บทที่ 4
ผลการวิจัย

ส่วนที่ 1 การกลั่นน้ำมันระเหย

การกลั่นใบแปรงล้างขวด ได้น้ำมันสีเหลืองอ่อน เบากว่าน้ำ กลิ่นหอมชวนเตมคล้ายน้ำมันยูคาลิปต์ ผลผลิตที่ได้ โดยเฉลี่ย ร้อยละ 0.60 ใบเสม็ดขาว ให้น้ำมันสีเหลืองอ่อน เบากว่าน้ำ กลิ่นคล้ายน้ำมันเขียว ผลผลิตโดยเฉลี่ย ร้อยละ 1.00 ส่วนใบฝรั่งขี้นก ให้ผลผลิตเพียงร้อยละ 0.25 น้ำมันที่ได้สีเหลืองเข้มกว่า เบากว่าน้ำเช่นกันและกลิ่นไม่หอมเท่าสองชนิดแรก

ส่วนที่ 2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันระเหย

น้ำมันระเหยที่กลั่นแยกมาได้ในเบื้องต้นนั้น ประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดรวมกันอยู่ เมื่อนำมาวิเคราะห์ ด้วยเครื่องกาซโครมาโตกราฟี-แมสสเปคโตรเมตรี โดยเปรียบเทียบสเปคตรัมที่ได้กับ terpene library program ทำให้ทราบทั้งชนิดและปริมาณของสาร ดังแสดงใน ตารางที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งจะมีชนิดของสารอยู่กลุ่มหนึ่งที่เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันระเหย เนื่องจากมีปริมาณสูงกว่าชนิดอื่นๆ ดังนี้

2.1 น้ำมันจากใบแปรงล้างขวด จากตารางที่ 1 พบว่า ในจำนวนองค์ประกอบทั้งหมด 34 ชนิด จะมี *1,8*-cineole อยู่มากที่สุดร้อยละ 42.66 รองลงมาคือ α-phellandrene ร้อยละ 13.88 และ α-thujene ร้อยละ 12.82 อีกกลุ่มหนึ่งที่มีปริมาณตั้งแต่ร้อยละ 1-6 (ได้แก่ erpin-4-ol ร้อยละ 6.26, limonene ร้อยละ 5.05, bicyclogermacrene ร้อยละ 4.65, *o*-cymene ร้อยละ 2.67, tricyclene ร้อยละ 1.19, terpinolene ร้อยละ 1.14) มีส่วนร่วมอยู่ประมาณร้อยละ 21 ของปริมาณรวมทั้งหมด ดังนั้นกว่าร้อยละ 90 ของน้ำมันระเหยที่กลั่นได้จากใบแปรงล้างขวด จะเป็นของสารประกอบเพียง 9 ชนิดดังกล่าว ส่วนที่เหลืออีก 25 ชนิด มีปริมาณรวมกันเพียงร้อยละ 10 ของทั้งหมด และแต่ละชนิดมีปริมาณไม่ถึงร้อยละ 1

2.2 น้ำมันจากใบเสม็ดขาว จากตารางที่ 2 พบว่า ในจำนวนองค์ประกอบทั้งหมด 45 ชนิด มีองค์ประกอบหลักอยู่ 2 ชนิดรวมกันร้อยละ 51.76 ได้แก่ terpinolene ร้อยละ 29.21 และ α terpinene ร้อยละ 22.55 รองลงมาอีก 2 ชนิดมีปริมาณรวมกัน

ร้อยละ 16.14 ได้แก่ 2-δ-carene ร้อยละ 8.53 และ α - phellandrene ร้อยละ 7.61 อีกกลุ่มหนึ่งที่มีปริมาณตั้งแต่ร้อยละ 1-4 มีอยู่ 12 ชนิด รวมกันแล้วมีปริมาณร้อยละ 24 ของปริมาณรวมทั้งหมด ทั้ง 16 ชนิดที่กล่าวมาแล้วนี้ มีปริมาณรวมกันถึงร้อยละ 92 ของน้ำมันระเหยที่กลั่นได้จากใบเสม็ดขาว อีก 29 ชนิดที่เหลือ มีปริมาณรวมกันเพียงร้อยละ 8 ของทั้งหมด และแต่ละชนิดมีปริมาณไม่ถึงร้อยละ 1

