s = strong, m = medium, w = weak และ br = broad

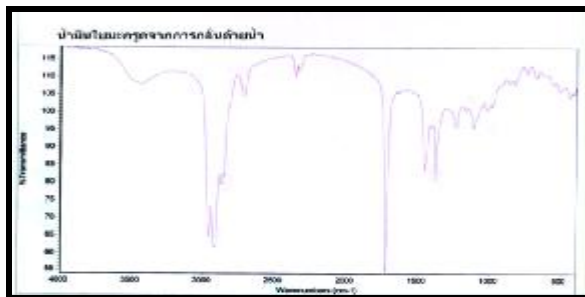
ซึ่งจากผลของ ที่ได้พบว่า IR Spectrum ของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมีลักษณะ IR Spectrum ที่มี pattern ที่คล้ายกัน เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันกลุ่มเดียวกัน แต่ น้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดก็มีลักษณะ IR Spectrum ที่เฉพาะตัว ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็น fingerprint ในการตรวจสอบและควบคุมคุณภาพน้ำมันหอมระเหยต่อไปได้



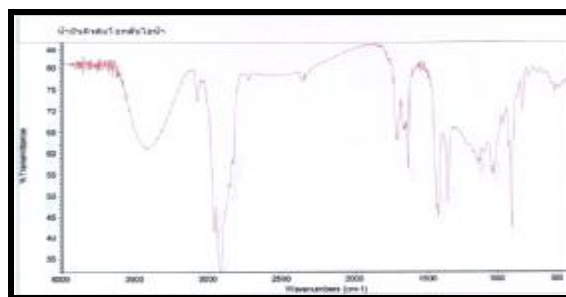
(2a) น้ำมันผิวมะกรูดกลั่นด้วยไอน้ำ



(2b) น้ำมันผิวมะกรูดกลั่นด้วยการบีบคั้น



(2c) น้ำมันผิวส้มโอกกลั่นด้วยไอน้ำ



(2d) น้ำมันใบมะกรูดกลั่นด้วยน้ำ

รูปที่ 2 IR spectrum ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้โดยวิธีต่าง ๆ

3.3 Gas Chromatography/Mass Spectrometry

ผลการศึกษาโดยใช้ GC/MS พบว่าองค์ประกอบหลักของ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากผิวมะกรูดทั้งจากการสกัดด้วยไอน้ำ และการบีบคั้นคือสาร limonene แต่องค์ประกอบหลักของ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากใบมะกรูดคือสาร citronellal และไม

พบสาร limonene ในขณะที่องค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากผิวส้มโอโดยการกลั่นด้วยไอน้ำคือ limonene เช่นเดียวกับผิวมะกรูด แต่มีปริมาณสูงมากโดยมี

องค์ประกอบเป็นร้อยละ 93.56 เมื่อเทียบกับองค์ประกอบทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากการวิเคราะห์โดยวิธี GC/MS

น้ำมันหอมระเหย	องค์ประกอบหลัก	ร้อยละ
น้ำมันผิวมะกรูด (กลั่นด้วยไอน้ำ)	limonene	19.72
	β -pinene	19.01
	citronellal	15.20
	sabinene	12.36
น้ำมันผิวมะกรูด (บีบคั้น)	limonene	27.70
	β -pinene	24.52
	sabinene	17.91
	citronellal	13.70
น้ำมันผิวส้มโอ (กลั่นด้วยไอน้ำ)	limonene	93.56
	β -myrcene	2.36
น้ำมันใบมะกรูด (กลั่นด้วยน้ำ)	citronellal	71.84
	citronellol	12.05
	linalool	5.25

4. ผลการเตรียมน้ำมันหอมระเหยผสม

จากการเตรียมน้ำมันหอมระเหยผสมทั้ง 20 ตำรับ (ตารางที่ 4) ได้ทำการคัดเลือกมา 3 ตำรับคือ ตำรับที่ 9, 16 และ 20 ไปตั้งตำรับน้ำมันนวดเพื่อสุขภาพต่อไป เนื่องจากมีน้ำมันผิวมะกรูด และน้ำมันผิวส้มโอเป็นองค์ประกอบหลัก โดยคาดว่าจะมีฤทธิ์ harmonization ที่ดี มีกลิ่นที่หอม สดชื่น และเหมาะสม นั่นคือ กลิ่นไม่ฉุนหรืออ่อนจนเกินไป

