

## สารบัญ

|                            | หน้า |
|----------------------------|------|
| สารบัญ                     | (8)  |
| รายการตาราง                | (9)  |
| รายการภาพ                  | (11) |
| บทที่                      |      |
| 1. บทนำ                    | 1    |
| บทนำต้นเรื่อง              | 1    |
| บทตรวจเอกสาร               | 4    |
| วัตถุประสงค์               | 31   |
| 2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ | 32   |
| 3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง  | 42   |
| 4. สรุปผลการทดลอง          | 63   |
| ข้อเสนอแนะ                 | 65   |
| เอกสารอ้างอิง              | 66   |
| ภาคผนวก                    | 72   |
| ภาคผนวก ก                  | 73   |
| ภาคผนวก ข                  | 81   |
| ประวัติผู้เขียน            | 118  |

## รายการตาราง

| ตารางที่   | หน้า |
|--|------|
| 1. ชนิดของสารประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหย   | 6    |
| 2. เทอร์ปีนบางชนิดที่พบในน้ำมันหอมระเหย  | 8    |
| 3. สารประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวเปลือกของ <i>Citrus medicar</i> Var “Diamante”   | 10   |
| 4. ส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากผลสด และผลแห้งของมะนาว <i>Citrus aurantifolia</i> (Christm) Swingle   | 12   |
| 5. สารประกอบของ <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck   | 13   |
| 6. กิจกรรมการยับยั้งเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม  | 20   |
| 7. ทดสอบพันธุ์อ่อนไหวต่อสารต้านอนุมูลอิสระของกลุ่มสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้มกับกิจกรรมการยับยั้งเชื้อรา                        | 21   |
| 8. ค่า MIC และ MBC ของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ   | 23   |
| 9. กิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม  | 24   |
| 10. บริเวณยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรไทยต่อเชื้อ <i>P. acnes</i> ด้วยวิธี disc diffusion   | 25   |
| 11. ค่า MIC และ MBC ของน้ำมันหอมระเหย 7 ชนิดด้วยวิธี broth microdilution assay   | 25   |
| 12. ข้อของพืชตระกูลส้ม   | 32   |
| 13. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง   | 33   |
| 14. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง  | 34   |
| 15. ค่า MIC และ MBC/MFC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดหบานจากผิวส้มด้วยเอชิลอะซิเตตและน้ำมันหอมระเหยต่อกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก | 46   |
| 16. ค่า MIC และ MBC/MFC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดหบานจากผิวส้มด้วยเอชิลอะซิเตตและน้ำมันหอมระเหยต่อกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ  | 47   |
| 17. ค่า MIC และ MBC/MFC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดหบานจากผิวส้มด้วยเอชิลอะซิเตตและน้ำมันหอมระเหยต่อกิจกรรมการยับยั้งเชื้อส์ต์ และรา  | 48   |
| 18. องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเอชิลอะซิเตตและน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด   | 50   |
| 19. ค่า MIC และ MBC/MFC ของสาร limonene, citronellal, limonene+citronellal และสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูดต่อจุลินทรีย์                   | 51   |

## รายการตาราง (ต่อ)

| ตารางที่  | หน้า |
|---|------|
| 20. ผลของพีเอชต่อการยับยั้ง <i>B. cereus</i> ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูด   | 53   |
| 21. กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูดที่พีเอช 7 และ 4.5   | 54   |
| 22. ผลของการใช้ความร้อนต่อการยับยั้ง <i>B. cereus</i> ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูด  | 55   |
| 23. กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูดที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที  | 56   |
| 24. ผลของเปลือกสาลี น้ำมันปาล์ม และหางนมต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูดในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB สำหรับแบคทีเรีย YM, สำหรับ E. coli และ PDB สำหรับรา | 59   |
| 25. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูด limonene และ citronellal ต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ ช่องปาก ปากมดลูกและเต้านมที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร     | 61   |
| 26. การอ่านผลการทดสอบยาฆ่าแมลง  | 74   |
| 27. ค่า OD เริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่มีปริมาณเชื้อ $10^6$ CFU ต่อมิลลิลิตร ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร  | 79   |
| 28. ค่า OD ของจุลินทรีย์ที่มีปริมาณเชื้อ $10^5$ CFU ต่อมิลลิลิตร ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร  | 80   |
| 29. กิจกรรมการยับยั้ง <i>S. aureus</i> ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวส้มด้วยวิธี agar well diffusion  | 88   |
| 30. กิจกรรมการยับยั้ง <i>E. coli</i> ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวส้มด้วยวิธี agar well diffusion  | 89   |
| 31. ค่าการวัดสีของพืชตระกูลส้มด้วยเครื่อง Color meter : Hunter lab  | 89   |
| 32. ผลได้ของพืชตระกูลส้มที่สกัดด้วยเอชิลอะซิเตตและน้ำมันหอมระเหยจากผิวส้มชนิดต่าง ๆ   | 90   |

