

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย
(Studies Chemical Composition and Bioactivity of Essential Oil)

บทนำ

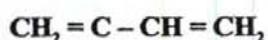
น้ำมันหอมระเหยมีประวัติการใช้มายาวนานทัดเทียมกับความเจริญด้านอารยธรรมของมนุษย์ ทางเภสัชกรรมน้ำมันหอมระเหยใช้เป็นองค์ประกอบในสารฆ่าเชื้อในวงการแพทย์ได้นำการแพทย์แผนไทยมาใช้ร่วมกับการรักษาการแพทย์แผนปัจจุบัน สมุนไพรหลากหลายชนิดถูกนำมาใช้ผลิต น้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) การใช้สารปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในปัจจุบันพบว่ามีปัญหาการคือยาของเชื้อแบคทีเรียและผลข้างเคียงของสารปฏิชีวนะ จึงได้มีการค้นหาสารจากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย น้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิด ได้ถูกนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ปัญหาอย่างหนึ่งในการใช้น้ำมันหอมระเหย คือ ในน้ำมันหอมระเหยมีสารประกอบหลากหลายชนิด และในพืชที่ต่างชนิดจะให้น้ำมันหอมระเหยที่มีองค์ประกอบที่แตกต่างกันการศึกษาหาสารประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยของพืชชนิดต่างๆ ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จะทำให้การใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย
2. ศึกษาเปรียบเทียบส่วนประกอบทางเคมีกับผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เพื่อหาชนิดของสารหรือกลุ่มของสารที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพื่อใช้สมุนไพรแทนสารปฏิชีวนะซึ่งเป็นหลักการการพึ่งตนเอง

บททวนเอกสาร

น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) เป็นสารอินทรีย์เชิงซ้อน เป็นผลผลิตจากขบวนการ เมทาโบลิซึมขั้นสองที่มีส่วนประกอบทางเคมี เป็นกลุ่มของ terpenoid หรือ isoprenoid ที่มี isoprene เป็น basic unit



Isoprene

Terpenes มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นสารไฮโดรคาร์บอนประกอบด้วย isoprenes basic unit การจำแนก terpene จำแนกโดยใช้จำนวน carbon ที่ประกอบเป็นสาร terpene ได้แก่ hemiterpene (C_5), monoterpene (C_{10}), sesquiterpene (C_{15}), diterpene (C_{20}), triterpene (C_{30}), tetraterpene (C_{40}) เป็นต้น

Monoterpenes เป็นส่วนประกอบสำคัญใน essential oil ซึ่งประมาณว่ามีมากกว่า 1,000 ชนิด (Svoboda and Hamson., 1999) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจไว้เคมรสชาต , แต่งกลิ่น ตัวอย่างเช่น menthol , linalool, piene, limonene, myrcene, geranial sesquiterpenes ประกอบด้วย isoprene unit 3 หน่วย เป็นส่วนประกอบในน้ำมันหอมระเหยมีมากกว่า 3,000 ชนิด ตัวอย่างสารประกอบ terpene ที่สำคัญได้แก่ farnesol, cadinenes, caryophyllene diterpene ตัวอย่างเช่น zoapatanol พบใน *montanoa tomentosa* มีสารออกฤทธิ์ทำให้เกิดการแท้ง, podolactones พบใน *Podocarpus sp.* มีคุณสมบัติเป็น antileukemia, gibberellin hormone triterpene พบในกลุ่มพืชที่ผลิต resin, cork, และ cutin ตัวอย่างเช่น dteroid, saponin, sterolens tetraterpene ที่รู้จักกันดีได้แก่ carotenoid ขางมีหน้าที่ช่วยในการดูแลขับแสง ป้องกัน overoxident catalyzed โดยแสง (Peter, et al., 1999)

วิธีการสังเคราะห์แสง terpene เกิดในส่วน cytosol โดยอาศัย acetyl-COA เป็นสารตั้งต้นได้จาก ขบวนการหายใจผ่าน mevalonic pathway (William and Hopkins., 1987) การรวมตัวของ isopentenyl pyrophosphate และ dimethylallyle pyrophosphate ซึ่งจะได้ geranyl pyrophosphate เข้าสู่ขบวนการสังเคราะห์ monoterpene และ terpenes ชนิดต่างๆ การสังเคราะห์ monoterpene ใน peppermint มีวิธีการสังเคราะห์ได้ 2 เส้นทางคือ cytosolic mevalonate pathway และ plastidial mevalomate – independent pathway