2.3 น้ำมันจากใบฝรั่งขี้นก จากตารางที่ 3 พบว่า ในจำนวนองค์ประกอบทั้งหมด 37 ชนิด องค์ประกอบหลักคือ caryophyllene oxide มีปริมาณมากที่สุด คือร้อยละ 40.55 รองลงมาอีก 2 ชนิด มีปริมาณรวมกันประมาณร้อยละ 30 ได้แก่ (*Z*-)-nerolidol ร้อยละ16.54 และ *cis*-sesquisabinene hydrate ร้อยละ 13.35 อีกกลุ่มหนึ่งที่มีปริมาณตั้งแต่ร้อยละ 1-5 มีอยู่ 8 ชนิด รวมกันแล้วมีปริมาณร้อยละ 22 ของปริมาณรวมทั้งหมด ทั้ง 11 ชนิดที่กล่าวมาแล้วนี้ มีปริมาณรวมกันถึงร้อยละ 93 ของน้ำมันระเหยที่กลั่นได้จากใบฝรั่งขี้นก อีก 26 ชนิดที่เหลือ มีปริมาณรวมกันเพียงร้อยละ 7 และแต่ละชนิด มีปริมาณไม่ถึงร้อยละ 1

ส่วนที่ 3 การทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพของน้ำมันระเหย

การทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพ โดยใช้เชื้อที่เป็นตัวแทนกลุ่ม ดังนี้

Staphylococcus aureus ATCC 29213 เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มกรัมบวก

Escherichia coli ATCC 25922 เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มกรัมลบ

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มกรัมลบ

Bacillus subtilis ATCC 6633 เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มสร้างสปอร์

Candida albicans ATCC 10231 เป็นตัวแทนเชื้อราในกลุ่มยีสต์

Trichophyton mentagrophytes เป็นตัวแทนเชื้อราในกลุ่มราสาย (mold)

3.1 การทดสอบเบื้องต้นเพื่อดูว่าน้ำมันระเหยชนิดใด แสดงฤทธิ์การฆ่าเชื้อชนิดใด พบว่า น้ำมันระเหยทั้ง 3 ชนิด แสดงฤทธิ์ต่อต้านทั้งแบคทีเรียและรา ดังได้แสดงใน ตารางที่ 4,5 และ 6 ดังนี้

น้ำมันจากใบแปรงล้างขวด (ตารางที่ 4) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus, B. subtilis* และ *T. mentagrophytes*

น้ำมันจากใบเสม็ดขาว (ตารางที่ 5) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus, B. subtilis, C. albicans* และ *T. mentagrophytes*

น้ำมันจากใบฝรั่งขี้นก (ตารางที่ 6) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus, B. subtilis* และ *T. mentagrophytes*

3.2 การหาค่า MIC เนื่องจากการทดสอบเบื้องต้น เราใช้วิธี Agar diffusion method ขนาดของวงใสที่เกิด ไม่สามารถชี้ชัดได้ถึงความแรงหรือประสิทธิภาพที่เหนือกว่ากันและกันของน้ำมันทั้ง 3 ชนิดนี้ได้ เพราะอัตราความสามารถในการแทรกซึมในเนื้อวุ้นอาจแตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อทราบฤทธิ์เบื้องต้นว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดใดแล้ว จึงนำมาหาค่า MIC อีกครั้งโดยใช้วิธี broth microdilution method ซึ่งวิธีนี้ทั้งน้ำมันระเหยและเชื้อสามารถสัมผัสกันได้โดยตรงอย่างทั่วถึง ผลการทดสอบพบว่า

