บทที่ 3

ผลการทดลอง

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืช 23 ชนิด โดยนำส่วนต่างๆของพืชมา 1 กิโลกรัม เท่ากันทุกชนิดมาทำการสกัด น้ำมันที่ได้จะมีลักษณะไม่มีสีเป็นส่วนใหญ่ บางชนิดจะมีลักษณะเป็นสีเหลืองใส นำน้ำมันหอมระเหยเหล่านี้มาเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์เพื่อจะได้นำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้อีกต่อไป ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการเทียบหาเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆของพืช

ชื่อพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้	%น้ำมัน
1. ไพล	*Zingiber cassumunar*	Zingiberaceae	เหง้า	0.65
2. ไพลดำ	*Zingiber ottensii*	Zingiberaceae	เหง้า	0.55
3. กระทือ	*Zingiber zerumbet*	Zingiberaceae	เหง้า	0.67
4. กระชาย	*Boesenbergia pandurata*	Zingiberaceae	เหง้า	0.4
5. ปุดขน	*Globba malaccensis*	Zingiberaceae	เหง้า	0.39
6. หมายี	*Zingiber ruben*	Zingiberaceae	เหง้า	0.53
7. เทพธาโร	*Cinnamon porrectum*	Lauraceae	ใบ	0.7
8. ทำมัง	*Listsea elliptia*	Lauraceae	ใบ	1.38
9. สมุยหอม	*Clausea cambodiana*	Rutaceae	ใบ	0.64
10.แก้ว	*Murraya panniculata*	Rutaceae	ใบ	0.22
11.มะตูม	*Aegle marmelos*	Rutaceae	ใบ	0.8
12.ส้มโอ	*Citrus grandis*	Rutaceae	เปลือกของผล	0.68
13.ฝรั่ง	*Psidium guajava*	Myrtaceae	ใบ	0.44
14.หว้า	*Eugenia cumini*	Myrtaceae	ใบ	0.35

ตารางที่ 3 แสดงผลการเทียบหาเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆของพืช (ต่อ)

ชื่อพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ส่วนที่ใช้	%น้ำมัน
15.เสม็ดขาว	*Melaleuca leucadendron*	Myrtaceae	ใบ	2.01
16.กระดังงา	*Cananga odorata*	Annonaceae	ใบ	0.38
17.เพกา	*Goniothalamus undulatus*	Annonaceae	ใบ	0.46
18.สายหยุด	*Desmos chinensis*	Annonaceae	ใบ	0.31
19.จำปูน	*Goniothalamus expansus*	Annonaceae	ใบ	0.35
20.แมงลัก	*Ocimum americanum*	Labiatae	ใบ	0.53
21.สาปหมา	*Eipatorium adenophorum*	Compositae	ใบ	0.37
22.ผักชีลาว	*Anethum graveolens*	Apiaceae	ทั้งต้น	0.58
23.ผักไผ่	*Polygonum odonatum*	Polygonaceae	ทั้งต้น	0.16

หมายเหตุ ; % น้ำมัน (กรัมน้ำมัน / 100 กรัม สมุนไพรตัวอย่าง)

จากการนำน้ำมันหอมระเหย 23 ชนิดรวมทั้งแผ่นยามาตรฐานต้านจุลชีพและเมธานอล ที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ มาทำการทดสอบกับแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ทั้งนี้เพื่อคัดเลือกน้ำมันหอมระเหย ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญ ของแบคทีเรียได้มากสายพันธุ์ที่สุดและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งโดยดูจากการเกิดบริเวณยับยั้ง และทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งนั้น ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4 และตารางที่ 5

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่างๆโดยวิธี Agar Diffusion Test

