บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การกลั่นสมุนไพรด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

ทำการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากพืช คือ กระวาน กะเพรา กานพลู คื่นฉ่าย จันทน์เทศ ชะพลู เทียนข้าวเปลือก เทียนตาตั๊กแตน ผกากรอง ผักคราดหัวแหวน ผักชี พริกไทย พลู มะกรูด มะนาว มะนาวเทศ สะระแหน่ โหระพา แห้วหมู อบเชยญวน อบเชยเทศ ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้จากพืชต่างๆ

พืช	ส่วนของพืช	ปริมาณ (กรัม)	ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันหอมระเหย (%)
กระวาน	ผลแห้ง	290	1,000	9.45	3.26
กะเพรา	ใบสด	1,680	4,000	0.51	0.03
กานพลู	ผลแห้ง	288	1,000	11.84	4.10
คื่นฉ่าย	ใบสด	2,124	4,000	0.49	0.023
จันทน์เทศ	ใบสด	550	1,000	2.64	0.48
ชะพลู	ใบสด	1,406	5,000	0.54	0.038
เทียนข้าว-เปลือก	ใบสด	2,330	4,000	0.15	0.0064
เทียนตา-ตั๊กแตน	ใบสด	1,977	4,000	0.23	0.062

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้จากพืชต่างๆ (ต่อ)

พืช	ส่วนของพืช	ปริมาณ (กรัม)	ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันหอมระเหย (%)
ผกากรอง	ใบสด	2,026	8,000	0.53	0.026
ผักคราดหัวแหวน	ใบสด	2,136	5,000	0.32	0.0149
ผักชี	ใบสด	3,695	7,000	0.61	0.016
พริกไทย	เมล็ดสด	990	2,000	2.53	0.26
พลู	ใบสด	417	1,000	0.78	0.186
มะกรูด	ใบสด	350	1,000	3.10	0.886
มะนาว	ใบสด	550	1,000	2.86	0.32
มะนาวเทศ	ใบสด	1,230	3,000	0.50	0.04
สะระแหน่	ใบสด	3,541	8,000	0.22	0.0062
โหระพา	ใบสด	2,155	4,000	6.33	0.29
แห้วหมู	เหง้าแห้ง	406	2,500	0.32	0.079
อบเชยญวน	ใบสด	62	1,000	0.40	0.64
อบเชยเทศ	ใบสด	61	1,000	0.56	0.91

3.2 นำน้ำมันหอมระเหยไปทดสอบกับเชื้อกลาก

เมื่อได้น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นมาจากพืชแล้ว นำน้ำมันหอมระเหยมาทำการเจือจาง โดยเจือจางลดลงทีละสองเท่า (2 - fold dilution) ทำการชั่งน้ำหนักของน้ำมันหอมระเหย แล้วหาความเข้มข้นเริ่มต้น (ตารางที่ 3) ทำการเจือจางด้วยเมธานอล (100% ปริมาตร/ปริมาตร) โดยเริ่มเจือจางที่ 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128,... หยดลงแผ่น disk ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ข้ามคืน นำไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อกลาก 3 สายพันธุ์ คือ *Trichophyton mentagrophytes, T. rubrum* และ *Epidermophyton floccosum* ได้ผลดังตารางที่ 4,5 และ 6 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันหอมระเหยหลังทำการกลั่นด้วยน้ำ

น้ำมันหอมระเหยจากพืช	ความเข้มข้นเริ่มต้น (มก/ล)
กระวาน (*Amomum krervanh*)	0.586
กะเพรา (*Ocimun sanctum*)	0.497
กานพลู (*Eugenia caryophyllus*)	0.571
คื่นฉ่าย (*Apium graviolens*)	0.567
จันทน์เทศ (*Myristica fragrans*)	0.452
ผกากรอง (*Lantana camara*)	0.507
ผักชี (*Coriandrum sativum*)	0.375
พริกไทย (*Piper nigrum*)	0.349
พลู (*P. beter*)	0.400
มะกรูด (*Citrus hystrix*)	0.447
มะนาว (*C. aurantifolia*)	0.499
มะนาวเทศ (*C. limonum*)	0.532
เทียนข้าวเปลือก (*Foeniculum rulgare*)	0.420
เทียนตาตั๊กแตน (*Anethum graveolens*)	0.489
สะระแหน่ (*Mentha arvensis*)	0.048
โหระพา (*Ocimum basilicum*)	0.442
แห้วหมู (*Cyperus votundus*)	0.280
อบเชยญวน (*Cinnamomum burmanii*)	0.474
อบเชยเทศ (*C. verum*)	0.513
ชะพลู (*P. samentosum*)	0.389
เปล้าใหญ่ (*Croton oblongifolius*)	0.356
ผักคราดหัวแหวน (*Spilanthes acmella*)	0.451

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อ *Trichophyton mentagrophytes* ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างๆ

น้ำมันหอมระเหยจากพืช	ความเข้มข้นเริ่มต้น(µg/ml)	ค่าเฉลี่ยขอบเขตยับยั้ง (มม)			
		1	2	3	4
กระวาน (*A. krervanh*)	29.3	-	-	-	-
กะเพรา (*O. sanctum*)	24.9	NG	11.6±1.0	-	-
กานพลู (*E. caryophyllus*)	28.5	-	-	-	-
คื่นฉ่าย (*A. graviolens*)	28.3	20.5±4.4	10.3±0.7	7.2±0.3	-
จันทน์เทศ (*M. fragrans*)	22.6	-	-	-	-
ผกากรอง (*L. camara*)	25.4	-	-	-	-
ผักชี (*C. sativum*)	28.7	NG	NG	8.2±0.7	-
พริกไทย (*P. nigrum*)	34.9	15.2±3.6	7.7±1.2	-	-
พลู (*P. beter*)	20.8	7.4±0.5	-	-	-
มะกรูด (*C. hystrix*)	22.4	-	-	-	-
มะนาว (*C. aurantifolia*)	24.9	10.3±1.0	-	-	-
มะนาวเทศ (*C. limonum*)	26.6	8.5±1.0	-	-	-
เทียนข้าวเปลือก (*F. rulgare*)	23.5	NG	NG	13.7±1.9	10.2±1.9
เทียนตาตั๊กแตน(*A. graveolens*)	24.5	NG	NG	21.8±9.5	9.3±1.2
สะระแหน่ (*M. arvensis*)	24.0	-	-	-	-
โหระพา (*O. basilicum*)	22.8	44.6±4.6	12.0±0.6	7.5±0.8	-
แห้วหมู (*C. votundus*)	28.5	-	-	-	-
อบเชยญวน (*C. burmanii*)	23.7	-	-	-	-
อบเชยเทศ (*C. verum*)	25.6	NG	NG	15.8±2.5	7.2±0.4

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อ *Trichophyton mentagrophytes* ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างๆ (ต่อ)

น้ำมันหอมระเหยจากพืช	**ความเข้มข้นเริ่มต้น(μg/ml)**	**ค่าเฉลี่ยขอบเขตยับยั้ง (มม)**			
		1	2	3	4
ชะพลู (*P. samentosum*)	32.1	9.5±1.5	-	-	-
เปล้าใหญ่ (*C. oblongifolius*)	35.6	-	-	-	-
ผักคราดหัวแหวน (*S. acmella*)	22.6	-	-	-	-
Control					
Negative control					
Methanol (100 % ปริมาตร/ปริมาตร)		-			
Positive control					
Whitfield® (30 μ g/ml)		20.2±2.8			
Nizoral® (30 μ g/ml)		22.2±1.5			

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อกลากมีการเจริญ

NG " เชื้อกลากไม่มีการเจริญ

1,2,3,4,5 " แต่ละ dilution ของน้ำมันหอมระเหย (two -fold dilution) โดยเริ่มทำการเจือจางน้ำมันหอมระเหยที่ 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64,...