น้ำมันจากใบแปรงล้างขวด (ตารางที่ 7) ได้ค่า MIC ของเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ ร้อยละ 0.63 ปริมาตร/ปริมาตร, *B. subtilis* ร้อยละ 0.31 ปริมาตร/ปริมาตร และ *T. mentagrophytes* ร้อยละ 0.31 ปริมาตร/ปริมาตร

น้ำมันจากใบเสม็ดขาว (ตารางที่ 8) ได้ค่า MIC ของเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ ร้อยละ 2.50 ปริมาตร/ปริมาตร, *B. subtilis* ร้อยละ 1.25 ปริมาตร/ปริมาตร, *C. albicans* ร้อยละ 0.63 ปริมาตร/ปริมาตร และ *T. mentagrophytes* ร้อยละ 0.16 ปริมาตร/ปริมาตร

น้ำมันจากใบฝรั่งขี้นก (ตารางที่ 9) ได้ค่า MIC ของเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ ร้อยละ 2.50 ปริมาตร/ปริมาตร, *B. subtilis* ร้อยละ 1.25 ปริมาตร/ปริมาตร และ *T. mentagrophytes* ร้อยละ 0.31 ปริมาตร/ปริมาตร

RAJABHAT PHRAPHUTTHAYODFA PHRAKIET UNIVERSITY

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันระเหยจากใบของต้นแปรงล้างขวด (*Callistemon lanceolatus* DC. MYRTACEAE)

Peak No.	Retention Time	Component*	% Area
1	4.34	tricyclene	1.19
2	4.51	α-thujene	12.82
3	5.46	sabinene	0.87
4	5.66	myrcene	0.92
5	6.11	α-phellandrene	13.88
6	6.38	α-terpinene	0.27
7	6.59	*o*-cymene	2.67
8	6.69	limonene	5.05
9	6.79	*1,8*-cineole	42.66
10	7.11	*(E-)*-β-ocimene	0.54
11	7.44	γ-terpinene	0.85
12	8.21	terpinolene	1.14
13	9.43	linalool	0.05
14	10.76	*cis*-pinene hydrate	0.09
15	10.86	isoborneol	0.19
16	11.11	borneol	0.72
17	11.59	erpin-4-ol	6.26
18	13.16	α-terpineol	0.70
19	13.66	*cis*-ascaridole	[a]tr
20	16.91	*trans*-ascaridole	0.05
21	16.99	copaene	0.11
22	17.84	geranyl acetate	[a]tr
23	18.23	cyperene	0.94
24	18.78	*cis*-caryophyllene	0.09
25	19.28	aromadendrene	0.19
26	19.39	α-humulene	0.07
27	20.28	*allo*-aromadendrene	0.14
28	20.43	viridiflorene	0.10
29	20.98	bicyclogermacrene	4.65
30	22.78	germacrene B	0.54
31	23.00	spathulenol	0.51
32	23.26	globulol	0.17
33	23.89	guaiol	1.23
34	24.28	*(Z-)*-lanceol	0.32

*All components identified by Retention Index and Mass spectra : terpene library program (Adam. 1995)
[a]tr = trace < 0.05 %

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันระเหยจากใบของต้นเสม็ดขาว (*Melaleuca leucadendron* L. var. *minor* Duthie MYRTACEAE)