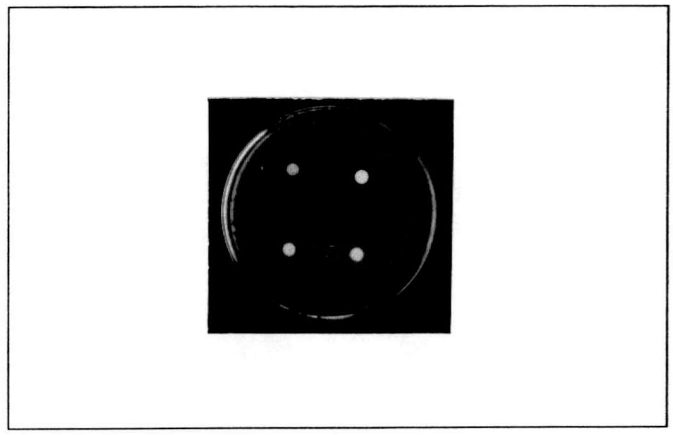
น้ำมันหอมระเหย	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.pyogenes*	*E.coli*	*S.typhi*	*Ps.aeruginosa*
ไพล	+ 7	+ 7	+ 12.33	-	+ 7.67	-
ไพลดำ	+ 7	+ 7	+ 13.67	+ 6	-	-
กระทือ	+ 7.33	+ 7	+ 12.33	-	-	-
กระชาย	+ 9.67	+ 9.67	+ 12	+ 7.67	+ 7.67	+ 7.67

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่างๆโดยวิธี Agar Diffusion Test (ต่อ)

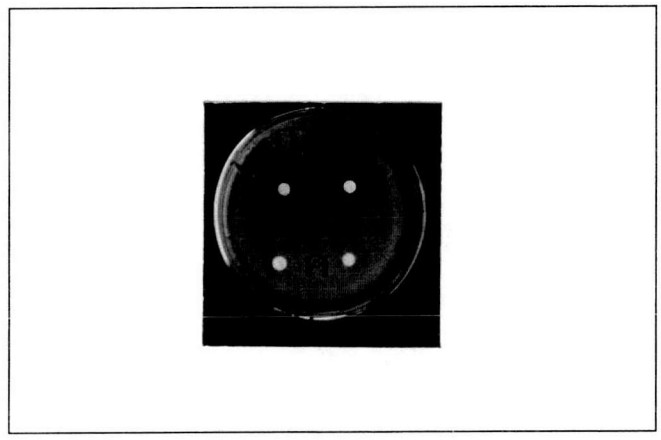
น้ำมันหอมระเหย	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.pyogenes*	*E.coli*	*S.typhi*	*Ps.aeruginosa*
ปุดขน	+ 7.33	+ 8.67	+ 13.67	+ 6	-	-
หมายี	+ 6.67	+ 7.67	+ 6.67	-	-	-
เทพธาโร	+ 23.67	+ 27.67	+ 21.67	+ 17	+ 22.33	-
ทำมัง	+ 7.33	+ 8.33	+ 10.33	-	-	-
สมุยหอม	-	-	+ 8.67	+ 6.67	+ 6.33	-
มะตูม	-	-	-	-	-	-
แก้ว	+ 6.33	+ 9.33	+ 9	-	-	-
ส้มโอ	-	-	-	-	-	-
ฝรั่ง	+ 12.33	+ 9.33	+ 20.67	-	-	-
หว้า	+ 12.33	+ 6.67	+ 7	+ 6	-	-
เสม็ดขาว	+ 5	+ 8.33	+ 8.67	-	-	-
กระดังงา	+ 9.67	-	-	-	-	-
เพกา	-	-	+ 9.33	-	-	-
สายหยุด	-	+ 6	+ 11.67	-	-	-
จำปูน	+ 9.33	+ 8.33	+ 10.33	-	-	-
แมงลัก	+ 9.67	+ 23.67	+ 10	+ 14.67	+ 15	-
สาปหมา	+ 6	+ 9.67	+ 8	-	-	-
ผักชีลาว	+ 10.5	+ 10	+ 12.33	-	-	-
ผักไผ่	+ 8.5	+ 7.67	+ 10	-	-	-

หมายเหตุ ; + คือ มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

- คือ ไม่มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย



รูปที่ 8 ตัวอย่างแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Agar Diffusion Test (ก) เทพธาโร (ข) กระชาย (ค) เมธานอล



