

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่น

ณัฐกานต์ วงศ์สีสม¹ จามจรี จินะตา¹ บุษบา มะโนแสน² จิรรัชต์ กันทะขู้²

สุรีพร วันควร³ และ สุภาวดี ศรีแย้ม²

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา อ่างเภอฝาง จังหวัดน่าน 55000

บทคัดย่อ

มะแขว่น (*Zanthoxylum limonella* Alston) เป็นเครื่องเทศชนิดหนึ่งที่ถูกนิยมนำมาใช้ในการปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารในภาคเหนือของประเทศไทย และจัดเป็นพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีสรรพคุณทางยาอีกด้วย งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามะแขว่นมีฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย แต่ยังไม่พบรายงานการศึกษาโดยแยกแต่ละส่วนของมะแขว่นมาทำการทดสอบ งานวิจัยนี้จึงได้นำมะแขว่นมาแยกส่วนออกเป็น 3 ส่วน คือ เปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ด และผลรวม (เปลือกหุ้มเมล็ดและเมล็ด) และสกัดน้ำมันหอมระเหยจากแต่ละส่วนโดยวิธีการต้มกลั่น จากผลการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentrations, MIC) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหุ้มเมล็ดออกฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ดีที่สุดโดยให้ค่า MIC เท่ากับ 6.64 mg/mL ในขณะที่ค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยจากผลรวมที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* เท่ากับ 26.56 mg/mL เมื่อนำผลมาศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด (Minimum Bactericidal Concentrations, MBC) พบว่าค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหุ้มเมล็ดต่อเชื้อ *Escherichia coli* เท่ากับ 6.64 mg/mL ซึ่งเป็นค่าที่แสดงการออกฤทธิ์ได้ดีกว่ากรณีที่ทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ซึ่งมีค่า MBC เท่ากับ 26.56 และ 13.28 mg/mL ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นด้วยเทคนิค GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) พบว่าองค์ประกอบหลักที่สำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ดมะแขว่น และผลรวม คือ Limonene คิดเป็นร้อยละ 46.0 69.9 และ 42.8 ตามลำดับ

คำสำคัญ : น้ำมันหอมระเหย / มะแขว่น / ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

* Corresponding author : supawadee_s@rmu.ac.th

¹ นักศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

² อาจารย์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

³ ผู้ช่วยวิจัย ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร

Anti-Bacterial Activities of Essential Oils from Mah-Khwuaen (*Zanthoxylum limonella* Alston)

Natthakarn Wongsrisom¹ Jamjuree Jinata¹ Bussaba Manosan² Jirarat Kuntakhoo²
Sureeporn Wankuan³ and Supawadee Sriyam^{2*}

Rajamangala University of Technology Lanna, Phu Phiang, Nan, Thailand 55000

Abstract

Mah-Khwuaen (*Zanthoxylum limonella* Alston) is a spice that has been used for enhancing the flavor of local food in northern Thailand. The spice is also known as a traditional herb with medicinal properties. Antibacterial activity of essential oils from Mah-Khwuaen has been reported. However, the activities of essential oils extracted from each part of Mah-Khwuaen have not been fully investigated. In this research, three parts of Mah-Khwuaen fruits, which consisted of seed coats, seeds and whole fruits (seed coats and seeds) were used for essential oils extraction by hydrodistillation method. Evaluation of the minimum inhibitory concentration (MIC) showed that the MIC of 6.64 mg/mL was required to inactivate *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* when the oils from seed coats were tested. On the other hand, the MIC value of Mah-Khwuaen fruits oils against *Bacillus cereus* was 26.56 mg/mL. The results of the minimum bactericidal concentration (MBC) revealed that seed coats oils exhibited the highest anti-bacterial activity against *Escherichia coli* at 6.64 mg/mL, followed by *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* (26.56 and 13.28 mg/mL), respectively. The chemical compositions of Mah-Khwuaen were analyzed by GC-MS. The result showed that the major compound of Mah-Khwuaen seed coats, seeds and whole fruits are limonene, with the contents at 46.0 %, 69.9 % and 42.8 %, respectively.

Keywords : Anti-Bacterial Activity / Essential Oils / *Zanthoxylum limonella* Alston

* Corresponding author : supawadee__s@rmutl.ac.th

¹ Undergraduate Student, Department of Agro-Industry, Faculty of Science and Agricultural Technology.

² Lecturer, Department of Agro-Industry, Faculty of Science and Agricultural Technology.

³ Research Assistant, Biotechnology Center, Faculty of Science and Agricultural Technology.

