

การคัดแยกน้ำมันหอมระเหยบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

นางสาว ศิริลักษณ์ ฤทธิรักษา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-635-750-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SCREENING OF SOME ESSENTIAL OILS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY

Miss Sirirak Rittiluksa

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Programme of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1996

ISBN 974-635-750-6

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ศิริลักษณ์ ฤทธิรักษา : การคัดแยกน้ำมันหอมระเหยบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

(SCREENING OF SOME ESSENTIAL OILS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY)

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. โสภณ เรืองสำราญ , อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. สุเทพ ธนีนวัน ,

101 หน้า. ISBN 974-635-750-6

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแล้ววิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี โดยนำพืช 23 ชนิดมาสกัดแยกน้ำมันหอมระเหยและนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis* , *Streptococcus pyogenes* , *Salmonella typhi* , *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี agar diffusion test พบว่าน้ำมันกระชาย (Black Galingale oil) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ และน้ำมันเทพาโร (Cinnamon oil) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ยกเว้น *Pseudomonas aeruginosa* แต่มีประสิทธิภาพยับยั้งสูงสุด ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันกระชายในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียมีค่าระหว่าง 42.3 - 338.3 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันเทพาโรในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียมีค่าระหว่าง 10.9 - 21.9 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

จากการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี / แมสสเปกโตรเมตรี พบว่าน้ำมันกระชายมีองค์ประกอบหลักคือ 3-Carene (33.82 %) และ Geraniol (28.84 %) ส่วนน้ำมันเทพาโรมีองค์ประกอบหลักคือ Linalool (96.17 %) และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้

ภาควิชา

สาขาวิชา เทคโนโลยีสิ่งทอ

ปีการศึกษา 2539

ลายมือชื่อนิติ Amy J.

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. โสภณ เรืองสำราญ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. สุเทพ ธนีนวัน

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

C727051 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: ESSENTIAL OILS / ANTIBACTERIAL / GAS CHROMATOGRAPHY / MASS SPECTROMETRY

SIRIRAK RITTIKUSKA : SCREENING OF SOME ESSENTIAL OILS WITH ANTIBACTERIAL ACTIVITY.

THESIS ADVISOR : ASSO.PROF.SOPHON ROENGSUMRAN , Ph. D. , THESIS CO - ADVISOR : ASSIS.

PROF. SUTHEP THANIVAVARN , Ph. D. 101 pp. ISBN 974-635-750-6.

This research has the objective to study the biological activity of essential oils and to study the chemical components of essential oils analysed by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Essential oils from twenty-three medicinal plants were tested against six bacterial strains consisted of *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes* , *Salmonella typhi* , *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Results from agar diffusion showed black galingale oil capable of inhibiting six bacterial strains with MIC in the range of 42.3 - 338.3 μg / ml while cinnamon oil were the same except no inhibiting on *Pseudomonas aeruginosa*. MIC of 10.9 -21.9 μg / ml.

The GC / MS analysis of essential oils indicated that the main components of black galingale oil are 3 - Carene (33.82 %) and Geraniol (28.84 %) while for cinnamon oil is Linalool (96.17 %) . Total main components could inhibit the growth of bacterias .

ภาควิชา.....

สาขาวิชา..... เทคโนโลยีสารสนเทศ

ปีการศึกษา..... 2539

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาและจัดทำวิทยานิพนธ์เรื่อง " การคัดแยกน้ำมันหอมระเหยบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย " สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร. โสภณ เริงสำราญ อาจารย์ที่ปรึกษา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธานีวัน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษาแนะนำในการดำเนินการวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม , อาจารย์ ดร. สุจิตา รักษาศิลป์ และ อาจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเจียร ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้ให้เชื้อแบคทีเรียมาทดสอบ

ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดาซึ่งสนับสนุนในด้านการเงินและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบคุณ เกสัชกรสุรัตน์ ชาวบ้านกร่าง เกสัชกรอาจารย์ ดร. วิเชียร ลีลาสง่าลักษณ์ เพื่อน พี่น้อง ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเคมี ภาควิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ตลอดจนทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในด้าน เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี สถานที่ คำแนะนำ และ กำลังใจ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินงานวิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญรูป.....	ฐ
บทที่ 1	
บทนำ	
คำจำกัดความของยาสมุนไพร.....	3
สารประกอบทางเคมีและเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพร.....	3
น้ำมันหอมระเหย.....	5
องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย.....	6
การแยกองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย.....	7
คุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหย.....	7
การกระจัดกระจายของน้ำมันหอมระเหย.....	13
กรรมวิธีการแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืช.....	15
การเก็บรักษาน้ำมันหอมระเหย.....	16
คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพร.....	18
ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหย.....	23
แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อที่สำคัญทางการแพทย์.....	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การแพร่ของเชื้อเข้าสู่ร่างกาย.....	24
การแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย.....	24
สเตฟิโลค็อกคัส ออเรียส.....	25
สเตรปโตค็อกคัส ไพโออีนิส.....	26
บาซิลลัส ซับไทลิส.....	27
เอสเชอริเชีย โคลิ.....	27
ซอลโมเนลลา ไทฟี.....	27
ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา.....	28
แบคทีเรียกับการดื้อยาปฏิชีวนะ.....	29
อันตรายของยาปฏิชีวนะ.....	30
ยาด้านจุลชีพ.....	31
กระชาย.....	32
เทพธำโร.....	35
การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้านจุลชีพ.....	36
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	37
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	38
บทที่ 2	
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	39
การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืช.....	41
สายพันธุ์แบคทีเรียที่นำมาทดสอบ.....	41