รูปที่ 9 ตัวอย่างแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อ *Escherichia coli* โดยวิธี Agar Diffusion Test (ก) เทพธาโร (ข) กระชาย (ค) เมธานอล

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ของเมธานอล และ แผ่นยามาตรฐานต้านจุลชีพ

ตัวเปรียบเทียบ	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.pyogenes*	*E.coli*	*S.typhi*	*Ps.aeruginosa*
เมธานอล	-	-	-	-	-	-
เพนนิซิลลิน 10 ยูนิต	+ 6.67	-	+ 11.67	-	+ 16.67	-
แวนโคมัยซิน 30 ไมโครกรัม	+ 11.67	+ 10.67	+ 9.67	-	-	-
เททราซัยคลิน 30 ไมโครกรัม	+ 9	+ 20.67	+ 20.33	+ 15	+ 20.67	-

หมายเหตุ : + คือมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

- คือไม่มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ตัวเลขหลังเครื่องหมาย + คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (มิลลิเมตร) โดยขนาดของแผ่นยาเท่ากับ 6 มิลลิเมตร

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย ที่ได้จากพืชชนิดต่างๆพบว่ามีน้ำมันหอมระเหยที่ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียได้มากสายพันธุ์และมีประสิทธิภาพการยับยั้งดีที่สุดหรือให้ผลการยับยั้งต่อแบคทีเรีย ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยจากพืช 6 ชนิด คือน้ำมันหอมระเหยจากเทพธาโร กระชาย แมงลัก ไพลดำ ฝรั่ง และ สมุยหอม มาทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC)

การหาค่า MIC ของแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ โดยนำน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ได้ค่า MIC ดังแสดงในตารางที่ 6 มาทดสอบด้วยวิธี Broth dilution susceptibility test โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และ Tween 80 เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (Emulsifier) ซึ่งมีหลอดควบคุม 3 หลอด โดยหลอดควบคุมที่ 1 มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดควบคุมที่ 2 มีอาหารเลี้ยงเชื้อ + แบคทีเรีย และหลอดควบคุมที่ 3 มีอาหารเลี้ยงเชื้อ + แบคทีเรีย + 1%Tween80 เพื่อยืนยันว่า 1% Tween 80 จะต้องไม่มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ค่า MIC ที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถยับยั้ง การเจริญของแบคทีเรีย (MIC)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหย	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
S.aureus	เทพธาโร	21.92
	แมงลัก	49.76
	กระชาย	169.14
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
B.subtilis	เทพธาโร	10.96
	แมงลัก	24.88
	กระชาย	169.14
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
S.pyogenes	เทพธาโร	21.92
	ไพลดำ	42.29
	ฝรั่ง	44.35
	กระชาย	84.57
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
E.coli	เทพธาโร	21.92
	แมงลัก	49.76
	กระชาย	169.14
	สมุยหอม	196.99
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

ตารางที่ 6 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถยับยั้ง การเจริญของแบคทีเรีย (MIC) (ต่อ)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหย	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
S.typhi	เทพธาโร	43.83
	แมงลัก	49.76
	กระชาย	169.14
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
Ps.aeruginosa	กระชาย	338.28
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

หมายเหตุ : เครื่องหมายแสดงความสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

+ แทน มีเชื้อเจริญ

- แทน ไม่มีเชื้อเจริญ

การหาค่า MIC ของยาปฏิชีวนะมาตรฐาน โดยนำยาปฏิชีวนะมาตรฐานที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์มาทดสอบด้วยวิธี Disc elution susceptibility test โดยเจือจางยาแบบ Two - fold serial dilution โดยมีหลอดควบคุม 2 หลอด คือ หลอดควบคุมที่ 1 มีอาหารเลี้ยงเชื้อและหลอดควบคุมที่ 2 มีอาหารเลี้ยงเชื้อ + แบคทีเรีย ได้ค่า MIC ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด ของยาปฏิชีวนะมาตรฐาน ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC)