1. บทนำ

พืชสมุนไพรและพืชผักพื้นบ้านของประเทศไทยมีหลายชนิด อาทิ กระเทียม มะกรูด กานพลู อบเชย หัวหอม เป็นต้น โดยสามารถนำมารับประทานได้ทั้งแบบสดและเป็นส่วนประกอบในอาหาร ปัจจุบันการศึกษาวิจัยการใช้พืชสมุนไพรและพืชผักต่างๆ เป็นยารักษาโรคตลอดจนมีการศึกษาการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นสารกันเสียในอาหารและเครื่องดื่ม [1] ในบรรดาพืชสมุนไพรต่างๆ มะแขว่นจัดเป็นพืชสมุนไพรที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นพืชพื้นถิ่นที่พบมากทางภาคเหนือของไทยและเป็นเครื่องเทศชนิดหนึ่งที่ยิยมใช้เป็นส่วนประกอบในการปรุงแต่งรสอาหารในแถบภาคเหนือตอนบน

มะแขว่น (*Zanthoxylum limonella* Alston) เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ สูงประมาณ 10-20 เมตร ผลมีลักษณะแห้งกลม ผิวขรุขระสีน้ำตาล เมื่อแก่ผลจะแตกจนเห็นเมล็ดสีดำกลมผิวเรียบเป็นมัน มีกลิ่นหอมฉุนคล้ายผักชี มีรสเผ็ดเล็กน้อย มะแขว่นเป็นพืชที่พบในแถบจังหวัดภาคเหนือตอนบน คือ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน พะเยาแพร่ รวมทั้งในเขตพื้นที่จังหวัดน่าน ซึ่งพบมากในอำเภอสองแคว อำเภอปัว และอำเภอนาหมื่น โดยปกติทางภาคเหนือนิยมใช้มะแขว่นเป็นเครื่องชูกลิ่นรสในอาหารหลายประเภท เช่น ลาบ หลู้ ยำและแกงต่างๆ เพื่อช่วยให้อาหารมีกลิ่นหอมรับประทานและช่วยให้เจริญอาหาร นอกจากนี้จะนิยมใช้เป็นเครื่องเทศเติมในอาหารแล้วนั้นยังพบว่าสามารถนำมะแขว่นมาใช้ในอุตสาหกรรมยา เช่น การนำผลมะแขว่นมาใช้เป็นส่วนประกอบในยาบำรุงหัวใจ แก้โลหิตเป็นพิษ บำรุงโลหิต ขับลมในทางเดินอาหาร แก้กวิงเวียนศีรษะ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีความเป็นไปได้ในการสกัดน้ำมันระเหยจากมะแขว่นเพื่อใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียได้อีกด้วย

สำหรับแบคทีเรียก่อโรคในอาหารที่พบบ่อยและก่อให้เกิดปัญหาทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ ได้แก่ *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Bacillus cereus* ซึ่งอาจพบปนเปื้อนได้ในอาหารทั่วไป [2] โดยปกติการใช้กระบวนการถนอมอาหาร เช่น การใช้ความร้อนกับอาหาร

การเติมวัตถุเจือปนหรือสารเคมีลงไปในอาหาร จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้ แต่วิธีการเหล่านี้อาจมีผลกระทบต่อเนื้อสัมผัสของอาหารหรือความต้องการของผู้บริโภคได้ ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยนำสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรหรือพืชเครื่องเทศต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยนำเอาน้ำมันหอมระเหยที่ได้มาใช้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แทนสารเคมี ตัวอย่างเช่น Wannisorน และคณะ [1] รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากสมุนไพรไทย ได้แก่ *Zingiber cassumuna* (ไพล), *Cinnamomum bejolghota* (อบเชยไทย), *Mentha arvensis* var. *peppercens* (peppermint), *Cymbopogon citrates* (ตะไคร้) และ *Ocimum basilicum* var. *citratum* (basil) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคในทางเดินอาหาร คือ *Salmonella* sp., *Escherichia coli* O157: H7 DMST 12743, *Campylobacter jejunii* และ *Clostridium perfringens* ส่วนการวิจัยของ Javed และคณะ [3] รายงานผลว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนของเปลือกพืชตระกูลส้มด้วยวิธีการกลั่นให้ผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากผิวมะกรูดนั้นพบว่า สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหารได้เช่นกัน [4] ผลการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกระเพรา โหระพา สะระแหน่ พบว่าสารที่สำคัญของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชสมุนไพรเหล่านี้ ได้แก่ Eugenol, Carvacrol, Menthol และ Limonene สำหรับในพืชตระกูลส้มพบว่าองค์ประกอบหลักที่พบส่วนใหญ่จะเป็นสาร Limonene, β -pinene, Sabinene และ Citronellal [5-6] จากรายงานการศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรของไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเช่น แซนโทน (Xanthones) เป็นสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* อันเป็นสาเหตุของการเกิดหนอง [7] Ehsani และคณะ [8] รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากไม้จำพวกสน (*Juniperus*) มีคุณสมบัติที่ดีในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และพบสารสำคัญหลักที่อาจเป็นสารที่ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดี คือ