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อ *Trichophyton rubrum* ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างๆ

น้ำมันหอมระเหยจากพืช	ความเข้มข้นเริ่มต้น(µg/ml)	ค่าเฉลี่ยขอบเขตยับยั้ง (มม)			
		1	2	3	4
กะเพรา (*O. sanctum*)	24.9	11.5±1.6	7.3±0.5	-	-
กานพลู (*E. caryophyllus*)	28.5	-	-	-	-
คื่นฉ่าย (*A. graviolens*)	28.3	17.2±1.3	11.5±1.1	8.2±1.2	-
จันทน์เทศ (*M. fragrans*)	22.6	-	-	-	-
ผกากรอง (*L. camara*)	25.4	-	-	-	-
ผักชี (*C. sativum*)	28.7	NG	NG	8.3±1.5	-
พริกไทย (*P. nigrum*)	34.9	39.2±6.3	18.5±5.9	9.5±1.9	-
พลู (*P. beter*)	20.8	-	-	-	-
มะกรูด (*C. hystrix*)	22.4	-	-	-	-
มะนาว (*C. aurantifolia*)	24.9	8.3±1.2	-	-	-
มะนาวเทศ (*C. limonum*)	26.6	7.2±0.4	-	-	-
เทียนข้าวเปลือก (*F. rulgare*)	23.5	NG	NG	13.3±1.9	9.3±1.0
เทียนตาตั๊กแตน(*A. graveolens*)	24.5	NG	NG	11.5±1.8	8.3±1.0
สะระแหน่ (*M. arvensis*)	24.0	-	-	-	-
โหระพา (*O. basilicum*)	22.8	43.3±4.8	23.5±5.9	12.5±2.8	-
แห้วหมู (*C. votundus*)	28.5	-	-	-	-
อบเชยญวน (*C. burmanii*)	23.7	-	-	-	-
อบเชยเทศ (*C. verum*)	25.6	NG	NG	9.8±1.2	-

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อ *Trichophyton rubrum* ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างๆ (ต่อ)

น้ำมันหอมระเหยจากพืช	ความเข้มข้นเริ่มต้น(μg/ml)	ค่าเฉลี่ยขอบเขตยับยั้ง (มม)			
		1	2	3	4
ชะพลู (*P. samentosum*)	32.1	7.8±1.2	-	-	-
เปล้าใหญ่ (*C. oblongifolius*)	35.6	-	-	-	-
ผักคราดหัวแหวน (*S. acmella*)	22.6	-	-	-	-
Control					
Negative control					
Methanol (100 % ปริมาตร/ปริมาตร)		-			
Positive control					
Whitfield ® (30 μg/ml)		7.8±0.8			
Nizoral ® (30 μg/ml)		25.5±3.1			

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อกลากมีการเจริญ

NG " เชื้อกลากไม่มีการเจริญ

1,2,3,4,5 " แต่ละ dilution ของน้ำมันหอมระเหย (two -fold dilution) โดยเริ่มทำการเจือจางน้ำมันหอมระเหยที่ 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64,...

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อ *Epidermophyton floccosum* ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างๆ

น้ำมันหอมระเหยจากพืช	ความเข้มข้นเริ่มต้น(µg/ml)	ค่าเฉลี่ยขอบเขตยับยั้ง (มม)			
		1	2	3	4
กะเพรา (*O. sanctum*)	24.9	11.2±2.1	8.0±1.3	-	-
กานพลู (*E. caryophyllus*)	28.5	12.3±1.0	9.5±1.1	-	-
คื่นฉ่าย (*A. graviolens*)	28.3	21.7±2.8	11.3±1.5	7.5±0.5	-
จันทน์เทศ (*M. fragrans*)	22.6	-	-	-	-
ผกากรอง (*L. camara*)	25.4	-	-	-	-
ผักชี (*C. sativum*)	28.7	NG	NG	10.5±1.8	7.5±0.6
พริกไทย (*P. nigrum*)	34.9	13.7±1.4	10.5±1.8	7.5±0.6	-
พลู (*P. beter*)	20.8	-	-	-	-
มะกรูด (*C. hystrix*)	22.4	-	-	-	-
มะนาว (*C. aurantifolia*)	24.9	9.8±2.1	-	-	-
มะนาวเทศ (*C. limonum*)	26.6	7.5±0.6	-	-	-
เทียนข้าวเปลือก (*F. rulgare*)	23.5	NG	NG	13.5±2.7	7.5±0.6
เทียนตาตั๊กแตน(*A. graveolens*)	24.5	NG	NG	20.3±1.0	11.0±1.6
สะระแหน่ (*M. arvensis*)	24.0	9.5±0.8	7.7±0.8	-	-
โหระพา (*O. basilicum*)	22.8	47.3±1.9	24.0±3.4	12.2±1.7	-
แห้วหมู (*C. votundus*)	28.5	-	-	-	-
อบเชยญวน (*C. burmanii*)	23.7	-	-	-	-
อบเชยเทศ (*C. verum*)	25.6	NG	NG	8.3±1.0	-

ตารางที่ 6 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อ *Epidermophyton floccosum* ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างๆ (ต่อ)

น้ำมันหอมระเหยจากพืช	ความเข้มข้นเริ่มต้น(µg/ml)	ค่าเฉลี่ยขอบเขตยับยั้ง (มม)			
		1	2	3	4
ชะพลู (*P. samentosum*)	32.1	23.5±1.6	8.2±1.2	-	-
เปล้าใหญ่ (*C. oblongifolius*)	35.6	-	-	-	-
ผักคราดหัวแหวน (*S. acmella*)	22.6	-	-	-	-
Control					
Negative control					
Methanol (100 % ปริมาตร/ปริมาตร)		-			
Positive control					
Whitfield® (30 µ g/ml)		12.8±2.9			
Nizoral ® (30 µ g/ml)		23.6±2.1			

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อกลากมีการเจริญ

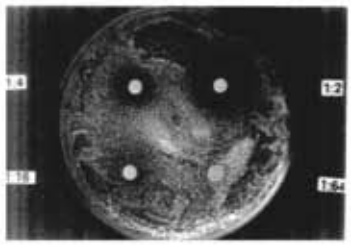
NG " เชื้อกลากไม่มีการเจริญ

1,2,3,4,5 " แต่ละ dilution ของน้ำมันหอมระเหย (two -fold dilution) โดยเริ่มทำการเจือจางน้ำมันหอมระเหยที่ 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64,...

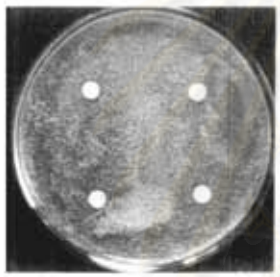
ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อกลาก ของน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้จากพืชต่างๆ พบว่ามีน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อกลากทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่วัดขอบเขตการต้านการเจริญโดยเฉลี่ยได้กว้าง คือ น้ำมันหอมระเหยที่กลั่นจาก คื่นฉ่าย เทียนข้าวเปลือก เทียนตาตั๊กแตน พริกไทย ผักชี และ โหระพา ดังรูปที่ 1 - 18

(ก)



(ค)