ยามาตรฐาน	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.pyogenes*	*E.coli*	*S.typhi*	*Ps.aeruginosa*
เททราซัยคลิน 30 ไมโครกรัม	30	15	15	30	15	-
แวนโคมัยซิน 30 ไมโครกรัม	30	30	30	-	-	-
Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-	-	-	-	-	-
Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ + แบคทีเรีย	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + แทน มีเชื้อเจริญ

- แทน ไม่มีเชื้อเจริญ

จากการหาค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวจึงนำมาทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ โดยนำหลอดที่ความเข้มข้นต่ำสุด หลอดที่เชื้อไม่เจริญทุกหลอด รวมทั้งหลอดควบคุมจากการหาค่า MIC มาทำการหาค่า MBC ด้วยวิธี spread plate ได้ค่า MBC ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถฆ่าทำลายการเจริญของแบคทีเรีย (MBC)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหย	ค่า MBC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
S.aureus	เทพธาโร	43.83
	แมงลัก	199.05
	กระชาย	338.28
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
B.subtilis	เทพธาโร	21.92
	แมงลัก	49.76
	กระชาย	338.28
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
S.pyogenes	เทพธาโร	48.83
	ฝรั่ง	88.69
	ไพลดำ	169.14
	กระชาย	338.28
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

ตารางที่ 8 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถฆ่าทำลายการเจริญของแบคทีเรีย (MBC) (ต่อ)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหย	ค่า MBC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
E.coli	เทพธาโร	87.67
	แมงลัก	99.53
	กระชาย	676.57
	สมุยหอม	787.95
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
S.typhi	เทพธาโร	87.67
	แมงลัก	199.05
	กระชาย	169.14
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
Ps.aeruginosa	กระชาย	676.57
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

หมายเหตุ : เครื่องหมายแสดงความสามารถฆ่าทำลายแบคทีเรีย

+ แทน มีเชื้อเจริญ

- แทน ไม่มีเชื้อเจริญ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ของน้ำมันหอมระเหย โดยวิธีแกสโครมาโทกราฟี / แมสสเปกโทรเมตรี ได้ผลดังตารางที่ 9 และตารางที่ 10

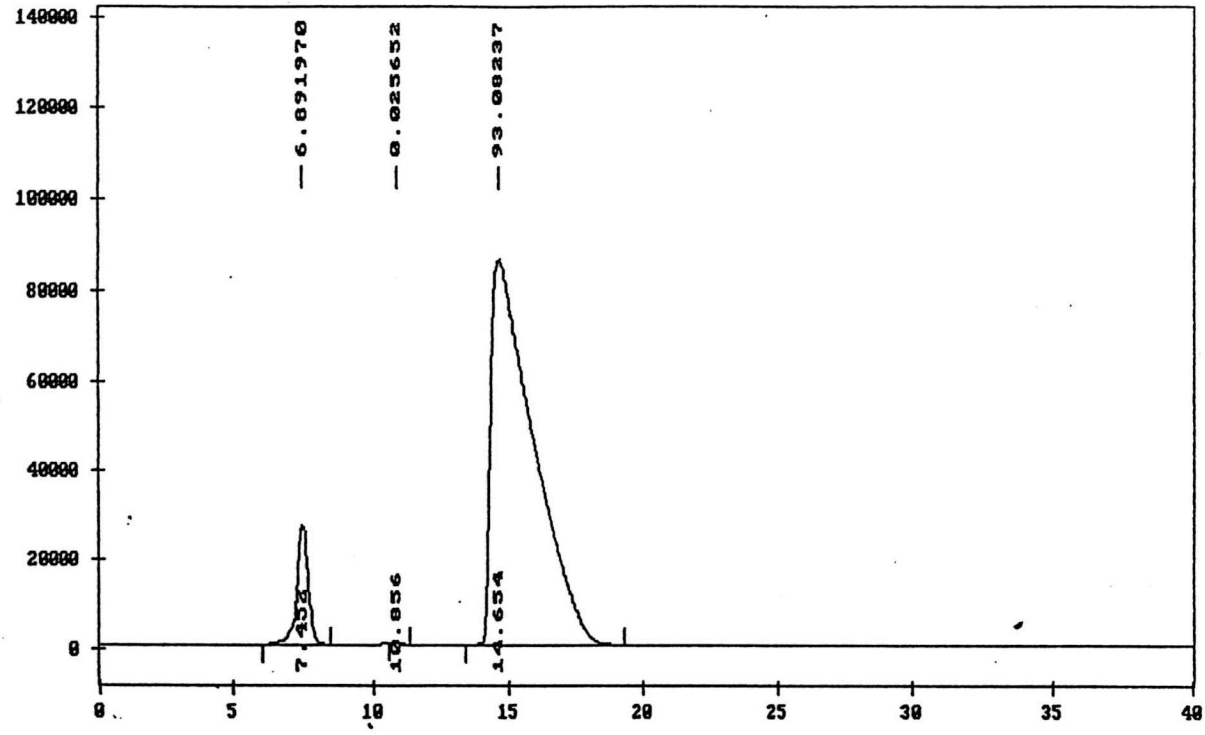
ตารางที่ 9 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากกระชายด้วยเทคนิค GC/MS