กลุ่มสาร α -pinene, Limonene และ Sabinene จาก ข้อมูลวิจัยเบื้องต้นนั้นยังไม่พบว่ามีสารรายงานเกี่ยวกับ องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่ ออกฤทธิ์และให้ประสิทธิภาพอย่างจำเพาะเจาะจงในการ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร ดังนั้นงานวิจัยนี้มี วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการออกฤทธิ์ของ น้ำมันหอมระเหยที่แยกจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นที่มี ผลต่อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารและศึกษาองค์ ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากแต่ละส่วน

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

มะแขว่นแห้ง (*Zanthoxylum limonella* Alston) ได้จากตำบลเมืองลี อำเภอนาหมื่น จังหวัดน่าน ก่อนการ วิเคราะห์ นำตัวอย่างมะแขว่นมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จนมีปริมาณ ความชื้นไม่เกินร้อยละ 16 (ฐานเปียก) แล้วเก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ศึกษาวิจัย ต่อไป

2.1 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ได้รับการอนุเคราะห์จากสาขาวิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน

2.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นในแต่ละ ส่วน

นำผลมะแขว่นแห้ง ซึ่งมีปริมาณความชื้นไม่เกิน ร้อยละ 16 มาทำการคัดแยกออกเป็น 3 ส่วนเพื่อใช้ในการ ศึกษาวิจัย ได้แก่ เปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ด และผลรวม (เปลือกหุ้มเมล็ดและเมล็ด) บดละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้ากำลัง 600 วัตต์ นาน 10-15 นาที (ยี่ห้อ Buono, รุ่น BUO-12KP61, USA) จากนั้นร่อน มะแขว่นที่ผ่านการ บดแล้วด้วยตะแกรงร่อนขนาดความถี่ 1 มิลลิเมตร (ยี่ห้อ Heico, ASTM No. 18, India) จากนั้นชั่งตัวอย่างมะแขว่น ที่เตรียมได้ 100 กรัม ใส่ลงในขวดกันกลม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 700 มิลลิลิตร ใส่ Glass Balls 5-7 เม็ด เพื่อ ป้องกันการเดือดแล้วนำไปประกอบกับชุดกลั่น Clevenger ซึ่งเป็นชุดกลั่นที่ประกอบขึ้นสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ ทำการกลั่นที่อุณหภูมิน้ำเดือด (95 องศาเซลเซียส) เป็น ระยะเวลา 3 ชั่วโมง สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่สกัด ได้จะต้องนำมากำจัดน้ำออกก่อนนำไปวิเคราะห์ฤทธิ์ทาง ชีวภาพ โดยการเติมสารโซเดียมซัลเฟตลงไปเนื่องจากสาร ดังกล่าวจะช่วยในการดูดซับน้ำได้ดีจึงทำให้ง่ายต่อการแยก ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยออกจากน้ำที่ปนมาขณะทำการ กลั่น [6] แล้วจึงทำการแยกเอาน้ำมันหอมระเหยออกมา เก็บในขวดใหม่ ปิดฝาขวดให้สนิท เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดลองต่อไป ทำการ ทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการคำนวณปริมาณน้ำมันหอม ระเหยที่สกัดได้ในแต่ละส่วนของมะแขว่นทำได้โดยคิดเป็น ค่าร้อยละของผลผลิต (Yield) ดังสมการที่ (1)

$$\text{ร้อยละของผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักของผลผลิตน้ำมันหอมระเหยที่ผลิตได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างมะแขว่นแห้งตั้งต้น (กรัม)}} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำมันหอม ระเหยจากมะแขว่น

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นในการต้านแบคทีเรีย กระทำโดยวิธี Agar Disc Diffusion โดยหาค่าความ เข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจาก มะแขว่นที่สามารถ

ยับยั้งการเจริญ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจาก มะแขว่นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ทั้งหมด (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) โดยวิธี การดำเนินงานวิจัยดัดแปลงวิธีการของสุริพร [9]

2.3.1 การเตรียมแบคทีเรียทดสอบสำหรับใช้ในการทดลอง

นำแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจำนวน 3 ชนิดดังนี้ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* จากหลอดเชื้อบริสุทธิ์ (Stock เชื้อ) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Streak Plate บนอาหารร่วน Nutrient Agar (NA) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ (ยี่ห้อ Memmert, รุ่น 100-800, Germany) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว Nutrient Broth (NB) แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า (ยี่ห้อ Burgwedel, รุ่น GFL3032, Germany) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ซึ่งจะได้แบคทีเรียอยู่ในระยะ Stationary Phase โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^6 - 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NB แล้วนำไปวัดความขุ่นโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (ยี่ห้อ Thermo scientific, รุ่น Spectronic Biomate 3 Genesys 10, USA) ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.08 - 0.10

2.3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นในการต้านแบคทีเรียทดสอบโดยวิธี Agar Disc Diffusion

การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ด และผลรวม ต่อการยับยั้งของแบคทีเรียทดสอบ กระทำโดยใช้เชื้อที่เตรียมได้ตามข้อ 2.3.1 ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^6 - 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงในสารแขวนลอยของเชื้อแล้วป้ายให้ทั่วผิวหน้าอาหารร่วน NA ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง ทำการเปิด 10 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 850 mg/mL) ของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นเพื่อทดสอบลงในแผ่น Disc (กระดาษกรอง Whatman No.1) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร นำ Disc วางลงที่ตำแหน่งที่กำหนดไว้ จากนั้นนำจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ที่มีน้ำมันหอมระเหยวางบนจานอาหารร่วน NA ที่เตรียมไว้ นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดย

สังเกตโซนใส (Clear Zone) หรือบริเวณยับยั้งที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้น (Inhibition Zone) โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเป็นหน่วยมิลลิเมตร ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะ Amoxicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL เป็น Positive Control ส่วน Negative Control ใช้ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3.3 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

นำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากมะแขว่นแต่ละส่วนมาเจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 6.64-850.00 mg/mL สำหรับ Positive Control ใช้ยาปฏิชีวนะ Amoxicillin ส่วน Negative Control ใช้ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เดิมสารทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มีปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วทำการเปิดสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 10^6 - 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร แต่ละชนิด ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว NB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่า MIC จากหลอดที่มีน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สังเกตไม่เกิดการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ โดยดูจากความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในหลอดทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3.4 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ทั้งหมด (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

นำผลความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (MIC) ในข้อ 2.3.3 มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด (MBC) โดยนำหลอดทดลองที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบไปทำการเพาะเชื้อโดยใช้เทคนิค Streak Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตและบันทึกผลการทดลอง

โดยที่ถ้าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ก็จะไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นด้วยเทคนิค GC-MS (Gas chromatography-mass spectrometry)

การวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่น ทั้งที่สกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ด และผลรวม ด้วยเทคนิค GC-MS สภาวะของเครื่อง GC (ยี่ห้อ Agilent Technology, รุ่น GC 7890 A, USA) ใช้การฉีดที่ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ในส่วนของคอลัมน์ที่ใช้คือ HP-5MS 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 mm Film Thickness (ยี่ห้อ Agilent Technology, รุ่น HP-5MS, USA) ตั้งอัตรา การไหลของก๊าซฮีเลียมเข้าคอลัมน์เป็น 1.0 มิลลิเมตรต่อ นาที ส่วนอุณหภูมิคอลัมน์จะตั้งโปรแกรม โดยใช้อุณหภูมิ เริ่มต้น 60 องศาเซลเซียส จากนั้นเพิ่มขึ้นด้วยอัตราเร็ว 3 องศาเซลเซียสต่อ นาที จนถึงอุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส เวลาการวิเคราะห์นาน 60 นาที ส่วนของ MS (ยี่ห้อ Agilent Technology, รุ่น MSP 5975C, USA) เป็น MS Quadrupole ที่ต่อกับ GC โดยตรง ซึ่งผ่านส่วนเชื่อมต่อ (Transfer Line) ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 150 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ Ion Source เป็น 230 องศาเซลเซียส ในระบบ Electron Impact Ionization (EI) โดยให้ผลการแยกองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยเป็น Total Ion Chromatogram (TIC) ในระบบ Scan Mode ใช้ช่วงของ Mass 30 ถึง 500 AMU (Atomic Mass Unit) และการพิสูจน์เอกลักษณ์ขององค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย

ใช้การเปรียบเทียบสเปกตรัมกับสเปกตรัมมาตรฐานของ Wiley Version 8 Nist 8 Library

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นส่วนต่างๆ

จากการเปรียบเทียบปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่แยกจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่น พบว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดของมะแขว่นจะให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดมีค่าเท่ากับร้อยละ 9.4±0.1 รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนของผลรวมและเมล็ด ดังแสดงผลในตารางที่ 1 ในขณะที่การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม ด้วยวิธีการกลั่นจะได้ผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยเพียงร้อยละ 0.2-0.97 โดยน้ำหนัก [5] สำหรับปริมาณผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยที่ได้พบว่าขึ้นอยู่กับชนิดของพืชสมุนไพรหรือเครื่องเทศ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ [10] และยังพบว่าปัจจัยอื่นก็มีผลต่อปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ได้เช่นกัน ตั้งแต่อัตราการเจริญเติบโตของพืช สภาวะแวดล้อม แสง ปริมาณน้ำที่ได้รับ ส่วนต่างๆ ของตัวอย่างพืช ได้แก่ส่วนของใบ ลำต้น ดอก เป็นต้น จะให้ปริมาณผลผลิตของน้ำมันหอมที่แตกต่างกัน [11,12] รวมทั้งเทคนิคต่างๆ ที่สามารถใช้เพื่อศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของพืช ทั้งการกลั่นด้วยน้ำ (Water Extraction) การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam Extraction) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) หรือเทคนิคการสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Fluid Extraction) [13]

ตารางที่ 1 ร้อยละของผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่น

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ร้อยละของน้ำมันหอมระเหย
1	เปลือกหุ้มเมล็ด	9.4±0.1
2	เมล็ด	0.5±0.1
3	ผลรวม	5.3±0.2

