



ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของคนและการออกฤทธิ์ต้านทานจุลชีพของ  
น้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน 2 สายพันธุ์

The Cytotoxicity Against Human Dermal Skin and Antimicrobial  
Activities of Essential Oil from 2 Cultivars of *Clausena lansium* seed

รัชณีภรณ์ อินคำ<sup>1\*</sup> ประสงค์ เหลี่ยมโสภณ<sup>1</sup> คารณี ชันเพ็ชร<sup>1</sup> และวิรัน วิสุทธิธาดา<sup>1</sup>

Received: October, 2016; Accepted: April, 2017

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ผลกลม และสายพันธุ์ผลแหลม โดยวิธีการกลั่นพบว่าการกลั่นนาน 3 ชั่วโมง ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด และพบว่าน้ำมันหอมระเหยของเมล็ดมะไฟจีนทั้ง 2 สายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีนพบว่าในสายพันธุ์ผลกลมมีองค์ประกอบหลักคือ  $\alpha$ -thujene (49.99 %) sabinene (20.65 %) terpinen-4-ol (9.21 %) และ  $\alpha$ -pinene (1.65 %) ในสายพันธุ์ผลแหลมซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ  $\alpha$ -thujene (59.13 %) sabinene (9.81%) cryptone (4.27 %) และ thuja-2,4-(10)-diene (2.45 %) น้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 สายพันธุ์ ให้ผลสอดคล้องกันคือไม่มีพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ที่ความเข้มข้น 3.13 - 100  $\mu\text{g/ml}$  ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคที่ความเข้มข้น 1.56 - 50  $\mu\text{g/ml}$  และไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียที่ความเข้มข้น 1 - 10  $\mu\text{g/ml}$  และไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ *Candida albicans* และไม่สามารถต้านทาน *Pseudomonas aeruginosa* แต่สามารถออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยค่า MIC ที่เท่ากันคือ 128  $\mu\text{g/ml}$  ทั้งนี้ยังสามารถออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อยีสต์ *Cryptococcus neoformans* ด้วยค่า MIC ที่เท่ากันคือ 200  $\mu\text{g/ml}$  นอกจากนี้ความสามารถที่แตกต่างกันของทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ

<sup>1</sup> คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน

\* Corresponding Author E - mail Address: rachaneebhorn@hotmail.com

น้ำมันหอมระเหยสายพันธุ์ผลกลมไม่สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อ methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* แต่ในสายพันธุ์ผลเหลี่ยมสามารถออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อดังกล่าวได้ โดยให้ค่า MIC คือ 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  เป็นไปได้ว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* คือ cryptone ซึ่งเป็นสารที่พบในสายพันธุ์ผลเหลี่ยม thuja-2,4-(10)-diene,  $\alpha$ -santalene และ  $\alpha$ -santalol ในสายพันธุ์ผลเหลี่ยมมีปริมาณมากกว่าในสายพันธุ์ผลกลม ทั้งนี้ น้ำมันหอมระเหยสายพันธุ์ผลเหลี่ยมไม่สามารถต้านต่อเชื้อรา *Microsporium gypseum* clinical isolate แต่ในน้ำมันหอมระเหยสายพันธุ์ผลกลมสามารถต้านได้ โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 64  $\mu\text{g}/\text{ml}$  เป็นไปได้ว่าสารที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Microsporium gypseum* clinical isolate คือ carene ซึ่งเป็นสารที่พบในสายพันธุ์ผลกลม sabinene, terpinen-4-ol และ Z-caryophyllene ในสายพันธุ์ผลกลมมีปริมาณมากกว่าในสายพันธุ์ผลเหลี่ยม

คำสำคัญ : น้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน; ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์; การออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ

## Abstract

This research aimed to study essential oil distilled from Nan local plant: *Clausena lansium* which is classified into 2 cultivars : round shape and sharp shape. It was found that both cultivars gave the maximum amount of essential oils when distillation time was 3 hours. Major components of *Clausena lansium* essential oil, round shape cultivar were  $\alpha$ -thujene (49.99 %), sabinene (20.65 %), terpinen-4-ol (9.21 %) and  $\alpha$ -pinene (1.65 %). The sharp shape cultivar yielded  $\alpha$ -thujene (59.13 %), sabinene (9.81%), cryptone (4.27 %) and thuja-2,4-(10)-diene (2.45 %). Both essential oils did not show cytotoxicity against human dermal skin fibroblast cell with a concentration of 3.13 to 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . There was abstract of antituberculosis activity with a concentration 1.56 to 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , antimalarial activity with a concentration 1 to 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and *Candida- albicans*. But with the same MIC value of 128  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , both were active against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia* but was inactive against *Pseudomonas aeruginosa*. Moreover, both essential oils could be active with yeast, *Cryptococcus neoformans* with the MIC value of 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Besides, the different antiactivities, both essential oil indicated that one distilled from round shape did not show antibacterial activity against methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* while one distilled from sharp shape showed activity with MIC value of 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  that showed the possible bioactive for methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* is cryptone that was found only in sharp shaped, thuja-2,4-(10)-diene,  $\alpha$ -santalene and  $\alpha$ -santalol. However, the essential oil of the sharp shape did not show antifungal activity against *Microsporium gypseum* clinical isolate; one of the round shapes could be active with the

MIC value of 64  $\mu\text{g/ml}$ , and that show a possible bioactive for *Microsporum gypseum* clinical isolate. Carene was found only in round shape, sabinene, terpinen-4-ol and Z-caryophyllene and was contained in round shape more than sharp shape.