แหล่งที่มาของน้ำมันหอมระเหยพบว่าน้ำมันหอมระเหยถูกสร้างจำนวนมากมาจาก seed plant นอกจากนี้ยังพบใน fungi บางชนิดเช่น genus lactarius กลุ่มของสาหร่ายได้แก่ Chlorophyta, Rhodophyta, Phaeophyta ในกลุ่ม Bryophyta ได้แก่ Liverwort และ Gymonosperm ได้แก่สนชนิดต่างๆ (Atal and Rapur, n.d.)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จากการที่สารปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียปัจจุบันพบปัญหาการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของแบคทีเรีย อาทิเช่น menthicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*, vancomycin-resistant *Enterococcus spp*, (Inouye, 2003) จึงได้มีการนำวิธีการรักษาโรคแบบดั้งเดิม โดยการใช้พืชสมุนไพรในการรักษาโรค น้ำมันหอมระเหยจากพืชมากมายหลายชนิดมีฤทธิ์ในการต้านทานการเจริญของจุลินทรีย์ จากรายงานการวิจัยในการใช้น้ำมันหอมระเหยในรูปก๊าซ (airtight box) จากพืช 14 ชนิด พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ bacteria ในทางเดินหายใจ 4 ชนิด ได้แก่ *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* และ *Staphylococcus aureus* โดย *Escherichia coli* เป็นตัวควบคุม น้ำมันหอมระเหยจะยับยั้งการเจริญของ *H. influenzae* ได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* และ *S. aureus* จะยับยั้งการเจริญของ bacteria ได้ดีเมื่อให้ความดันไอสูงและใช้เวลานาน (Shigeharu, et al., 2001) น้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดใช้รักษาระบบ

ทางเดินหายใจโดยการสูดดมไอน้ำมันหอมระเหยจะมีผลในการขยาย respiratory tract, มีผลทำให้โพรงจมูกโล่ง การหายใจสะดวกขึ้น, รักษาการอักเสบของหลอดลม และลดอาการหอบหืด จากรายงานการวิจัยของ Tepe และคณะ (2001) ทดสอบคุณสมบัติของ essential oil และ menthanol extract ของ *Salvia cryptantha* และ *Salvia multicaulis* ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bacillus Cereus*, *Acinetobacter iwoffii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *K.lebsirlla pneumoniae*, *Protteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albican*, *Candida krusei* โดยใช้วิธี agar-well diffusion method ใช้ menthanol extracts และ disc diffusion method ใช้ essential oils พบว่า *Salvia cryptantha* มีฤทธิ์ปานกลางในการยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus pneumoniae* และ *Candida albicans* ขณะที่ *Salvia multicaulis* มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้กว้างกว่า เช่น *Streptococcus pneumoniae*, *Bcillus albican*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Clostridium perfringens* และพบว่าทั้ง essential oil และ menthanol extracts of *Salvia cryptantha* และ *Salvia multicaulis* ไม่มีความแตกต่างกันในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งจากการศึกษา GC-MS analysis พบว่า *S. cryptantha* และ *S. multicaulis* มีสารประกอบหลักคือ α -pinene (18.1 และ 21.9 %) eucalyptal (15.3และ20.1%) camphor (7.7 และ 11.0%) camphene (1,8-cineole) และ camphor มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Tepe, et al.,2004) น้ำมันหอมระเหยจาก *Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum*, *Eucalyptus smitii*, *Eucalyptus globules*, *Eucalyotus radiate*, *Eucalyptus polybractea*, *Eugenia caryophyllus* (bud) and *Rosa damascene* มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 gram negative *Escherichia coli* ATCC 25922 และ- *Candida albicans* ATCC 14053 แต่ไม่สามารถยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* โดย *Candida albicans* sensitive คือน้ำมันหอมระเหยมากกว่า *Staphylococcus aureus* การทดสอบโดย agar diffusion และพบว่าไอของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จาก *Thymus serpyllum* สามารถยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* แต่ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Eseherichia coil* (Lisun et al., nd.) *Salvia fruticosa* essential oil มีส่วนประกอบที่สำคัญได้แก่ 1,8-cineole (47.348%) thujone (11.93%) และ camphor (9.04%) พบว่า 1, 8 - cineole และ theyone มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ bacteria 8 ชนิดขณะที่ camphor มีฤทธิ์ในการยับยั้งน้อยมาก essential oil ที่ความเข้มข้น 1/4000 มีฤทธิ์ในการฆ่า bacteria ภายใน 24 ชม. ขณะที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1/10,000 ขึ้นไปมีฤทธิ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ bacteria นอกจากนี้ยัง มีฤทธิ์ในการฆ่า herpes simplex virus I (HSV - 1) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคสุกัวคและเริม (Sivropou;ou, 1997) น้ำมันหอมระเหยจาก thyme, palmavorus,