3.2 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของมะแขว่น โดยวิธี Agar Disc Diffusion

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นส่วนต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร 3 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Agar Disc Diffusion บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากมะแขว่นทั้ง 3 ส่วน มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Escherichia coli* และ

Staphylococcus aureus ได้ดี สังเกตจากการตรวจพบการเกิดบริเวณยับยั้งได้อย่างชัดเจน (รูปที่ 1) และให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ในตารางที่ 2 อย่างไรก็ตามน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะแขว่นไม่มีผลยับยั้งการเจริญเมื่อทดสอบกับเชื้อ *Bacillus cereus* จากผลการทดลองยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดของมะแขว่นมีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ได้ดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยของบริเวณยับยั้งมีค่าเท่ากับ 21.0±1.0 มิลลิเมตร



(ก)



(ข)

รูปที่ 1 บริเวณยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากมะแขว่นส่วนต่างๆ ต่อเชื้อ (ก) *Escherichia coli* และ (ข) *Staphylococcus aureus* กำหนดให้ P คือ Amoxicillin เป็น Positive Control, N คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็น Negative Control, A คือ เปลือกหุ้มเมล็ด, B คือ เมล็ด และ C คือ ผลรวม

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นต่อแบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรียทดสอบ	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			
	เปลือกหุ้มเมล็ด	เมล็ด	ผลรวม	Amoxicillin
<i>Escherichia coli</i>	21.0±1.0	4.3±0.6	16.3±1.2	21.7±0.6
<i>Bacillus cereus</i>	13.7±0.6	-	12.3±1.2	12.0±1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.0±1.7	1.3±0.6	10.3±0.6	24.3±0.6

หมายเหตุ - คือ ไม่มี Inhibition zone

3.3 ผลค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

จากการศึกษาหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่น ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (MIC) โดยแปรผันความเข้มข้นตั้งแต่ 6.64–850.00 mg/mL แล้วทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหารจำนวน 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Bacillus cereus* พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากผลรวมมะแขว่น

สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งให้ค่า MIC ที่ได้เท่ากับ 6.64 และ 13.28 mg/mL และน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหุ้มเมล็ดสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้เช่นกันโดยมีค่า MIC เท่ากับ 6.64 mg/mL ส่วนน้ำมันหอมระเหยของมะแขว่นจากเมล็ด พบว่ามีค่า MIC ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารทั้ง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 425.00 mg/mL (ตารางที่ 3) จากผลของค่า MIC แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ทั้ง 3 ส่วนของมะแขว่นมีฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้

ตารางที่ 3 ค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นต่อแบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรียทดสอบ	ค่า MIC (mg/mL)			
	เปลือกหุ้มเมล็ด	เมล็ด	ผลรวม	Amoxicillin
<i>Escherichia coli</i>	≤ 6.64	425.00	13.28	≤ 6.64
<i>Bacillus cereus</i>	13.28	425.00	26.56	106.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤ 6.64	425.00	≤ 6.64	≤ 6.64

3.4 ผลค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนต่างๆของมะแขว่น ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ทั้งหมด (MBC)

ค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดต่อเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* เท่ากับ 6.64 mg/mL รองลงมาคือน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากผลรวมและเมล็ด มีค่า MBC เท่ากับ 13.28 และ 425.00 mg/mL ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยที่

สกัดได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดต่อเชื้อ *Bacillus cereus* ให้ค่า MBC ดีที่สุดมีค่าเท่ากับ 13.28 mg/mL โดยเมื่อเทียบกับฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีค่า MBC เท่ากับ 125.00 mg/mL [14] ซึ่งจากรายงานดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่นที่สกัดได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดและผลรวมให้ฤทธิ์ที่ดีกว่าต่อการฆ่าเชื้อ *Escherichia coli* และในส่วนของ

ฤทธิ์ยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดและผลรวมต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ให้ค่า MBC เท่ากับ 26.56 mg/mL ดังแสดงรายละเอียดผลการทดลองใน ตารางที่ 4 และจากผลการทดลองพบว่าค่า MBC เมื่อเปรียบเทียบกับค่า MIC แล้ว จะมีค่าที่สูงกว่าหรือเท่ากับช่วงความเข้มข้นที่กำหนดไว้ เนื่องจากค่า MBC เป็นค่าที่บ่งบอกค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้จริงในขณะที่ค่า MIC เป็นค่าเบื้องต้นเพื่อประเมินผลของความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ดังรายงานการวิจัยของ Mustafa และคณะ [15] ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เชื้อแบคทีเรียในตระกูล *Staphylococcus aureus* ที่สามารถต้านทานยาปฏิชีวนะ โดยสารสกัดจากใบอบเชยต้นพบว่าค่า MBC มีค่าที่สูงกว่าค่า MIC และสอดคล้องกับรายงานของ Ehsani และคณะ [8] ที่ศึกษาความสามารถฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบและผลของไม้สน พบว่า ค่า MBC ยังคงมีค่าที่สูงกว่า ค่า MIC เช่นเดียวกัน