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย.....	42
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญ ของแบคทีเรีย.....	42
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะมาตรฐานที่สามารถยับยั้งการ เจริญของแบคทีเรีย.....	43
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถฆ่าทำลาย แบคทีเรีย.....	43
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย.....	43
การแยกส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย.....	44
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสารประกอบใน น้ำมันหอมระเหย.....	44
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย.....	45
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถ ฆ่าทำลายแบคทีเรีย.....	45
บทที่ 3	
ผลการทดลอง	
การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืช.....	46
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย.....	47
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของเมธานอลและ แผ่นยามาตรฐานด้านจุลชีพ.....	50
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญ ของแบคทีเรีย.....	51

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะมาตรฐานที่สามารถยับยั้ง การเจริญของแบคทีเรีย.....	52
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถฆ่าทำลาย แบคทีเรีย.....	53
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย.....	55
การแยกส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย.....	57
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารประกอบใน น้ำมันหอมระเหย.....	59
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย.....	60
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถ ฆ่าทำลายการเจริญของแบคทีเรีย.....	62
การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบหลักที่ สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและฆ่าทำลายแบคทีเรีย.....	64
การทดสอบความไวในการฆ่าทำลายแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย และสารประกอบจากเทพาโร.....	67
บทที่ 4	
วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง.....	68
รายการอ้างอิง.....	75
ภาคผนวกที่	
1. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในงานวิจัย.....	80
2. กราฟผลการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยโดยเทคนิค GC/ MS.....	82

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3. ตารางแสดงการเปรียบเทียบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าทำลาย แบคทีเรีย.....	84
4. องค์ประกอบทางเคมีและผลการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากแมงลักโดย เทคนิค GC/MS.....	85
ประวัติผู้เขียน.....	87

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างของน้ำมันหอมระเหยในพืชชนิดต่างๆที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย.....	20
2	ตัวอย่างของน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา.....	22
3	ผลการเทียบหาเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆของพืช.....	46
4	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดต่างๆ.....	47
5	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของเมธานอลและแผ่นยามาตรฐานด้านจุลชีพ.....	49
6	การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC).....	50
7	การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะมาตรฐานที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC).....	51
8	การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถฆ่าทำลายการเจริญของแบคทีเรีย (MBC).....	52
9	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากกระชายจากการวิเคราะห์โดยเทคนิค GC / MS.....	54
10	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเทพทราโรจากการวิเคราะห์โดยเทคนิค GC / MS.....	55
11	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหย.....	55
12	การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC).....	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่สามารถ ฆ่าทำลายการเจริญของแบคทีเรีย (MBC).....	59
14	การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบหลักที่ สามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าทำลายแบคทีเรีย.....	64
15	การทดสอบความไวในการฆ่าทำลายแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยและ สารประกอบจากเทพธาโร.....	67
16	แสดงการเปรียบเทียบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและ ฆ่าทำลายแบคทีเรียจากน้ำมันหอมระเหย สารประกอบหลักและ ยาปฏิชีวนะมาตรฐาน.....	84
17	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากแมงลักจากการวิเคราะห์ โดยเทคนิค GC/MS.....	85

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างของสารประกอบพวกโมโนเทอร์ปีนอยด์.....	8
2	สูตรโครงสร้างของสารประกอบพวกเซสควิเทอร์ปีนอยด์.....	11
3	สูตรโครงสร้างของสารประกอบพวกอะโรมาติก.....	12
4	ตัวอย่างพืชที่มีน้ำมันหอมระเหย.....	14
5	ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืช.....	17
6	สูตรโครงสร้างของสารที่ตรวจพบในกระชาย.....	33
7	สูตรโครงสร้างของสารที่ตรวจพบในเทพาโร.....	35
8	ตัวอย่างแสดงผลการทดสอบ Staphylobacterium ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> โดยวิธี Agar Diffusion Test.....	49
9	ตัวอย่างแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อ <i>Escherichia coli</i> โดยวิธี Agar Diffusion Test.....	49
10	แสดงการแยกส่วนประกอบของน้ำมันเทพาโรโดยวิธี HPLC.....	57
11	แสดงการแยกส่วนประกอบของน้ำมันกระชายโดยวิธี HPLC.....	58
12	กราฟแสดงการเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันหอมระเหยจากเทพาโรและกระชายในการทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์.....	71
13	กราฟแสดงการเปรียบเทียบระหว่างสารประกอบ Linalool และ Geraniol กับความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์.....	72
14	กราฟผลการวิเคราะห์น้ำมันกระชายโดยเทคนิค GC / MS.....	82
15	กราฟผลการวิเคราะห์น้ำมันเทพาโรโดยเทคนิค GC / MS.....	83
16	กราฟผลการวิเคราะห์น้ำมันแมงลักโดยเทคนิค GC / MS.....	86