Keywords: Essential Oil; *Clausena lansium* Seed; Cytotoxicity; Antimicrobial

## บทนำ

มะไฟจีน (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกับส้ม (Rutaceae Family) เป็นผลไม้ที่มีอยู่เฉพาะท้องถิ่นโดยเฉพาะจังหวัดน่าน ซึ่งนำมาเพาะปลูกครั้งแรกโดยชาวจีนเมื่อประมาณ 100 ปีที่ผ่านมา ทำให้จังหวัดน่านเป็นแหล่งเพาะปลูกมะไฟจีนแหล่งใหญ่แหล่งเดียวในประเทศไทย ในหนึ่งผลจะมี 1 - 3 เมล็ด และเปลือกสามารถกินได้ เมื่อผลสุกเต็มที่มีรสหวานอมเปรี้ยว ชาวจีนจึงนำมะไฟจีนมาแปรรูปด้วยน้ำตาลเพื่อบรรเทาอาการเจ็บคอ [1] ให้ความชุ่มคอ แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม ในกระเพาะอาหารจึงมีกลุ่มแม่บ้านในจังหวัดน่านนำเปลือกมะไฟจีนมาแปรรูปโดยการเชื่อมแห้ง จนกลายเป็นสินค้าของฝากประจำจังหวัดน่าน ทั้งนี้ยังมีเมล็ดเป็นกากเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป จากรายงานที่ผ่านมาพบว่ามะไฟจีนมี 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ผลกลมและสายพันธุ์ผลแหลม ซึ่งจะเด่นชัดในระยะเวลาผลสุก [2] ดังรูปที่ 1



(ก) สายพันธุ์ผลกลม



(ข) สายพันธุ์ผลแหลม

รูปที่ 1 รูปทรงของผลมะไฟจีน

มะไฟจีนมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบหลายชนิดด้วยกัน มีรายงานถึงการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่าง ๆ ของมะไฟจีน เช่น ใบ ดอก เมล็ดโดยใช้เทคนิค GC-MS พบองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยกว่า 50 ชนิด [3] และมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่พบในผลของมะไฟจีนส่วนใหญ่ประกอบด้วย sabinene,  $\alpha$ -pinene, L-phellandrene และ myrcene [4] นอกจากนี้ยังพบว่า e-caryophyllene humulene และ 3-hexenyl 2-methylbutanoate ซึ่งเป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหย

ในมะไฟจีนนั้นมีฤทธิ์ฆ่าแมลงสามารถประยุกต์ใช้ในการกำจัดแมลงได้ [5] ทั้งนี้การทดสอบ  $\beta$ -santalol ซึ่งสามารถสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบ เปลือก ผล และดอกของมะไฟจีน พบว่ามีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางของหนู จึงสามารถผลิตยากลุ่ม neuroleptic ได้ [6] นอกจากนี้ มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีส่วนประกอบของ  $\alpha$ -pinene และ sabinene สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้หลากหลายชนิดโดยเฉพาะ  $\alpha$ -pinene สามารถยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebac. sp.*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* เชื้อรา *Alternaria sp.*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* และยีสต์ *Candida albicans* สำหรับแบคทีเรียนั้นกลไกการยับยั้งยังไม่แน่ชัดแต่จะสามารถผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียและยับยั้งขบวนการการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Transport), ขบวนการขบวนการขนส่งโปรตีน (Protein Translocation), ปฏิกริยาออกซิเดทีฟฟอสโฟไรเลชัน (Phosphorylation Step) และปฏิกริยาที่มีเอ็นไซม์เป็นตัวเร่ง (Enzyme-Dependent Reactions) [7], [8] ในรายงานนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์และการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีนสองสายพันธุ์ ซึ่งยังไม่พบการรายงานมาก่อน

## วัสดุ อุปกรณ์

1. เมล็ดมะไฟจีนจากผลมะไฟจีนที่แก่จัดเพื่อคัดแยกลักษณะผลกลมและผลแหลม
2. ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหยอย่างเบา และสารเคมีในการดูความชื้น
3. อุปกรณ์ อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมีในการทดสอบการต้านต่อจุลชีพ

## วิธีดำเนินการ

### 1. การกลั่นน้ำมันหอมระเหย

ซึ่งเมล็ดของมะไฟจีนที่ทำความสะอาดและบดแล้ว 250 กรัม ลงในขวดก้นกลมขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำในขวดก้นกลม 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต่อเข้ากับชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหยแบบเบา โดยใช้เวลากลั่นนาน 2 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ เพื่อหาระยะเวลาการกลั่นที่เหมาะสม น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะลอยอยู่เหนือน้ำที่กลั่นตัวออกมาพร้อมกัน คุณ้ำมันหอมระเหยออกจากน้ำ และกำจัดน้ำที่ปนเปื้อนอยู่เล็กน้อยด้วยโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส จากนั้นคุณ้ำมันหอมระเหยที่ปราศจากน้ำใสในขวดขนาดเล็ก แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