5. ผลการเตรียมน้ำมันตัวพาผสม

ในการเตรียมน้ำมันตัวพาได้ทำการเปลี่ยนอัตราส่วนของน้ำมันตัวพาแต่ละชนิดตามคุณสมบัติ ได้แก่ ความหนืด และการกระจายตัวบนผิวหนัง เพื่อให้ได้ตำรับน้ำมันตัวพาที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสม และจากผลการเตรียมน้ำมันตัวพา (ตารางที่ 5) ได้ทำการคัดเลือกมา 1 ตำรับ คือ ตำรับที่ 19 เพื่อนำไปตั้งตำรับสำหรับเป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันนวดเพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีความหนืดและความลื่นพอเหมาะ และการซึมเข้าสู่ผิวหนังไม่ช้าเกินไป มีกลิ่นหอมของน้ำมันมะพร้าวเล็กน้อย นอกจากนี้น้ำมันในกลุ่มนี้มีความคงตัวสูง (น้ำมันเมล็ดทานตะวันและน้ำมันถั่วเหลือง) ส่วนน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันงาทำให้มีกลิ่นหอม แต่ถ้าใส่มากเกินไปจะไม่เหมาะสม

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบและปริมาณของน้ำมันหอมระเหยในตำรับต่าง ๆ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ %w/w ในแต่ละตำรับ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
น้ำมันผิวมะกรูด (กลั่นด้วยไอน้ำ)	50	45	45	40	30	30	30	25	25	25
น้ำมันผิวมะกรูด (บีบคั้น)	-	-	5	10	20	20	10	25	15	10
น้ำมันผิวส้มโอ (กลั่นด้วยไอน้ำ)	50	50	50	50	45	50	60	50	60	55
น้ำมันใบมะกรูด (กลั่นด้วยน้ำ)	-	5	-	-	5	-	-	-	-	-
Bergamot Oil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Orange Oil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ส่วนประกอบ	ปริมาณ %w/w ในแต่ละตำรับ									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20*
น้ำมันผิวมะกรูด (กลั่นด้วยไอน้ำ)	40	40	40	40	40	30	30	30	20	20
น้ำมันผิวมะกรูด (บีบคั้น)	-	-	-	5	10	10	15	5	10	15
น้ำมันผิวส้มโอ (กลั่นด้วยไอน้ำ)	40	40	30	30	30	40	40	45	40	45
น้ำมันใบมะกรูด (กลั่นด้วยน้ำ)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bergamot Oil	-	20	20	20	-	15	5	10	10	20
Orange Oil	20	-	10	5	20	5	10	10	20	-

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบและปริมาณของน้ำมันตัวพาในตำรับน้ำมันตัวพาผสมต่าง ๆ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ %w/w ในแต่ละตำรับ										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
น้ำมันถั่วเหลือง	90	90	-	-	-	-	-	-	45	45	45
น้ำมันมะพร้าว	10	-	10	-	10	-	10	-	10	-	10
น้ำมันงา	-	10	-	10	-	10	-	10	-	10	-
น้ำมันเมล็ดทานตะวัน	-	-	90	90	-	-	-	-	45	45	-
น้ำมันมะกอก	-	-	-	-	90	90	-	-	-	-	45
น้ำมันรำข้าว	-	-	-	-	-	-	90	90	-	-	-

ส่วนประกอบ	ปริมาณ %w/w ในแต่ละตำรับ										
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
น้ำมันถั่วเหลือง	45	45	45	-	-	-	-	45	40	35	30
น้ำมันมะพร้าว	-	10	-	10	-	10	-	5	10	20	30
น้ำมันงา	10	-	10	-	10	-	10	5	5	10	10
น้ำมันเมล็ดทานตะวัน	-	-	-	45	45	45	45	45	45	35	30
น้ำมันมะกอก	45	-	-	45	45	-	-	-	-	-	-
น้ำมันรำข้าว	-	45	45	-	-	45	45	-	-	-	-