lemongrass ในความเข้มข้น 400,700 ไมโครลิตร treat ลงในดินที่ไ้ปลูกใน green house พบว่าทุกระดับความเข้มข้นสามารถฆ่าเชื้อได้โดย *Pseudomonas solanacearum* ได้ฆ่าหมดใน 7 วันหลังการ treat ได้มีการนำน้ำมันจากพืชหลายชนิดมารวมกัน ได้แก่ pine, thyme, peppermint, lavender, osemmary, cloves และ cinnamon สเปรย์ในห้องตรวจสอบเชื้อโดยนับจำนวน colony ที่เจริญบน petridish ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อวางบนพื้นห้องพบว่าหลังจากสเปรย์ 30 นาที ไม่พบการเจริญของเชื้อใน petridish ซึ่งก่อนการสเปรย์ตรวจพบเชื้อ 210 colony/plate (Friedmann, nd.) น้ำมันหอมระเหยจากพืชต่างชนิดเช่นอบเชยจีนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดสิว (ฉิชากร เจริญกุลและคณะ) กระชาย, กานพลู, ข่า, ขอบ, บัวบก, คาวเรือง, กระดังงา, สะระแหน่ และ โหระพาจะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่แตกต่างกันไป การศึกษาองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหย จะสามารถนำไปเป็นแนวทางหาสารหลักที่มีผลใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

วิธีการดำเนินการวิจัย

พืชที่ใช้ได้แก่

1. กระชาย : ใช้ส่วนของราก
2. กานพลู : ดอกตูม
3. ข่า : ใช้ส่วนของลำต้น
4. ขอบ : ใช้ส่วนของใบ
5. บัวบก : ใช้ส่วนของใบ
6. คาวเรือง : ใช้ส่วนของใบ
7. อบเชย : ใช้ส่วนของเปลือก
8. กระดังงา : ใช้ส่วนของดอก
9. สะระแหน่ : ใช้ส่วนของใบ
10. โหระพา : ใช้ส่วนของใบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองได้แก่ 1. *Staphylococcus epidermidis*

2. *Bacillus subtilis*

3. *Escherichia coli*

- 1) สกัดน้ำมันหอมระเหย
- 2) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยโดยใช้ gass chromatography – mass chromatography (GC – MS)
- 3) ศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยใช้ disc diffusion method

ผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยโดยใช้-gasschromatography – mass chromatography (GC – MS)พบว่าพืชทั้ง8ชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันไปดังตารางที่ 2 โดยพืชแต่ละชนิดมีสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกัน ไปดังนี้อบเชย มีปริมาณของสารcinamaldehyde 65.13% , กานพลูมี eugenol 67.44 % , กระจ่างมี trans-ocimene 27.85 % ,geranial 27.48 % , ข่ามี1,8-cineole 23.32 % , โหระพามี methyl chavicol 78.73 % , บัวบกมีgermacrene D 21.69% และกระดังงาสงขลา มี farnesol 9.05 % จากการวิเคราะห์พบว่าสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยในพืชตั้งแต่พืช3ชนิดขึ้นไปมีทั้งหมด12ชนิด ได้แก่ α -pinene, β -myrcene,limonene,1,8-cineole,trans ocimene,terpen4ol,eugenol, copaene,caryophyllene, β -elemene, α -humulene,trans- β -farnesene,germaceneD,และ δ -cadinene ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชทั้ง8ของพืชทั้ง8ชนิดพบว่าอบเชยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli*,*Staphylococcus aureus* สูงสุดรองลงมาได้แก่ข่า,กานพลูและ กระจ่างส่วน โหระพาและกระดังงาสงขลาสามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ได้เพียงชนิดเดียวดังตารางที่ 3 และอบเชยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* มากกว่าค่าเฉลี่ยของกระจ่าง,ข่า,กานพลู 5.74 และ3.22เท่าตามลำดับ จากการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายพบว่ากานพลูให้เปอร์เซ็นต์น้ำมันสูงที่สุดคือ17.79 รองลงมาคืออบเชย,ข่า,กระจ่าง,โหระพา,บัวบก,สระระแหงคือ 1.36,0.23,0.11,0.31,0.02,0.01%(w/v)ตามลำดับขณะที่ขยอและดาวเรืองมีปริมาณน้ำมันที่ต่ำมากไม่ สามารถสกัดได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการเทียบหาเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆของพืช

ชื่อพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	% น้ำมัน(w/v)
กระชาย	<i>Boesenbergia rotunda</i>	ราก	0.11
กานพลู	<i>Syzygium aromaticum</i>	ดอกตูม	17.79
กระดังงาสงขลา	<i>Cananga odorata</i>	ดอก	0.56
ข่า	<i>Alpinia galangal</i>	ลำต้น	0.23
อบเชย	<i>Cinnamomum eylanicum</i>	เปลือกของลำต้น	1.36
บัวบก	<i>Centella asiatica</i>	ใบ	0.02
สะระแหน่	<i>Mentha cordifolia</i>	ใบ	0.01
โหระพา	<i>Ocimum basilicum</i>	ใบ	0.31
ขมิ้น	<i>Morinda citrifolia</i>	ใบ	-
ดาวเรือง	<i>Tagetes erecta</i>	ใบ	-



ภาพที่ 1 แสดงการเกิดclear zoneในยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อ *Echerichia coli* โดยวิธี Agar Diffusion Test

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ของน้ำมันหอมระเหยที่ dilution 10^{-3} จากพืชทั้ง 8 ชนิด โดยวิธี Agar Diffusion Test

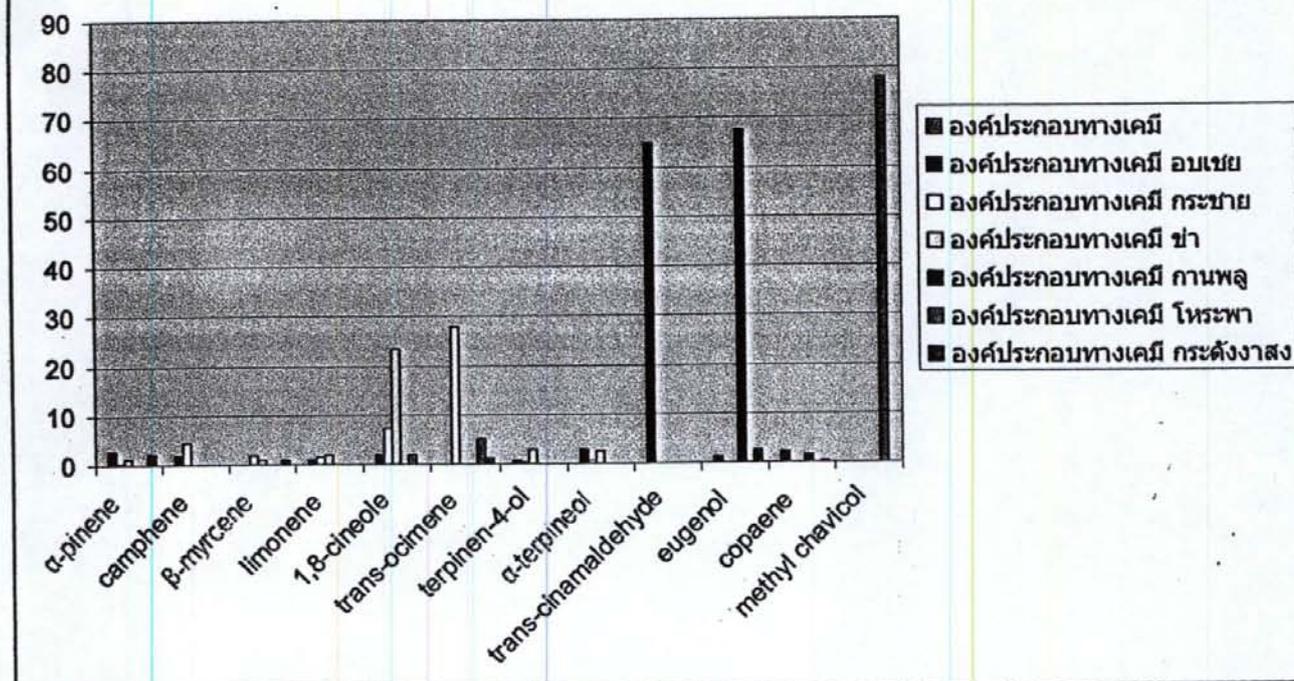
น้ำมันหอมระเหย	ขนาดโซนใส (ม.ม)		
	<i>E.coli</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>
กระชาย	4.5	22.5	7.2
กานพลู	7.5	14.9	11.5
ข่า	3.6	32.6	8.6
อบเชย	29.7	33.4	29.5
โหระพา	5.0	-	-
บัวบก	-	-	-
สระระแห่น	-	-	-
กระดังงาสงขลา	2	-	-