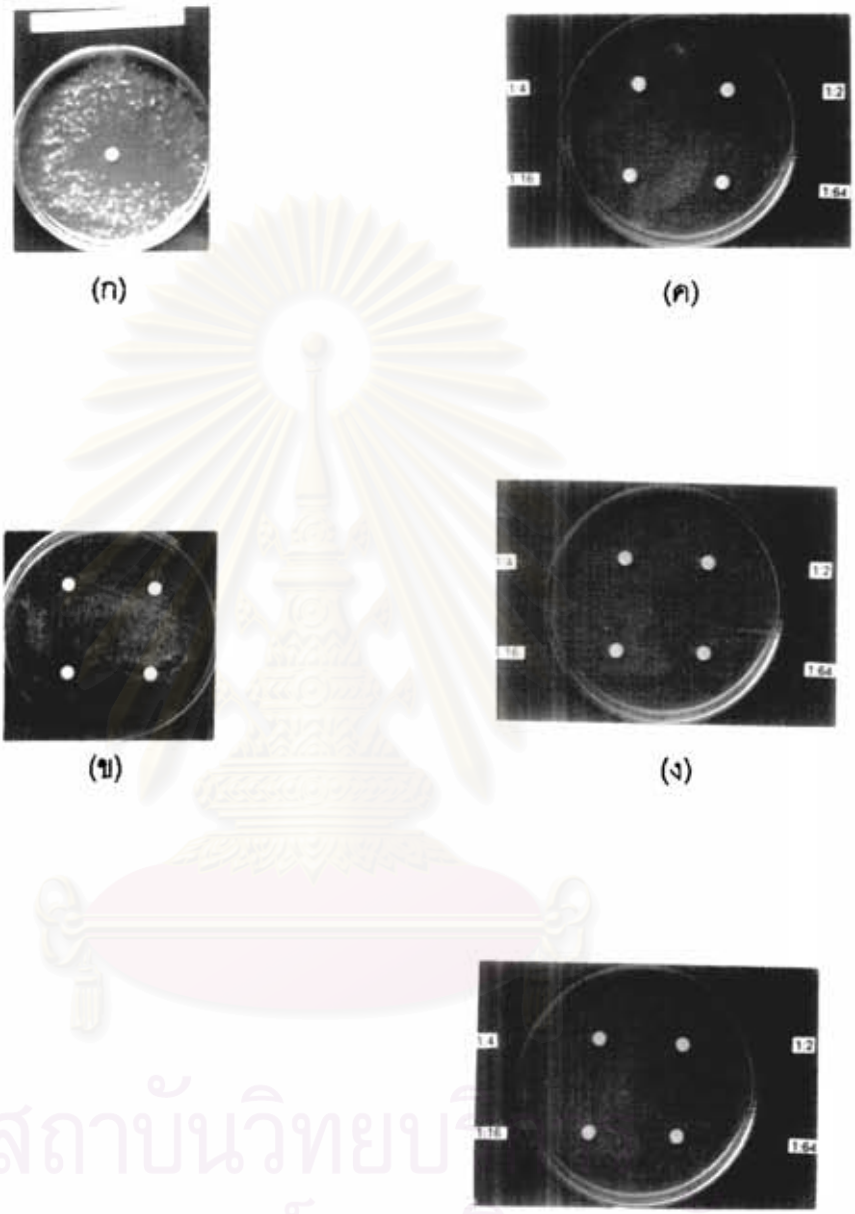


(ข)

(ง)

(จ)

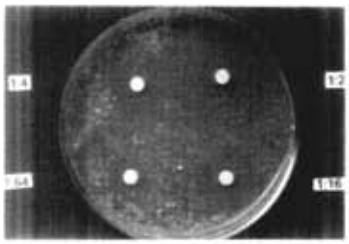
รูปที่ 1 Clear zone ของน้ำมันตื่นฉ่าย ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. mentagrophytes* (ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3



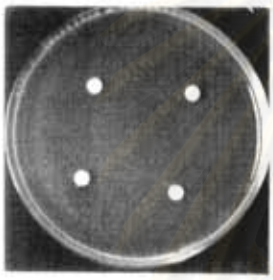
รูปที่ 2 Clear zone ของน้ำมันคื่นฉ่าย ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. rubrum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

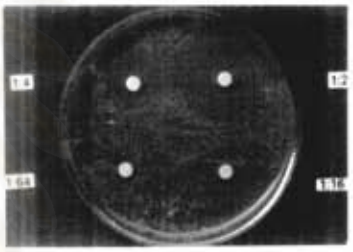
(ก)



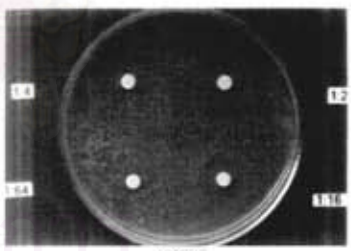
(ค)



(ข)



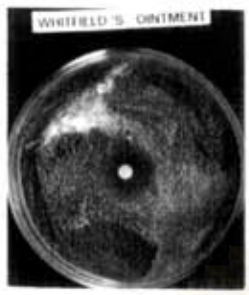
(ง)



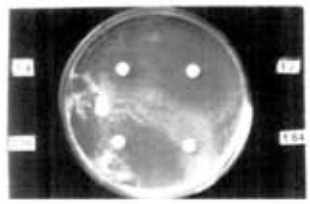
(จ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

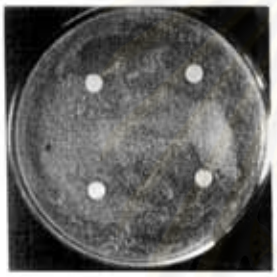
รูปที่ 3 Clear zone ของน้ำมันคื่นฉ่าย ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. floccosum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3



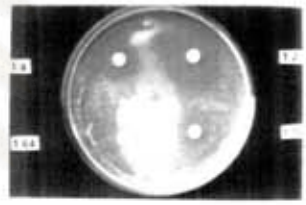
(ก)



(ค)



(ข)



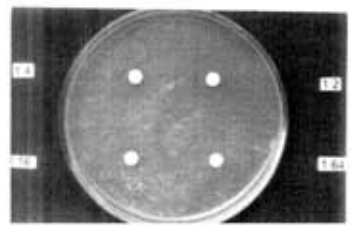
(ง)

(จ)

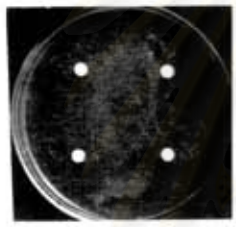
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4 Clear zone ของน้ำมันพริกไทย ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. mentagrophytes*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

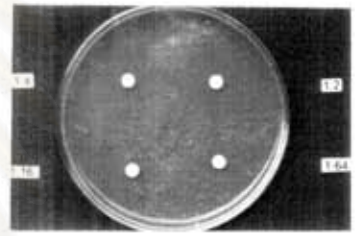
(ก)



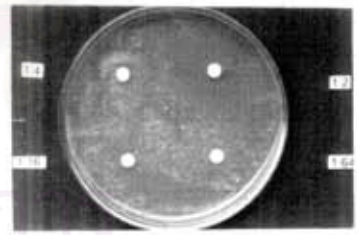
(ค)



(ข)



(ง)

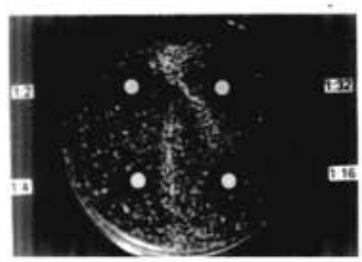


(จ)

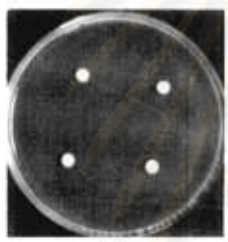
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 5 Clear zone ของน้ำมันพริกไทย ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. rubrum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

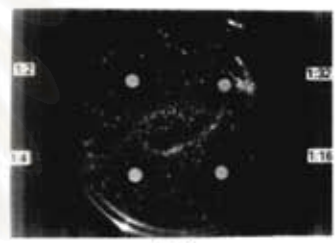
(ก)



(ค)



(ข)

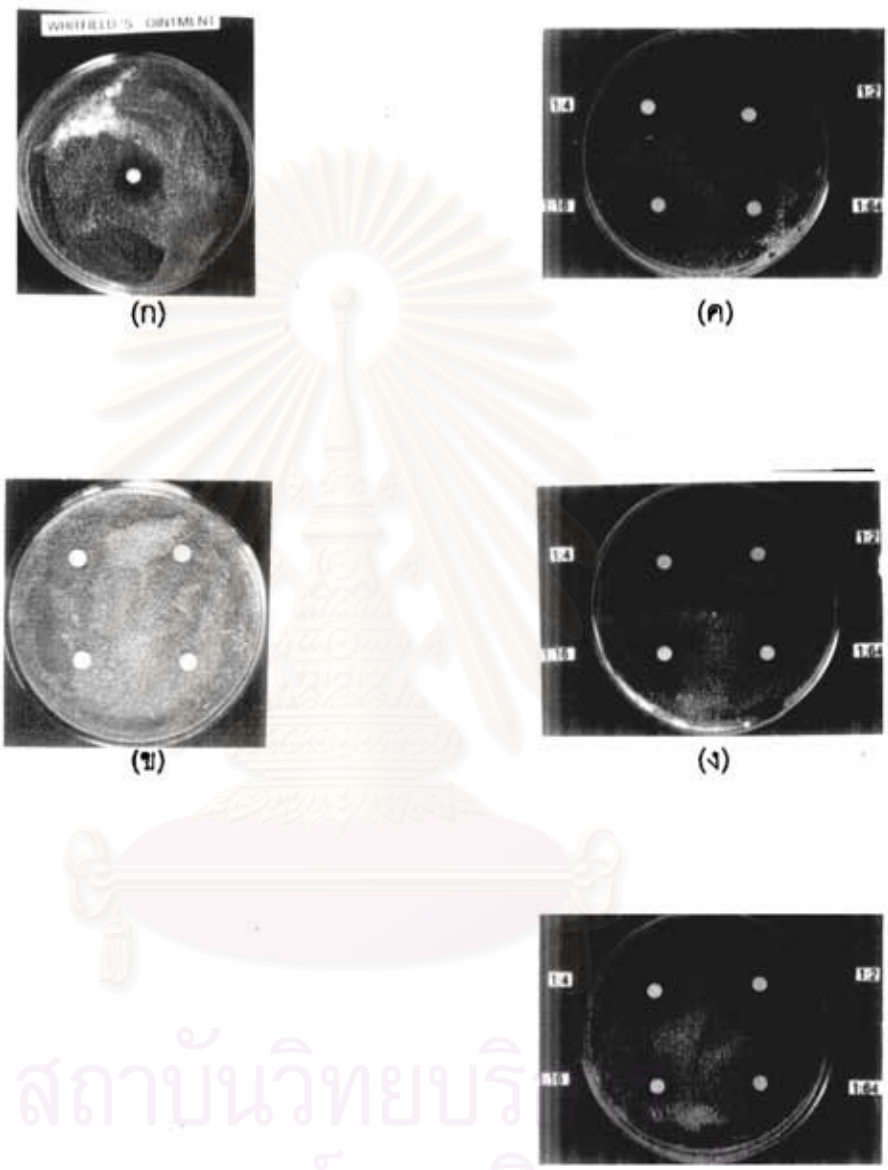


(ง)