Retention time	Compound	Amount (%)
4.44	Camphene	3.72
6.27	Beta-Pinene	0.94
7.21	D-Limonene	1.23
7.58	Eucalyptol	7.7
8.18	Alloocimene	2.23
8.79	**3-Carene**	**33.82**
18.37	Japan camphor	17.69
19.8	Linalool	1.02
21.64	p-Menth-8-en-3-ol	0.41
21.86	p-Menth-1-en-4-ol	0.2
25.6	Linalyl propanoate	0.53
25.73	Borneol	0.32
26.76	Citral	0.34
31.42	**Geraniol**	**28.84**
38.95	Methyl cinnamate	1.01

ตารางที่ 10 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเทพธาโรด้วยเทคนิค GC/MS

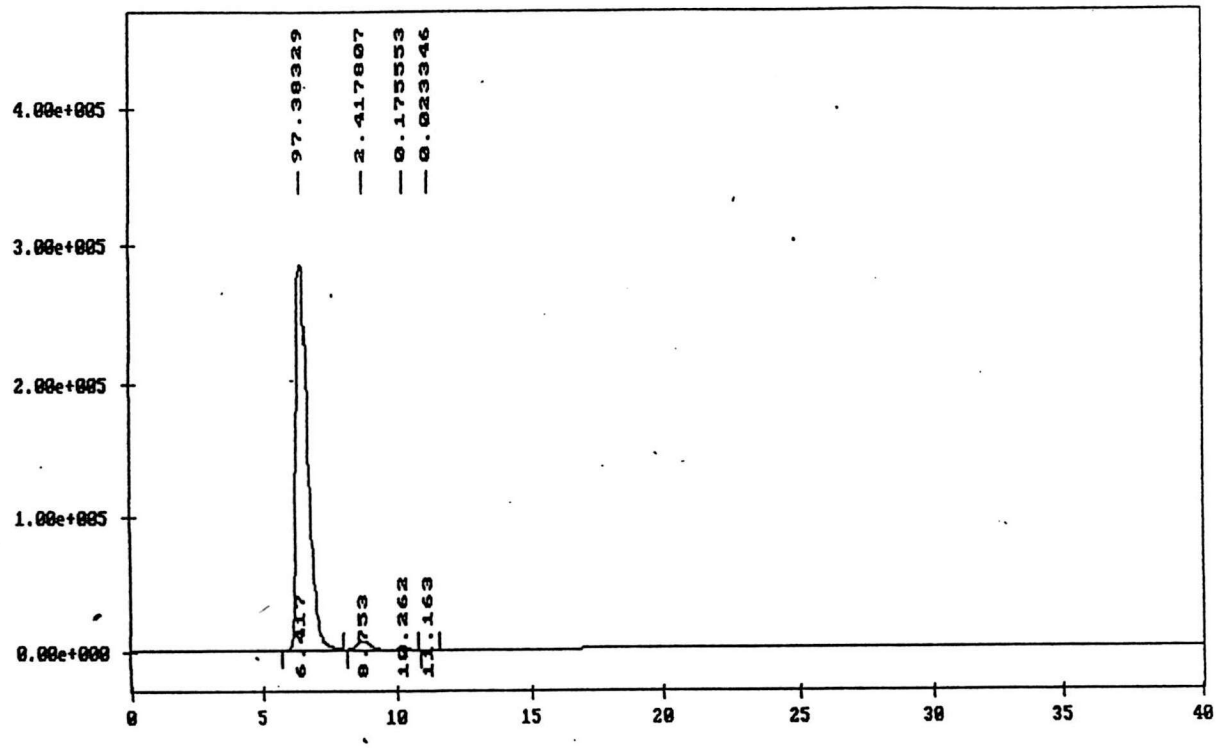
Retention time	Compound	Amount (%)
2.8	Isosafrole	2.3
3.55	Eugenol	0.04
12.78	Geraniol	0.05
16.03	+ Limonene	0.01
18.24	**+ Linalool**	**96.17**
21.18	Isocaryophyllene	1.17
22.72	Eremophilene	0.02
25.5	Cembrene	0.2
32.51	Elemene	0.04