6. การเตรียมตำรับน้ำมันหนวดเพื่อสุขภาพ

จากตำรับน้ำมันตัวพาผสมตำรับที่ 19 ที่ได้เลือกมา นำมาผสมกับน้ำมันหอมระเหยผสมตำรับที่ 9, 16 และ 20 ในอัตราส่วน % w/w ที่เท่ากันในทุกตำรับ คือ 95 ต่อ 5 ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบของน้ำมันตัวพาผสมและน้ำมันหอมระเหยผสมในสูตรตำรับน้ำมันหนวดเพื่อสุขภาพ

ตำรับที่	ตำรับน้ำมันตัวพาและตำรับน้ำมันหอมระเหยผสม	%w/w
1	น้ำมันตัวพาตำรับที่ 19	95
	น้ำมันหอมระเหยผสมตำรับที่ 9	5
2	น้ำมันตัวพาตำรับที่ 19	95
	น้ำมันหอมระเหยผสมตำรับที่ 16	5
3	น้ำมันตัวพาตำรับที่ 19	95
	น้ำมันหอมระเหยผสมตำรับที่ 20	5

7. การประเมินตำรับน้ำมันหนวดเพื่อสุขภาพ

ในการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับน้ำมันหนวดเพื่อสุขภาพหลังการทดสอบความคงสภาพที่สภาวะต่าง ๆ

เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า ตำรับน้ำมันหนวดทั้ง 3 ตำรับยังมีสีกลิ่น และความหนืดคงเดิมไม่เปลี่ยนแปลง

ผลการประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัครในด้านกลิ่น สี ความหนืด และการซึมซาบเข้าสู่ผิวหนัง และความพึงพอใจโดยรวมต่อตำรับน้ำมันหนวด เมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์น้ำมันหนวดที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าอาสาสมัครพึงพอใจเรียงลำดับดังนี้ ตำรับน้ำมันหนวดกลิ่น Bergamot ที่จำหน่ายในท้องตลาด (37%), ตำรับที่ 1 (32%), ตำรับน้ำมันหนวดกลิ่น Orange ที่จำหน่ายในท้องตลาด (26%), ตำรับที่ 3 (5%) และตำรับที่ 2 (0%)

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการวิจัยพบว่า ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้คิดเป็นร้อยละปริมาตรต่อน้ำหนักพืชสด มีดังนี้ น้ำมันใบมะกรูดที่ได้จากการกลั่นด้วยน้ำ 1.21% น้ำมันผิวมะกรูดที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ 1.20% น้ำมันผิวมะกรูดที่ได้จากการบีบคั้น 1.05% และน้ำมันผิวส้มโอที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ 0.40% น้ำมันแต่ละชนิดมีค่าคงที่ทางกายภาพที่จำเพาะตัว และมี IR spectrum ที่แสดงลักษณะเฉพาะ สามารถบ่งบอกชนิดได้ การตรวจสอบลักษณะทางโครมาโตแกรมชนิดผิวบางที่ฉาบด้วยซิลิกาเจล จีเอฟ 254 เทียบกับสารมาตรฐานพบว่า

น้ำมันใบมะกรูด น้ำมันผิวมะกรูดทั้งชนิดบีบคั้นและกลั่นด้วยไอน้ำ พบ citronellal และ citronellol ส่วนน้ำมันผิวส้มโอพบว่ามี limonene เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งมีผลสอดคล้องกับ GC/MS โดยผลที่ได้จากการทำ TLC และ IR จะสามารถนำไปใช้เป็นตัวเทียบในน้ำมันหอมระเหยที่จะใช้เป็นวัตถุดิบก่อนนำมาผสมได้ ในการเตรียมตำรับน้ำมันนวด อัตราส่วนของน้ำมันตัวพาต่อน้ำมันหอมระเหยผสม เท่ากับ 95:5 โดยน้ำมันตัวพาที่ใช้ประกอบด้วย น้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 45 น้ำมันเมล็ดทานตะวันร้อยละ 45 น้ำมันมะพร้าวร้อยละ 5 และน้ำมันงาร้อยละ 5 โดยน้ำมันหอมระเหยผสมที่คัดเลือกเตรียมได้น้ำมันนวด 3 ตำรับ จากการประเมินความคงตัวของกายภาพที่อุณหภูมิห้อง ที่ 45 °C และที่ 4 °C เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าตำรับน้ำมันนวดทั้ง 3 ตำรับมีความคงตัวดี และผลการประเมินความพึงพอใจพบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจต่อตำรับน้ำมันนวด โดยตำรับที่ได้รับความพึงพอใจสูงสุด คือ ตำรับที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดที่กลั่นด้วยไอน้ำ:น้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มโอที่กลั่นด้วยไอน้ำ:น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดจากการบีบคั้น ในอัตราส่วน 25:60:15 โดยมีความพึงพอใจร้อยละ 32 ซึ่งตำรับนี้มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นน้ำมันนวดต่อไป และควรทดสอบการระคายเคือง ตลอดจนการประเมินความคุ้มค่าหรือคุ้มค่าใช้จ่ายการผลิต