(จ)

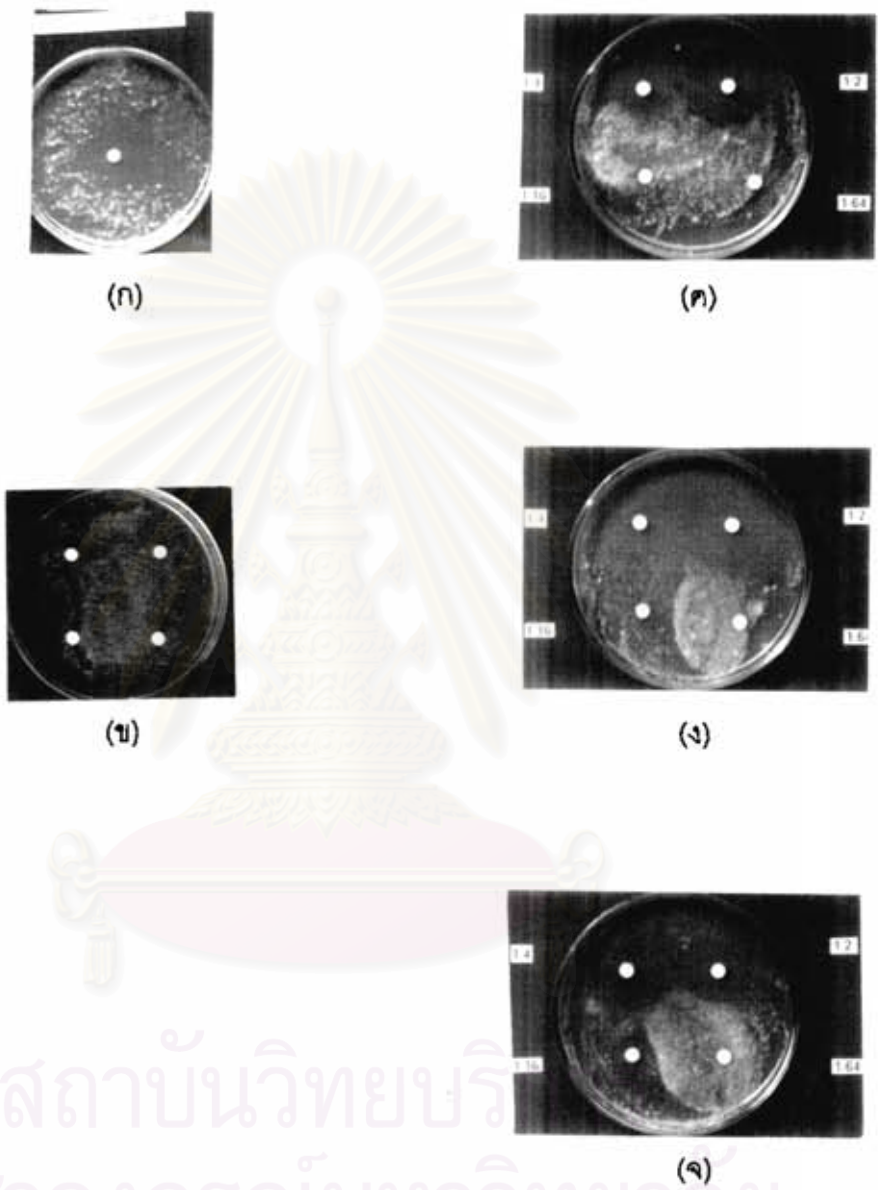
รูปที่ 6 Clear zone ของน้ำมันพริกไทย ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. floccosum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 Clear zone ของน้ำมันโหระพา ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. mentagrophytes*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

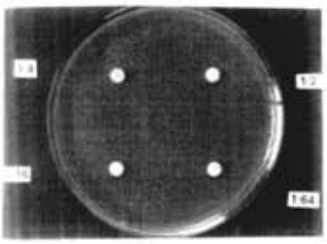
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 8 Clear zone ของน้ำมันโหระพา ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. rubrum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

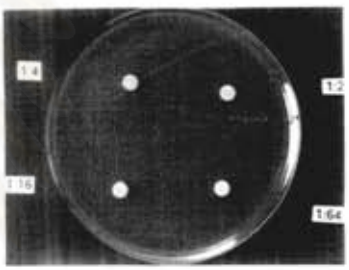
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)

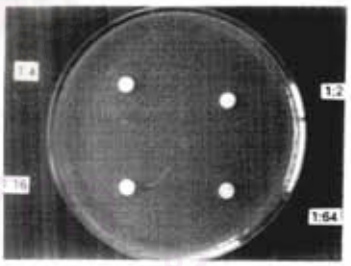


(ค)

(ข)



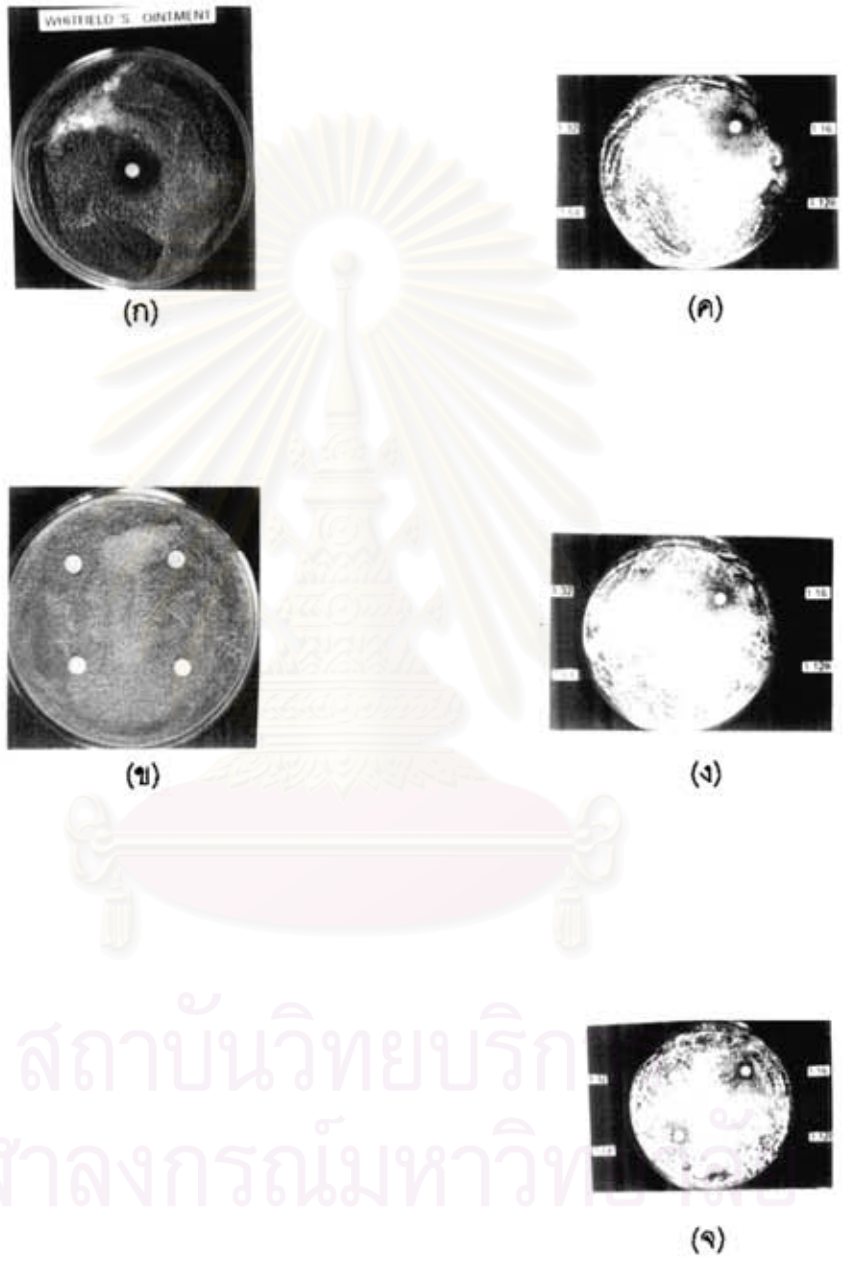
(ง)