จากผลการทดสอบค่า MIC และ ค่า MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้งสามชนิดของน้ำมันหอมระเหย

ที่สกัดได้ในแต่ละส่วนของมะแขว่นพบว่าผลการทดสอบมีความสอดคล้องกับผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ในแต่ละส่วน โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด ซึ่งให้ผลผลิตในปริมาณที่สูงที่สุดให้ผลที่ดีและมีฤทธิ์ยับยั้งต่อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารที่ความเข้มข้นระดับต่ำที่สุดเช่นกัน นอกจากผลของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากแต่ละส่วนของพืชตัวอย่างที่ให้ผลแตกต่างในการออกฤทธิ์ยับยั้งแล้ว ยังขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่ใช้อีกด้วย สอดคล้องกับรายการวิจัยของ Silverira และคณะ[16] ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เสื่อมเสียและก่อโรคในอาหาร โดยสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ โหระพา (Basil) อบเชย (Cinnamon) เม็ดยี่หระ (Fennel) ใบกระวาน (Laurel) ตะไคร้ (Lemongrass) สะระแหน่ (Mint) สะระแหน่ญวน (Pennyroyal) ส้มเกลี้ยง (Orange) ออริกาโน (Oregano) และ โรสแมรี่ (Rosemary) ทดสอบด้วยวิธี Agar Disc-Diffusion, MIC และ MBC พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ให้ค่าที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชสมุนไพรและพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ให้ผลการทดสอบที่ดีที่สุด

ตารางที่ 4 ค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นต่อแบคทีเรียทดสอบ

แบคทีเรียทดสอบ	ค่า MBC (mg/mL)			
	เปลือกหุ้มเมล็ด	เมล็ด	ผลรวม	Amoxicillin
<i>Escherichia coli</i>	≤ 6.64	425.00	13.28	13.28
<i>Bacillus cereus</i>	13.28	850.00	53.12	212.50
<i>Staphylococcus aureus</i>	26.56	425.00	26.56	≤ 6.64

3.5 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นด้วยเทคนิค GC-MS

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นด้วยเทคนิค GC-MS ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งแสดงผลทางเคมีที่สำคัญ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดและส่วนของเมล็ดวิเคราะห์ได้มี

องค์ประกอบหลักทั้งหมด 12 ชนิด ในขณะที่ส่วนของผลรวมพบว่ามียังองค์ประกอบทั้งหมดอยู่ 20 ชนิด โดยจากการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากทั้งสามส่วนนั้นพบว่ามียังองค์ประกอบหลักคือ Limonene คิดเป็นร้อยละ 46.0 ในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด ส่วนของเมล็ด คิดเป็นร้อยละ 69.9 และ ส่วนของผลรวม คิดเป็นร้อยละ 42.8 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่ามีการวิจัยที่ศึกษาพบว่า Limonene เป็นองค์ประกอบสำคัญที่พบใน

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากพืชตระกูลส้ม ซึ่งมะเขว่นจัดอยู่ในพืชตระกูลส้มเช่นกัน นอกจากนี้ Asgarpannah และคณะ [17] รายงานว่าองค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนของเปลือกและใบของพืชตระกูลส้ม นั้นส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มของ Monoterpene โดยรายงานสารสำคัญที่พบในส่วนของเปลือกส้มคือ Limonene และ γ -terpinene ในส่วนของใบ คือ Linalool, Sabinene และ Limonene สำหรับงานวิจัยของ Jazet Dongmo และคณะ [18] ได้ศึกษาสารสำคัญโดยทำการสกัดด้วยวิธีการต้มกลั่นในพืชตระกูลส้ม และพบสาร Limonene เป็นองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกัน จากรายงานผลการวิจัยดังกล่าวสรุปได้ว่าสารสำคัญที่พบเป็นสารตัวเดียวกันถึงแม้ว่าจะมาจากคนละส่วนในพืชชนิดเดียวกัน แต่ปริมาณที่พบมีความแตกต่างกัน นอกจากนี้มีรายงานผลการวิจัยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีกลุ่ม Terpene Hydrocarbons ได้แก่ Limonene, Sabinene, Alpha Sabinene, Linalool, Citral

ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติที่ออกฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียได้ดี [15, 19-20] เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจาก มะเขว่นแต่ละส่วนนั้น ผลการทดลองพบว่าองค์ประกอบหลักที่ได้คือ Limonene ซึ่งในแต่ละส่วนจะมีสารสำคัญที่แตกต่างกัน สารบางชนิดที่ตรวจพบในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดและผลรวม ในขณะที่ส่วนของเมล็ดไม่พบ ได้แก่ o-cymene, 4-carvomenthenol, 4-iso-propylcyclohex-2-en-1-one, 2-undecanone และ Geranyl Acetate จากผลการวิจัยดังกล่าวข้างต้น อาจมีความเป็นไปได้ว่าสารเหล่านี้เมื่อออกฤทธิ์ร่วมกับสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักแล้วทำให้มี คุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิดซึ่งมีความโดดเด่น ความเหมือนและความแตกต่างกัน รวมทั้งทำให้ส่งผลต่อสมบัติการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันได้ [21]