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ที่ให้ผลยับยั้งแบคทีเรียดีที่สุดนั้น จึงได้ทำการคัดเลือกน้ำมันหอมระเหยมา 2 ชนิด คือ น้ำมันหอมระเหยจากเทพธาโรและกระชาย โดยนำมาทำการแยกสารประกอบแต่ละกลุ่มด้วยเครื่องมือ HPLC ดังแสดงในรูปที่ 8 และ 9 เมื่อทำการแยกสารประกอบแล้วนำแต่ละส่วนที่ได้ไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด โดยวิธี Agar Diffusion Test ปรากฏว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแต่อย่างใด ดังนั้นจึงนำสารบริสุทธิ์ซึ่งเป็นสารประกอบหลักซึ่งได้แก่ 3-แครีน เจอรานิออล ในน้ำมันหอมระเหยจากกระชาย ลินาลูลในน้ำมันหอมระเหยจากเทพธาโร นอกจากนี้ ได้นำสารประกอบที่วิเคราะห์ได้บางชนิดมาทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอีกด้วย ได้แก่ ลิมูนีน และยูคาลิปตัส ดังแสดงในตารางที่ 11



Ret Time (Min)	Component Name	Concentr.	Area (uV*Sec)	Height (uV)
7.452	MAM002C-1	10000.00000	705138.312	26321.9042
10.856	MAM002C-2	10000.00000	2624.51977	111.696831
14.654	MAM002C-3	10000.00000	9523540.00	86131.7812
		30000.00000	10231303.0	112565.382

รูปที่ 10 แสดงการแยกส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากเทพธาโร โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)



Ret Time (Min)	Component Name	Concentr.	Area (uV*Sec)	Height (uV)
6.417	MAM002C-1	10000.00000	8194998.00	284095.531
8.753	MAM002C-2	10000.00000	203463.296	6241.78271
10.262	MAM002C-3	10000.00000	14773.1396	545.881531
11.163	MAM002C-4	10000.00000	1964.60583	87.121948
		40000.00000	8415199.00	290970.312

รูปที่ 11 แสดงการแยกส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากกระชาย โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ตารางที่ 11 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารประกอบ ในน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี Agar Diffusion Test

สารประกอบ	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.pyogenes*	*E.coli*	*S.typhi*	*Ps.aeruginosa*
3-Carene	+ 8.67	+ 6.67	+ 6	+ 9.67	-	-
Geraniol	+ 13.67	+ 8.67	+ 9.67	+ 12.33	+ 9.67	+ 3
Linalool	+ 6.67	+ 9.67	+ 10	+ 10	+ 7.67	-
Limonene	+ 9.67	+ 9.67	+ 10	+ 6.67	+ 6.67	-
Eucalyptus	-	-	-	-	-	-
3-Carene + Geraniol	+ 10	+ 9.67	+ 6.67	+ 13.33	+ 6.67	+ 3.33
3-Carene + Linalool	+ 13.33	+ 8.67	+ 7.67	+ 9.67	+ 5	-
3-Carene + Limonene	+ 6.67	+ 7.67	+ 9	+ 5	+ 4.33	-
Geraniol + Linalool	+ 20.67	+ 15	+ 12	+ 9.67	+ 7.67	+ 3.67
Geraniol + Limonene	+ 10.67	+ 11.67	+ 9.67	+ 6.67	+ 5	+ 2.67
Linalool + Limonene	+ 8.67	+ 9.67	+ 9.67	+ 7.67	+ 6.67	-
Methanol	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + คือมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