Peak No.	Retention time	Components*	% Area
1	4.73	α-thujene	2.19
2	4.93	3-δ-carene	2.59
3	5.96	sabinene	0.45
4	6.11	β-phellandrene	0.40
5	6.41	myrcene	0.64
6	6.98	α - phellandrene	7.61
7	7.33	2-δ-carene	8.53
8	7.61	*o*-cymene	1.46
9	7.74	limonene	2.12
10	7.96	(*E*-)-β-ocimene	0.10
11	8.34	(*Z*-)-β-ocimene	0.10
12	8.79	α - terpinene	22.55
13	9.84	terpinolene	29.21
14	10.53	linalool	0.72
15	11.56	*trans-para*-menth-2-en-1-ol	0.25
16	12.34	*trans*-sabinene hydrate	0.19
17	14.00	terpin-4-ol	0.10
18	14.46	*p* - cymene-9-ol	1.57
19	14.73	α - terpineol	0.17
20	15.34	*cis* - piperitol	0.05
21	20.99	δ - elemene	0.21
22	22.09	(*E*-) - isoeugenol	0.16
23	22.83	α - copaene	0.05
24	23.18	(*Z*-) - caryophyllene	1.44
25	23.53	β - elemene	0.05
26	24.29	methyl eugenol	3.51
27	24.81	(*E*-) - caryophyllene	1.62
28	26.46	α - humulene	0.06
29	27.26	β - patchoulene	2.52
30	27.61	β - cubebene	0.24
31	27.98	viridiflorene	1.88
32	28.28	bicyclogermacrene	0.14
33	28.63	γ - cadinene	0.27
34	28.79	α - bulnesene	1.96
35	29.08	δ - cadinene	0.45
36	29.31	elemol	0.20
37	30.79	germacrene B	0.32
38	30.99	spathulenol	0.18
39	31.94	globulol	0.51
40	32.30	β - eudesmol acetate	[a]tr
41	32.66	guaiol	0.18
42	32.83	α - cadinol	[a]tr
43	33.08	isomenthone [2-(3-oxobutyl)-]	0.90
44	35.39	selin-11-en-4α-ol	0.95
45	35.66	bulnesol	1.19

*All components identified by Retention Index and Mass spectra : terpene library program (Adam. 1995)
[a]tr = trace < 0.05 %

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันระเหยจากใบของต้นฝรั่งขี้นก

(*Psidium guajava* Linn. MYRTACEAE)

Peak No.	Retention time	Components *	% Area
1	5.93	benzaldehyde	0.12
2	7.89	limonene	0.07
3	8.03	*1,8*-cineol	0.69
4	8.36	lavender lactone	0.15
5	10.84	linalool	[a]tr
6	15.28	α-terpineol	0.13
7	23.93	*3* α-copaene	0.18
8	24.41	α-longipinene	0.29
9	24.76	*9-epi-(E-)*-caryophyllene	0.14
10	25.33	β-longipinene	0.17
11	26.19	β-gurjunene	[a]tr
12	26.93	*allo*-aromadendrene	4.34
13	27.80	seychellene	[a]tr
14	27.98	α-humulene	0.09
15	28.19	aromadendrene	0.57
16	28.79	γ-cadinene	0.46
17	29.21	cuparene	0.51
18	29.43	β-selinene	0.40
19	29.77	α-selinene	[a]tr
20	29.94	isoledene	0.09
21	30.48	β-bisabolene	3.52
22	31.93	γ-cadinene	0.35
23	32.38	globulol	[a]tr
24	32.84	*epi*-longipinanol	2.25
25	32.98	juniper camphor	2.14
26	33.13	*(Z-)*-nerolidol	16.54
27	33.81	caryophyllene oxide	40.55
28	34.06	*cis*-sesquisabinene hydrate	13.35
29	34.46	α-eudesmol acetate	1.74
30	35.09	humulene epoxide II	3.79
31	36.91	α-muurolol	3.02
32	37.29	α-cadinol	1.71
33	37.38	selin-11-en-4α-ol	0.14
34	38.68	*epi*-α-bisabolol	0.55
35	38.80	α-bisabolol	0.99
36	40.16	cedroxyde	0.47
37	40.84	β-bisabolenal	0.38

*All components identified by Retention Index and Mass spectra : terpene library program (Adam. 1995)
[a]tr = trace < 0.05 %

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันระเหยจากใบของต้นแปรงล้างขวด (*Callistemon lanceolatus* DC.)

เชื้อจุลินทรีย์	ผลการทดลอง	เงื่อนไข
Staphylococcus aureus ATCC 29213	+	37° ซ 24 ชม.
Escherichia coli ATCC 25922	-	37° ซ 24 ชม.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	37° ซ 24 ชม.
Bacillus subtilis ATCC 6633	++	37° ซ 24 ชม.
Candida albicans ATCC 10231	-	30° ซ 48 ชม.
Trichophyton mentagrophytes แยกจากผู้ป่วย	+++	30° ซ 48-72 ชม.