## รายการภาพ

| ภาพที่  | หน้า |
|---|------|
| 1. โครงสร้างของผลส้ม  | 2    |
| 2. โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม   | 7    |
| 3. สารประกอบทางเคมี 3 ชนิดที่พบในผิวเปลือกของ <i>Citrus reticulate</i> Blanco   | 9    |
| 4. เครื่องกลั่นไอน้ำ  | 36   |
| 5. การขยับยั่งๆ ลินทรีด้วยวิธี broth microdilution assay  | 38   |
| 6. ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดสกัดด้วยเอธิลอะซิเตต (A) และน้ำมันหอมระเหย (B) จากผิวส้มชนิดต่างๆ   | 42   |
| 7. ผลได้ของสารสกัดเอธิลอะซิเตต (■) และน้ำมันหอมระเหย (□) จากผิวส้มชนิดต่างๆ   | 43   |
| 8. การรอดชีวิตของ <i>B. cereus</i> ในอาหาร MHB ที่มี DMSO 0.23 เปอร์เซ็นต์ (□) และสารสกัดเอธิลอะซิเตตจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้น 0.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (◊) 0.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Δ) 1.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (X) และ 2.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (O) | 58   |
| 9. ภาพถ่ายจาก TEM ของ <i>B. cereus</i> เมื่อสัมผัสกับ 0.23 เปอร์เซ็นต์ DMSO (A) สารสกัดเอธิลอะซิเตตจากผิวมะกรูดความเข้มข้น 0.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) สาร citronellal ความเข้มข้น 1.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (C) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 9 ชั่วโมง      | 62   |
| 10. สปอร์ของ <i>B. cereus</i>   | 78   |
| 11. ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงตอกค้างของผิวมะกรูด  | 81   |
| 12. ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงตอกค้างของผิวนานา  | 82   |
| 13. ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงตอกค้างของผิวส้มโว   | 83   |
| 14. ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงตอกค้างของผิวส้มจก   | 84   |
| 15. ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงตอกค้างของผิวส้มโไซกุน   | 85   |
| 16. ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงตอกค้างของผิวส้มเชียง  | 86   |
| 17. ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงตอกค้างของผิวส้มจีด  | 87   |
| 18. การเกิดวงศ์ของสารสกัดเอธิลอะซิเตตจากผิวมะกรูดสอดคล้องกิจกรรมการยับยั้ง <i>S. aureus</i>   | 88   |
| ผื่อ A = 100 mg/ml, B = 50 mg/ml, C = 25 mg/ml, D = 12.5 mg/ml และ E = control (ethyl acetate)  |      |

## รายการภาพ (ต่อ)

| ภาพที่  | หน้า |
|---|------|
| 19. ผลของ DMSO ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเดบิโอดของจุลินทรีย์                           | 90   |
| 20. โปรแกรมจาก GC ของสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูด  | 91   |
| 21. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ limonene ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด               | 92   |
| 22. สเปกตรัมของสารประกอบ citronellal ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด               | 93   |
| 23. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ sabinene ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูด                   | 94   |
| 24. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ delta-cadinene ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด         | 95   |
| 25. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ alpha-copaene ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจาก<br>ผิวมะกรูด          | 96   |
| 26. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ myrcene ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิวมะกรูด                    | 97   |
| 27. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ beta-pinene ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด            | 98   |
| 28. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ citronellyl acetate ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด    | 99   |
| 29. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ germacrene-d ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด           | 100  |
| 30. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ trans-caryophyllene ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจาก<br>ผิวมะกรูด    | 101  |
| 31. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ trans-sabinene hydrate ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตต<br>จากผิวมะกรูด | 102  |
| 32. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ isopulegol ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด             | 103  |
| 33. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ citronellol ที่พบในสารสกัดเอชิลอะซิเตตจากผิว<br>มะกรูด            | 104  |

## รายการภาพ (ต่อ)

| ภาพที่  | หน้า |
|---|------|
| 34. โคลอมาโต้แกรมจาก GC ของน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด   | 105  |
| 35. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ beta-pinene พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิว<br>มะกรูด                                  | 106  |
| 36. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ sabinene พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด   | 107  |
| 37. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ limonene พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด   | 108  |
| 38. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ citronellol พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด                                      | 109  |
| 39. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ citronellal พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด                                      | 110  |
| 40. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ alpha-pinene พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิว<br>มะกรูด                                 | 111  |
| 41. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ terpinene-4-ol ที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิว                                      | 112  |
| 42. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ m-cymene ที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากผิว<br>มะกรูด                                  | 113  |
| 43. กราฟมาตรฐานของ citronellal จากการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารสำคัญโดยชีลด์-ไอเตต<br>จากผิวมะกรูดด้วย GC-MS | 114  |
| 44. โคลอมาโต้แกรมของสารบริสุทธิ์ citronellal  | 115  |
| 45. แมสสเปกตรัมของสารประกอบ citronellal   | 116  |
| 46. โคลอมาโต้แกรมของสารสำคัญโดยชีลด์-ไอเตตจากผิวมะกรูด  | 117  |