เอกสารอ้างอิง

1. Keville K, Green M. Aromatherapy: a complete guide to the healing art. CA, USA. The Crossing Press Freedom, 1995.
2. Lawless J. The encyclopedia of essential oils: the complete guide to the use of aromatics in aromatherapy, herbalism, health and well-being. Dorset, UK. Shaftesbury, 1996.
3. Marcel FL. Aromatherapy workbook. 1st ed., Vermont, USA. Healing Arts Press, 1990.
4. Price S. The aromatherapy workbook: understanding essential oils from plant to user. Berwick upon Tweed, Great Britain. Martins the Printers Limited, 1992.
5. Price S. Aromatherapy for health Professionals. NY, USA. Churchill Livingstone, 1996.
6. พิมพ์ร ลีลาพรพิสิฐ. สุคนธ์บำบัด. พิมพ์ครั้งที่ 1. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2545.
7. วณิดา จิตต์หมั่น, ทวีศักดิ์ สุวคนธ์. สุวคนธ์บำบัด. อนุสรณ์ศาสตราจารย์ จำลอง สุวคนธ์. 2540.
8. ฐานีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ, 2548.
9. วันวิสาข์ ศรีนวลไชย. คุณภาพและผลต่อระบบประสาทส่วนกลางของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสกุลส้มในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2549.
10. Her Majesty's Stationery Office. British Pharmacopoeia 2004 Vol. II. London. 2004.

Chemical Constituent of the Hexane Extract from Leaves of *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.

Khesorn Nanthachit^{1*} and Patoomratana Tuchinda²

¹ Department of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University Bangkok 10400, Thailand

* Corresponding author: khesornn@pharmacy.cmu.ac.th

ABSTRACT

Objective: To elucidate structure of one new momordica triterpenoid ester from hexane extract of *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.

Method: Hexane extract from *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. leaves was purified by column chromatography and crystallization, affording one new compound. Its structure was elucidated by spectroscopic data including UV, IR, ¹HNMR, ¹³CNMR, COSY, HMBC and mass spectrometry. This new compound was momordica triterpenoid ester.

Result: A structure of momordica triterpenoid ester from *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. was clearly identified.

Key words: *Momordica cochinchinensis*, momordica triterpenoid ester

Thai Pharm Health Sci J 2008;3(2):210-213[§]

Introduction

Momordica cochinchinensis (Lour.) Spreng. is a member of the Cucurbitaceae family. It is grown in Thailand, Laos, Cambodia, Burma and in tropical areas. In traditional uses, its roots were used for hair falling, contraceptives, insect bite, anti-cough, hemorrhoid and to eliminate poisonous substances. Its chemical constituents are sterol, chondrillasterol, cochinchinin, columbin, gypsogenin glycoside, hemsloside, momorcochin, momordic acid, momordica saponin I, momordica saponin II, momordin I, momordin I-A, momordin I-B, momordin I-C, momordin I-D, momordin II, momordin IIA, momordin II-B, momordin II-C, momordin II-D, momordin IIE, momordin III, nardol, oleandic acid glycoside MG-1, oleandic acid glycoside MG-2. Its pharmacological activities are anticancer, antiviral, blood

sugar lowering and oxytoxic. Some of these active constituents were reported to enhance alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase activities. The growth of HIV-1 can be inhibited by protein from this plant and there was no toxicity to the mice when 50% ethanolic leaves extract was administered orally or injected subcutaneously.¹

Disayabudtra² had found that ether extract from the leaf showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*.

In the course of chemical investigation on *Momordica cochinchinensis* leaves, we here report the isolation and structure elucidation of one new momordica triterpenoid ester from hexane extract.