(จ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 9 Clear zone ของน้ำมันโหระพา ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. floccosum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3



(ก) (ค)

(ข) (ง)

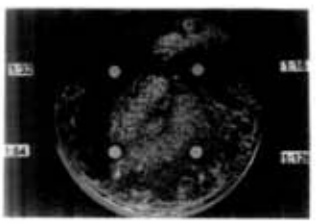
(จ)

รูปที่ 10 Clear zone ของน้ำมันเทียนข้าวเปลือก ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. mentagrophytes*

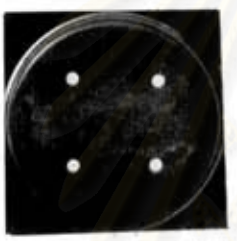
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)



(ค)



(ข)

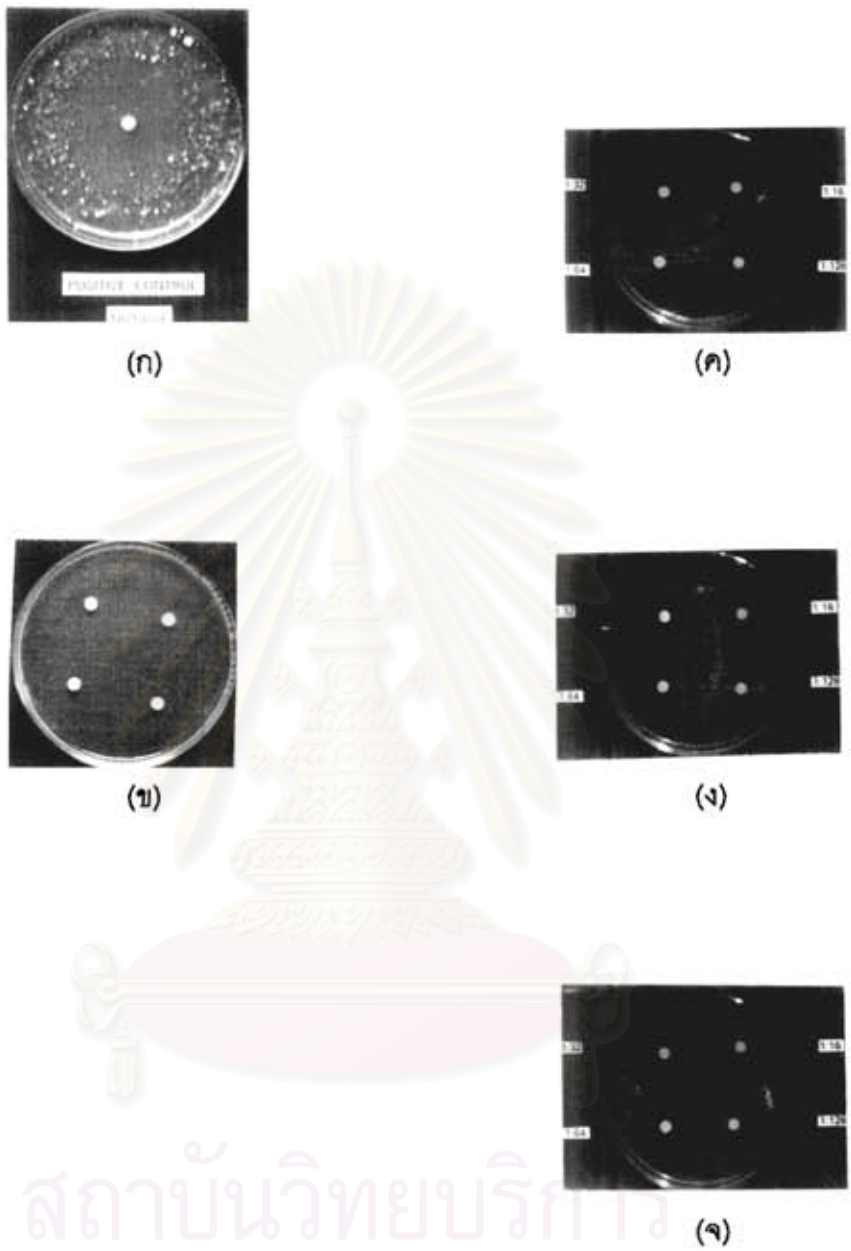
(ง)

(จ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 11 Clear zone ของน้ำมันเทียนข้าวเปลือก ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. rubrum*

(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3



(ก) (ค)

(ข) (ง)

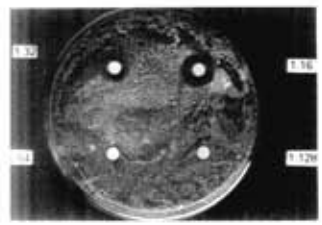
(จ)

รูปที่ 12 Clear zone ของน้ำมันเทียนข้าวเปลือก ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. floccosum*

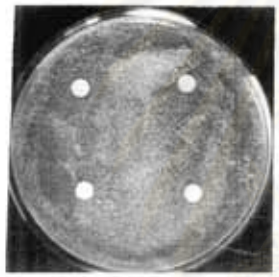
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

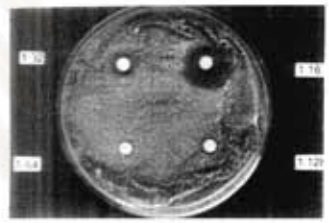
(ก)



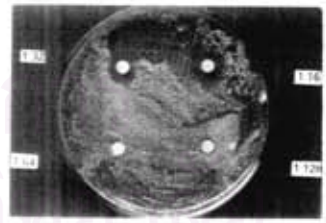
(ค)



(ข)



(ง)