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่น

No.	Chemical Compositio	% Relative Area		
		เปลือกหุ้มเมล็ด	เมล็ด	ผลรวม
1	alpha-pinene	14.44	4.95	5.83
2	Sabinene	2.91	1.41	9.17
3	beta-myrcene	2.33	2.93	4.57
4	1-phellandrene	ND	7.24	NA
5	o-cymene	9.49	ND	10.09
6	Limonene	46.03	69.85	42.83
7	3-carene	ND	8.59	NA
8	Linalool	3.56	2.34	4.05
9	4-carvomenthenol	1.82	ND	2.25
10	4-iso-propylcyclohex-2-en-1-one	3.95	ND	4.47
11	neo-allo-ocimene	ND	0.54	NA
12	alpha-terpineol	1.3	0.63	1.64
13	4-isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol	ND	ND	0.74
14	2-ethylhexylacetate	1.22	0.47	ND
15	(2Z)-3,7-dimethyl-2, 6-octadienyl 2-methylpropanoate	ND	0.73	NA
16	caryophyllene	ND	0.34	0.58
17	2-undecanone	1.11	ND	1.40
18	Geranyl Acetate	5.02	ND	5.98
19	alpha-phellandrene epoxide	NA	NA	0.94
20	2-ethylhexylacetate	NA	NA	1.53
21	cis-carveol	NA	NA	0.91
22	2-methyl-3-phenyl-propanal	NA	NA	0.70
23	s-carvone	NA	NA	0.82
24	1-hydroxymethyl-4-isopropylbenzene	NA	NA	0.62
25	beta-caryophyllene epoxide	NA	NA	0.88

หมายเหตุ ND (Not Detected) คือ ไม่ตรวจพบสารสำคัญ

NA (Not Analyzed) คือ ตรวจพบสารสำคัญแต่ไม่มีผลวิเคราะห์ค่า %relative area

4. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่แยกจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นด้วยวิธีการกลั่น ได้แก่ส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ด และผลรวม (เปลือกหุ้มเมล็ดและเมล็ด) นั้น เมื่อเปรียบเทียบผลของการสกัดน้ำมันหอมระเหยในแต่ละส่วนของมะแขว่นที่สกัดได้ โดยคิดเป็น

ร้อยละของผลผลิต พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดของมะแขว่นจะได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากทั้งสามส่วนมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหารด้วยวิธี Agar Disc Diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากทั้งสามส่วนของ

มะแขว่น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ผลการทดสอบการประเมินค่า MIC พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหุ้มเมล็ดมีฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ดีที่สุดโดยให้ค่า MIC เท่ากับ 6.64 mg/mL และค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยสกัดจากผลรวมมะแขว่นมีฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อ *Bacillus cereus* มีค่าเท่ากับ 26.56 mg/mL และค่า MBC ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหุ้มเมล็ดต่อเชื้อ *Escherichia coli* มีค่าเท่ากับ 6.64 mg/mL ซึ่งเป็นค่าที่ออกฤทธิ์ได้ดีกว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ซึ่งมีค่าเท่ากับ 26.56 และ 13.28 mg/mL ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า องค์ประกอบหลักที่เป็นสารสำคัญจากส่วนต่างๆ ของมะแขว่นคือ Limonene พบในเปลือกหุ้มเมล็ด มีค่าเท่ากับร้อยละ 46.0 ส่วนในเมล็ดมะแขว่น มีค่าเท่ากับร้อยละ 69.9 และผลรวม มีค่าเท่ากับร้อยละ 42.8 จากสมบัติดังกล่าวข้างต้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก มะแขว่นมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์โดยนำมาเป็นสารถนอมอาหารจากธรรมชาติได้อีกชนิดหนึ่ง

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาที่สนับสนุนทุนงานวิจัยและได้จัดทำโครงการส่งเสริมการผลิตผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือในงานวิจัยและความช่วยเหลือด้านต่างๆ ในการดำเนินการวิจัย จนคณะผู้วิจัยสามารถทำงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

1. Wannissorn, B., Maneesin, P., Tubtimted, S., and Wangchanachai, G., 2009, "Antimicrobial Activity of Essential Oils Extracted from Thai Herbs

and Spices", *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, Vol. 2, No. 4, pp. 677-689.

2. Phongmanee, S. and Sanampol, G., 2007, "The Extraction of Medicinal Herbs for Inhibit Food Pathogen", *Agricultural Science Journal*, Vol.36, No. 6, pp. 54-57. (In Thai)

3. Javed, S., Javaid, A., Mahmood, Z., Javaid, A. and Naim, F., 2011, "Biocidal Activity of Citrus Peel Essential Oils Against Some Food Spoilage Bacteria", *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 5, No. 16, pp. 3697-3701.