[§] 13th year of Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science

Materials and Methods

Experimental Procedures

UV spectrum was recorded on Spekol 1200, Analytik Jena AG. IR spectrum was measured with Nicolet Nexus 470FT-IR in KBr disc. NMR spectra were taken on Bruker-500 MHz spectrometer. Mass spectra were recorded on micrOTOF.

Plant Materials

Leaves of *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. were collected from Amphur Sun Khum Pang, Chiang Mai, Thailand, in 2006. A voucher sample (No.009720) is preserved in Chiang Mai University's Herbarium.

Extraction and Isolation

Momordica cochinchinensis dried leaves (2 kg) were macerated with 5 litres of hexane. Each replicate was macerated for 1 day, and filtered 2 times. The filtrate was evaporated in a vacuum. The crude hexane extract was dark green and the percent yield was 2.0.

Five grams of crude hexane extract were further purified by column chromatography. Silica gel 60 (35 - 70 mesh) was used as the adsorbent and the column was eluted with 1% dichloromethane in hexane. With a total of 70 fractions, 20 mL each were collected. Fifteenth to seventieth fractions were combined and dried under vacuum. The dried residue was dissolved in 1% dichloromethane in hexane and was crystallized with methanol. Pale yellow amorphous solid was obtained.

Results and Discussion³⁻⁵

One chemical constituent of hexane extract from *Momordica cochinchinensis* leaves was momordica triterpenoid ester (**1**). It was obtained as a pale yellow amorphous solid. UV spectrum of (**1**) consisted of three sharp peaks at 231.62, 287.79 and 347.22 nm, and one broad peak at 438.28 - 466.09 nm. Absorption bands at

2400, 1700 and 1400 cm^{-1} in the IR spectrum of (**1**) indicated the presence of acetylenic group, vinyl ester and trisubstituted double bond, respectively.

¹HNMR

The first part of triterpenoid ester is showed in Figure 1. The structure of this triterpenoid ester based on ¹HNMR is detailed as follows. 14H parts coupled with 6H (position 15,16,17,18) ($\delta = 0.875$ ppm, m, $J = 1.75$ Hz; $\delta = 0.975$ ppm, m, $J = 1.89$ Hz); 3H (position 19,23) coupled with 4H (position 21,22) ($\delta = 1.5$ ppm, m, $J = 2.45$ Hz; $\delta = 0.825$ ppm, br s, $J = 2.67$ Hz); 13H ($\delta = 1.6$ ppm, m, $J = 9.44$ and 9.78 Hz) 2H (position 6,7) coupled with 1H (position 4, $\delta = 2.3$ ppm, t, $J = 7.09$ Hz; $\delta = 4.5$ ppm, m, $J = 7.55$ Hz).

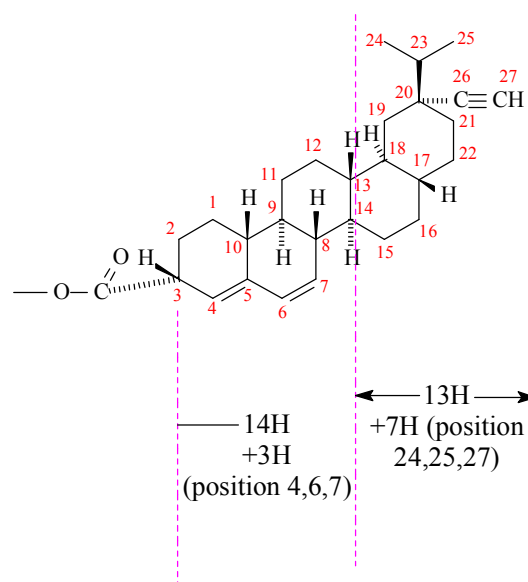


Figure 1: First part of triterpenoid ester

The second part of triterpenoid ester is showed in Figure 2 with the following detail. 32H ($\delta = 1.275$ ppm, m), 2H (Olefinic proton position 4',6'; $\delta = 1.425$ ppm, m, $J = 2.89, 2.94$ Hz); 3H (position 24, $\delta = 1.15$ ppm, s).