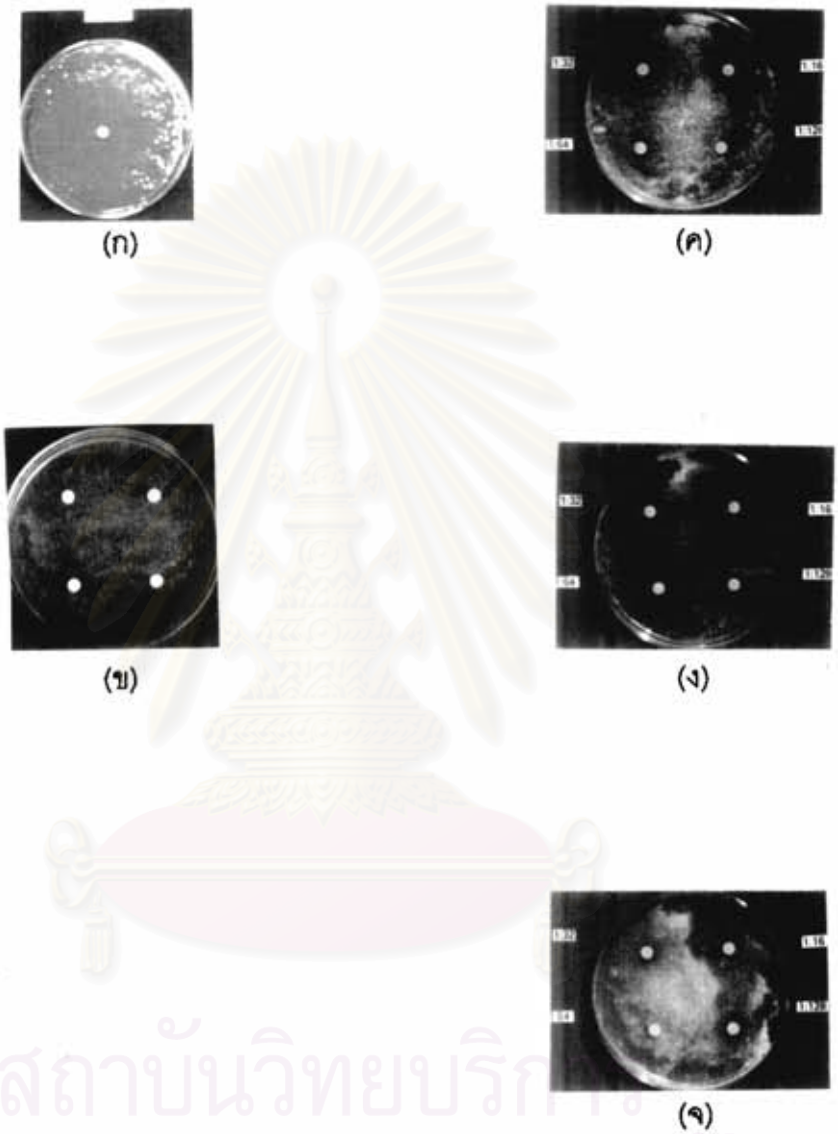


(จ)

รูปที่ 13 Clear zone ของน้ำมันเทียนตาตั๊กแตน ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. mentagrophytes*

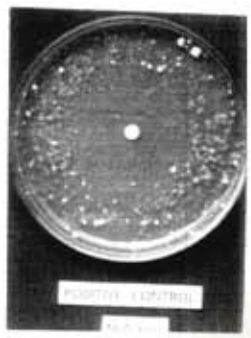
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



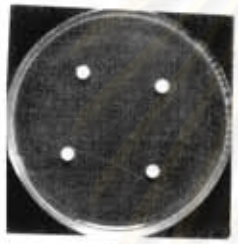
รูปที่ 14 Clear zone ของน้ำมันเทียนตาตั๊กแตน ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. rubrum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

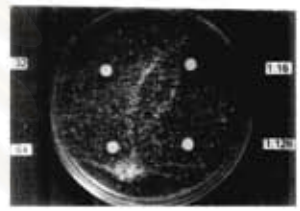


(ก)

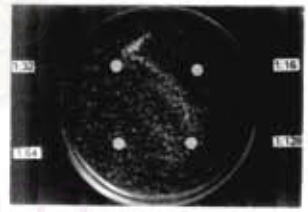
(ค)



(ข)



(ง)

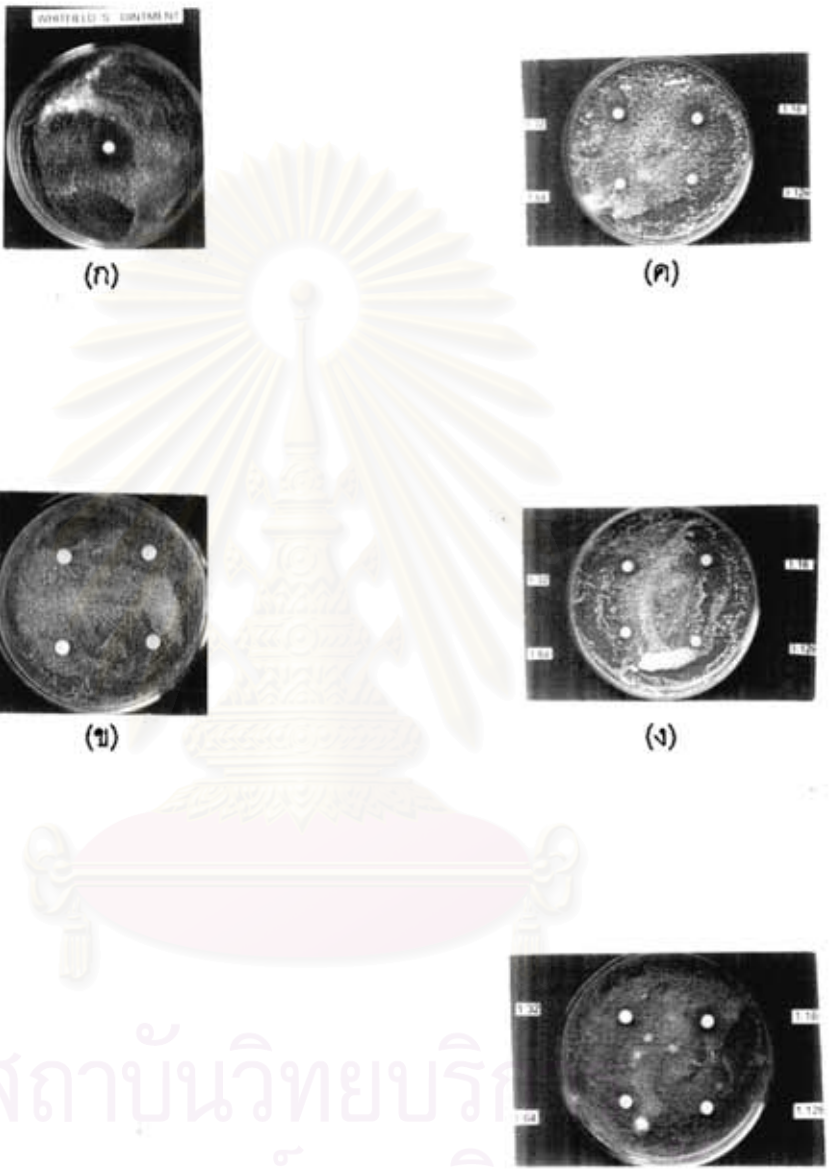


(จ)

รูปที่ 15 Clear zone ของน้ำมันเทียนตาตั๊กแตน ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. floccosum*

(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(ก) (ค)

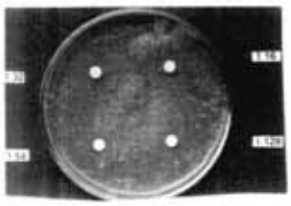
(ข) (ง)

(จ)

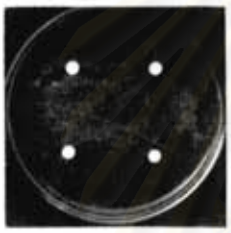
รูปที่ 16 Clear zone ของน้ำมันผักชี ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. mentagrophytes*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

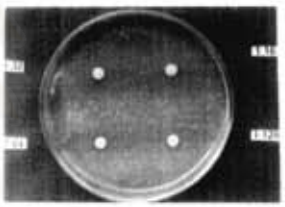
(ก)



(ค)



(ข)



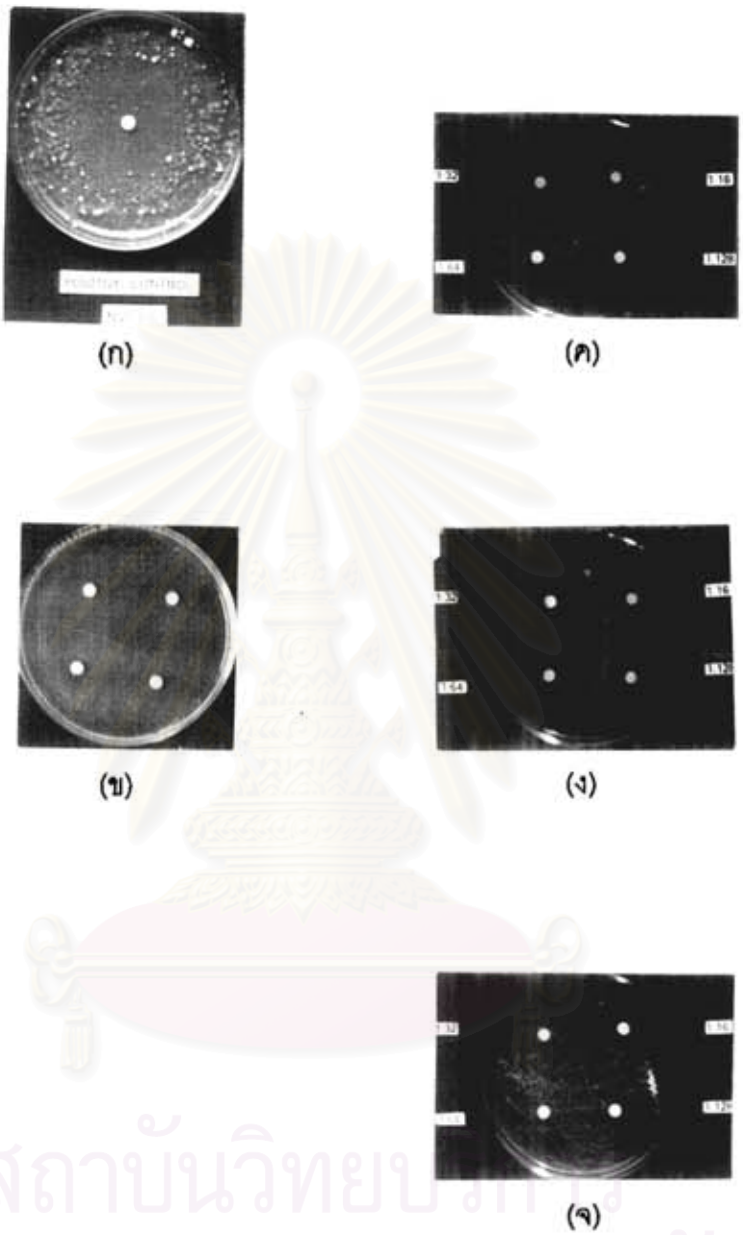
(ง)