4. Jaisai, N. and Lamlerthton, S., 2007, "Inhibition Effects of Kaffir Lime's Peel Oil on *Bacillus cereus* in Cooked Rice", *Naresuan University Journal*, Vol. 15, No. 3, pp. 195-203. (In Thai)

5. Wannu, D., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N. and Tungsangprateep, S., 2010, "Chemical Composition and Antibacterial Activity of Five Essential Oils", *Agricultural Science Journal*, Vol. 41, No. 3/1, pp. 633-636 (in Thai).

6. Chanthaphon, S., Chanthachum, S. and Hongpattarakere, T., 2008, "Antimicrobial Activities of Essential Oils and Crude Extracts from Tropical Citrus spp. Against Food-Related Microorganisms", *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, Vol. 30, pp. 125-131.

7. Sutabhaha, B., Dartrakoon, U., Furuya, T., and Nagumo, T., 1997, "The Inhibitory Activities of Mangosteen's Pericarb Extract on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*", *Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences*, Vol. 30, No. 1, pp. 40-46.

8. Ehsani, E., Akbari, K., Teimouri, M., and Khadem, A., 2012, "Chemical Composition and Antibacterial Activity of Two Juniperus Species Essential Oils", *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 6, No. 38, pp. 6704-6710.

9. Wankhuan, S., 2010, *The Study of Herbal Extracts Inhibited the Growth of Pathogenic Bacteria*, Bachelor's Degree Thesis, Department of Microbiology, Faculty of Medical Sciences, Naresuan University Phayao Campus, Phayao, Thailand. (In Thai)
10. Armado, C.C. and Rahma, H.Y., 2009, "Evaluation of the Yield and the Antimicrobial Activity of the Essential Oils from: *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* in Mbarara District (Uganda)", *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, Vol. 1, pp. 240-249.
11. Ade-Ademilua, E.O., Obi, H.O. and Craker, L.E., 2012, "Growth and Essential Oil Yield of African Basil, *Ocimum gratissimum*, under Light and Water Stress", *Journal of Medicinally Active Plants*, Vol. 1, pp. 143-149.
12. Jaafar, F.M., Osman, C.P., Ismail, N.H. and Awang, K., 2007, "Analysis of Essential Oils Leaves, Stems, Flower and Rhisomes of *Etlengera elatior* (Jack) R.M. Smith", *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, Vol.11, No. 1, pp. 269-273.
13. Bassolé, I.H.N. and Juliani, H.R., 2012, "Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties", *Molecules*, Vol. 17, pp. 3989-4006.
14. Eiamthaworn, K. and Tragoolpua, Y., 2012, "Growth Inhibition of Pathogenic Bacteria Causing Enteric Diseases and Anti-free Radical Activity of Propolis, Royal Jelly and *Andrographis paniculata*", *Proceedings of the 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference*, pp. 115-119. (In Thai)
15. Mustafa, F., Indurkar, J., Ismail, S., Shah, M. and Mansor, S.H., 2011, "An Antimicrobial Compound Isolated from *Cinnamomum iners* Leaves with Activity Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*", *Molecules*, Vol. 16, pp. 3037-3047.
16. Silveira, S.M., Advocacia, C.Jr., Scheuermann, G.N., Secchi, F.L. and Werneck Vieira, C.R., 2012, "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Selected Herbs Cultivated in the South of Brazil Against Food Spoilage and Foodborne Pathogens", *Ciência Rural*, Vol. 42, No. 7, pp.1300-1306.
17. Asgarpanah, J., Motamed, S. M., and Tomraee, S., 2012, "Volatile Composition of the Peel and Leaf Essential Oils of *Citrus nobilis* Lour. var. *deliciosa* Swingle", *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11, No. 23, pp. 6364-6367.
18. Jazet Dongmo, P. M., Tatsadjieu, L. N., Tchinda Sonwa, E., Kuate, J., Amvam Zollo, P. H. and Menut, C., 2009, "Essential Oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and Their Antifungal Activity Against *Phaeoramularia angolensis*", *African Journal of Agricultural Research*, Vol. 4, No. 4, pp. 354-358.
19. Bevilacqua, A., Corbo, M. R. and Sinigaglia, M., 2010, "In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Activity of Eugenol, Limonene, and Citrus Extract Against Bacteria and Yeasts, Representative of the Spoiling Microflora of Fruit Juices", *Journal of Food Protection*, Vol. 3, No. 5, pp. 888-894.
20. Fisher, K. and Phillips, C., 2006, "The Effect of Lemon, Orange and Bergamot Essential Oils and Their Components on the Survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* In Vitro and in Food Systems", *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 101, No. 6, pp. 1232-1240.
21. Burt, S., 2004, "Essential oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods-A Review", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 94, pp. 223-253.