- คือไม่มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ตัวเลขหลังเครื่องหมาย + คือขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (มิลลิเมตร) โดยขนาดของแผ่นยาเท่ากับ 6 มิลลิเมตร

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหย จึงนำสารประกอบที่ให้ผลการยับยั้งมาทำการหาค่า MIC ด้วยวิธี Broth dilution susceptibility test โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และ Tween 80 เป็นอิมัลซิฟายเออร์ (Emulsifier) เนื่องจากสารประกอบที่ทดสอบเป็นของเหลวละลายน้ำได้เล็กน้อย ซึ่งมีหลอดควบคุม 3 หลอด โดยหลอดควบคุมที่ 1 มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดควบคุมที่ 2 มีอาหารเลี้ยงเชื้อ + แบคทีเรีย และหลอดควบคุมที่ 3 มีอาหารเลี้ยงเชื้อ + แบคทีเรีย + 1% Tween 80 ได้ค่า MIC ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC)

แบคทีเรีย	สารประกอบ	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
S.aureus	3-Carene	78.13
	Geraniol	19.53
	Linalool	39.06
	Limonene	156.25
	Control 1 คืออหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
B.subtilis	3-Carene	78.13
	Geraniol	39.06
	Linalool	19.53
	Limonene	39.06
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

ตารางที่ 12 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) (ต่อ)

แบคทีเรีย	สารประกอบ	ค่า MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
S.pyogenes	3-Carene	78.13
	Geraniol	19.53
	Linalool	39.06
	Limonene	156.25
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
E.coli	3-Carene	312.5
	Geraniol	78.13
	Linalool	39.06
	Limonene	156.25
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
S.typhi	Geraniol	156.25
	Linalool	39.06
	Limonene	625
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
Ps.aeruginosa	Geraniol	1250
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

หมายเหตุ : เครื่องหมายแสดงความสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

+ แทน มีเชื้อเจริญ

- แทน ไม่มีเชื้อเจริญ

จากการหาค่า MIC ของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวจึงนำมาทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ โดยนำหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุด หลอดที่เชื้อไม่เจริญทุกหลอดรวมทั้งหลอดควบคุมจากการหาค่า MIC มาทำการหาค่า MBC ด้วยวิธี spread plate ได้ค่า MBC ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถฆ่าทำลายการเจริญของแบคทีเรีย (MBC)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหย	ค่า MBC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
S.aureus	3-Carene	156.25
	Geraniol	78.13
	Linalool	156.25
	Limonene	312.5
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
B.subtilis	3-Carene	156.25
	Geraniol	39.06
	Linalool	39.06
	Limonene	78.13
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
S.pyogenes	3-Carene	156.25
	Geraniol	156.25
	Linalool	312.5
	Limonene	625
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

ตารางที่ 13 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถฆ่าทำลายการเจริญของแบคทีเรีย (MBC) (ต่อ)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหย	ค่า MBC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
E.coli	3-Carene	625
	Geraniol	78.13
	Linalool	39.06
	Limonene	625
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
S.typhi	Geraniol	312.5
	Linalool	156.25
	Limonene	625
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+
Ps.aeruginosa	Geraniol	2500
	Control 1 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ	-
	Control 2 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย	+
	Control 3 คืออาหารเลี้ยงเชื้อ+แบคทีเรีย+1%Tween80	+