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันระเหยจากใบของต้นเสม็ดขาว (*Melaleuca leucadendron* L. var. *minor* Duthie)

เชื้อจุลินทรีย์	ผลการทดลอง	เงื่อนไข
Staphylococcus aureus ATCC 29213	++++	37° ซ 24 ชม.
Escherichia coli ATCC 25922	-	37° ซ 24 ชม.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	37° ซ 24 ชม.
Bacillus subtilis ATCC 6633	++++	37° ซ 24 ชม.
Candida albicans ATCC 10231	+++	30° ซ 48 ชม.
Trichophyton mentagrophytes แยกจากผู้ป่วย	+++	30° ซ 48-72 ชม.

HUACHIEW CHALERMPRAKIET UNIVERSITY 華僑崇聖大學

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันระเหยจากใบของต้นฝรั่งขี้นก (*Psidium guajava* Linn.)

เชื้อจุลินทรีย์	ผลการทดลอง	เงื่อนไข
Staphylococcus aureus ATCC 29213	++++	37° ซ 24 ชม.
Escherichia coli ATCC 25922	-	37° ซ 24 ชม.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	37° ซ 24 ชม.
Bacillus subtilis ATCC 6633	++++	37° ซ 24 ชม.
Candida albicans ATCC 10231	-	30° ซ 48 ชม.
Trichophyton mentagrophytes แยกจากผู้ป่วย	+++	30° ซ 48-72 ชม.

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพ (MIC ร้อยละปริมาตร/ปริมาตร) ของน้ำมันระเหยจากใบของต้นแปรงล้างขวด (*Callistemon lanceolatus* DC.)

เชื้อจุลินทรีย์	ผลการทดลอง	เงื่อนไข
Staphylococcus aureus ATCC 29213	0.63	37° ซ 24 ชม.
Escherichia coli ATCC 25922	-	37° ซ 24 ชม.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	37° ซ 24 ชม.
Bacillus subtilis ATCC 6633	0.31	37° ซ 24 ชม.
Candida albicans ATCC 10231	-	30° ซ 48 ชม.
Trichophyton mentagrophytes แยกจากผู้ป่วย	0.31	30° ซ 72 ชม.

HUACHIEW CHALERMPRAKIET UNIVERSITY 華僑崇聖大學

ตารางที่ 8 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพ (MIC ร้อยละปริมาตร/ ปริมาตร) ของน้ำมันระเหยจากใบของต้นเสม็ดขาว (*Melaleuca leucadendron* L. var. *minor* Duthie)

เชื้อจุลินทรีย์	ผลการทดลอง	เงื่อนไข
Staphylococcus aureus ATCC 29213	2.50	37° ซ 24 ชม.
Escherichia coli ATCC 25922	-	37° ซ 24 ชม.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	37° ซ 24 ชม.
Bacillus subtilis ATCC 6633	1.25	37° ซ 24 ชม.
Candida albicans ATCC 10231	0.63	30° ซ 48 ชม.
Trichophyton mentagrophytes แยกจากผู้ป่วย	0.16	30° ซ 72 ชม.

ตารางที่ 9 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพ (MIC ร้อยละ ปริมาตร/ ปริมาตร) ของน้ำมันระเหยจากใบของต้นฝรั่งขี้นก (*Psidium guajava* Linn.)

เชื้อจุลินทรีย์	ผลการทดลอง	เงื่อนไข
Staphylococcus aureus ATCC 29213	2.50	37° ซ 24 ชม.
Escherichia coli ATCC 25922	-	37° ซ 24 ชม.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	37° ซ 24 ชม.
Bacillus subtilis ATCC 6633	1.25	37° ซ 24 ชม.
Candida albicans ATCC 10231	-	30° ซ 48 ชม.
Trichophyton mentagrophytes แยกจากผู้ป่วย	0.31	30° ซ 72 ชม.