### 2. การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันหอมระเหยโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี

ทางองค์ประกอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี (GC - MS) โดยใช้คอลัมน์ DB5-MS (30 m x 0.25 mm ID x 0.25  $\mu$ m film Thickness) แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพาด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณที่ฉีด 0.2 ไมโครลิตร และ spit ratio 50 : 1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ประกอบด้วย อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้น 60 องศาเซลเซียส และเพิ่มขึ้นด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 240 องศาเซลเซียส (คงที่ไว้ 10 นาที) อุณหภูมิของเครื่องตรวจวัด

สัญญาณ 280 องศาเซลเซียส และสภาวะของเครื่องแมสเปกโตรเมตรี mass ionization แบบ electron impact 70 eV mass analyzer เป็น quadrupole อุณหภูมิของส่วนไอออไนเซชัน 230 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ mass analyzer 150 และ 280 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 50 - 700 amu

### 3. การเตรียมสารตัวอย่าง

นำน้ำมันหอมระเหย 100 มิลลิกรัม มาละลายใน 100 % dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อใช้ในการทดสอบการต้านต่อเชื้อรา และทำให้เจือจางด้วย 100 % dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อใช้ในการทดสอบความเป็นพิษต่อผิวหนังมนุษย์ การต้านต่อเชื้อแบคทีเรีย การต้านต่อเชื้อยีสต์ การต้านต่อเชื้อวัณโรค และการต้านต่อเชื้อมาลาเรีย

### 4. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์

ทำการเจือจางสารตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) จนมีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วเจือจางลงทีละสองเท่าด้วย 1 % DMSO ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จนมีความเข้มข้นสุดท้ายของสารตัวอย่างอยู่ระหว่าง 3.13 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม 96-well plate โดยเติมเซลล์ human dermal fibroblast, neonatal (HDFn cell line) C-004-5C ประมาณ  $1 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 200 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะ 5 % CO<sub>2</sub> นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเชื้อออก เติมสารตัวอย่าง จำนวน 200 ไมโครลิตร บ่มนาน 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มแล้วเติมสารละลายรีซาซูริน เข้มข้น 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละ well บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะ 5 % CO<sub>2</sub> นาน 4 ชั่วโมง โดยใช้ Ellipticine ที่ความเข้มข้น 4.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารควบคุมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 และ 590 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง

### 5. การทดสอบการต้านต่อเชื้อแบคทีเรีย

ทำการเจือจางสารตัวอย่างด้วย Mueller-Hinton broth ในอัตราส่วน 1 : 100 ลงใน flat-bottomed wells จนมีความเข้มข้นสุดท้ายของสารตัวอย่างอยู่ระหว่าง 0.03 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หยดสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียที่จะทดสอบ *Staphylococcus aureus*, methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ประมาณ  $1 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 10 ไมโครลิตร ลงใน wells บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง ใช้ Vancomycin เป็นสารควบคุมในการทดสอบ โดยอ่านค่า MIC จากความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

### 6. การทดสอบการต้านต่อเชื้อรา

ทำการเจือจางสารตัวอย่างแบบลำดับสองในอาหาร Sabouraud Dextrose Broth (SDB) และ Potato Dextrose Broth (PDB) ผสมตัวอย่างกับเชื้อราที่มีความเข้มข้นของสปอร์  $4 \times 10^3$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ใน 96-well plate จนได้ความเข้มข้น 1 - 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง โดยใช้ Miconazole ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารควบคุมการทดสอบ อ่านค่า MIC จากความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราได้ 50 % เมื่อเปรียบเทียบกับ Growth Control

### 7. การทดสอบการต้านต่อเชื้อยีสต์

ทำการเจือจางสารตัวอย่างด้วย 5 % DMSO จนได้สารละลายเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทดสอบเบื้องต้น จากนั้นจึงนำความเข้มข้นดังกล่าวไปเจือจางลงอีก 2 เท่าด้วย 5 % DMSO ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารตัวอย่างอยู่ระหว่าง 0.03 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ต้องการทดสอบโดยใช้ 384-well plate เติมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 6 ไมโครลิตร ยีสต์ที่มีความเข้มข้น  $2.5 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 44 ไมโครลิตร และสารละลายรีซาซูริน ความเข้มข้น 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงในแต่ละ well บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

### 8. การทดสอบการต้านต่อเชื้อวัณโรค

ทำการเจือจางสารตัวอย่างด้วย 5 % DMSO จนได้สารละลายเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทดสอบเบื้องต้น จากนั้นจึงนำความเข้มข้นดังกล่าวไปเจือจางลงอีก 2 เท่าด้วย 5 % DMSO ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารตัวอย่างอยู่ระหว่าง 0.03 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ต้องการทดสอบโดยใช้ 384-well plate โดยในแต่ละ well เติมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 5 ไมโครลิตร แล้วเติมสารแขวนลอยเชื้อวัณโรคประมาณ  $1 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 45 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 10 วัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร และ 535 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง

### 9. การทดสอบการต้านต่อเชื้อมาลาเรีย

ทำการเจือจางสารตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ จนได้สารละลายเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงนำไปเจือจางลงอีก 10 เท่าด้วย 1 % DMSO ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการทดสอบใช้ 96-well plate โดยในแต่ละ well เติมปรสิตผสม (Parasite Mixture) 200 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นของผสมระหว่าง 1 % parasitemia กับ 1.5 % erythrocytes จากนั้นจึงเติมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ 25 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมตัวกลางที่มี  $0.5 \mu\text{Ci}$  [ $^3\text{H}$ ] ไฮโปแซนธิน (Hypoxanthine) เป็นส่วนประกอบลงในแต่ละ well จำนวน 25 ไมโครลิตร บ่มนาน 18 - 20 ชั่วโมง วัดการเจริญของปรสิตจากระดับสารกัมมันตรังสีที่ติดฉลากด้วย Hypoxanthine โดยใช้ Top Count Microplate Scintillation เป็นเครื่องมือวัดระดับสารกัมมันตรังสีทำการทดสอบซ้ำ 2 ครั้ง ใช้ Dihydroartemisinin และ Mefloquine เป็นสารควบคุมบวก

## ผลการวิจัยและอภิปรายผล

### 1. ปริมาณของน้ำมันหอมระเหย

พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเมล็ดมะไฟจีนผ่านกระบวนการกลั่นเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด โดยปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่พบในสายพันธุ์ผลกลมและผลแหลม คือ 0.25 และ 0.30 %w/w น้ำมันหอมระเหยที่ได้มีลักษณะใส และมีกลิ่นเฉพาะตัว ปริมาณร้อยละของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเมล็ดของมะไฟจีน ณ เวลาต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณร้อยละของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน

เวลาในการกลั่น (ชั่วโมง)	ร้อยละของน้ำมันหอมระเหย (%w/w)	
	สายพันธุ์ผลกลม	สายพันธุ์ผลแหลม
2	0.06	0.15
3	0.25	0.30
4	0.06	0.20

## 2. องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยในเมล็ดมะไฟจีน

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน

ลำดับที่	สารประกอบ	RI <sup>a</sup>	สายพันธุ์ผลกลม		สายพันธุ์ผลแหลม	
			RI <sup>b</sup>	%Area	RI <sup>b</sup>	%Area
1	$\alpha$ -thujene	930	915	49.99	917	59.13
2	$\alpha$ -pinene	939	918	1.65	919	1.61
3	camphene	954	942	0.14	942	0.33
4	thuja-2,4-(10-diene)	960	963	0.74	963	2.45
5	sabinene	975	968	20.65	968	9.81
6	carene	1002	1001	1.34	-	-
7	cinole	1014	-	-	1008	0.95
8	cis-sabinene hydrate	1070	1059	0.46	1036	0.40
9	trans-sabinene hydrate	1098	1077	0.28	-	-
10	cis-decahydronaphthalene	1099	-	-	1095	0.84
11	terpinen-4-ol	1177	1114	9.21	1114	2.04
12	cryptone	1185	-	-	1122	4.27
13	$\alpha$ -terpineol	1186	1127	0.30	1127	0.55
14	Z-caryophyllene	1408	1342	1.22	1342	0.77
15	$\alpha$ -santalene	1417	1344	1.46	1344	2.27
16	Z- $\beta$ -farnesene	1440	-	-	1428	0.85
17	D-cabreuva oxide	1480	1494	0.56	1494	2.11
18	$\alpha$ -santalol	1675	-	-	1605	0.57

<sup>a</sup> ค่า RI จากเอกสารอ้างอิง [9]

<sup>b</sup> ค่า RI จากการคำนวณ Retention Times เทียบกับ C<sub>8</sub>-C<sub>40</sub> โดยใช้คอลัมน์ DB5-MS

ในการวิเคราะห์น้ำมันหอมระเหยของเมล็ดมะไฟจีน 2 สายพันธุ์ พบจำนวนองค์ประกอบ 14 องค์ประกอบในสายพันธุ์ผลกลมและ 16 องค์ประกอบในสายพันธุ์ผลเหลี่ยม ซึ่งมีองค์ประกอบหลัก คือ ในสายพันธุ์ผลกลมพบ  $\alpha$ -thujene (49.99 %), sabinene (20.65 %), terpinen-4-ol (9.21 %) และ  $\alpha$ -pinene (1.65 %) ในสายพันธุ์ผลเหลี่ยมพบ  $\alpha$ -thujene (59.13 %), sabinene (9.81%), cryptone (4.27 %) และ thuja-2,4-(10)-diene (2.45 %)

มีการศึกษาน้ำมันหอมระเหยในเมล็ดพบว่าองค์ประกอบหลัก คือ phellandrene และ limonene [3] แต่ในการศึกษานี้พบองค์ประกอบหลักคือ  $\alpha$ -thujene (49.99 %) เป็นไอโซเมอร์ของ sabinene ซึ่งพบว่าเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจาก ดอก ใบ ผล และเมล็ด ของมะไฟจีน ด้วยการสกัดแบบ headspace [4]

เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยกับรายงานก่อนหน้าที่ได้จากการกลั่นเหมือนกัน [3] แต่ตัวอย่างพืชมีที่มาจากแหล่งต่างแหล่ง (ประเทศจีน, ประเทศไทย) จะให้องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบการใช้เทคนิคในการศึกษาที่แตกต่างกัน (Headspace, การกลั่น) จะให้องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่แตกต่างกัน

### 3. การต้านทานจุลชีพ

#### 3.1 ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน

ตัวอย่าง	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
	ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์
สายพันธุ์ผลกลม	ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ <sup>a)</sup>
สายพันธุ์ผลเหลี่ยม	ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ <sup>a)</sup>
<i>Ellipticine</i> <sup>b)</sup>	4.94

a) ทดสอบที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.13 - 100  $\mu$ g/ml

b) ยาที่ใช้เป็นตัวควบคุมบวก

ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีนโดยใช้ HDFn cell line (Gibco, C-004-5C) ทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 3.13 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่มีพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ ซึ่งมีรายงานว่าองค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหย เช่น Sabinene สามารถต้านทานความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง [10] และมีรายงานว่าสามารถออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิด murine cancer cell lines ที่ความเข้มข้น 0.01 - 0.1% [11] และ human melanoma M14 WT cells ที่ความเข้มข้น 0.005 - 0.03 % [12] และยังสามารถต้านทานเซลล์มะเร็งปอดที่ความเข้มข้น 0.02 % - 0.1 % [13] รวมไปถึงต้านต่อมะเร็งตับอ่อน มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งในกระเพาะได้ [14] ในขณะที่  $\alpha$ -terpineol

เป็นสารประกอบประเภทมอนอเทอร์ปีนอยด์แอลกอฮอล์ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักใน *Satureja Montana* สามารถออกฤทธิ์ควบคุมการแบ่งเซลล์อิริโทรทิลิวคีมิกในมนุษย์ [15] และมีฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบ ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการผลิตซูเปอร์ออกไซด์ [16]

### 3.2 การออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดของมะไฟจีน

ตัวอย่าง	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	methicillin - resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
สายพันธุ์ผลกลม	128	> 200	128	> 200
สายพันธุ์ผลแหลม	128	200	128	> 200
Vancomycin <sup>b)</sup>	0.5	1	-	-
Gentamicin <sup>b)</sup>	-	-	0.5	0.5

<sup>b)</sup> ยาที่ใช้เป็นตัวควบคุมบวก

การออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* และ methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* ให้ค่า MIC 128 และมากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสายพันธุ์ผลกลมและให้ค่า MIC 128 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสายพันธุ์ผลแหลม ซึ่งใกล้เคียงกับการออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ให้ค่า MIC 128 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสายพันธุ์ผลกลม และให้ค่า MIC 128 และมากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสายพันธุ์ผลแหลม ทั้งนี้มีรายงานว่าองค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหย เช่น sabinene สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ [17] ในขณะที่  $\alpha$ -pinene สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* [18] *Corynebacterium* sp. และ *Bacillus cereus* รวมไปถึงต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* [7] นอกจากนี้ยังพบการรายงานถึงการออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของ  $\alpha$ -terpineol อีกด้วย [19] - [20]

ทั้งนี้ น้ำมันหอมระเหยของเมล็ดมะไฟจีนสายพันธุ์ผลแหลมสามารถต้านต่อเชื้อแบคทีเรีย methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* โดยมี MIC สูงกว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ไม่มีพิษต่อผิวหนัง

### 3.3 การออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อรา

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อราของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดของมะไฟจีน

ตัวอย่าง	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	<i>Microsporium gypseum</i> clinical isolate	<i>Candida albicans</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
สายพันธุ์ผลกลม	64	> 200	200
สายพันธุ์ผลเหลี่ยม	> 200	> 200	200
Miconazole <sup>b)</sup>	1	-	-
Amphotericin B <sup>b)</sup>	-	0.25	0.0625

<sup>b)</sup> ยาที่ใช้เป็นตัวควบคุมบวก

การออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อรา โดยใช้ *Microsporium gypseum* clinical isolate ให้ค่า MIC 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสายพันธุ์ผลกลมและให้ค่า MIC มากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสายพันธุ์ผลเหลี่ยม ซึ่งมีรายงานการต้านต่อเชื้อราของ Sabinene ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยให้ค่า MIC 50 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [17] และยังมีรายงานว่า  $\alpha$ -pinene จำนวน 8.75 ไมโครกรัม สามารถต้านทานเชื้อรา *Alternaria* sp., *Aspergillus nidulans* และ *Aspergillus niger* [7] นอกจากนี้ยังพบการรายงานถึงการออกฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi ของน้ำมันหอมระเหยจาก *Salvia sclarea* ซึ่งมี  $\alpha$ -terpineol เป็นองค์ประกอบหลักอีกด้วย [20] การออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อยีสต์ โดยใช้ *C. albicans* และ *C. neoformans* ให้ค่า MIC เท่ากันทั้งในสายพันธุ์ผลกลมและสายพันธุ์ผลเหลี่ยม *C. albicans* ให้ค่า MIC มากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *C. neoformans* ให้ค่า MIC 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีรายงานว่า Sabinene สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ [17]  $\alpha$ -pinene สามารถออกฤทธิ์ต้านทาน *C. albicans*, *C. neoformans* [7], [21] terpinen-4-ol ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักใน *Melaleuca alternifolia* Cheel สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. neoformans* และ *S. cerevisiae* [22]