หมายเหตุ : เครื่องหมายแสดงความสามารถฆ่าทำลายแบคทีเรีย

+ แทน มีเชื้อเจริญ

- แทน ไม่มีเชื้อเจริญ

จากผลการทดลองตามตารางที่ 6 , 8 , 12 และ 13 นำน้ำมันหอมระเหยจากเทพธาโร , กระชาย และ สารประกอบหลัก มาทำการทดสอบอีกครั้งภายใต้สภาวะเดียวกัน ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบหลัก ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและฆ่าทำลายแบคทีเรีย (MIC และ MBC)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหยและสารประกอบ	ค่า MIC (µg/ml)	ค่า MBC (µg/ml)
S.aureus	เทพธาโร	21.9	43.8
	กระชาย	169.1	338.3
	3-Carene	78.1	156.3
	Linalool	39.1	156.3
	Limonene	156.3	312.5
	Geraniol	19.5	78.1
	3-Carene + Geraniol	39.1	156.3
	Geraniol + Linalool	19.5	39.1
	Geraniol + Limonene	39.1	156.3
B.subtilis	เทพธาโร	10.9	21.9
	กระชาย	169.1	338.3
	3-Carene	78.1	156.3
	Linalool	19.5	39.1
	Limonene	39.1	78.1
	Geraniol	39.1	39.1
	3-Carene + Geraniol	39.1	156.3
	Geraniol + Linalool	19.5	39.1
	Geraniol + Limonene	39.1	156.3

ตารางที่ 14 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบหลัก ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและฆ่าทำลายแบคทีเรีย (MIC และ MBC) (ต่อ)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหยและสารประกอบ	ค่า MIC (μg/ml)	ค่า MBC (μg/ml)
S. pyogenes	เทพธาโร	21.9	43.8
	กระชาย	42.3	169.1
	3-Carene	156.3	156.3
	Linalool	78.1	312.5
	Limonene	312.5	625
	Geraniol	39.1	156.3
	3-Carene + Geraniol	78.1	312.5
	Geraniol + Linalool	39.1	156.3
	Geraniol + Limonene	39.1	156.3
E. coli	เทพธาโร	21.9	87.7
	กระชาย	169.1	676.6
	3-Carene	312.5	625
	Linalool	39.1	78.1
	Limonene	156.3	625
	Geraniol	78.1	156.3
	3-Carene + Geraniol	156.3	625
	Geraniol + Linalool	39.1	78.1
	Geraniol + Limonene	156.3	312.5

ตารางที่ 14 แสดงการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบหลัก ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและฆ่าทำลายแบคทีเรีย (MIC และ MBC) (ต่อ)

แบคทีเรีย	น้ำมันหอมระเหยและสารประกอบ	ค่า MIC (μg/ml)	ค่า MBC (μg/ml)
S. typhi	เทพธาโร	21.9	87.7
	กระชาย	169.1	169.1
	3-Carene	-	-
	Linalool	39.1	156.3
	Limonene	625	625
	Geraniol	156.3	312.5
	3-Carene + Geraniol	156.3	625
	Geraniol + Linalool	156.3	312.5
	Geraniol + Limonene	312.5	312.5
Ps. aeruginosa	เทพธาโร	-	-
	กระชาย	338.3	676.7
	3-Carene	-	-
	Linalool	-	-
	Limonene	-	-
	Geraniol	1250	2500
	3-Carene + Geraniol	1250	2500
	Geraniol + Linalool	1250	2500
	Geraniol + Limonene	1250	2500

ตารางที่ 15 แสดงการทดสอบความไวในการฆ่าทำลายแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบจากเทพธาโร

น้ำมันหอมระเหย และ สารประกอบหลัก	ค่า MBC (μg / ml)					
	S.aureus	*B.subtilis*	*S.pyogenes*	*E.coli*	*S.typhi*	*Ps.aeruginosa*
เทพธาโร	43.8	21.9	43.8	87.7	87.7	-
Linalool	156.3	39.1	312.5	78.1	156.3	-
Geraniol	78.1	39.1	156.3	156.3	312.5	2,500
Linalool + Geraniol	39.1	39.1	156.3	78.1	312.5	2,500