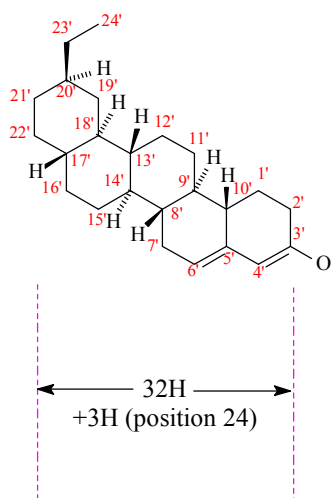


Figure 2: Second part of triterpenoid ester

¹³C NMR

With $\delta = 80$ ppm in the ¹³C NMR spectrum, it indicated the presence of quaternary carbon of acetylenic group. ¹³C spectrum of two groups of olefinic carbon were shown at $\delta = 120$ and 145 ppm. Carbonyl ester group was indicated at $\delta = 175$ ppm and the carbon of alkyl groups were shown at $\delta = 15-75$ ppm.

Coupling atoms were also confirmed with ¹H-¹H COSY spectra and 1H-¹³C HMBC spectra.

Mass spectrum

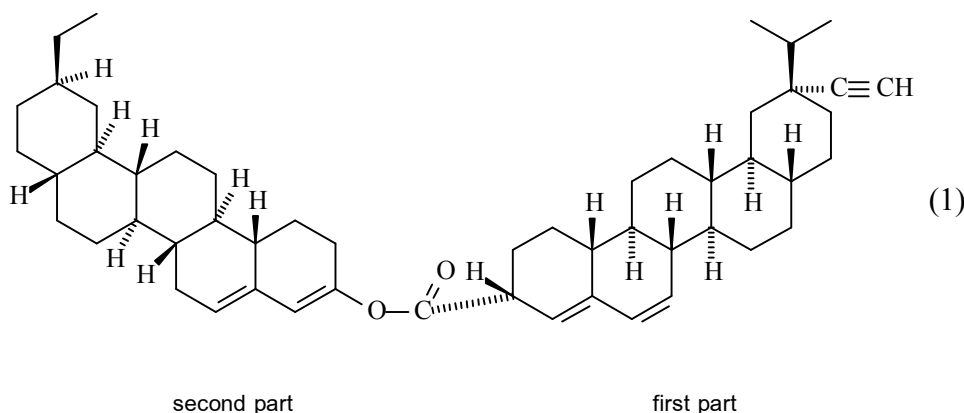


Figure 3 Triterpenoid ester (first and second parts)

In Figure 3, momordica triterpenoid ester (1) showed molecular ion $m/z = 715.6640$ in micrOTOF corresponding to the molecular formula $C_{51}H_{71}O_2$. Molecular ion abstracted ethyl group, $m/z = 687.6309$. triterpenoid ester, first part, corresponding to the molecular formula of $C_{27}H_{36}O_2$, $m/z = 392.0133$.

Conclusion

This paper reports the structure elucidation of one new momordica triterpenoid ester on the basis of spectroscopic analysis. Further studies are required to

test anticancer and antifungal activities of this compound because many triterpenoid showed anticancer activity.⁶ The structure of isolated triterpenoid ester is similar to ergosterol which is the compound in the biosynthetic pathway of fungi so the isolated compound may show the antifungal activity by competing the action of ergosterol.

References

1. Bunyapraputsan N, Choakchaichalerporn A. Traditional herbs. Bangkok. Prachachon Co. Limited, 1999: p.396-398.
2. Disayabudtra P. Study of antimicrobial activity of some Thai herbs. M.S. Thesis. Bangkok. Chulalongkorn University, Thailand. 1975.
3. Ishida BK, Turner C, Chapman MH, McKeon TA. Fatty acid and carotenoid composition of gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) fruit. *J Agric Food Chem* 2004;52(2):274-279.
4. Aoki H, Kieu NT, Kuze N, Tomisaka K, Van Chuyen N. Carotenoid pigments in GAC fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Biosci Biotechnol Biochem* 2002;66(11):2479-2482.
5. De Shan M, Hu LH, Chen ZL. A new multiflorane triterpenoid ester from *Momordica cochinchinensis* Spreng. *Nat Prod Lett* 2001:139-145.
6. Tien PG, Kayama F, Konichi F, et al. Inhibition of tumor growth and angiogenesis by water extract of Gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Int J Oncol* 2005;26(4):881-889.