(จ)

รูปที่ 17 Clear zone ของน้ำมันผักชี ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *T. rubrum*

(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(ก) (ค)

(ข) (ง)

(จ)

รูปที่ 18 Clear zone ของน้ำมันผักชี ในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. floccosum*
(ก) Positive Control (ข) Negative Control (ค) R1 (ง) R2 (จ) R3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 ทดสอบหาค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของน้ำมันหอมระเหย ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเชื้อกลาก (ค่า MIC)

ได้ทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่น้อยที่สุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อกลากได้ หรือหาค่า MIC ได้ดังตารางที่ 7,8 และ 9 โดยวิธี Agar dilution test

ตารางที่ 7 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (MIC) ของเชื้อ *Trichophyton mentagrophytes*

Essential oil	MIC (µg/ml)
Basil oil	34.50
Celery oil	58.04
Coriander oil	146.40
Dill oil	237.96
Pepper oil	54.53
Fennel oil	248.01
Control	
Control 1 (อาหารเลี้ยงเชื้อ)	-
Control 2 (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เมทธานอล + เชื้อกลาก)	+
Control 3 (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เชื้อกลาก)	+

หมายเหตุ : + หมายถึง เชื้อกลากมีการเจริญ

\- " เชื้อกลากไม่มีการเจริญ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (MIC) ของเชื้อ *Trichophyton rubrum*

Essential oil	MIC (µg/ml)
Basil oil	72.36
Celery oil	137.72
Coriander oil	245.76
Dill oil	801.12
Pepper oil	109.05
Fennel oil	492.06
Control	
Control 1 (อาหารเลี้ยงเชื้อ)	-
Control 2 (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เมทธานอล + เชื้อกลาก)	+
Control 3 (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เชื้อกลาก)	+

หมายเหตุ : + หมายถึง เชื้อกลากมีการเจริญ

\- " เชื้อกลากไม่มีการเจริญ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (MIC) ของเชื้อ *Epidermophyton floccosum*

Essential oil	MIC (µg/ml)
Basil oil	96.66
Celery oil	176.25
Coriander oil	273.33
Dill oil	955.01
Pepper oil	69.80
Fennel oil	825.60
Control	
Control 1 (อาหารเลี้ยงเชื้อ)	-
Control 2 (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เมทธานอล + เชื้อกลาก)	+
Control 3 (อาหารเลี้ยงเชื้อ + เชื้อกลาก)	+

หมายเหตุ : + หมายถึง เชื้อกลากมีการเจริญ

\- " เชื้อกลากไม่มีการเจริญ

จากการหาค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเชื้อกลากทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า น้ำมันพริกไทย และน้ำมันโหระพา มีค่า MIC น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ น้ำมันคื่นฉ่าย น้ำมันเทียนข้าวเปลือก น้ำมันเทียนตาตั๊กแตน และน้ำมันผักชี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยวิธีแกสโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี ของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญเชื้อกลากทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ น้ำมันคื่นฉ่าย น้ำมันพริกไทย และน้ำมันโหระพา ได้ผลดังตารางที่ 10, 11 และ 12 ตามลำดับ และแสดงโครมาโตรแกรมดังรูปที่ 24, 25 และ 26 (ในภาคผนวก ค) ตามลำดับ, แสดงสเปกตรัมของ Limonene ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันพริกไทย ดังรูปที่ 27 (ในภาคผนวก ค) และแสดงสเปกตรัมของ Anethole ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันโหระพา ดังรูปที่ 28 (ในภาคผนวก ค)

ตารางที่ 10 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบคื่นฉ่าย (Celery Oil) จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค GC/MS

Retention time	Compound	Amount (%)
5.168	Limonene	94.54
7.219	1,9-Decadiyne	0.71
13.562	5,9-Tetradecadiyne	0.46
14.969	Cyclopropane,1-(2-methylene-3-	1.75
16.680	3-Methylene-1,6-heptadiene	0.50
19.101	2-(2-Propanyl)-furan	0.60
22.000	3-Dodecyne	0.08
24.236	Farnesene	0.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพริกไทย (Pepper Oil) จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค GC/MS

Retention time	Compound	Amount (%)
5.113	Limonene	73.95
6.560	1,6-Octadien-3-ol,3,7,dimethyl-	3.10
8.189	Linalool	7.41
8.410	3-Methylene-1,6-heptadiene	0.97
11.915	1,9-Dedadiyne	0.61
12.767	Cyclopropane,1-(2-methylene-3-But	1.06
13.705	Isocaryophyllene	8.45
15.758	3,4-Nonadien-6-yne,5-ethyl-3-methyl-	0.51
18.038	Cyclohexane,1,5-diethenyl-3-methyl-2-	1.17

ตารางที่ 12 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบโหระพา (Oil of Basil) จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค GC/MS

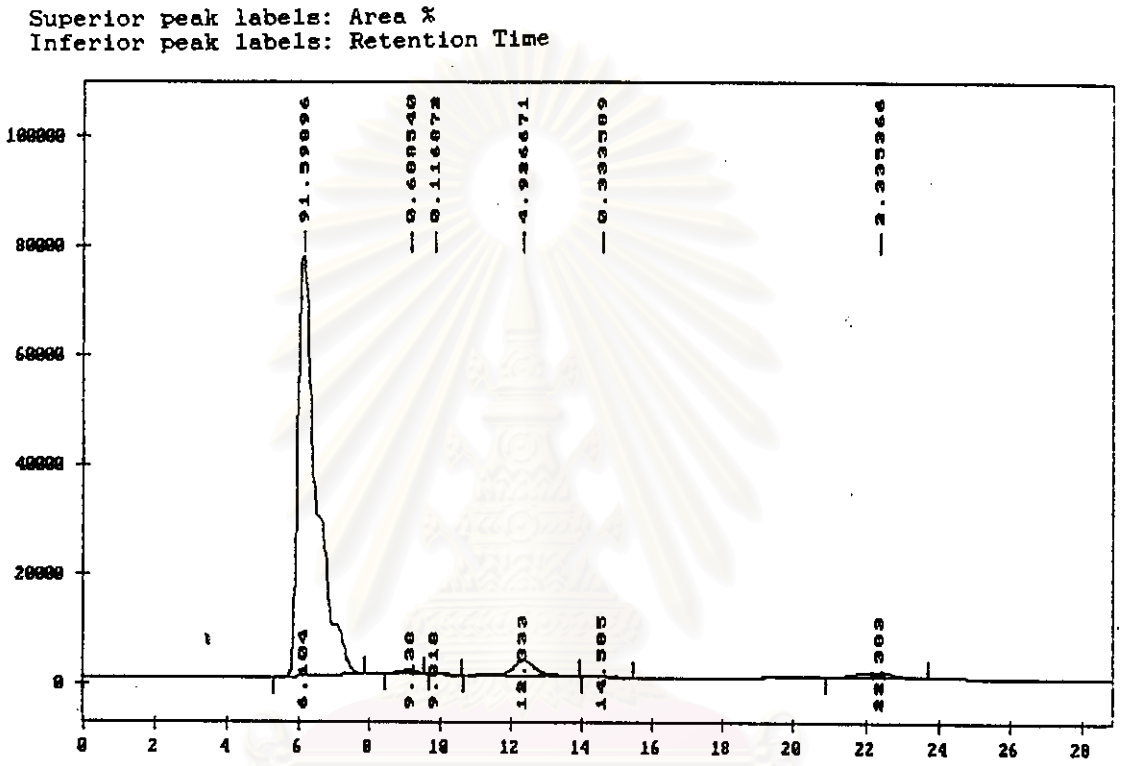
Retention time	Compound	Amount (%)
4.958	Eucalyptol	2.39
6.998	4-Methyl-1,4-heptadiene	0.32
8.823	Anethole	94.92
14.066	2-8-Decadiyne	0.45
16.128	2-Propenal,3-(2-methoxyphenyl)-	0.68
17.909	Cyclopropane,1-(2-methylene-3-But	0.34
31.327	4-Nonene,3-methyl-	0.14