หมายเหตุ : ขนาดของโซนใส (ม.ม) = เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส - เส้นผ่านศูนย์กลาง paper disc

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย 6 ชนิด

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ					
	อบเชย	กระชาย	ข่า	กานพลู	โหระพา	กระดังงาสง
α -pinene	2.8	0.24	1.28	0	0	2.22
camphene	1.79	4.45				
β -myrcene	0	1.77	1.03	0	0	1.08
limonene	1.03	1.48	1.91	0	0	0
1,8-cineole	2	7.23	23.32	0	2.02	
trans-ocimene	0	27.85	0	0	5.16	1.14
terpinen-4-ol	0.75	0.31	3.01	0	0	0
α -terpineol	2.86	0.79	2.57	0	0	0
trans-cinamaldehyde	65.13	0	0	0	0	0
eugenol	1.26	0	0.14	67.44	0	2.42
copaene	2.39	0	0	1.48	0	0.45
caryophyllene	0	0	5.29	14.53	0	0
β -elemene	0	0	1.48	0	0	1.09
α -humullene	0	0	2.99	2.38		
trans- β -farnesene	0	0	3.42	0	0	0.48
germacrene D	0	0	0	0	0	3.48
δ -cadinene	1.61	0	0	2.28	0	0
methyl chavicol	0	0	0	0	78.3	0

รูปที่1 องค์ประกอบทางเคมี



ภาพที่2 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของพืช6ชนิด

สรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าพืช4ชนิดคืออบเชย ข่า กระชาย กานพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และเมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบของสารพบว่าพืชทั้ง4ชนิดมีสารที่เป็นองค์ประกอบที่เหมือนไม่ต่ำกว่า2ชนิด ได้แก่ α -pinene,

β -myrcene, limonene, 1,8-cineole, trans-ocimene, terpinen-4-ol, eugenol, copaene, caryophyllene,

β -elemene, α -humulene, trans- β farnesene, germacene D, และ δ -cadinene (ดังตารางที่4) ซึ่งจาก

การศึกษาพบว่าสารเหล่านี้อยู่ในกลุ่มของสารประกอบterpene สารประกอบterpeneแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปเช่น abscisic acid เป็นหนึ่งในกลุ่มของsesquiterpene มีคุณสมบัติเป็นฮอร์โมนพืชซึ่งอยู่ในกลุ่มของgibberellin ที่มีมากกว่า90ชนิด (Peter, et al., 1999) บางชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลงหลายชนิดส่งกลิ่นหอมใช้ในการดึงดูดแมลงมาผสมเกสร

Pinene, myrcene, linalool, 1,8-cineole, เป็นสารที่ให้กลิ่น, รสชาติอยู่ในกลุ่มmonoterpene ใช้ใน

อุตสาหกรรมยาและเครื่องหอมคือ α -pinene เป็นสารองค์ประกอบหลักใน *S. cryantha* และ *S. multicaulis* มี (18.1 และ 21.9 %) มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Tepe, et al., 2004) ซึ่งจากการวิเคราะห์พบในอบเชย, กระชาย, สะระแหน่, ข่า

β farnesene, germacene D, cadinene อยู่ในกลุ่มsesquiterpene ซึ่งcadinene ที่มีคุณสมบัติเป็น antihelminthes อบเชยมีสารcinnamaldehyde 65.13% และยังมีสารpinene, 1,8-cineole ที่พบในหลายรายงานการวิจัยว่ามีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ในโหระพาพบสาร methyl chavicol 78.73%

กานพลูพบสาร eugenol 67.74% จำพวก 1,8-cineole 23.32% และน้ำมันหอมระเหยจากพืชเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ซึ่งจากสารหลักที่พบและสารประกอบอื่น ได้แก่ α -pinene, β -myrcene, limonene, 1,8-cineole, trans ocimene, terpen-4-ol, eugenol, copaene, caryophyllene, β -elemene, α -humulene, trans- β farnesene, germacene D, และ δ -cadinene ซึ่งพบในกลุ่มที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด สารเหล่านี้น่าจะมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ควรจะมีการศึกษาคุณสมบัติของสารแต่ละตัวต่อไป