ทั้งนี้ น้ำมันหอมระเหยของสายพันธุ์ผลเหลี่ยมสามารถต้านต่อเชื้อรา *Microsporium gypseum* clinical isolate โดยมี MIC อยู่ในช่วงความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ไม่มีพิษต่อผิวหนัง จึงสามารถนำน้ำมันหอมระเหยมาพัฒนาเป็นยาต้านเชื้อราได้

### 3.4 การออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อวัณโรค

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อวัณโรคของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดของมะไฟจีน

ตัวอย่าง	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (H37Ra)
สายพันธุ์ผลกลม <sup>a)</sup>	ไม่สามารถต้านทานเชื้อวัณโรค
สายพันธุ์ผลแหลม <sup>a)</sup>	ไม่สามารถต้านทานเชื้อวัณโรค
Rifampicin <sup>b)</sup>	0.025
Ofloxacin <sup>b)</sup>	0.391
Streptomycin <sup>b)</sup>	0.313
Isoniazid <sup>b)</sup>	0.0469
Ethambutol <sup>b)</sup>	0.469

a) ทดสอบที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.56 - 50  $\mu\text{g/ml}$

b) ยาที่ใช้เป็นตัวควบคุมบวก

การออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อวัณโรค โดยใช้ *M. tuberculosis* (H37Ra) ทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 1.56 - 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่สามารถต้านทานเชื้อวัณโรค โดยมีรายงานกล่าวถึงการยับยั้งการเจริญของเชื้อวัณโรคจากผู้ป่วย *chronic lymphocytic leukaemia* (CLL) ของ  $\alpha$ -terpineol ในช่วงความเข้มข้น 0.1 - 100 มิลลิโมลาร์ [23]

### 3.5 การออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อมาลาเรีย

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน

ตัวอย่าง	IC <sub>50</sub>
	<i>Plasmodium falciparum</i> , K1 Strain
สายพันธุ์ผลกลม <sup>a)</sup>	ไม่สามารถต้านทานเชื้อมาลาเรีย <sup>a)</sup>
สายพันธุ์ผลแหลม <sup>a)</sup>	ไม่สามารถต้านทานเชื้อมาลาเรีย <sup>a)</sup>
Dihydroartemisinin <sup>b)</sup>	2.36 nm
Mefloquine <sup>b)</sup>	0.0292 $\mu\text{M}$

a) ทดสอบที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1 - 10  $\mu\text{g/ml}$

b) ยาที่ใช้เป็นตัวควบคุมบวก

การออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อวัณโรค โดยใช้ *P. falciparum* ทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 1 - 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่สามารถต้านทานเชื้อมาลาเรีย *P. falciparum*, K1 Strain

ทั้งนี้ในการศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดที่มี cryptone ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีนสายพันธุ์ผลแหลม พบว่าการต้านต่อเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจาก *Eucalyptus camaldulensis* และ *Eucalyptus rudis* สามารถต้านต่อเชื้อ *S. aureus*, *Streptococcus A*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *K. pneumonia* และ *P. aeruginosa* [24] ให้ผลแตกต่างจากการศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีน ซึ่งไม่สามารถต้านต่อแบคทีเรีย *S. aureus*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* นอกจากนี้ยังมีรายงานการออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจาก *Premna microphylla* Turczaninow พบว่าสามารถออกฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียแกรมบวกโดยให้ค่า MIC 0.27 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร [25] ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีนสามารถออกฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียแกรมบวก methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* ทั้งนี้การศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่นที่มี 3-carene ซึ่งพบในน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดมะไฟจีนสายพันธุ์ผลกลม พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก *Premna microphylla* Turczaninow สามารถออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อราโดยให้ค่า MIC มากกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร [25] น้ำมันหอมระเหยจาก *Thymus capitatus* L., *Daucus crinitus* Desf. และ *Tetraclinis articulate* Vahl. สามารถต้านต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp1* และ *Penicillium sp2* [26] และน้ำมันหอมระเหยจาก *Juniperus communis* ssp. *alpina*, *J. oxycedrus* ssp. *oxycedrus* และ *J. turbinata* [27] สามารถต้านต่อเชื้อรา *Microsporium gypseum* clinical isolate ได้

## บทสรุป

เมล็ดมะไฟจีนซึ่งเป็นกากเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะไฟจีน เมื่อนำมากลั่นน้ำมันหอมระเหยที่เวลา 2 3 และ 4 ชั่วโมง พบว่าจะได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดเมื่อใช้เวลากลั่นนาน 3 ชั่วโมง ในทั้งสองสายพันธุ์ และเมื่อนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้วิเคราะห์องค์ประกอบพบว่าสายพันธุ์ผลกลมพบ 14 องค์ประกอบ มีองค์ประกอบหลัก คือ  $\alpha$ -thujene (49.99 %), sabinene (20.65 %), terpinen-4-ol (9.21 %) และ  $\alpha$ -pinene (1.65 %) ในสายพันธุ์ผลแหลมพบ 16 องค์ประกอบ มีองค์ประกอบหลัก คือ  $\alpha$ -thujene (59.13 %), sabinene (9.81 %), cryptone (4.27 %) และ thuja-2,4-(10)-diene (2.45 %) โดยองค์ประกอบหลักที่เหมือนกันคือ  $\alpha$ -thujene, sabinene ซึ่ง  $\alpha$ -thujene พบในสายพันธุ์ผลแหลมมากกว่าสายพันธุ์ผลกลมและ Sabinene พบในสายพันธุ์ผลกลมมากกว่าสายพันธุ์ผลแหลม และเมื่อนำน้ำมันหอมระเหยไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้งสองสายพันธุ์ไม่มีพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ที่ความเข้มข้น 3.13 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* และเชื้อยีสต์ *C. neoformans* โดยให้ค่า MIC 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และน้ำมันหอมระเหยจากสายพันธุ์ผลกลมสามารถออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อราได้ดีกว่า น้ำมันหอมระเหยจากสายพันธุ์ผลแหลม ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากสายพันธุ์ผลแหลมสามารถออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าสายพันธุ์ผลกลม ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดทั้งสองสายพันธุ์ไม่สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* และเชื้อยีสต์ *C. albicans* และเมื่อนำไปทดสอบการออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อวัณโรคและ

เชื่อมมาลาเรียพบว่าไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อดังกล่าวที่ความเข้มข้น 1.56 - 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร และ 1 - 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร การศึกษาการออกฤทธิ์ต่อการต้านทานจุลชีพและความเป็นพิษต่อผิวหนังมนุษย์ของน้ำมันหอมระเหยทั้งสองสายพันธุ์ได้รายงานในฉบับนี้เป็นครั้งแรก โดยที่น้ำมันหอมระเหยจะไม่สามารถในการต้านต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ ยีสต์ วัณโรค และเชื่อมมาลาเรีย แต่จากรายงานก่อนหน้านี้พบว่าองค์ประกอบหลักบางชนิด เช่น Sabinene มีฤทธิ์ต้านต่อเซลล์มะเร็ง เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อยีสต์ terpinen-4-ol มีฤทธิ์ต้านต่อเซลล์มะเร็งปอด  $\alpha$ -pinene มีฤทธิ์ต้านต่อเชื้อยีสต์ได้ดี ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและพัฒนายาหรือส่วนประกอบอื่นในเครื่องสำอางในอนาคตต่อไปได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน

## References

- [1] Burkill, I.H. (1966). A Dictionary of Economic Products of the Malay Peninsula. Crown Agents for the Colonies, London.
- [2] Agriculture Extension and production of horticultural centre Nan. (1990). Wampee. Nan (In Thai)
- [3] Zhao, J., Nan, P. and Zhong, Y. (2004). Chemical Composition of the Essential Oils of *Clausena lansium* from Hainan Island. *Zeitschrift für Naturforschung C*. Vol. 59. Issue 3-4. pp. 153-156
- [4] Choekprasert, P., Charles, A., Sue, K.-H. and Huang, T.-C. (2007). Volatile Components of the Leaves, Fruits and Seeds of Wampee [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels]. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 20. pp. 52-56
- [5] Loughrin, J.H., Manukian, A., Heath, R.R., Turlings, T.C.J. and Tumlinson, J.H. (1994). Diurnal Cycle of Emission of Induced Volatile Terpenoids by Herbivore-Injured Cotton Plants. In *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 91. No. 5. pp. 11836-11840
- [6] Okugawa, H., Ueda, R., Matsumoto, K., Kawanishi, K. and Kato, A. (1995). Effect of  $\alpha$ -santalol and  $\beta$ -santalol from Sandal Wood on the Central Nervous System in Mice. *Phytomedicine*. Vol. 2. Issue 2. pp. 119-126
- [7] Sandra, B.G., Svetomir, M., Suzana, I.D., Aleksandar, M.O. and Dejan, U.S. (2007). Antimicrobial Activity of the Essential Oil and Different Fractions of *Juniperus communis* L. and a Comparison with Some Commercial Antibiotics. *Journal of the Serbian Chemical Society*. Vol. 72. Issue 4. pp. 311-320

- [8] Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G. and Bisignano, G. (2005). Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol. 49. No. 6. pp. 2474-2478
- [9] Adams, R.P. (2001). *Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*, 3<sup>rd</sup> Edn. Allured publishing Co., Carol Stream, Illinois, USA
- [10] Valente, J., Zuzarte, M., Gonçalves, M.J., Lopes, M.C., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. and Cruz, M.T. (2013). Antifungal, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Oenanthe crocata* L. essential oil. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 62. pp. 349-354
- [11] Greay, S.J., Ireland, D.J., Kissick, H.T., Levy, A., Beilharz, M.W. and Riley, T.V. (2010). Introduction of Necrosis and Cell Cycle Arrest in Murine Cancer Cell Lines by *Melaleuca Alternifolia* (Tea Tree) Oil and terpinen-4-ol. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. Vol. 65. Issue 5. pp. 877-888
- [12] Calcabrini, A., Stringaro, A., Toccaceli, L., Meschini, S., Marra, M. and Colone, M. (2004). Terpinen-4-ol, The Main Component of *Melaleuca Alternifolia* (Tea Tree) Oil Inhibits the *In Vitro* Growth of Human Melanoma Cells. *Journal of Investigative Dermatology*. Vol. 122. Issue 2. pp. 349-360
- [13] Wu, C.S., Chen, Y.J., Chen, J.J., Shieh, J.J., Huang, C.H., Lin, P.S., Chang, G.C., Chang, J.T. and Lin, C.C. (2012). Terpinen-4-ol induces apoptosis in human nonsmall cell lung cancer in vitro and in vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 2012: 818261
- [14] Shiran, S., Shlomo, P., Diana, K., Peter, T. and Nadir, A. (2016). Terpinen-4-ol: a novel and promising therapeutic agent for human gastrointestinal cancers. *Plos One*. Vol 11. Issue 6. p. e0156540
- [15] Lampronti, I., Saab, A.M. and Gambari, R. (2006). Antiproliferative Activity of Essential Oils Derived from Plants Belonging to the Magnoliophyta Division. *International Journal of Oncology*. Vol. 29. No. 4. pp. 989-995
- [16] Held, S., Schieberle, P. and Somoza, V. (2007) Characterization of Alpha-Terpineol as an Anti-Inflammatory Component of Orange Juice by *In Vitro* Studies Using Oral Buccal Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 55. No. 20. pp. 8040-8046
- [17] Arunkumar, R., Nair, S.A., Rameshkumar, K.B. and Subramoniam A. (2014). The Essential Oil Constituents of *zornia diphylla* (l.) pers, and Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of the Oil. *Records of Natural Products*. Vol. 8. pp. 385-393

- [18] Leite, A.M., Lima, E.O., Souza, E.L., Diniz, M.F.F.M., Trajano, V.N. and Medeiros I.,A. (2007). Inhibitory Effect of  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene and Eugenol on the Growth of Potential Infectious Endocarditis Causing Gram-Positive Bacteria. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 43. pp. 121-126
- [19] Kotan, R., Kordali, S. and Cakir, A. (2007). Screening of Antibacterial Activities of Twenty-One Oxygenated Monoterpenes. *Zeitschrift für Naturforschung C*. Vol. 62. Issue 7-8. pp. 507-513
- [20] Pitarokili, D., Couladis, M., Petsikos-Panayotarou, N. and Tzakou, O. (2002). Composition and Antifungal Activity on Soil-Borne Pathogens of the Essential Oil of *salvia sclarea* from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 50. No. 23. pp. 6688-6691
- [21] Silva, A.C.R., Lopes, P.M., Azevedo, M.M.B., Costa, D.C.M., Alviano, C.S. and Alviano, D.S. (2012). Biological Activities of  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene Enantiomers. *Molecules*. Vol. 17. pp. 6305-6316
- [22] Mondello, F., Bernardis, F., Girolamo, A., Cassone, A. and Salvatore, G. (2006). In Vivo Activity of terpinen-4-ol, The Main Bioactive Component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Tea Tree) Oil Against Azole-Susceptible and -resistant Human Pathogenic Candida Species. *BMC Infectious Diseases*. Vol. 6. pp. 1-8
- [23] Hassan, S.B., Gali-Muhtasib, H., G öransson, H. and Larsson, Rolf. (2010). Alpha Terpeneol: A Potential Anticancer Agent which Acts through Suppressing nf-Kb Signaling. *Anticancer Research*. Vol. 30. pp. 1911-1920
- [24] Sliti, S., Ayadi, S., Kachouri, F., Khouja, M.A., Abderrabba, M. and Bouzouita, N. (2015). Leaf Essential Oils Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of *Eucalyptus camaldulensis* and *E. rudis* from Korbous (Tunisia). *Journal of Materials and Environmental Science*. Vol. 6. pp. 743-748
- [25] Zhang, H., Gao, Y. and Lai, P. (2017). Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Essential Oil from *Premna microphylla* Turczaninow. *Molecules*. Vol. 22. doi:10.3390/molecules22030381
- [26] Alam, S.B., Benyelles, N.G., El Amine Dib, M., Djabou, N., Tabti, L., Paolini, J., Muselli, A. and Costa, J. (2014). Antifungal Activity of Essential Oils of Three Aromatic Plants from Western Algeria Against five Fungal Pathogens of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Journal of Applied Botany and Food Quality*. Vol. 87. pp. 56-61
- [27] Cavaleiro, C., Pint, E., Goncalves, M.J., Salgueiro, L. (2006). Antifungal Activity of Juniperus Essential Oils Against Dermatophyte, Aspergillus and Candida Strains. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 100. Issue 6. pp. 1333-1338