3.5 การแยกองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

การแยกองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย โดยนำน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อกลากมากที่สุด 2 ชนิด คือ น้ำมันพริกไทย และน้ำมันโหระพา มาแยกด้วยเทคนิค HPLC ได้ peak ต่างๆ ดังรูปที่ 19 และรูปที่ 20 เก็บ Fractions ต่างๆ ของแต่ละพีกไปทดสอบกับเชื้อกลาก โดยวิธี Disk diffusion test พบว่า ทั้งพีกของน้ำมันพริกไทย 6 พีก และน้ำมันโหระพา 5 พีก ไม่พบ clear zone ของ disk ที่หยดสารแต่ละ พีก

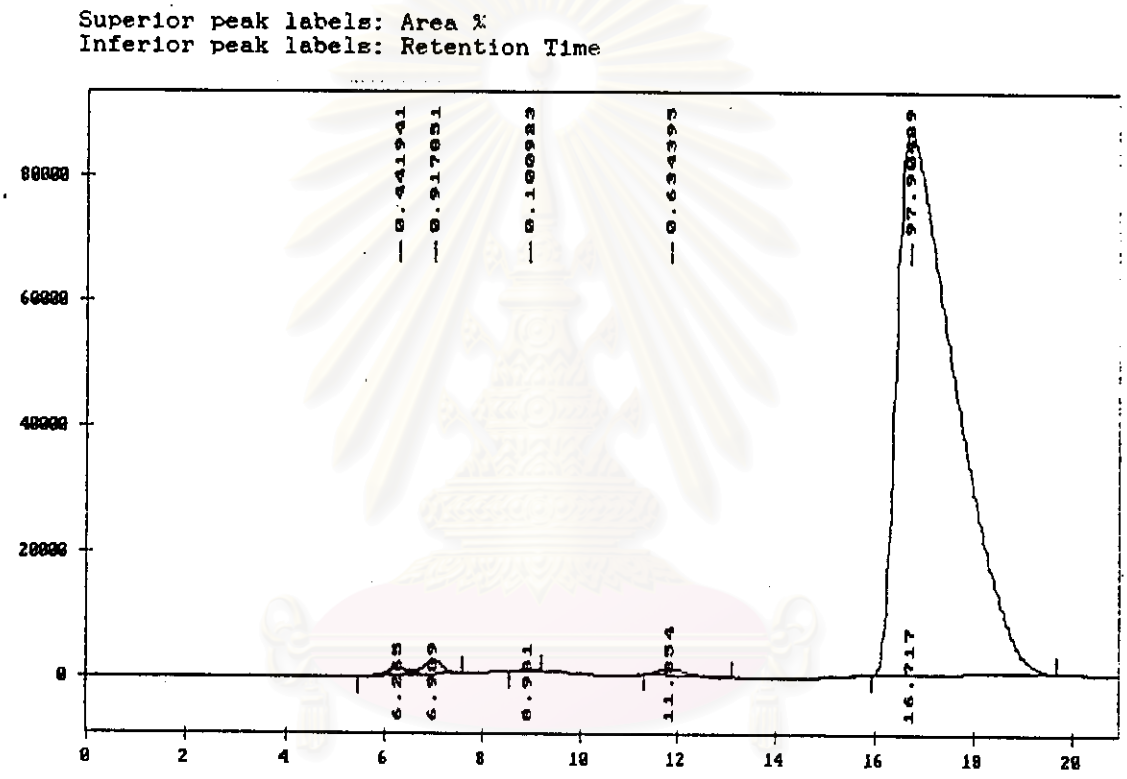
จึงได้เพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC เก็บ Fractions ต่างๆ ของแต่ละพีก ไปทดสอบกับเชื้อกลากอีกครั้ง โดยวิธี Disk diffusion test พบว่า ทั้งพีกของน้ำมันพริกไทย 6 พีก และ น้ำมันโหระพา 5 พีก ไม่พบ clear zone ของ disk ที่หยดสารแต่ละพีก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Ret Time (Min)	Component Name	Concentr.	Area (uV*Sec)	Height (uV)
6.104	peak-1	10000.00000	2844312.00	76799.0781
9.138	peak-2	10000.00000	21380.4023	737.969238
9.816	peak-3	10000.00000	3629.07666	200.789368
12.333	peak-4	10000.00000	152981.953	2895.83325
14.585	peak-5	10000.00000	10358.5341	272.428483
22.383	peak-6	10000.00000	72517.3125	963.831299
		60000.00000	3105179.25	81869.9296

รูปที่ 19 แสดงโครมาโตแกรมของน้ำมันพริกไทย ที่แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค HPLC



Ret Time (Min)	Component Name	Concentr.	Area (uV*Sec)	Height (uV)
6.265	peak-1	10000.00000	32062.7480	1206.51489
6.989	peak-2	10000.00000	66590.0312	2376.81127
8.931	peak-3	10000.00000	7321.98242	386.298248
11.854	peak-4	10000.00000	46025.2656	1150.87280
16.717	peak-5	10000.00000	7102991.00	86501.2812
		50000.00000	7254991.00	91621.7812

รูปที่ 20 แสดงโครมาโตรแกรมของน้ำมันโหระพา ที่แยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค HPLC

จากการสืบค้นใน Library search และจากรายงานของ Liangfeng, Z. และคณะ ในปี ค.ศ. 1993 [53] ได้รายงานองค์ประกอบของน้ำมันพริกไทย โดยศึกษาจากเทคนิค GC-MS และ GC-IR พบว่าประกอบด้วย Limonene 17.44 % และ Linalool 0.34 %, จากรายงานของ Nykaenen, I. ในปี ค.ศ. 1989 [54] ได้ศึกษาถึง น้ำมันโหระพาในประเทศฟินแลนด์ โดยใช้เทคนิค GC/MS พบว่าน้ำมันโหระพาจะประกอบไปด้วย Linalool และ Estragole เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่, จากรายงานของ Roque,R. (1991) [55] ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจาก *Ocimum basilicum* โดยใช้เทคนิค Gas/Liquid Chromatography พบว่าน้ำมันโหระพาประกอบด้วย Linalool ในปริมาณสูง และพบ Methyl chavicol, Methyl cinnamate, Eugenal ในปริมาณเล็กน้อย และจากการศึกษาของ Modawi, B.M. และคณะ (1984) [56] พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก *Ocimum basilicum* var. *thyrsiflorum* ในประเทศซูดาน มีองค์ประกอบหลักคือ Linalool และ Methyl chavicol และพบ Cineole, Eugenol ในปริมาณเล็กน้อย จึงได้ทำการสั่งซื้อสาร Anethole, Eucalyptol, Limonene และ Linalool ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันพริกไทยและน้ำมันโหระพา และได้นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อกลาก โดยวิธี Disk diffusion test ได้ผลดังตารางที่ 13

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญเชื้อกลาก ของสารที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิด คือ Anethole, Eucalyptol, Limonene และ Linalool

ค่าเฉลี่ยขอบเขตยับยั้ง (มม)			
เชื้อกลาก / สาร	*T. mentagrophytes*	*T. rubrum*	*E. floccosum*
Anethole	22.7±2.5	20.0±2.6	14.3±2.1
Eucalyptol	-	-	-
Limonene	32.8±7.2	21.0±1.6	41.2±5.8
Linalool	8.5±1.1	8.2±0.8	13.2±1.2
Control			
Control 1 + เชื้อรา	-	-	-
Control 2 + เชื้อรา + disk ที่หยด steriled water	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อกลากมีการเจริญ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย