



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์, สารต้านอนุมูลอิสระและ
ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย

**A STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY, ANTIOXIDANT
ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL
OILS FROM THAI MEDICINAL PLANTS**

โดย

ศาสตราจารย์.ดร.ภญ. สมพร ศรีเฟื่องฟูง

ทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2567

งานวิจัย

เรื่อง การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์, สารต้านอนุมูลอิสระและ
ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย

ผู้ทำการวิจัย

สมพร ศรีเฟื่องฟุ้ง
ชาญวิทย์ ตริพุทธรัตน์
พริยาภรณ์ จงตระกูล
หัตยา ัญญจุณญ

**A STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY, ANTIOXIDANT
ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL
OILS FROM THAI MEDICINAL PLANTS**

The background of the lower half of the page features a large, faint, circular seal of Siam University. The seal contains the university's name in Thai script at the top and 'SIAM UNIVERSITY' in English at the bottom, with a central emblem.

**SOMPORN SRIFUENGFUNG
CHANWIT TRIBUDDHARAT
PIRIYAPORN CHONGTRAKOOL
HUTTAYA THUNCHAROON**

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์, สารต้านอนุมูลอิสระและส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย

สมพร ศรีเฟื่องฟู¹, ชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์², ปริยาภรณ์ จงตระกูล², หัตยา ธัญจุณ³

¹คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม, ²ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ม.มหิดล,

³ห้องปฏิบัติการงานจุลชีววิทยา โรงพยาบาลตากสิน

คำสำคัญ: กานพลู, ต้นชา, กระชาย, ยูคาลิปตัส, น้ำมันหอมระเหย

การศึกษาน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิด คือ กานพลู, ต้นชา, กระชาย และยูคาลิปตัสเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยใช้วิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยาคือ Disk diffusion ทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรค 6 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาใน ร.พ. ศิริราช คือ Methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) 8 สายพันธุ์, Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 8 สายพันธุ์, *Acinetobacter baumannii* 12 สายพันธุ์, *E. coli* 6 สายพันธุ์, *Pseudomonas aeruginosa* 6 สายพันธุ์ และ *Candida albicans* 6 สายพันธุ์ พบว่าน้ำมันกานพลู มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด ส่วนน้ำมันต้นชา และน้ำมันกระชาย มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีรองลงมา ส่วนน้ำมันยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์น้อยที่สุด สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระ ใช้วิธีมาตรฐานคือ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) พบว่าน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดกล่าวคือ ผล IC_{50} (inhibitory concentration at 50%) = 0.01 ± 0.00 mg/ml รองลงมาคือ น้ำมันต้นชา $IC_{50} = 15.48 \pm 0.00$ mg/ml และ น้ำมันกระชาย $IC_{50} = 34.27 \pm 0.21$ mg/ml ส่วนน้ำมันยูคาลิปตัส พบว่าไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเลย สำหรับผลการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีพบว่า Eugenol จากน้ำมันกานพลู, Alpha-Terpeneol จากน้ำมันกระชายและ Terpinen-4-ol จากน้ำมันต้นชา มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลของน้ำมันทั้งสามโดยใช้ค่า mean $\pm$ standard deviation เพราะพบว่าค่า inhibition zone เฉลี่ยเท่ากับ 14.40 ± 5.16 , 14.02 ± 5.32 และ 12.71 ± 5.59 มม. ตามลำดับ สำหรับผลการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า Eugenol จากน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมาคือ Alpha-Terpeneol จากน้ำมันกระชาย และ Terpinen-4-ol จากน้ำมันต้นชาตามลำดับ

Abstract

A STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS FROM THAI MEDICINAL PLANTS

Somporn Srifuengfung¹, Chanwit Tribuddharat², Piriaporn Chongtragool², Huttaya Thuncharoon³

¹Faculty of Pharmacy, Siam University, ²Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, ³Microbiology Laboratory, Taksin Hospital

Keywords: Clove oil, Tea Tree oil, Lesser Galanga oil, Eucalyptus oil, Essential oil

Many essential oils have antimicrobial and antioxidant properties with a potential use in medicine. Clove oil, Tea Tree oil, Lesser Galanga oil and Eucalyptus oil are essential oils, of which we determined the inhibitory against microbial pathogens and evaluated their active chemical components. The antimicrobial activities were tested by disk diffusion method against 2 control strains *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 and 46 clinical isolates of MSSA, MRSA, *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* obtained from different patients admitted in Siriraj Hospital. Clove oil had the most antimicrobial activity, followed by Tea Tree oil, Lesser Galanga oil and Eucalyptus oil, respectively. By using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method, Clove oil had the most antioxidant activity, followed by Tea Tree oil, Lesser Galanga oil and Eucalyptus oil, respectively. The IC₅₀ (inhibitory concentration at 50%) of Clove oil was 0.01 ± 0.00 mg/ml, followed by Tea Tree oil (IC₅₀ = 15.48 ± 0.00 mg/ml) and Lesser Galanga oil, IC₅₀ = 34.27 ± 0.21 mg/ml, respectively. However, Eucalyptus oil did not show antioxidant activity. Eugenol, Alpha-Terpineol and Terpinen-4-ol are chemical composition abundant in Clove, Tea Tree and Lesser Galanga oils, respectively. Our results suggest that the antimicrobial activities of these chemical compositions are not different by mean ± standard deviation because the diameter of inhibition zones were 14.40 ± 5.16, 14.02 ± 5.32 and 12.71 ± 5.59 mm, respectively. The chemical composition (Eugenol, Alpha-Terpineol and Terpinen-4-ol) showed antioxidant properties from highest to lowest in order as eugenol, Alpha-Terpineol and Terpinen-4-ol, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลงได้ผลดีสมตามความมุ่งหมาย ในนามของคณะผู้ทำการศึกษา ขอขอบพระคุณ คณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กสว.) ที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านมหาวิทยาลัยสยามเพื่อใช้ในการทำงานวิจัยนี้

นอกจากนี้ผู้ศึกษาขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม ที่สนับสนุนข้อมูลเพื่อใช้ในการทำงานวิจัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

สมพร ศรีเฟื่องฟู
ชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์
ปิริยาภรณ์ จงตระกูล
หัตยา รัชฎจรรณู

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
สัญลักษณ์ และ คำย่อ	ซ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 หลักการและเหตุผล	3
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
1.4 กรอบการวิจัย	6
1.5 แนวคิด ทฤษฎี และสมมติฐานงานวิจัย	7
1.6 วิธีการดำเนินงานทางห้องปฏิบัติการ	10
2 ผลการวิจัย	13
2.1 การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย	13
2.2 การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย	21
2.3 การตรวจสอบส่วนประกอบทางเคมีที่สามารถออกฤทธิ์	36
3 วิเคราะห์ผลการวิจัย	43
4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	45
4.1 สรุปผลการวิจัย	45
4.2 ข้อจำกัดของการวิจัย	46
4.3 ข้อเสนอแนะ	46

4.4 ประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลการวิจัย	46
เอกสารอ้างอิง	50
ภาคผนวก	53
เอกสารรับรองจริยธรรม	54
ประวัติผู้ดำเนินการวิจัย	55



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการศึกษา	13
2	รายละเอียดของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่ทำการศึกษา	14
3	Certificate of analysis of pure essential oils	16
4	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย	17
5	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย	21
6	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 1)	26
7	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 2)	27
8	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 3)	27
9	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันต้นชาโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 1)	30
10	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันต้นชาโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 2)	31
11	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันต้นชาโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 3)	31
12	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกระชายโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 1)	34
13	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกระชายโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 2)	35
14	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกระชายโดยวิธี DPPH (ซ้ำที่ 3)	35
15	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของส่วนประกอบทางเคมี	38
16	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของส่วนประกอบทางเคมี (mean $\pm$ SD)	41
17	ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย DPPH assay ของสารสำคัญซึ่งเป็นส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันกานพลู น้ำมันต้นชาและน้ำมันกระชายตามลำดับ (n = 3)	42

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	น้ำมันกานพลู (Clove oil) มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด	20
2	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Clove oil ครั้งที่ 1	23
3	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Clove oil ครั้งที่ 2	24
4	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Clove oil ครั้งที่ 3	25
5	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Tree tea oil ครั้งที่ 1	28
6	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Tree tea oil ครั้งที่ 2	29
7	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Tree tea oil ครั้งที่ 3	30
8	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Lesser Galanga oil ครั้งที่ 1	32
9	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Lesser Galanga oil ครั้งที่ 2	33
10	ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Lesser Galanga oil ครั้งที่ 3	34
11	Alpha-Terpineol เป็นส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันกระชาย	36

สัญลักษณ์ และ คำย่อ

<i>A. baumannii</i>	=	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Abs	=	Absorbance
ATCC	=	American Type Culture Collection
AVE	=	Average
<i>C. albicans</i>	=	<i>Candida albicans</i>
Conc.	=	Concentration
DPPH	=	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
<i>E. coli</i>	=	<i>Escherichia coli</i>
GC-MS	=	Gas chromatography-mass spectrometry
IC ₅₀	=	inhibitory concentration at 50%
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
mm	=	millimeter
MRSA	=	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	=	Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
No.	=	Number
<i>P. aeruginosa</i>	=	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
RSD	=	relative standard deviation
<i>S. aureus</i>	=	<i>Staphylococcus aureus</i>
Sol	=	Solution
<i>S. aureus</i>	=	<i>Staphylococcus aureus</i>
SD	=	standard deviation
ug	=	microgam
ul	=	microliter

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การใช้ยาสังเคราะห์ทางเคมีในการรักษาโรคอาจทำให้เกิดการดื้อของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ดังนั้นการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคแทนการใช้ยาสังเคราะห์ น้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่สกัดได้จากสมุนไพรไทย มีมากมายหลายชนิด คณะผู้วิจัยต้องการศึกษาโดยทำการตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทย เพื่อให้ได้ความรู้ใหม่เกี่ยวกับการตรวจสอบหาส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ที่สามารถออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ และ/หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรค ตลอดจนการตรวจสอบหาส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ที่สามารถออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เพื่อให้ผู้ซื้อได้รับน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรที่ปลอดภัยและมีคุณภาพดี งานวิจัยนี้เพื่อส่งเสริมความมั่นคง สร้างความยั่งยืน และความสามารถแข่งขันได้ในระดับสากล นอกจากนี้ยังสร้างองค์ความรู้เพื่อสนับสนุนการผลิตยาสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบสำคัญ เนื่องจากการศึกษานี้จะทำทั้งในด้านการเปรียบเทียบทางด้านคุณภาพ (qualitative study) และทางด้านปริมาณ (quantitative study) เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้ใช้ได้อย่างเป็นรูปธรรมและทำให้เกิดความเชื่อมั่นในยาสมุนไพร นอกจากนี้งานวิจัยเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยที่สามารถออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรคยังมีจำนวนน้อย รวมทั้งชนิดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรคที่นำมาทำการทดสอบมีจำนวนน้อยเช่นกัน ตลอดจนงานวิจัยส่วนใหญ่ที่มีรายงานมาแล้วนั้นเป็น crude essential oil ทำให้ขาดข้อมูลการศึกษาโดยละเอียดเกี่ยวกับการตรวจสอบหาชนิดและปริมาณของส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่สามารถออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรค สำหรับงานวิจัยทางด้านความสามารถในการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยนั้นมี

จำนวนน้อยเช่นเดียวกัน งานวิจัยนี้จึงมีประโยชน์ทำให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดและถูกต้อง ทำให้สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกันได้ ในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยที่นำมาศึกษาจำนวน 4 ชนิด และสามารถใช้เป็นข้อควรพิจารณาในการนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป ตลอดจนทำให้น้ำมันหอมระเหยมีศักยภาพเพิ่มมากขึ้นที่จะเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์ได้ในระดับอุตสาหกรรมกับผลิตภัณฑ์ที่เน้นความปลอดภัยของผู้ใช้เป็นสำคัญ การใช้ยาสังเคราะห์ทางเคมีในการรักษาโรคอาจทำให้เกิดการดื้อของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ดังนั้นการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรค แทนการใช้ยาสังเคราะห์ น้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่สกัดได้จากสมุนไพรไทย มีมากมายหลายชนิด คณะผู้วิจัยต้องการศึกษาโดยทำการตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทย เพื่อให้ได้ความรู้ใหม่เกี่ยวกับการตรวจสอบหาส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ที่สามารถออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ และ/หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรค ตลอดจนการตรวจสอบหาส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ที่สามารถออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เพื่อให้ผู้ซื้อได้รับน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรที่ปลอดภัยและมีคุณภาพดี งานวิจัยนี้เพื่อส่งเสริมความมั่นคง สร้างความยั่งยืน และความสามารถแข่งขันได้ในระดับสากล นอกจากนี้ยังสร้างองค์ความรู้เพื่อสนับสนุนการผลิตยาสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบสำคัญ เนื่องจากการศึกษานี้จะทำการทั้งในด้านการเปรียบเทียบทางด้านคุณภาพ (qualitative study) และทางด้านปริมาณ (quantitative study) เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้ใช้ได้อย่างเป็นรูปธรรมและทำให้เกิดความเชื่อมั่นในยาสมุนไพร นอกจากนี้งานวิจัยเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยที่สามารถออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรดยังมีจำนวนน้อย รวมทั้งชนิดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรคที่นำมาทำการทดสอบมีจำนวนน้อยเช่นกัน ตลอดจนงานวิจัยส่วนใหญ่ที่มีรายงานมาแล้วนั้นเป็น crude essential oil ทำให้ขาดข้อมูลการศึกษาโดยละเอียดเกี่ยวกับการตรวจสอบหาชนิดและปริมาณของส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่สามารถออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและเชื้อราก่อโรค สำหรับงานวิจัยทางด้านความสามารถในการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยนั้นมีจำนวนน้อยเช่นเดียวกัน งานวิจัยนี้จึงมีประโยชน์ทำให้ได้ข้อมูลที่ละเอียดและถูกต้อง ทำให้สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกันได้ ในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทยที่นำมาศึกษาจำนวน 4 ชนิด และสามารถใช้เป็นข้อควรพิจารณาในการนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป ตลอดจนทำ

ให้น้ำมันหอมระเหยมีศักยภาพเพิ่มมากขึ้นที่จะเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์ได้ในระดับอุตสาหกรรมกับผลิตภัณฑ์ที่เน้นความปลอดภัยของผู้ใช้เป็นสำคัญ

1.2 หลักการและเหตุผล

แอนติไบโอติก (Antibiotic) หรือที่นิยมเรียกว่ายาปฏิชีวนะ เป็นสารเคมีที่มีผลยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอาจหมายถึงสารที่เกิดจากสารกึ่งสังเคราะห์ (semisynthetic drug) ที่มีลักษณะคล้ายสารจากธรรมชาติด้วย เช่น Penicillin, Tetracycline และ Macrolide

เชื้อแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ หมายถึง เชื้อ แบคทีเรียที่เคยไวต่อยาปฏิชีวนะมานานหนึ่ง แต่กลับดื้อต่อยาชนิดนั้นในเวลาต่อมา ทำให้ยาชนิดนั้น ไม่สามารถรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนั้นได้ผลดีอีกต่อไป จึงต้องเปลี่ยนเป็นยาปฏิชีวนะชนิดอื่นที่เชื่อมีความไว ซึ่งอาจมีผลการรักษาดีกว่า มีพิษและผลข้างเคียงมากกว่ายาปฏิชีวนะชนิดเดิม และมีราคาแพงทำให้ค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น สำหรับการที่เชื้อดื้อยาอาจเกิดจากยาซึ่งเป็นสารเคมีทำให้แบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงยีนจนดื้อยา (genetic mutation) หรือได้รับยีนดื้อยาจากแบคทีเรียตัวอื่น ๆ (gene transfer)

น้ำมันหอมระเหยอาจจะเป็นทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะได้เพื่อลดปัญหาเชื้อดื้อยา เนื่องจากมีรายงาน [1-2] คือ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากสมุนไพรไทย ได้แก่ *Zingiber cassumuna* (ไพล), *Cinnamomum bejolghota* (อบเชยไทย), *Mentha arvensis* var. *piperacens* (peppermint), *Cymbopogon citrates* (ตะไคร้), *Ocimum basilicum* var. *citratum* (basil) และ *Zanthoxylum limonella* Alston (มะแขว่น) มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคในทางเดินอาหาร คือ *Salmonella* sp., *Escherichia coli* O157: H7 DMST 12743, *Campylobacter jejunii*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* นอกจากนี้มีรายงาน [3] คือ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากส่วนของเปลือกพืชตระกูลส้มด้วยวิธีการกลั่นให้ผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย และมีรายงาน [4-5] คือ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากผิวมะกรูดนั้นพบว่าสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิดเช่นกัน ส่วนรายงานการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกระเพรา โหระพา สะระแหน่ พบว่าสารที่สำคัญของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชสมุนไพรเหล่านี้ ได้แก่ Eugenol, Carvacrol,

Menthol และ Limonene สำหรับในพืชตระกูลส้มพบว่าองค์ประกอบหลักที่พบส่วนใหญ่จะเป็นสาร Limonene, beta-pinene, Sabinene และ Citronellal [6-7] ส่วนรายงานการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากผิวมะกรูด พบว่าสารที่สำคัญได้แก่ [4] limonene 40.65%, terpinen-4-ol 13.71%, alpha-terpineol 13.20% แต่น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบมะกรูดนั้นคือ Citronellal 80.04% นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจากไม้จำพวกสน (Juniperus) พบว่ามีคุณสมบัติที่ดีในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และพบสารสำคัญหลักที่อาจเป็นสารที่ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดี คือ กลุ่มสาร alpha-pinene, Limonene และ Sabinene [8]

โครงการวิจัยนี้จึงได้นำน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยมาทำการศึกษา ดังต่อไปนี้

1. กานพลู (Clove oil)
2. กระชาย (Lesser Galanga oil)
3. ต้นชา (Tea Tree oil)
4. ยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil)

จุลชีพที่นำมาใช้ทำการทดสอบประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรค [9-10] จำนวน 6 ชนิด คือ

1. *Acinetobacter baumannii* เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่มีความเสี่ยง คือ ผู้สูงอายุ ผู้ที่มีโรคประจำตัว ผู้ที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ผู้ที่ได้รับอุบัติเหตุรุนแรง
2. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) สำคัญมากเพราะทำให้เกิดปัญหาของการติดเชื้อดื้อยาในโรงพยาบาล คือเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะกลุ่ม beta-lactams ได้แก่กลุ่ม penicillin, beta-lactam/beta-lactamase inhibitor, cephalosporin (ยกเว้นยาที่มีฤทธิ์ต้าน MRSA) และ carbapenem
3. methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) หมายถึง สายพันธุ์ของเชื้อที่ไวต่อยา oxacillin สำหรับเชื้อ *S. aureus* สามารถก่อโรคได้บ่อยในคนทั่วไป เช่น

Pyogenic disease หรือการเกิดหนองฝีตามผิวหนังทั่วร่างกาย กระตุก และอวัยวะภายใน

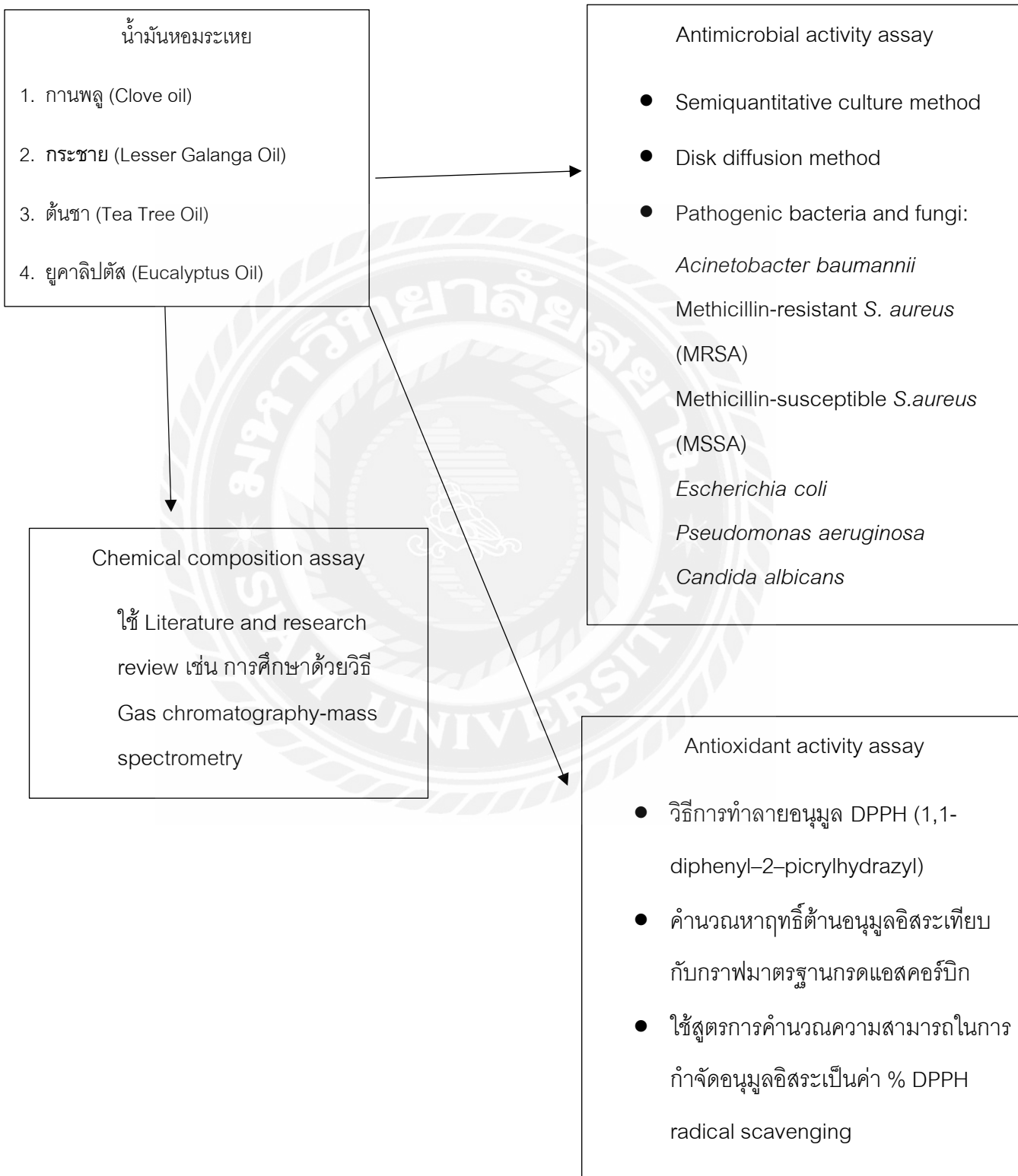
4. *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่ง ปกติพบอาศัยอยู่ในทางเดินอาหารส่วนลำไส้ของคนและสัตว์ โดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ก่อโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในทารก ในคนเดินทางไปที่ต่างถิ่น สามารถสร้างสารพิษเอนเทอโรท็อกซิน
5. *Pseudomonas aeruginosa* ก่อโรคติดเชื้อที่หูส่วนนอก แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ตาอักเสบและเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาล
6. *Candida albicans* มักจะเป็นสาเหตุของการติดเชื้อราบริเวณอวัยวะที่มีความชื้นสูงๆ โดยเฉพาะ mucocutaneous เช่น บริเวณอวัยวะเพศ รอบๆ ทวารหนัก ขาหนีบ และโรคเชื้อราในปาก

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การตรวจสอบสิ่งต่อไปนี้ในน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรไทย 4 ชนิดตามที่กล่าวมาแล้ว

- ก. สารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) ประกอบด้วยการทดสอบหลายชนิด ได้แก่ การทำ Semiquantitative culture method, Standard disk diffusion เป็นต้น จุลชีพที่นำมาใช้ทำการทดสอบประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรากลุ่ม 6 ชนิด
- ข. สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยใช้วิธีการทำละลายอนุมูล DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)
- ค. การตรวจสอบส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ โดยจะเรียงลำดับความสามารถของการออกฤทธิ์จากประสิทธิภาพมากไปประสิทธิภาพน้อย

1.4 กรอบการวิจัย



1.5 แนวคิด ทฤษฎี และสมมติฐานงานวิจัย

พืชสมุนไพรและพืชผักพื้นบ้านของประเทศไทยมีหลายชนิด อาทิ มะกรูด กานพลู อบเชย เป็นต้น โดยสามารถนำมารับประทานได้ทั้งแบบสดและเป็นส่วนประกอบในอาหาร ปัจจุบันการศึกษาวิจัยการใช้พืชสมุนไพรและพืชผักต่าง ๆ เป็นยารักษาโรคตลอดจนมีการศึกษาการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นสารกันเสียในอาหารและเครื่องดื่ม

คำว่า “น้ำมันหอมระเหย” หมายถึง น้ำมันที่สกัดได้มาจากพืชเช่น ส่วนดอก ใบ ผล ลำต้น มาใช้ในการบำบัดตามศาสตร์สูกนธบำบัด (Aromatherapy) ซึ่งเป็นการบำบัดรักษา โดยการใช้กลิ่นหอมของสารหอมในพืช น้ำมันหอมระเหย มีลักษณะเป็นน้ำมันของเหลวสีใส ซึ่งมีกลิ่นหอมและสามารถระเหยได้ที่อุณหภูมิห้อง สามารถสกัดจากพืชหอมซึ่งพืชเหล่านี้จะมีต่อมหรือท่อที่เก็บสะสมน้ำมันหอมระเหยไว้ ปัจจุบันน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่ เช่น ลาเวนเดอร์ เปปเปอร์มินต์ น้ำมันต้นชาและยูคาลิปตัส มาจากการกลั่น โดยใส่วัตถุดิบพืช ซึ่งประกอบด้วยดอก ใบ ไม้ เปลือกไม้ ราก เมล็ดหรือเปลือกใส่ถ้วยกลั่นเหนือน้ำ เมื่อน้ำร้อนแล้ว ไอน้ำจะผ่านวัตถุดิบพืช เกิดเป็นไอสารประกอบระเหยง่าย ไอลไหลผ่านขวด ที่ซึ่งจะควบแน่นกลับเป็นของเหลว แล้วมีการเก็บรวบรวมในภาชนะบรรจุ ปัจจุบันในส่วนที่เป็นพืชสมุนไพรที่สกัดได้น้ำมันหอมระเหยบางส่วน สรุปลงได้ดังนี้ [11-13]

กานพลู (Clove)

ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น สูงใหญ่ ความสูงโดยประมาณอยู่ที่ 5 – 10 เมตร หรือ บางต้นอาจสูงได้ถึง 20 เมตร ลักษณะที่สังเกตได้ คือ จะมีเรือนยอดเป็นรูปกรวยคว่ำ แตกกิ่งต่ำ ส่วนของลำต้นจะตั้งตรง เปลือกเรียบ สีเทา ใบกานพลู จะเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้าม มีก้านใบเล็กเรียว ปลายใบเรียวแหลม ขอบเรียบ แผ่นใบด้านบนเป็นมัน มีต่อมน้ำมันมาก มีสีแดงหรือน้ำตาลแดง ส่วนดอกออกเป็นช่อดอกสั้น ๆ หรือดอกตูม แทะออกบริเวณปลายยอดหรือง่ามใบบริเวณยอด แตกแขนงออกเป็นกระจุก 3 ช่อ มีจำนวน 6-20 ดอก ดอกมีใบประดับรูปสามเหลี่ยม ยาว 2-3 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยง 4 กลีบ สีเขียวอมเหลือง และมีสีแดงประปราย ผลกานพลู เป็นผลเดี่ยว มี 1 เมล็ด มีรูปไข่กับแกมรูปรี เมื่อแก่จะมีสีแดงเข้มออกคล้ำ ใช้ดอกกานพลูอมไว้ในปากเพื่อบดกลิ่นปาก นอกจากนั้นยังถูกนำมาใช้ในการปรุงตำรับยาจีนหลายแขนง สำหรับเป็นยาช่วยย่อยอาหาร ยาแก้ท้องเสีย ยาแก้ไส้เลื่อน ยารักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื้อน และฮ่องกงฟุต

เมื่อใส่กานพลูเป็นส่วนผสมในอาหารนั้น ๆ จะทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น นั้นเพราะกานพลูมีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้ดี ซึ่งยังมีความเข้มข้นมาก ก็ยังยับยั้งได้มาก โดยจากการทดสอบ หากนำเอาน้ำคั้นจากดอกกานพลู ผสมในอาหารแข็ง Potato dextrose agar ให้ได้ความเข้มข้นของน้ำคั้นสมุนไพร 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 และ 30% และในอาหารเหลว ให้ได้ความเข้มข้นของน้ำคั้นสมุนไพร 2, 10 และ 30% ผลการทดลองพบว่าทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

เมื่อทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู ด้วยสารสกัด diethyl ether พบว่าสามารถยับยั้งและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ 4 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Proteus vulgaris* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร แผลฝีหนอง และโรคติดเชื้อหลายระบบในร่างกาย

กระชาย (Lesser Galanga หรือ fingerroot)

เหง้าอยู่ใต้ดิน ซึ่งมีลักษณะเป็นรากอวบ รูปทรงกระบอก หรือรูปค่อนข้างยาวปลายเรียวแหลม จะออกเป็นกระจุก มีผิวสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในสีเหลือง มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีรสชาติเผ็ดร้อน ขมเล็กน้อย รับประทานเป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงกำลัง บำรุงกำหนด หรือโสมผสมกับน้ำหรือสุรา เป็นยาแก้ชาง (คือโรคขาดพลังงาน และโปรตีนในเด็ก โดยที่เด็กจะมีลักษณะพุโร ก้นปอด ลูกเดินแล้วล้มบ่อย) รักษาโรคอื่นๆ ในเด็ก เช่น แก้กิด ลักษณะเป็นไม้ล้มลุก ใบเดี่ยว ออกเรียงสลับทางออกจากใต้ดิน รูปไข่หรือรูปรี ปลายใบแหลม โคนใบเบี้ยวหรือเว้าเล็กน้อย ขอบใบเรียบและเป็นคลื่น หลังใบเรียบ ท้องใบเรียบสีม่วงแดง ก้านใบยาวสีม่วงแดง ดอกออกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกขนาดเล็กสีขาว โคนเชื่อมติดกันมีแฉกสีม่วงเข้มที่ปากดอกด้านล่าง

ต้นชา (Tea Tree)

เป็นพืชที่นำใบและยอดอ่อนไปผลิตเป็นชาจีน ทีทรี เป็นพืชที่ใบมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักซึ่งน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวมีคุณสมบัติเด่นในเรื่องต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ เป็นสารปฏิชีวนะและสาร antiseptic ที่ดี น้ำมันทีทรีได้จากการนำกิ่งและใบมากลั่นด้วยไอน้ำ น้ำมันมีลักษณะสีขาวใสหรือสีเหลืองอ่อนปนเขียว องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมัน Tea Tree มีสารสำคัญคือ Terpinen-4-ol และ 1,8-cineole ซึ่งสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการรักษาโรค คือ Terpinen-4-ol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง

ต่อผิวหนัง สำหรับสาร 1,8-cineole ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แต่อาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังถ้ามีในปริมาณสูง ดังนั้นมาตรฐานของประเทศออสเตรเลียจึงกำหนดว่า Tea tree oil ที่มีคุณภาพดี ควรมีปริมาณสาร Terpinen-4-ol จำนวน 30 % ขึ้นไป และมีปริมาณสาร 1,8-cineole ไม่เกิน 10 %

องค์ประกอบ	มาตรฐานของประเทศออสเตรเลีย		คุณภาพของน้ำมันที่กลั่นได้ในประเทศไทย
	ต่ำสุด (%)	สูงสุด (%)	ทั้งหมด (%)
<u>α-Thujene</u>	-	-	1.32
<u>α-Pinene</u>	1.00	6.00	4.43
<u>Sabinene</u>	Tr.	3.50	0.32
<u>β-Pinene</u>	-	-	1.13
<u>β-Myrcene</u>	-	-	1.79
<u>α-Phellandrene</u>	-	-	0.46
<u>α-Terpinene</u>	5.00	13.00	13.57
<u>p-Cymene</u>	0.50	12.00	3.90
<u>Limonene</u>	0.50	4.00	2.98
<u>Cineole</u>	None	28.00	8.44
<u>β-trans-Ocimene</u>	-	-	0.53
<u>γ-Terpinene</u>	10.00	28.00	23.80
<u>Terpinolene</u>	1.50	28.00	4.06
<u>Terpinen-4-ol</u>	30.00	None	28.39
<u>α-Terpineol</u>	1.50	8.00	1.97

ข้อมูลในตารางมาจากเอกสารดังนี้

https://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/51/Plant/Plant_11/index.htm แล้วเลือก Terpinen-4-ol จะมีตาราง “องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยทีทรี ตามมาตรฐานของประเทศออสเตรเลียและที่ผลิตได้ในประเทศไทย”

ยูคาลิปตัส (Eucalyptus Oil)

ยูคาลิปตัสเป็นพืชที่มีสีเขียวช่อตลอดปี ลำต้นมีความสูงมากถึง 50 ฟุต บางครั้งมีการจัดกลุ่มให้อยู่ในประเภทต้นไม้ที่ให้ยางไม้ ส่วนประกอบหลักทางเคมี ของ ยูคาลิปตัส จะให้สารยูคาลิปตอล (Eucalyptol) และ อัลฟา เทอพีนีออล (Alpha-terpineol) ที่จะช่วยให้มีกลิ่นที่หอมสดชื่นและช่วยปรับอากาศให้รู้สึกโล่งและบริสุทธิ์ ทำให้รู้สึกหายใจได้โล่งและสบาย นอกจากนี้ยังมีผลการศึกษาที่พบว่าพืชยูคาลิปตัส สามารถมีส่วนช่วยในการผ่อนคลายความรู้สึกเพื่อลดความตึงเครียดได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย รวมทั้งมีคุณสมบัติในการ ฆ่าเชื้อโรค บรรเทาอาการคัดจมูก หายใจไม่สะดวก ใช้ผสมน้ำมันนวดเพื่อบรรเทาอาการปวดข้อต่อ หรือรักษาแผลให้หายเร็วยิ่งขึ้น กลิ่นมีคุณสมบัติช่วยในเรื่องปัญหาระบบทางเดินหายใจ เป็นหวัดคัดจมูก หายใจไม่สะดวก ใช้สูดดมได้ตลอดเวลาเพื่อช่วยให้หายใจโล่ง ปลอดโปร่งและมีสมาธิ หรือใช้ผสมน้ำมันนวดผิวเพื่อบรรเทาอาการเมื่อยล้า

1.6 วิธีการดำเนินงานทางห้องปฏิบัติการ

ทำการศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยจำนวน 4 ชนิด คือ

- | | |
|--------------------------------|--|
| 1. กานพลู (Clove oil) | ชื่อวิทยาศาสตร์: <i>Syzygium aromaticum</i> |
| 2. กระชาย (Lesser Galanga oil) | ชื่อวิทยาศาสตร์: <i>Boesenbergia rotunda</i> |
| 3. ต้นชา (Tea Tree oil) | ชื่อวิทยาศาสตร์: <i>Melaleuca alternifolia</i> |
| 4. ยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil) | ชื่อวิทยาศาสตร์: <i>Eucalyptus globulus Labill</i> |

1.6.1 การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์

การวัดฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ประกอบด้วย 2 วิธี คือ Semiquantitative culture method และ Disk diffusion method

Semiquantitative culture method เพื่อตรวจหาจำนวนแบคทีเรีย ยีสต์หรือราในตัวอย่างตรวจน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย จะใช้วิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา [9] ดังนี้

-เขย่าขวดให้เข้ากันก่อนตักตัวอย่าง

-ใช้ sterile calibrated loop ขนาด 0.001 ml จุ่มในแนวตั้งลงในตัวอย่างแล้วยก loop ขึ้นตรงๆ จะได้สิ่งส่งตรวจติดเต็ม loop พอดี

-นำไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (blood agar, MacConkey agar และ Sabouraud dextrose agar) โดย streak เป็นเส้นตรงบริเวณกลางจานเพาะเชื้อ จากด้านบนจนถึงด้านล่าง จากนั้นให้ใช้ loop เดิมขีดเป็นเส้นตรงให้ตั้งฉากกับแนวเดิม ขีดไปมาถี่ๆ หลายๆ ขีดคล้ายกังปลา

-อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C นาน 24-48 ชม. นับจำนวนโคโลนี (30-300 โคโลนี ต่อ plate) แล้วนำมาคำนวณจำนวนโคโลนี ต่อ ml เป็น Colony Forming Unit/ ml หรือ CFU/ml

Disk diffusion method เพื่อตรวจสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ จะทำโดยใช้วิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา [9] ดังนี้

นำแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Streak Plate บนอาหารรุ้น sheep blood agar อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C นาน 18-24 ชม. แล้วนำโคโลนีบน sheep blood agar มา suspend ใน Mueller Hinton broth แล้วปรับความขุ่นของเชื้อด้วยเครื่อง nephelometer ให้ได้ค่าเท่ากับความขุ่นของ 0.5 Mc Farland standard (มีเชื้อประมาณ 10^8 CFU/ml) จากนั้นใช้ไม้พันสำลีไร้เชื้อ (sterile cotton swab) ป้ายเชื้อให้ทั่วบน Mueller Hinton agar เป็น 3 ระบายแล้วทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง ทำการเปิด 10 ไมโครลิตร ของตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่ต้องการทดสอบลงในแผ่น sterile disk (กระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) ทดสอบด้วยการใช้ sterile forceps วาง sterile disk ที่มีตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย จากนั้นวัด zone หรือบริเวณยับยั้งที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้น (inhibition zone) โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเป็นหน่วยมิลลิเมตร ซึ่งใช้เชื้อ *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 และ *P. aeruginosa* ATCC 49247 เป็น positive control รวมทั้งใช้ ampicillin disk 10 µg (Oxoid, Hampshire, UK) เป็น positive control ส่วน Negative control ใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งแล้วคำนวณหาค่า mean $\pm$ standard deviation

หมายเหตุ: การศึกษาเพื่อตรวจสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อราก่อโรค จะทำโดยใช้วิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา [9, 14]

1.6.2. การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลดีพีพีเอช (DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ใช้สาร ascorbic acid เป็น positive control ใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย และทำการทดลอง 3 ซ้ำ [15] ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- นำสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้น x มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายอนุมูลดีพีพีเอช ความเข้มข้น 80 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 900 ไมโครลิตร
- หลอดควบคุมใช้ตัวทำละลายของสารตัวอย่างแทนสารตัวอย่าง
- นำหลอดทั้งหมดตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา
- นำหลอดทั้งหมดไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร
- คำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ %DPPH radical scavenging โดยมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

โดย A₀ คือ ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A₁ คือ ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมตัวอย่าง

1.6.3. การตรวจสอบส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition)

ใช้ Literature and research review เช่น การศึกษาด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry [4, 20-22]

1.6.4. การตรวจสอบส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ที่สามารถออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) และออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้

การตรวจสอบส่วนประกอบทางเคมีที่ได้ผลลัพธ์มาจากหัวข้อ 1.6.3 จะนำมาทำการศึกษาต่อในหัวข้อ 1.6.4 นี้จะทำตามวิธีที่กล่าวมาแล้วโดยละเอียดในหัวข้อการทดลองของหัวข้อย่อยตั้งแต่ 1.6.1-1.6.2

บทที่ 2

ผลการวิจัย

2.1 การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหย

ใช้วิธีมาตรฐาน Disk diffusion

จำนวนน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการศึกษามี 4 ชนิดดังแสดงในตารางที่ 2.1

รายละเอียดของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่ทำการศึกษา แสดงดังตารางที่ 2.2

ผลการศึกษาฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 1. จำนวนน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการศึกษา

รายการตัวอย่างที่ต้องการศึกษาฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์, สารต้านอนุมูลอิสระและส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย		
ลำดับ	ชื่อน้ำมันหอมระเหย	ลักษณะโดยย่อ
1	กานพลู (Clove)	ของเหลวสีเหลืองอ่อน
2	ยูคาลิปตัส (Eucalyptus)	ของเหลวใสไม่มีสี
3	กระชาย (Galanga)	ของเหลวสีเหลืองเข้ม
4	ต้นชา (Tea Tree)	ของเหลวใสไม่มีสี

ตารางที่ 2. รายละเอียดของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่ทำการศึกษา

รายละเอียด	กานพลู (Clove oil)	ต้นชา (Tea Tree oil)	กระชาย (Lesser Galangal oil)	ยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil)
Color and appearance	<u>Specification</u> Pale yellow to yellow-brown and clear liquid <u>Result</u> : Accept	<u>Specification</u> Colourless to pale yellow and clear liquid <u>Result</u> : Accept	<u>Specification</u> Colourless to orange-yellow and clear liquid <u>Result</u> : Accept	<u>Specification</u> Colorless to pale yellow and clear liquid <u>Result</u> : Accept
Odour	<u>Specification</u> Spicy-sweet-green odour <u>Result</u> : Accept	<u>Specification</u> Cool green herbal odour <u>Result</u> : Accept	<u>Specification</u> Special herby note characteristic spicy-cool lesser galangal odour herbal odour <u>Result</u> : Accept	<u>Specification</u> Green-cool characteristic Eucalyptus leaves odour special herby note <u>Result</u> : Accept
Specific gravity (20/20 °C)	<u>Specification</u> 1.0429 - 1.0629 <u>Result</u> : 1.0505	<u>Specification</u> 0.8850 - 0.9060 <u>Result</u> : 0.8989	<u>Specification</u> 0.8680 - 0.9150 <u>Result</u> : 0.8842	<u>Specification</u> 0.9010 - 0.9150 <u>Result</u> : 0.8842
Refractive index (20 °C)	<u>Specification</u> 1.5289 – 1.5449 <u>Result</u> : 1.5360	<u>Specification</u> 1.4750 – 1.4820 <u>Result</u> : 1.4775	<u>Specification</u> 1.4680 - 1.4951 <u>Result</u> : 1.4806	<u>Specification</u> 1.4512 - 1.4672 <u>Result</u> : 1.4595
ส่วนประกอบทางเคมี	<u>Specification</u> Eugenol $\geq 75\%$ <u>Result</u> : 87.82%	<u>Specification</u> Terpinen-4-ol 35 – 48% <u>Result</u> : 39.5% 1,8 cineol 0-10%	Not applicable	Not applicable

หมายเหตุ ได้จัดหาน้ำมันหอมระเหยเป็นชนิดบริสุทธิ์ (pure compound) โดยมีใบแสดงมาตรฐานของน้ำมันหอมระเหยทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2.2 และ ตารางที่ 2.3 โดยทำการสั่งซื้อน้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิดจากบริษัทเครื่องหอมไทย-จีน (Thai-China Flavours and Fragrances Industry Co., Ltd) ซึ่งมีสำนักงานใหญ่ตั้งอยู่ที่ 59/65-69 หมู่ที่ 2 ตำบลบางรักพัฒนา อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี 11110 ส่วนโรงงาน (พระนครศรีอยุธยา) ตั้งอยู่ที่ 99 หมู่ที่ 2 ถนนลาดบัวหลวง-ไม้ตรา ตำบลลาดบัวหลวง อำเภอลาดบัวหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา



ตารางที่ 3. Certificate of analysis of pure essential oils

Pure essential oils	Certificate of analysis	
น้ำมันกานพลู (Clove oil)	Date	23/03/2023
	Product code	171102-20006
	Reference number	T230207/2023
	Batch number	23031129-1
น้ำมันต้นชา (Tea Tree oil)	Date	02/10/2023
	Product code	171102-80012
	Reference number	230404/2023
	Batch number	2310009-1
น้ำมันกระชาย (Lesser Galangal oil)	Date	02/10/2023
	Product code	171102-40017
	Reference number	RES230021/2023
	Batch number	23100009-3
น้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil)	Date	02/10/2023
	Product code	171102-20014
	Reference number	R230308/2023
	Batch number	23100009-2

ตารางที่ 4. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย

Microbiological isolates	No.	Disk Diffusion (mm)			
		Clove oil	Eucalyptus oil	Lesser Galangal oil	Tea Tree oil
<i>S. aureus</i>	ATCC 25923	18	7	11	9
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	17	8	11	17
Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) clinical isolates รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์					
MSSA	1	17	7	13	14
	2	15	8	12	14
	3	14	8	11	11
	4	17	7	11	8
	5	16	8	13	12
	6	13	7	11	10
	7	16	9	11	12
	8	16	7	12	9
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) clinical isolates รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์					
MRSA	1	18	7	16	14
	2	17	8	11	10
	3	17	7	12	16
	4	20	8	10	12
	5	19	10	15	14
	6	18	8	16	18

ตารางที่ 4. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย (ต่อ)

Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) clinical isolates รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์ (ต่อ)					
MRSA (ต่อ)	7	18	8	12	12
	8	18	8	13	14
<i>Acinetobacter baumannii</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 12 สายพันธุ์					
<i>A. baumannii</i>	1	24	7	11	13
	2	25	7	13	14
	3	29	7	14	19
	4	19	7	9	14
	5	15	7	9	11
	6	22	7	9	16
	7	20	7	12	12
	8	16	7	9	12
	9	20	7	12	28
	10	17	7	12	10
	11	17	7	12	13
	12	18	7	12	12
<i>Escherichia coli</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์					
<i>E. coli</i>	1	13	12	9	12
	2	16	14	12	19
	3	18	10	9	16
	4	13	8	8	12
	5	19	8	8	14
	6	14	8	8	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์					
<i>P. aeruginosa</i>	1	6	6	6	6
	2	8	7	7	10
	3	7	6	7	7

ตารางที่ 4. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย (ต่อ)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์ (ต่อ)					
<i>P. aeruginosa</i> (ต่อ)	4	7	6	7	8
	5	8	7	8	9
	6	8	6	7	7
<i>Candida albicans</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์					
<i>C. albicans</i>	1	20	9	15	7
	2	28	6	20	12
	3	24	6	14	8
	4	19	7	11	7
	5	22	6	14	8
	6	22	6	33	8
Mean of the total		17.04	7.54	11.63	12.19
Standard deviation of the total		5.01	1.49	4.16	3.99

สรุป: น้ำมันกานพลู (Clove oil) มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด (รูปที่ 1) ส่วนน้ำมันต้นชา (Tea Tree oil) และ น้ำมันกระชาย (Lesser Galangal oil) มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีเป็นอันดับ 2 และ 3 ส่วน น้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil) มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์น้อยที่สุด



รูปที่ 1. น้ำมันกานพลู (Clove oil) ซึ่งมีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ดีที่สุด

2.2 การตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย

ใช้วิธีมาตรฐาน DPPH assay

รายละเอียดของผลการทดสอบสำหรับสารแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย

น้ำมันหอมระเหย	ผล IC ₅₀ (mg/ml)	ข้อมูลของสิ่งที่นำมาทำการทดสอบ
น้ำมันกานพลู (Clove oil)	0.01 ± 0.00 (10.49±0.21 µg/ml) (n =3, % RSD =2.02)	รูปแบบผลิตภัณฑ์: สารสกัด
		ลักษณะผลิตภัณฑ์: ของเหลวสีเหลืองอ่อน
		จำนวนวิเคราะห์: 30 ml
		ผู้ผลิต: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน
		ผู้แทนจำหน่าย: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน
น้ำมันต้นชา (Tea Tree oil)	15.48 ± 0.00 (n =3, % RSD =1.68)	รูปแบบผลิตภัณฑ์: สารสกัด
		ลักษณะผลิตภัณฑ์: ของเหลวไม่มีสี
		จำนวนวิเคราะห์: 30 ml
		ผู้ผลิต: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน
		ผู้แทนจำหน่าย: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน
น้ำมันกระชาย (Lesser Galanga oil)	34.27 ± 0.21 (n =3, % RSD =0.60)	รูปแบบผลิตภัณฑ์: สารสกัด
		ลักษณะผลิตภัณฑ์: ของเหลวสีเหลืองเข้ม
		จำนวนวิเคราะห์: 30 ml
		ผู้ผลิต: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน
		ผู้แทนจำหน่าย: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน
น้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus oil)	เมื่อทดสอบด้วยวิธีการนี้ สารสกัดไม่แสดงผลการยับยั้ง DPPH	รูปแบบผลิตภัณฑ์: สารสกัด
		ลักษณะผลิตภัณฑ์: ของเหลวไม่มีสี
		จำนวนวิเคราะห์: 30 ml
		ผู้ผลิต: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน
		ผู้แทนจำหน่าย: บ.อุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน

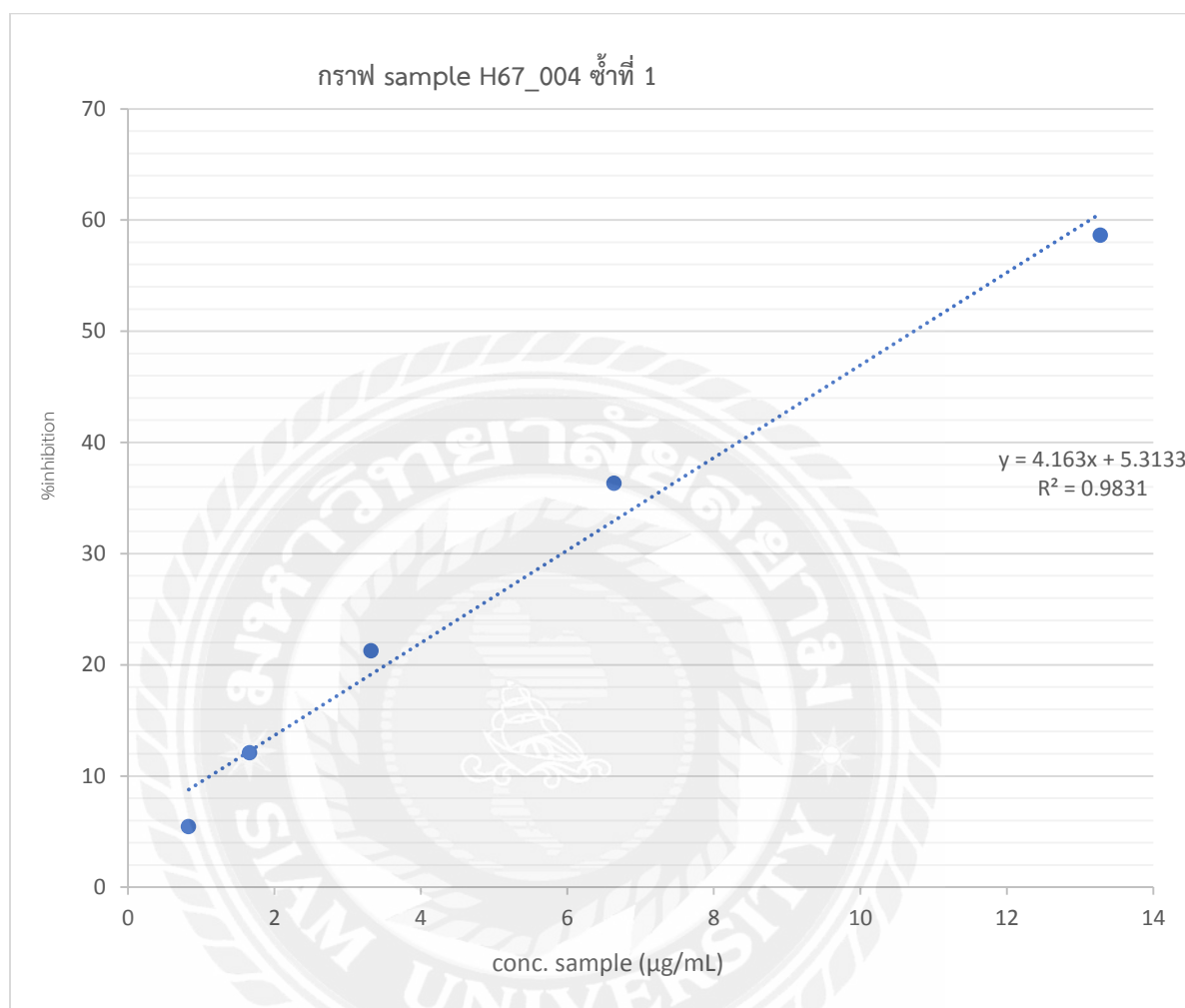
DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

IC₅₀ : inhibitory concentration at 50%

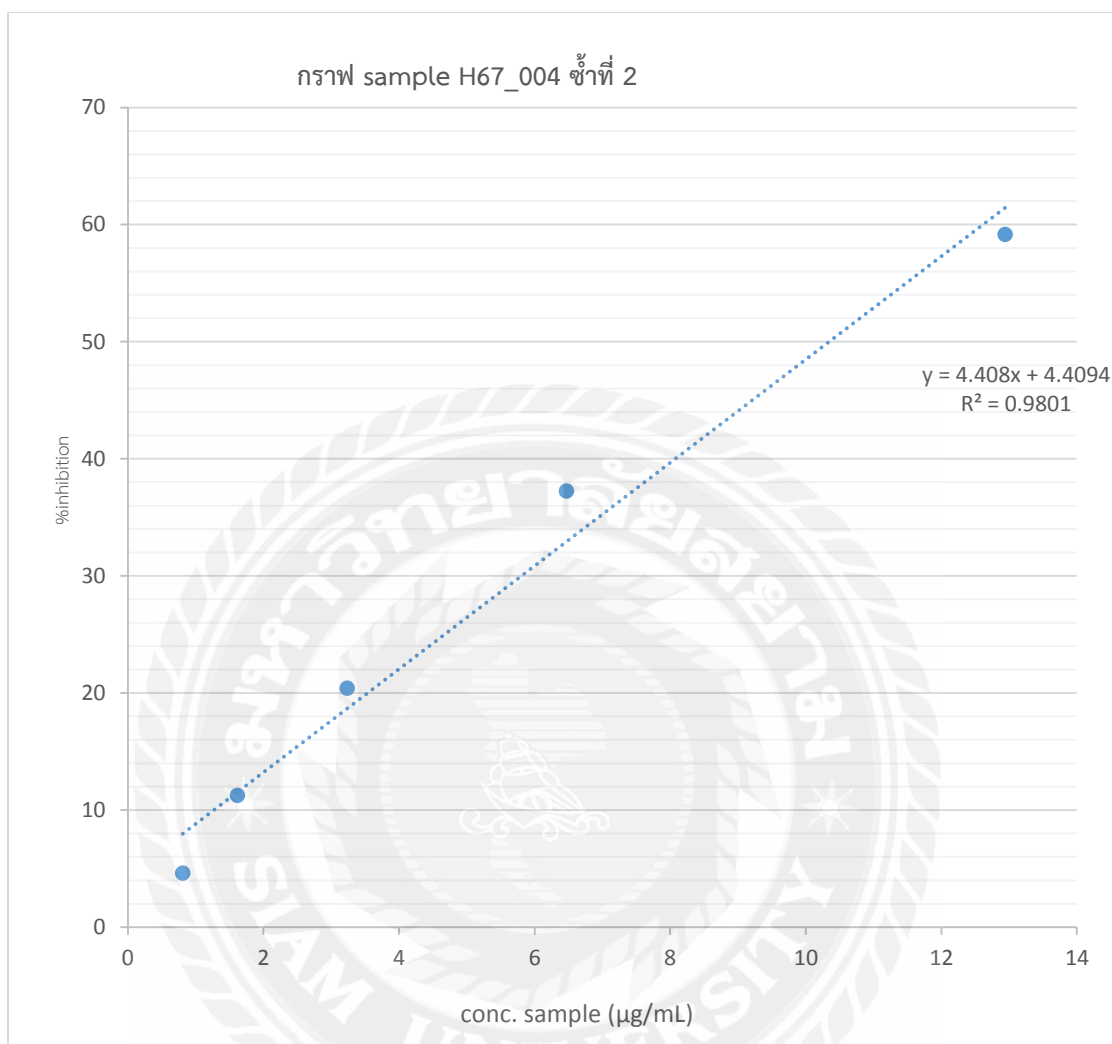
RSD : ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation)

สรุป: น้ำมันกานพลู (Clove oil) มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด; และ น้ำมันต้นชา (Tea Tree) มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระดีเป็นอันดับ 2; ส่วนน้ำมันกระชาย (Lesser Galanga) มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระดีเป็นอันดับ 3; แต่น้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus) พบว่าไม่มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระเลยเพราะเมื่อทดสอบด้วยวิธีการนี้สารสกัดไม่แสดงผลการยับยั้ง DPPH รายละเอียดของผลการทดสอบสำหรับสารแต่ละชนิดแสดงดังรูปที่ 2-10

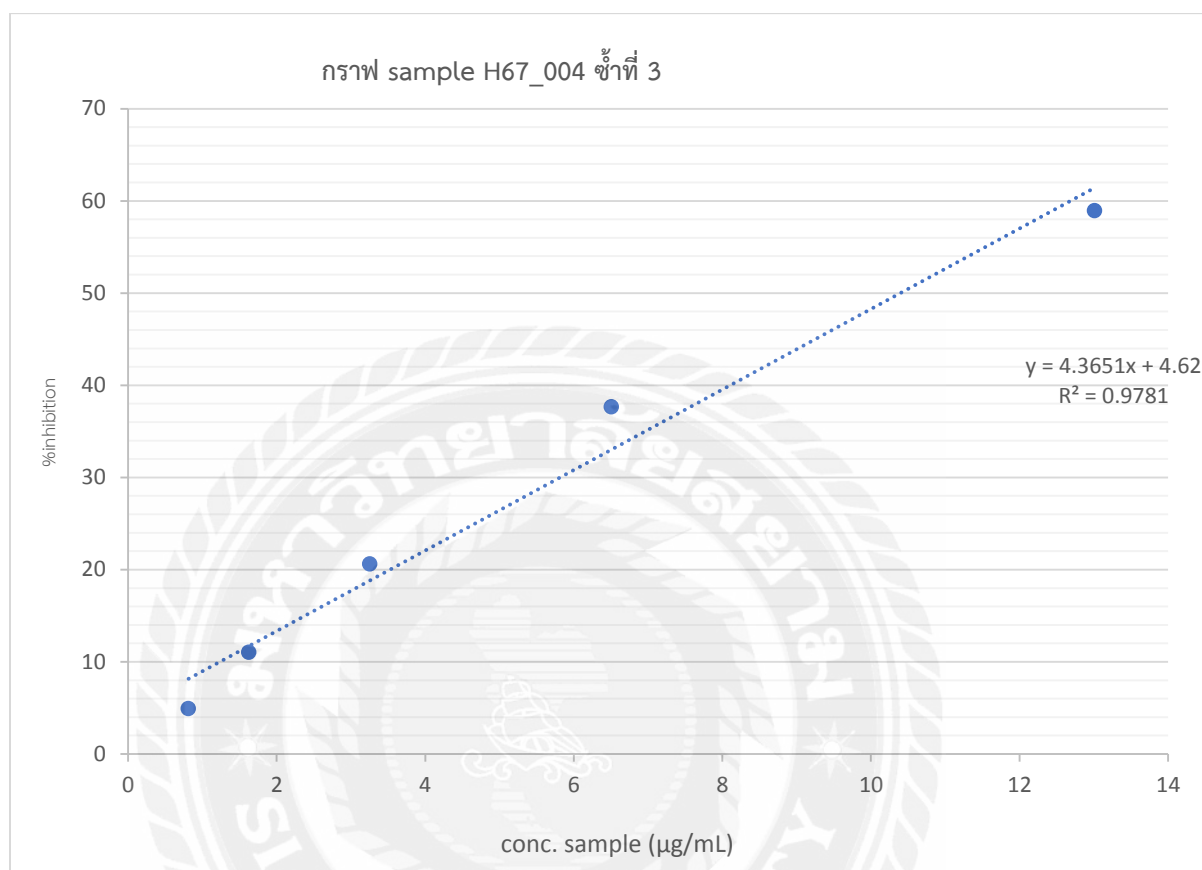




รูปที่ 2. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Clove oil ครั้งที่ 1



รูปที่ 3. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Clove oil ครั้งที่ 2



รูปที่ 4. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Clove oil ครั้งที่ 3

หมายเหตุ**วิธีเตรียม DPPH**

1. ชั่ง DPPH 3 mg ใน Volumetric flask 25 ml ละลายด้วย Methanol แล้วนำไป sonicate 2 นาที จากนั้นปรับปริมาตร
2. เตรียมตัวอย่างช่วงความเข้มข้นของน้ำมันกานพลู 13.0-0.80 µg/mL

Reaction

- A DPPH 100 µL + Sol. Sample (methanol) 100 µL
 B DPPH (methanol) 100 µL + Sample (methanol) 100 µL
 C DPPH 100 µL + Sample 100 µL
 D DPPH (methanol) 100 µL + Sample 100 µL

Pipete สารละลายลง 96-well plate และทิ้งไว้ในที่มืด 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 517 nm

น้ำมันกานพลู

ความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูเท่ากับ 13.0-0.80 µg/mL

การคำนวณ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(abs.A - abs.B) - (abs.C - abs.D)}{(abs.A - abs.B)} \times 100$$

ตารางที่ 6. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูโดยวิธี DPPH assay
 (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น (µg/ml)	% inhibition
1	13.28	58.62
2	6.64	36.29
3	3.32	21.24
4	1.66	12.07
5	0.83	5.44

ตารางที่ 7. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูโดยวิธี DPPH assay
(ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
1	12.95	59.14
2	6.47	37.24
3	3.24	20.39
4	1.62	11.23
5	0.81	4.60

ตารางที่ 8. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูโดยวิธี DPPH assay
(ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
1	13.01	58.93
2	6.51	37.66
3	3.25	20.60
4	1.63	11.02
5	0.81	4.91

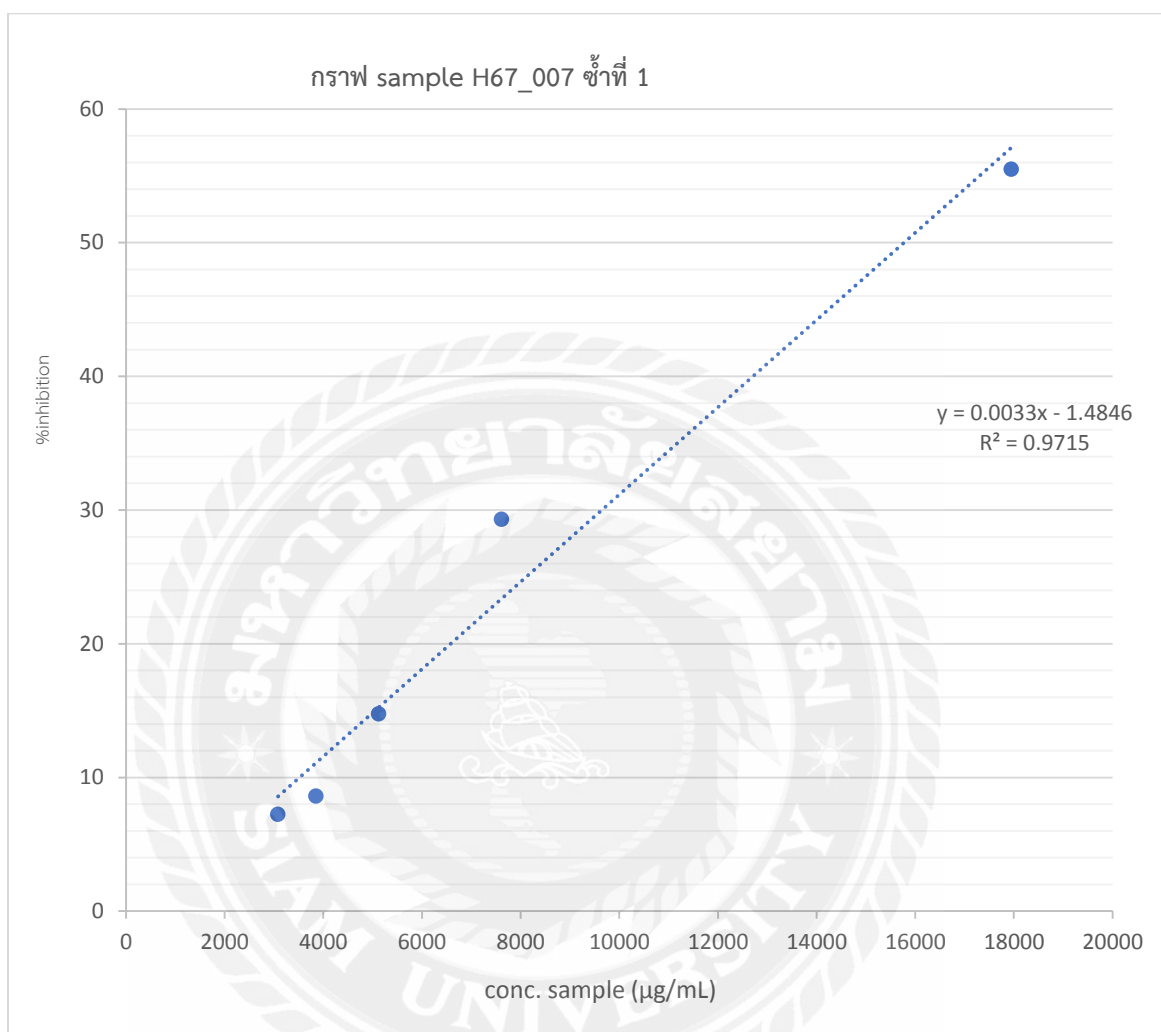
เมื่อแทนค่าสมการข้างต้น ด้วยค่า $y=50$

ซ้ำที่ 1 $x= 10.7342 \mu\text{g/ml}$

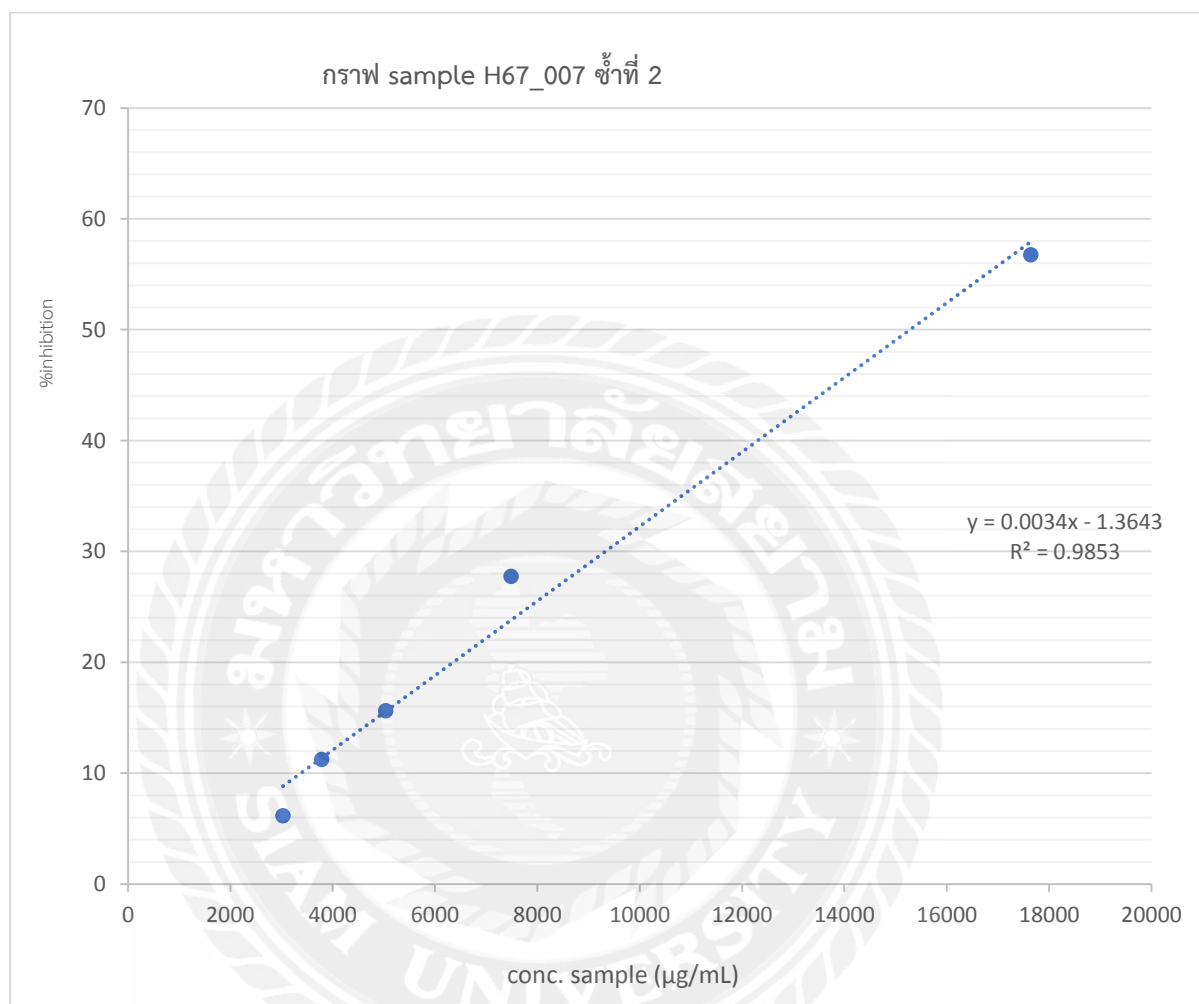
ซ้ำที่ 2 $x= 10.3426 \mu\text{g/ml}$

ซ้ำที่ 3 $x= 10.3960 \mu\text{g/ml}$

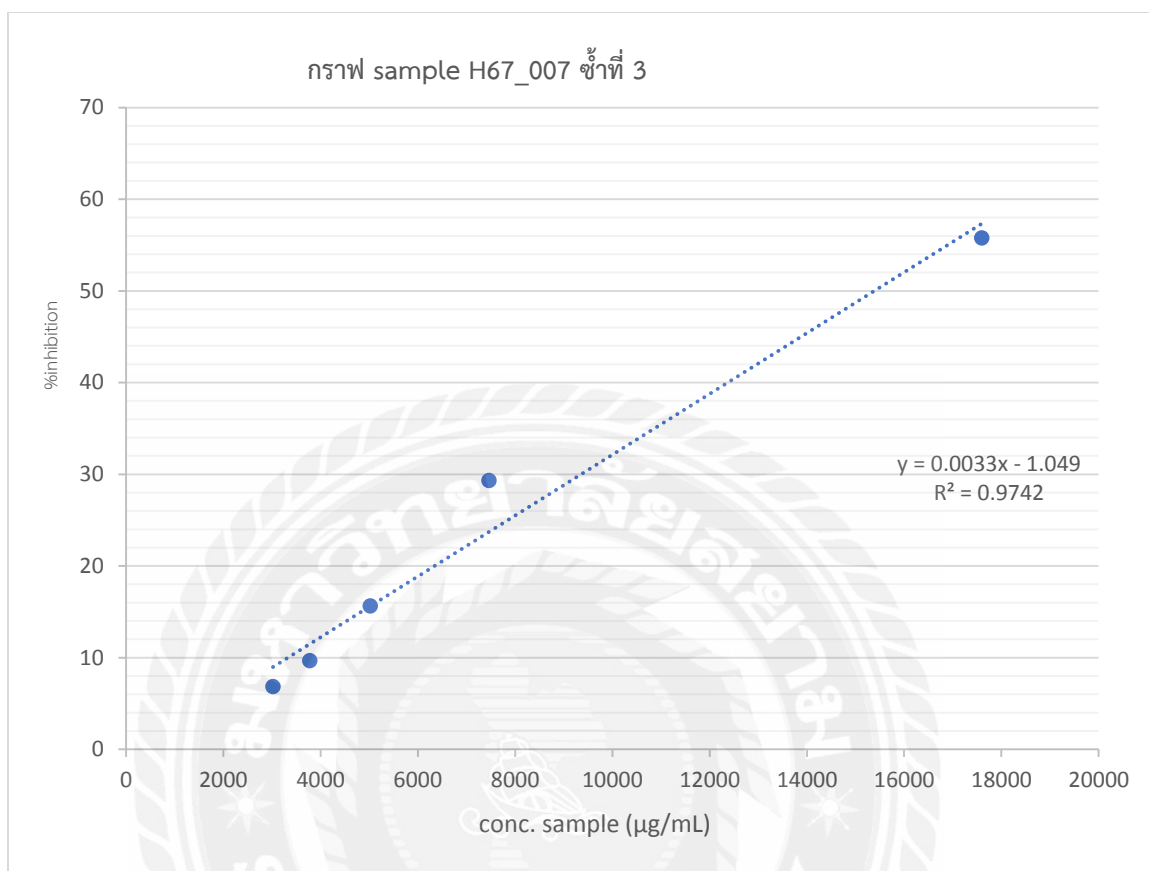
พบว่าค่า % inhibition เฉลี่ยเท่ากับ $10.49 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$, % rsd เท่ากับ 2.02 ($0.01 \pm 0.00\text{mg/ml}$, % rsd เท่ากับ 2.02)



รูปที่ 5. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Tree Tea oil ครั้งที่ 1



รูปที่ 6. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Tree Tea oil ครั้งที่ 2



รูปที่ 7. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Tree Tea oil ครั้งที่ 3

น้ำมันต้นชา

เตรียมตัวอย่างช่วงความเข้มข้นเท่ากับ 18,000-3,000 µg/ml

ตารางที่ 9. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันต้นชาโดยวิธี DPPH assay (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น (µg/ml)	% inhibition
1	17947.71	55.47
2	7614.18	29.30
3	5121.44	14.75
4	3852.41	8.59
5	3081.93	7.23

ตารางที่ 10. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันต้นชาโดยวิธี DPPH assay
(ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
1	17648.33	56.74
2	7487.17	27.73
3	5036.01	15.63
4	3788.15	11.23
5	3030.52	6.15

ตารางที่ 11. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันต้นชาโดยวิธี DPPH assay
(ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
1	17601.41	55.76
2	7467.26	29.30
3	5022.62	15.63
4	3778.08	9.67
5	3022.46	6.84

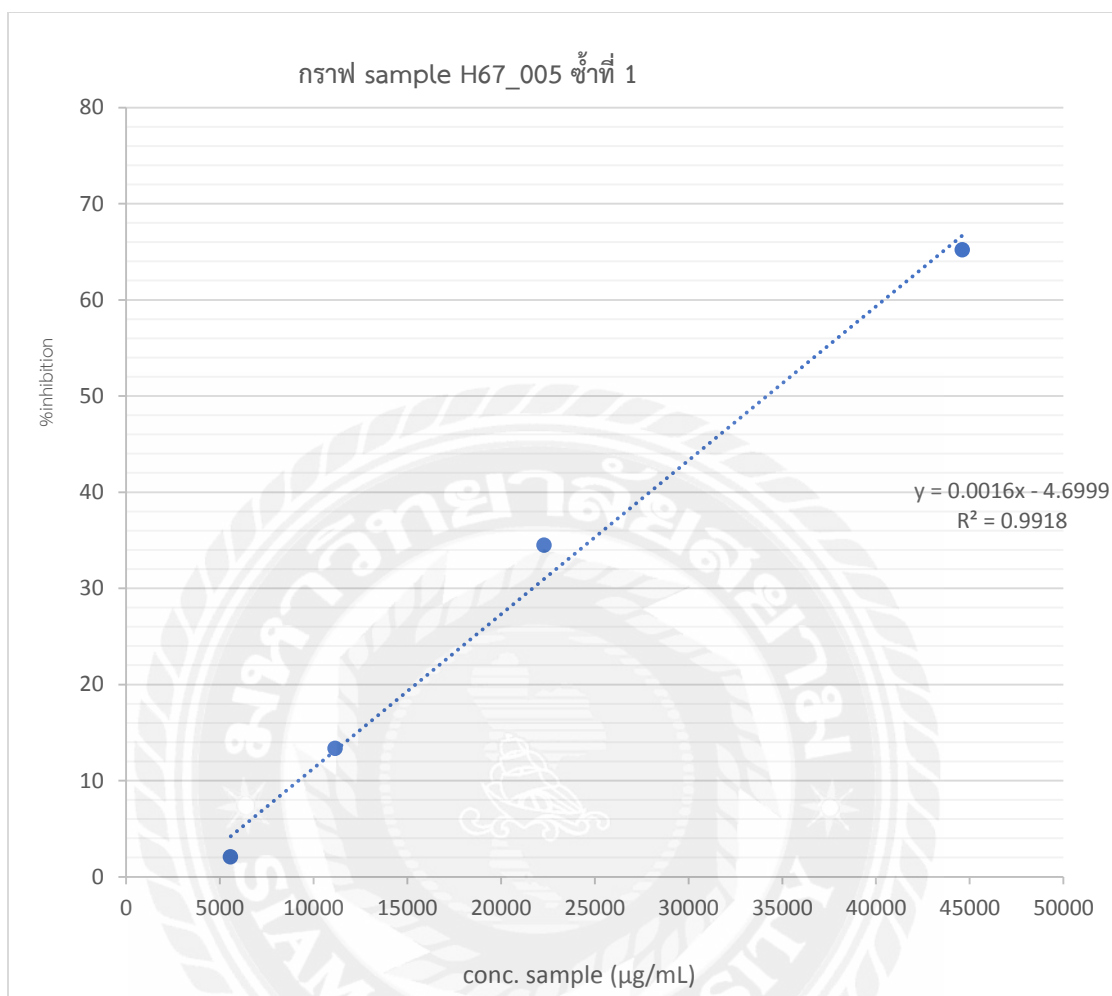
เมื่อแทนค่าสมการข้างต้น ด้วยค่า $y=50$

ซ้ำที่ 1 $x = 15777.2172 \mu\text{g/ml}$ (15.7772 mg/ml)

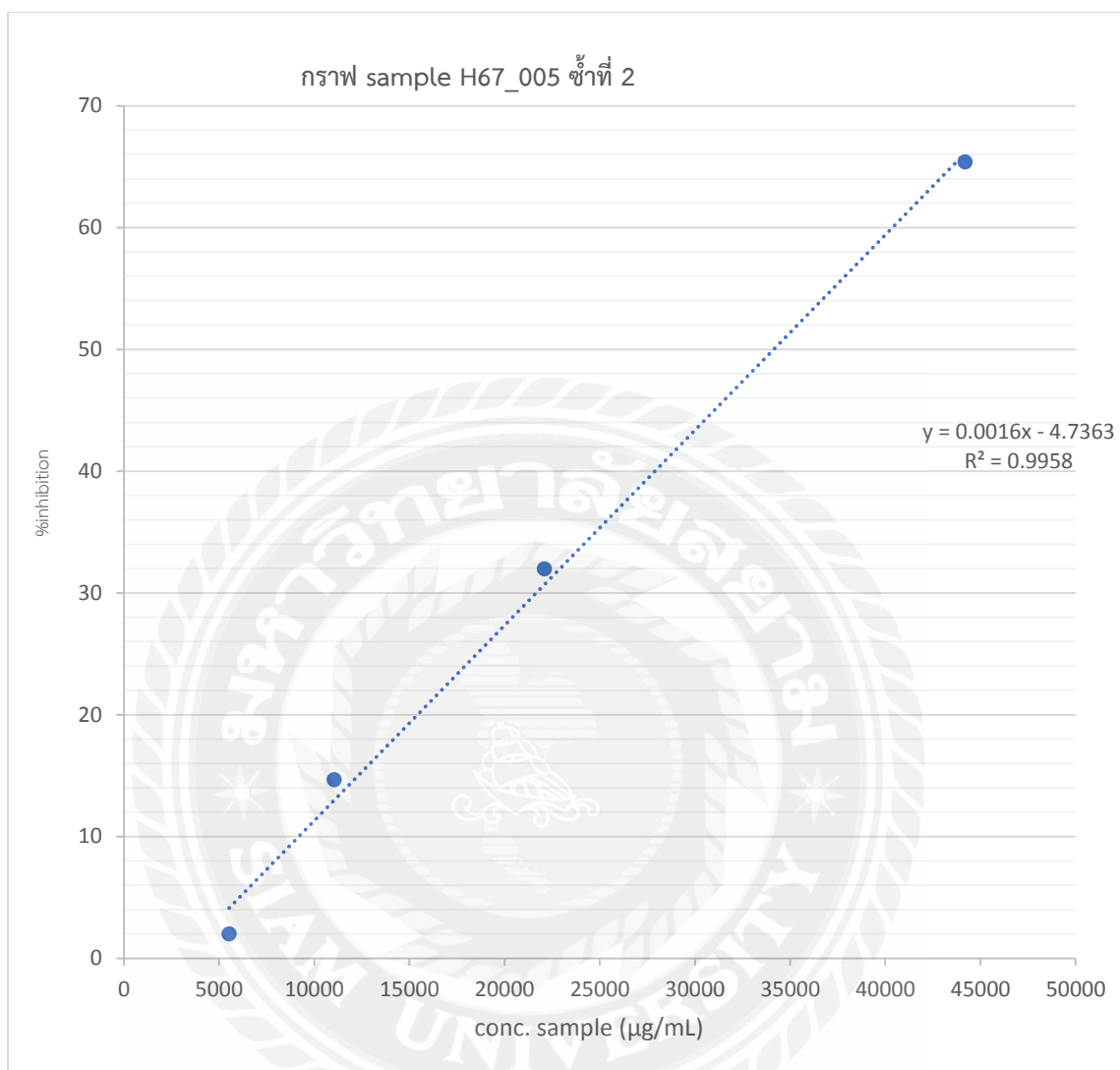
ซ้ำที่ 2 $x = 15285.1597 \mu\text{g/ml}$ (15.2852 mg/ml)

ซ้ำที่ 3 $x = 15382.2979 \mu\text{g/ml}$ (15.3823 mg/ml)

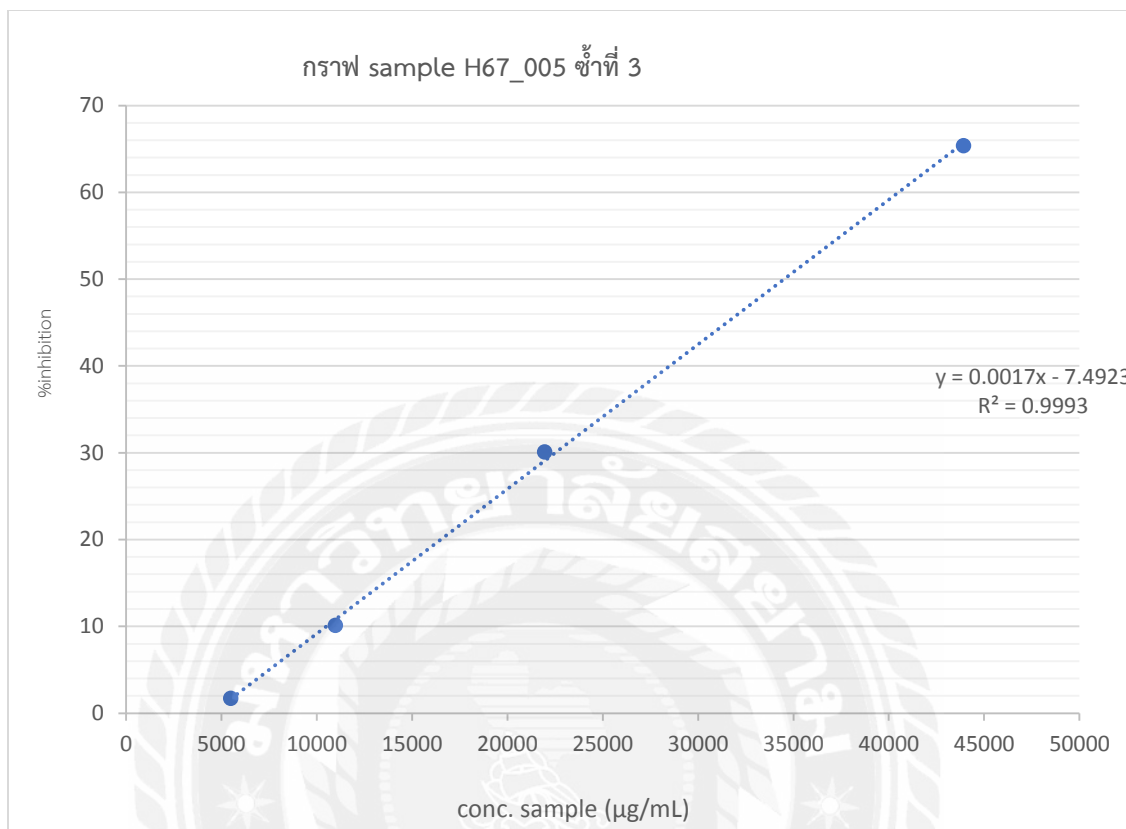
พบว่าค่า % inhibition เฉลี่ยเท่ากับ $15.3823 \pm 0.26\text{mg/ml}$, %rsd เท่ากับ 1.68



รูปที่ 8. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Lesser Galangal oil ครั้งที่ 1



รูปที่ 9. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Lesser Galangal oil ครั้งที่ 2



รูปที่ 10. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Lesser Galanga oil ครั้งที่ 3

น้ำมันกระชาย

เตรียมตัวอย่างช่วงความเข้มข้น 45,000-5,500 $\mu\text{g/ml}$

ตารางที่ 12. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกระชายโดยวิธี DPPH assay (ซ้ำที่ 1)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
1	44617.50	65.19
2	22308.75	34.47
3	11154.38	13.34
4	5577.19	2.08

ตารางที่ 13. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกระชายโดยวิธี DPPH assay
(ซ้ำที่ 2)

ความเข้มข้น ที่	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
1	44200.00	65.37
2	22100.00	31.96
3	11050.00	14.64
4	5525.00	1.99

ตารางที่ 14. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกระชายโดยวิธี DPPH assay
(ซ้ำที่ 3)

ความเข้มข้นที่	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
1	43935.00	65.37
2	21967.50	30.10
3	10983.75	10.08
4	5491.88	1.71

เมื่อแทนค่าสมการข้างต้น ด้วยค่า $y=50$

จากกราฟแทนค่าสมการ ค่า $y=50$

ซ้ำที่ 1 $x = 34180.7363 \mu\text{g/mL}$ (34.1807 mg/mL)

ซ้ำที่ 2 $x = 34131.0614 \mu\text{g/mL}$ (34.1311 mg/mL)

ซ้ำที่ 3 $x = 34512.2939 \mu\text{g/mL}$ (34.5123 mg/mL)

พบว่าค่า % inhibition เฉลี่ยเท่ากับ $34.27 \pm 0.21 \text{ mg/mL}$, % rsd เท่ากับ 0.60

2.3 การตรวจสอบส่วนประกอบทางเคมี (chemical composition) ที่สามารถออกฤทธิ์



รูปที่ 11. Alpha-Terpineol เป็นส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันกระชาย

ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่นำมาทำการศึกษามี 3 ชนิดคือ

1. Eugenol ส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันกานพลู (20)
2. Alpha-Terpeneol ส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันกระชาย (22)
3. Terpinen-4-ol ส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันต้นชา (21)

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย โดยใช้วิธีมาตรฐาน Disk diffusion พบว่า Eugenol และ Alpha-Terpeneol มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีเท่ากัน ส่วน Terpinen-4-ol มีฤทธิ์ต่ำกว่าเล็กน้อย อย่างไรก็ตามสารทั้ง 3 ชนิดไม่แตกต่างกันรายละเอียดของผลการทดสอบสำหรับสารแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 6

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย โดยใช้วิธีมาตรฐาน DPPH พบว่า Eugenol ให้ผลดีที่สุด รองลงมาคือ Alpha-Terpeneol และ Terpinen-4-ol ตามลำดับ รายละเอียดของผลการทดสอบสำหรับสารแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 15. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของส่วนประกอบทางเคมี

Microbiological isolates	No.	Disk Diffusion (mm)		
		Eugenol	Alpha-Terpineol	Terpinen-4-ol
<i>S. aureus</i>	ATCC 25923	12	13	8
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	13	17	25
Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) clinical isolates รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์				
MSSA	1	12	12	29
	2	12	15	12
	3	13	8	26
	4	12	12	11
	5	14	9	14
	6	12	7	11
	7	12	10	11
	8	10	12	11
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) clinical isolates รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์				
MRSA	1	12	10	12
	2	12	12	11
	3	11	11	9
	4	12	9	9
	5	13	11	9
	6	12	11	12
	7	14	12	12
	8	10	11	12

ตารางที่ 15. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของส่วนประกอบทางเคมี (ต่อ)

<i>Acinetobacter baumannii</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 12 สายพันธุ์				
<i>A. baumannii</i>	1	19	14	11
	2	14	13	13
	3	15	15	14
	4	14	14	9
	5	14	15	9
	6	14	15	9
	7	20	18	12
	8	15	17	9
	9	30	28	12
	10	24	20	12
	11	20	20	12
	12	19	17	12
<i>Escherichia coli</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์				
<i>E. coli</i>	1	17	20	30
	2	14	12	20
	3	14	13	25
	4	9	13	18
	5	15	20	17
	6	15	15	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์				
<i>P. aeruginosa</i>	1	6	7	8
	2	6	6	8
	3	6	7	10
	4	6	8	6
	5	9	6	8
	6	9	7	8

ตารางที่ 15. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของส่วนประกอบทางเคมี (ต่อ)

Candida albicans clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์				
<i>C. albicans</i>	1	22	24	10
	2	23	22	11
	3	23	25	10
	4	22	18	9
	5	19	20	10
	6	20	22	11
Mean of the total		14.40	14.02	12.71
Standard deviation of the total		5.16	5.32	5.59

ตารางที่ 16. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของส่วนประกอบทางเคมี เพื่อรายงานค่า mean และ standard deviation (SD) แยกแต่ละเชื้อจุลินทรีย์ของสารแต่ละชนิด

Microbiological isolates	No.	Disk Diffusion (mm)		
		Eugenol	Alpha-Terpineol	Terpinen-4-ol
<i>S. aureus</i>	ATCC 25923	12	13	8
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	13	17	25
Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์				
MSSA	Mean	12.13	10.63	15.63
	SD	1.13	2.62	7.44
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 8 สายพันธุ์				
MRSA	Mean	12.00	10.88	10.75
	SD	1.20	0.99	1.49
<i>Acinetobacter baumannii</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 12 สายพันธุ์				
<i>A. baumannii</i>	Mean	18.17	17.17	11.17
	SD	4.10	4.11	1.75
<i>Escherichia coli</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์				
<i>E. coli</i>	Mean	14.00	15.50	20.50
	SD	2.68	3.62	6.09
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์				
<i>P. aeruginosa</i>	Mean	7.00	6.83	8.00
	SD	1.55	0.75	1.26
<i>Candida albicans</i> clinical isolates รวมทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์				
<i>C. albicans</i>	Mean	21.50	21.83	10.17
	SD	1.64	2.56	0.75

ตารางที่ 17. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดย DPPH assay ของสารสำคัญซึ่งเป็นส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันกานพลู น้ำมันต้นชาและน้ำมันกระชายตามลำดับ (n = 3)

ผลการทดลอง	Eugenol	Alpha-Terpineol	Terpinen-4-ol
ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	13.34	207,784.17	230,180.83
% inhibition	65.37 ± 0.97 (% RSD = 1.49)	18.30 ± 0.41 (% RSD = 2.25)	9.54 ± 0.42 (% RSD = 4.44)

บทที่ 3

วิจารณ์ผลการวิจัย

น้ำมันหอมระเหยนอกจากจะมีกลิ่นเฉพาะในแต่ละชนิดแล้ว ยังมีคุณสมบัติที่สามารถเป็นสารที่ออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์หรืออาจจะสามารถพัฒนาต่อเพื่อให้เป็นยาปฏิชีวนะ ซึ่งจะช่วยป้องกันหรือรักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพ

รายงานวิจัยหลายฉบับสนับสนุนการใช้วิธี Disk diffusion (16-18) เพียงอย่างเดียว หรือการใช้ทั้งวิธี Disk diffusion และ minimal inhibitory concentration (19) ในการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร

การศึกษากี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระ ใช้วิธี DPPH assay (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) เนื่องจากเป็นวิธีที่ได้มาตรฐานสากล (16-19) นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจวิเคราะห์ ในการศึกษาได้รับการรับรองตรงตามห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ซึ่งเป็นการยอมรับอย่างเป็นทางการถึงความสามารถในการดำเนินงานด้านต่าง ๆ อย่างมีประสิทธิภาพ

ในการศึกษานี้ เลือกใช้ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันกานพลู น้ำมันต้นชาและน้ำมันกระชาย เป็น Eugenol, Alpha-terpineol และ Terpinen-4-ol ตามลำดับ เนื่องจากเป็นสารสำคัญซึ่งเป็นส่วนประกอบทางเคมี และสามารถตรวจพบได้เป็นจำนวนมาก

สาร eugenol เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันกานพลู (Clove oil) โดยมีรายงานสารในน้ำมันกานพลู (20) ดังนี้

1. Eugenol (78.82%)
2. Eugenol acetate (8.74%)
3. Beta-caryophyllene (8.82%)

รายงานสารในน้ำมันต้นชา (21) ดังนี้

1. Terpinen-4-ol (30-48%)
2. Gamma-terpinene (10-28%)
3. Alpha-terpinene (5-13%)
4. Alpha-terpineol (1.5-8%)

5. Terpinolene (1.5-5%)

รายงานสารสำคัญในน้ำมันกระชาย (22) ได้แก่

1. Alpha-terpineol
2. 1,8-cineol/eucalyptol

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า น้ำมันทั้งสามชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดังแสดงในตาราง ซึ่งอาจจะมีผลที่ได้แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจจะเกิดจากองค์ประกอบภายในที่มีสัดส่วนสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจะเห็นว่า น้ำมันทั้งสามชนิดไม่ว่าจะมีผล IC_{50} ทั้งที่ได้จากการทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัย เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันกานพลูสูงที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันต้นชาและน้ำมันกระชาย ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ eugenol ซึ่งพบได้มากในน้ำมันกานพลูพบว่า มี % inhibition จากการผลการทดลองที่ดีที่สุดเช่นกัน (ตารางที่ 7) ทั้งนี้สำหรับตัวแทนองค์ประกอบของน้ำมันต้นชาและน้ำมันกระชายพบว่า มี % inhibition ที่ไม่แตกต่างกันและมีฤทธิ์น้อยมาก จึงเป็นไปได้ว่าอาจจะเกิดจากการที่สารเกิดการระเหยได้ง่ายทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาได้อย่างเต็มที่

ตัวอย่าง	IC_{50} (mg/mL)	
	ทบทวนวรรณกรรม	งานวิจัย
Clove essential oil (น้ำมันกานพลู)	0.83 ± 0.11^a	0.01 ± 0.00
Tea tree oil (น้ำมันต้นชา)	250 (0.25 g/mL) ^b	15.48 ± 0.00
Lesser Galangal oil (น้ำมันกระชาย)	455.43^c	34.27 ± 0.21

a) J. Nutrition and Food Security (JNFS), 8(3): 343-352, (2023)

b) Orient. J. Chem., MALIK, UPADHYAY., Vol. 38(5), 1266-1275 (2022)

c) Kasetsart J. (Nat. Sci.) 43 : 358 - 369 (2009)

บทที่ 4

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการสำหรับน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิด คือ กานพลู, ต้นชา, กระชาย และยูคาลิปตัสเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยใช้วิธีมาตรฐานทางจุลชีววิทยา คือ Disk diffusion ทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรค 6 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาใน ร.พ. ศิริราช คือ Methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) 8 สายพันธุ์, Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 8 สายพันธุ์, *Acinetobacter baumannii* 12 สายพันธุ์, *E. coli* 6 สายพันธุ์, *Pseudomonas aeruginosa* 6 สายพันธุ์ และ *Candida albicans* 6 สายพันธุ์ ผลจากการศึกษานี้พบว่าน้ำมันกานพลู มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด ส่วนน้ำมันต้นชา และน้ำมันกระชาย มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีเป็นอันดับ 2 และ 3 ตามลำดับ ส่วนน้ำมันยูคาลิปตัสมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์น้อยที่สุด สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระ ใช้วิธีมาตรฐานคือ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) พบว่าน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมาคือ ผล IC_{50} (inhibitory concentration at 50%) = 0.01 ± 0.00 mg/ml รองลงมาคือ น้ำมันต้นชา IC_{50} = 15.48 ± 0.00 mg/ml และ น้ำมันกระชาย IC_{50} = 34.27 ± 0.21 mg/ml ส่วนน้ำมันยูคาลิปตัส พบว่าไม่มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระเลย สำหรับผลการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์พบว่า Eugenol จากน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดีที่สุด รองลงมา คือ Alpha-Terpeneol จากน้ำมันกระชาย ส่วน Terpinen-4-ol จากน้ำมันต้นชา มีฤทธิ์ค่อนข้างน้อย สำหรับผลการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า Eugenol จากน้ำมันกานพลูมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมาคือ Alpha-Terpeneol จากน้ำมันกระชาย และ Terpinen-4-ol จากน้ำมันต้นชาตามลำดับ โดยสรุปแล้ว น้ำมันกานพลู น้ำมันต้นชา และ น้ำมันกระชาย มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่มากที่สุดจากมากไปน้อยตามลำดับ สำหรับผลการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีพบว่า Eugenol จากน้ำมันกานพลู Alpha-Terpeneol จากน้ำมันกระชาย และ Terpene-di-4ol จากน้ำมันต้นชา มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีจากมากไปน้อยตามลำดับคือ eugenol, Alpha-Terpeneol และ Terpinen-4-ol

4.2 ข้อจำกัดของการวิจัย

เนื่องจากการศึกษานี้มีข้อจำกัดเรื่องงบประมาณ จึงไม่สามารถเพิ่มชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่จะนำมาทำการศึกษาให้มากขึ้นได้

4.3 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งถัดไปควรเพิ่มจำนวนชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถพบหาได้ในประเทศไทยจากการเพาะปลูกพืชสมุนไพรเองชนิดต่างๆ ของประชาชน ตลอดจนน้ำมันหอมระเหยบางชนิดที่มีสรรพคุณสูงมากและสามารถสั่งซื้อได้จากต่างประเทศ เพื่อให้การรวบรวมและการจัดการข้อมูลมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำให้สามารถศึกษาแนวโน้มของการใช้งานจากน้ำมันหอมระเหยได้อย่างสมบูรณ์

4.4 ประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษา ณ มหาวิทยาลัยมหิดล และ มหาวิทยาลัยสยาม ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลการวิเคราะห์เพื่อเป็นประโยชน์ทั้งด้านการตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ และด้านการตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยผลการวิเคราะห์จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางประกอบการเลือกใช้น้ำมันหอมระเหยที่เหมาะสม

การนำไปใช้ประโยชน์ที่เป็นรูปธรรม เช่น แนะนำเบื้องต้นสำหรับการประยุกต์ตำรับยา หรือ ผลิตภัณฑ์พร้อมใช้ที่สามารถออกฤทธิ์ได้ทั้งด้านเชื้อแบคทีเรียและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่นอาจใช้สาร crude จากพืชคือ clove oil และ tea tree oil หรือ สารเดี่ยวที่สำคัญจากพืชคือ eugenol, Alpha-Terpineol และ Terpinen-4-ol

วิธีการเตรียมน้ำมันหอมระเหยจากวัตถุดิบ* สามารถทำได้หลายวิธี เช่น

1. การกลั่นโดยใช้น้ำ (Steam Distillation)

การกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการ กลั่นด้วยไอน้ำ หรือ Steam Distillation เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดและใช้ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยเกือบทั้งหมดที่มีการผลิตขึ้น วิธีการกลั่นจะเป็นการผ่านไอน้ำจากเครื่องกำเนิดไอน้ำเข้าไปในหม้อควบคุมน้ำ ความดันที่บรรจุวัตถุดิบของพืชที่นำมากลั่น น้ำมันหอมระเหย เมื่อความร้อนจากไอน้ำกระทบกับวัตถุดิบ ไอน้ำก็จะนำพาน้ำมันหอมระเหยที่อยู่

ในพืชชนิดนั้น ๆ ออกมาผ่านท่อเกลียวที่หล่อเลี้ยงด้วยน้ำเย็นเพื่อให้เกิดการลดอุณหภูมิและ
 ความแน่นกลายเป็นของเหลว หลังจากนั้นของเหลวจากการควบแน่นที่ได้ก็จะไหลผ่านท่อควบแน่น
 เข้าสู่หลอด แก้ว ได้น้ำมันหอมระเหยที่แยกชั้นออกจากน้ำ แล้วจึงนำน้ำมันหอมระเหย (Pure
 Essential Oil) และน้ำสกัดน้ำมันหอมระเหย (Floral Water หรือ Hydrosol) ที่ได้ เก็บใส่ภาชนะเพื่อ
 ตรวจสอบคุณภาพ

วิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยไอน้ำนี้มีข้อดีคือ วิธีการกลั่นและอุปกรณ์ไม่ยุ่งยาก
 ซับซ้อน สามารถใช้ได้กับพืชแทบทุกชนิด และน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีคุณภาพดี มีความบริสุทธิ์
 100% หรือแม้แต่ สารสำคัญบางชนิดในน้ำมันหอมระเหยบางชนิด จริง ๆ แล้วไม่ได้มีอยู่ตาม
 ธรรมชาติ แต่จะเกิดขึ้นภายใต้กระบวนการกลั่นด้วยไอน้ำ เช่น สาร Chamazulene ซึ่งเป็นสารมีสี
 น้ำเงินที่เป็นสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย German Chamomile โดยปกติจะไม่ได้มีอยู่ตาม
 ธรรมชาติ แต่จะเกิดขึ้นในกระบวนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยไอน้ำเท่านั้น อย่างไรก็ตาม การกลั่น
 ด้วยไอน้ำก็มีข้อเสียอยู่บ้างคือกระบวนการนี้จะต้องใช้ไอน้ำที่มี ความร้อน จึงไม่เหมาะกับวัตถุดิบที่
 มีสารธรรมชาติสำคัญที่ถูกทำลายได้ง่ายเมื่อเจอกับ ความร้อน เช่น สารสำคัญบางชนิดในดอกมะลิ
 (Jasmine) จะสลายไปเมื่อเจอกับความร้อน จึงทำให้ไม่สามารถใช้กระบวนการกลั่นด้วยไอน้ำในการ
 ผลิตน้ำมันหอมระเหยจากดอก มะลิได้ ในอนาคต ปัญหานี้อาจถูกแก้ไขได้ด้วยการใช้ระบบการกลั่น
 ภายใต้แรงดันสูงเพื่อลด อุณหภูมิของไอน้ำให้น้อยลง แต่ก็ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นด้วย ดังนั้น
 การสกัดกลั่นหอมจากดอกมะลิหรือพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีปัญหาข้างต้นจึงมีการนำกระบวนการสกัดด้วย
 วิธีการอื่นมาใช้แทน เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลาย หรือสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์

น้ำมันหอมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ จะถูกเรียกว่า "น้ำมันหอมระเหย"
 หรือ "Pure essential oil"

2. การสกัดด้วยวิธีการบีบเย็น (Expression หรือ Cold Pressed หรือ Mechanically Pressed)

การสกัดน้ำมันหอมระเหยหรือน้ำมันหอม ด้วยวิธี Cold Pressed หรือ Mechanically
 Pressed เกือบทั้งหมดใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผิวของพืชตระกูลส้ม เช่น ส้ม มะนาว
 มะกรูด เบอร์กามอต แมนดาริน และอื่น ๆ วิธีการสกัดคือการนำผิวของผลจากพืชแต่ละชนิดมาใส่
 ในหม้อขนาดใหญ่ แล้วกดด้วยแท่นไฮดรอลิกโดยใช้แรงกดสูง ทำให้เซลล์ผิวของพืชเกิดการแตกตัว

ให้น้ำมันออกมาลงในภาชนะที่รองรับเอาไว้ วิธีการใช้ไฮดรอลิกแบบนี้มีข้อดีคือไม่มีความร้อนเกิดขึ้นในกระบวนการบีบ ซึ่งแตกต่างกับการใช้การบีบแบบเครื่องบีบเกลียวหมุน หรือ Screw Pressed ซึ่งจะทำให้เกิดความร้อนและอาจทำลายคุณภาพของน้ำมันที่สกัดได้ จริง ๆ แล้วน้ำมันสกัดด้วยวิธีนี้จะไม่เรียกว่าน้ำมันหอมระเหย เพราะว่ามันที่ได้จากการสกัด จะมีสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ละลายในน้ำมันหรือระเหยไม่ได้อยู่ด้วย หากเรียกให้ถูกต้องตามหลักสากลแล้ว น้ำมันสกัดจากพืชทุกชนิดด้วยวิธีนี้ จะต้องเรียกว่า "Essence" ไม่ใช่ "Essential Oil" แต่ว่าเพื่อให้เข้าใจไม่สับสนมากเกินไปนัก หลาย ๆ ที่จึงมักใช้คำว่า "น้ำมันหอมระเหย" หรือ "Pure Essential Oil" ก็ไม่ผิดอะไร

3. การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent Extraction)

วัตถุดิบจากพืชหรือดอกไม้หลาย ๆ ชนิด ไม่สามารถสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำได้ เนื่องจากหลากหลายเหตุผล เช่น สารสำคัญอาจถูกทำลายเพื่อถูกความร้อน ทำให้สูญเสียกลิ่นหอมอันเป็นเอกลักษณ์ของวัตถุดิบ หรือเมื่อกลั่นด้วยไอน้ำแล้ว คุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีกลิ่นหอมที่ไม่ติดทนนาน หรือมีกลิ่นหอมเพี้ยนไปจากกลิ่นที่สดชื่นจากวัตถุดิบจริง ๆ จึงทำให้ต้องมีกระบวนการสกัดน้ำมันหอมอีกกระบวนการหนึ่งเข้ามาเกี่ยวข้อง นั่นคือการสกัดน้ำมันหอมด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลาย หรือ solvent extraction วัตถุดิบจากพืชและดอกไม้ที่นิยมใช้กระบวนการนี้ในการสกัดสารหอมคือ มะลิ กุหลาบ ช่อนกลิ่น ดอกบัว เป็นต้น

กระบวนการสกัดเริ่มจากการนำวัตถุดิบไว้ในหม้อความดันขนาดใหญ่ที่เป็นระบบปิด โดยวัตถุดิบจะถูกผสมด้วยสารที่ใช้เป็นตัวทำละลายที่เป็น organic solvent เช่น acetone, benzene หรือ hexane โดยที่ตัวทำละลายจะดึงเอาสารทุกชนิดที่สามารถเข้ากันได้กับตัวทำละลายออกมาจากวัตถุดิบพืช ไม่ว่าจะเป็น wax สี รวมถึงสารหอมที่ต้องการด้วย สิ่งที่เกิดขึ้นในกระบวนการนี้เรียกว่า "Extract" และจะถูกกลั่นกรองแยกออกจากวัตถุดิบเข้าสู่อีกหม้อกลั่นหนึ่งโดยการเพิ่มความร้อนและความดันในปริมาณน้อยที่เพียงพอจะให้สารละลายที่มีทั้งตัวทำละลาย wax สี และกลิ่นหอมนี้ ระเหยออกมาสู่อีกหม้อกลั่นหนึ่งเพื่อให้ได้สารละลายที่เรียกว่า "Concrete" หลังจากนั้นจะนำ Concrete ที่ได้มาผสมกับแอลกอฮอล์ เพื่อสกัดแยก wax ออกจาก concrete แล้วจึงนำไปผ่านกระบวนการแยกแอลกอฮอล์ออกอีกครั้งหนึ่งด้วยกระบวนการ vacuum extraction จึงได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นสารหอมบริสุทธิ์จากพืช หรือที่เรียกว่า "Absolute"

* ข้อมูลมาจากเอกสารดังนี้

<https://botanicessence.com/essential-oil/home/knowledge.jsp> “Pure Essential Oils”

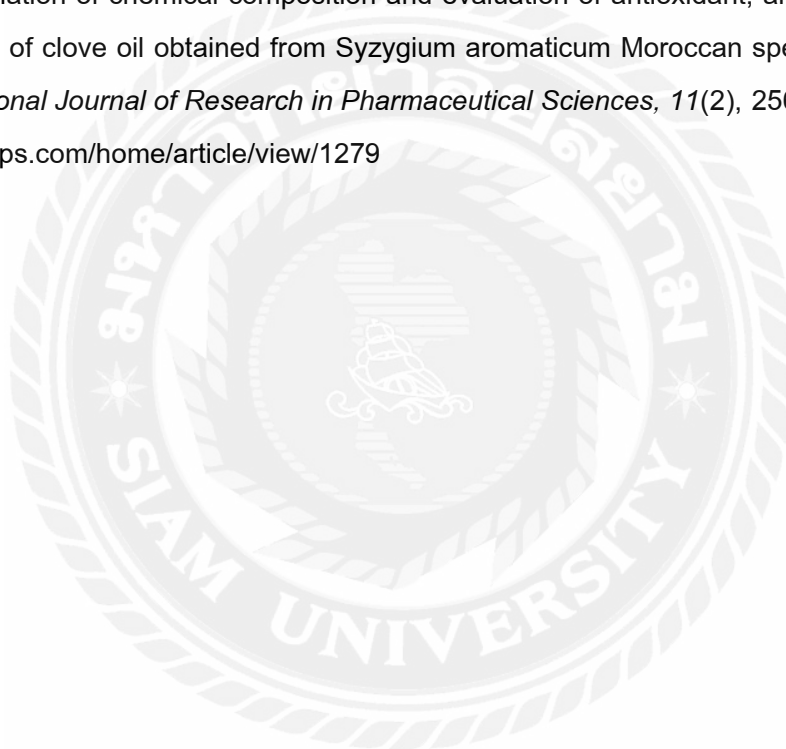


เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. (ม.ป.ป.). แหล่งข้อมูลสมุนไพร. <https://tpd.dtam.moph.go.th/index.php/news-ak/technical-manual-ak/554-herbresearch>
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (n.d.). ฐานข้อมูลสมุนไพรไทย. https://pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/search_herbal.asp
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. (ม.ป.ป.). ข้อมูลพืชสมุนไพร. https://pharmacy.su.ac.th/herb_detail
- Alfatemi, S. M. H., Sharifi Rad, J., Sharifi Rad, M., Mohsenzadeh, S., & Teixeira da Silva, J. A. (2015). Chemical composition, antioxidant activity and in vitro antibacterial activity of *Achillea wilhelmsii* C. Koch essential oil on methicillin-susceptible and methicillin-resistant. *Staphylococcus aureus* spp. 3 *Biotech*, 5(1), 39–44. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0197-x>
- Ashraf, I., Zubair, M., Rizwan, K., Rasool, N., Jamil, M., Khan, S. A., Tareen, R. B., Ahmad, V. H., Mahmood, A., Riaz, M., Haq, M. Z. H., & Jaafar, H. Z. (2018). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial potential of essential oils from different parts of *Daphne mucronata* Royle. *Chemistry Central Journal*, 12, 135. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0495-1>
- Chanthaphon, S., Chanthachum, S., & 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*, 30(1), 125–131. <https://doi.org/10.14456/sjst-psu.2008.18>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Fourth informational supplement* (CLSI document M27-S4). <https://clsi.org/shop/standards/m27/>
- Duanyai, S., Manok, S., & Rodpo, P. (2020). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from Thai herbs to microorganisms causing dermatitis. *KKU Science Journal*, 48(1), 76–85. <https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/KKUSciJ/article/view/250070>
- Ehsani, E., Akbari, K., Teimouri, M., & Khadem, A. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of two *Juniperus* species essential oils. *African Journal of Microbiology Research*, 6(38), 6704–6710. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.686>

- Gebrehiwot, H., Dekebo, A., Shenkute, K., Ensermu, U., & Endale, M. (2024). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from *Cyphostemma adenocaulum* and *Ziziphus spinachristi*. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 38(1), 167–186. <https://doi.org/10.4314/bcse.v38i1.13>
- Jaisai, N., & Lamlertthon, S. (2007). Inhibition effects of Kaffir lime's peel oil on *Bacillus cereus* in cooked rice. *Naresuan University Journal*, 15(3), 195–203.
- Javed, S., Javaid, A., Mahmood, Z., Javaid, A., & Nasim, F. (2020). Biocidal activity of citrus peel essential oils against some food spoilage bacteria. *International Journal of Enology and Viticulture*, 7(7), 001–005.
- Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., Carroll, K. C., Landry, M. L., Funke, G., Richter, S. S., & Warnock, D. W. (Eds.). (2015). *Manual of Clinical Microbiology* (11th ed.). ASM Press.
- Li, X., Shen, D., Zang, Q., Qiu, Y., & Yang, X. (2021). Chemical components and antimicrobial activities of tea tree hydrosol and their correlation with tea tree oil. *Natural Product Communications*, 16(9), 1934578X211038390. <https://doi.org/10.1177/1934578X211038390>
- Murray, P. R. (2018). *Basic Medical Microbiology* (2nd ed.). Elsevier.
- Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., & Ait Amrane, A. (2020). Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 2352–2358. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00482-5>
- Srifuengfung, S., Bunyaphrathasara, N., Satitpatipan, V., Tribuddharat, C., Buraphacheep Junyaprasert, V., Tungrugsasut, W., & Srisukh, V. (2019). Antibacterial oral sprays from Kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) fruit peel oil and leaf oil and their activities against respiratory tract pathogens. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 10(6), 594–598. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.09.003>
- Wannissorn, B., Maneesin, P., Tubtimted, S., & Wangchanachai, G. (2009). Antimicrobial activity of essential oils extracted from Thai herbs and spices. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(4), 677–689.
- Wannu, D., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., & Tungsangprateep, A. (2010). Composition and antibacterial activity of five essential oils. *Agricultural Science Journal*, 41, 633–636.

- Wongphan, P., Nampanya, P., Chakpha, W., Promhuad, K., Laorenza, Y., Leelaphiwat, P., Bumbudsanpharoke, N., Sodsai, J., Lorenzo, J. M., & Harnkarnsujarit, N. (2023). Lesser galangal (*Alpinia officinarum* Hance) essential oil incorporated biodegradable PLA/PBS films as shelf-life extension packaging of cooked rice. *Food Packaging and Shelf Life*, 37, 101077. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101077>
- Wongsrisom, N., Jinata, J., Manosan, B., Kuntakhoo, J., Wankuan, S., & Sriyam, S. (2014). Anti-bacterial activities of essential oils from Mah-Khwuaen (*Zanthoxylum limonella* Alston). *KMUTT Research and Development Journal*, 37(1), 3–15.
- Yanisse, S., Benhhadou, H., Karbane, M. E. L., Mojemmi, B., Tligui, H., & Bouatia, M. (2020). Determination of chemical composition and evaluation of antioxidant, and antimicrobial activities of clove oil obtained from *Syzygium aromaticum* Moroccan species. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 2568–2574. <https://ijrps.com/home/article/view/1279>



ภาคผนวก

เอกสารรับรองจริยธรรมและประวัติผู้ดำเนินการวิจัย





คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

38 ถนนเพชรเกษม เขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ 10160 โทร 0-2867-8000 ต่อ 5331

เอกสารรับรองโครงการวิจัย/สารนิพนธ์

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัย/สารนิพนธ์ ตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ที่เป็นมาตรฐานสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการ/สารนิพนธ์ :

(ภาษาไทย) การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์, สารต้านอนุมูลอิสระและส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทย

(ภาษาอังกฤษ) A study of antimicrobial activity, antioxidant activity and chemical composition of essential oils from Thai medicinal plants

เลขที่โครงการวิจัย/สารนิพนธ์: -

ผู้วิจัยหลัก : ศ.ดร.ภญ.สมพร ศรีเพื่องฟัง
สังกัดหน่วยงาน : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

ผู้วิจัยร่วม 1 : รศ.ดร.นพ.ชาญวิทย์ ตริพัทธรัตน์ , ดร.พิริยาภรณ์ จงตระกูล
สังกัดหน่วยงาน : คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

ผู้วิจัยร่วม 2 : นางหทัยา ชาญจรูญ
สังกัดหน่วยงาน : โรงพยาบาลตากสิน

รายงานความก้าวหน้า: ส่งรายงานความก้าวหน้า 1 ครั้ง/ปี หรือ ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หากดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี

เอกสารรับรอง: โครงร่างงานวิจัย

วันที่รับรอง: 30 พฤศจิกายน 2566

วันหมดอายุ: 30 พฤศจิกายน 2567

ลงนาม.....**วัชรินทร์ วัฒนาลัย**

(ดร.ภญ.วัชรินทร์ วัฒนาลัย)

ประธาน

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์



1. ข้อมูลส่วนตัว

1.1 ชื่อ นางสาวสมพร ศรีเพ็ญพุ่ม

โทรศัพท์ 088-6476338

อีเมล somporn.sri@mahidol.ac.th

1.2 เกิดวันที่ 5 มีนาคม พ.ศ. 2495

1.3 ที่อยู่ปัจจุบันเลขที่ 27 / 38 ซอยศรีบำเพ็ญ แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทร
กรุงเทพมหานคร 10120

1.4 ที่ทำงานปัจจุบัน คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

2. ข้อมูลการศึกษา

-เภสัชศาสตรบัณฑิต สถานที่ศึกษา มหาวิทยาลัยมหิดล

-วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สถานที่ศึกษา มหาวิทยาลัยมหิดล

-ปริญญาเอก(จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สถานที่ศึกษา University of Iowa ประเทศสหรัฐอเมริกา

3. ข้อมูลการทำงานที่คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

2.1 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ในสาขาจุลชีววิทยา วันที่ 12 เมษายน พ.ศ. 2532

2.2 รองศาสตราจารย์ในสาขาจุลชีววิทยา วันที่ 14 ตุลาคม พ.ศ. 2535

2.3 ศาสตราจารย์ในสาขาจุลชีววิทยา วันที่ 18 มิถุนายน พ.ศ. 2553

2.4 ศาสตราจารย์เงินเดือนขั้นสูงสาขาจุลชีววิทยา วันที่ 6 เมษายน พ.ศ. 2558

ข้อมูลการทำงานที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

4.1 ศาสตราจารย์ในสาขาจุลชีววิทยา วันที่ 2 มกราคม พ.ศ. 2563

4. งานสอน

3.1 นักศึกษาแพทย์ ชั้นปีที่ 3 วิชาจุลชีววิทยาการแพทย์

3.2 นักศึกษาแพทย์แผนไทยประยุกต์ นักศึกษาเทคโนโลยีบัณฑิต

3.4 นักศึกษาปริญญาโทและเอก แพทย์ประจำบ้านสาขาโรคติดเชื้อ

3.5 นักศึกษาเภสัชศาสตร์ ชั้นปีที่ 2 วิชาจุลชีววิทยา

5. ผลงานวิจัย

- ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ List of publication จำนวน 51 เรื่อง

1. Chongtrakool P, Charoensareerat T, Tribuddharat C, Samretwit D, Chaikulsareewath A, Noiduang P, Thuncharoon H, Yungyuen T, **Srifuengfung S**. Microbial, steroids and heavy metals contamination and antimicrobial resistance of bacterial isolates in Thai herbal products. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2023; 54: 244-262.
2. Yungyuen T, Chongtrakool P, Phongsamart W, Puangprasart U, Pummangura C, Samretwit D, **Srifuengfung S**. Study of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A blood isolates from Thailand by enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR typing. *ScienceAsia* 2023; 49: 485–490.
3. Phongsamart W, **Srifuengfung S**, Chatsuwan T, Rungnobhakhun P, Maleesatharn A, Thanisorn S, Chokephaibulkit K. *Streptococcus pneumoniae* causing invasive diseases in children and adults in central Thailand, 2012-2016. *Vaccines* 2022;10:1368.
4. Ndlangisa KM, du Plessis M, Lo S, de Gouveia L, Chaguza C, Antonio M, Kwambana-Adams M, Cornick J, Everett DB, Dagan R, Hawkins PA, Beall B, Corso A, Almeida SCG, Ochoa TJ, Obaro S, Shakoore S, Donkor S, Gladstone RA, Ho PL, Paragi M, Doiphode S, **Srifuengfung S**, et al. A *Streptococcus pneumoniae* lineage usually associated with pneumococcal conjugate vaccine (PCV) serotypes is the most common cause of serotype 35B invasive disease in South Africa, following routine use of PCV. *Microbial Genomics* 2022; 8: 000746.
5. Srifuengfung M, Sukakul T, Pummangura C, **Srifuengfung S**, Virawan N. Oral ulcers as an unpredictable adverse reaction to quetiapine use in a patient with schizophrenia. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 2022; 42: 103-106.
6. Tribuddharat C, Pummangura C, Srifuengfung M, Pipobwatthana P, Thuncharoon H, Rodjun V, Chongtrakool P, **Srifuengfung S**. Prevalence and antimicrobial susceptibility of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clones: A study at Taksin Hospital, Bangkok, Thailand. *Sc Asia* 2022; 48: 159-164.
7. Gladstone RA, Siira L, Brynildsrud OB, Vestheim DF, Turner P, Clarke SC, **Srifuengfung S**, et al. International links between *Streptococcus pneumoniae* vaccine serotype 4 sequence type (ST) 801 in Northern European shipyard outbreaks of invasive pneumococcal disease. *Vaccine* 2022; 40: 1054-1060.
8. Chongtrakool P, Puangprasart A, Phongsamart W, Tribuddharat C, Pummangura C,

- Srifuengfung S.** Invasive *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in Thailand (2008-2018). *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2022; 53: 73-90.
9. Srifuengfung M, Pummangura C, **Srifuengfung S.** Late onset of serious agomelatine-induced liver injury. *Sleep Medicine* 2021; 86: 122.
10. Cherdtrakulkiat T, Wongsurawat T, Jenjaroenpun P, Sutheeworapong S, Leelawiwat W, Woodring JV, Dunne EF, Papp JR, **Srifuengfung S**, Tribuddharat C. Complete genome sequence of *Neisseria gonorrhoeae* multilocus sequence type ST7363 Isolated from Thailand. *Microbiol Resour Announc* 2021;10: e00573-21.
11. Pipobwatthana P, Pummangura C, Jaroennon S, Tribuddharat C, Thuncharoon H, So-Ngern A, Rodjun V, wattanalai R, **Srifuengfung S.** Prevalence and antibiogram profiles of *Staphylococcus aureus* isolates from patients at Taksin Hospital, Bangkok, Thailand (January 2019-May 2020). *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2021; 52: 230-239.
12. **Srifuengfung S**, Bunyapraphatsara N, Satitpatipan V, Tribuddharat C, Buraphacheep Junyaprasert V, Tungrugsasut W, Srisukh V. Antibacterial oral sprays from Kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) fruit peel oil and leaf oil and their activities against respiratory tract pathogens. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 2019; 10: 594-598.
13. Hocknell RE, Cleary DW, **Srifuengfung S**, Clarke SC. Serotype distribution of disease-causing *Streptococcus pneumoniae* in Thailand: A systematic review. *Vaccine* 2019; 37: 3159-3166.
14. Tribuddharat C, Srifuengfung S. Multiple drug resistance in *Haemophilus influenzae* isolated from patients in Bangkok, Thailand. *J Glob Antimicrob Resist* 2017; 9: 162-164.
15. Tribuddharat C, Pongpech P, Charoenwatanachokchai A, Lokpichart S, **Srifuengfung S**, Sonprasert S. Gonococcal antimicrobial susceptibility and prevalence of *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-135} genes in Thailand. *Jpn Infect Dis* 2017; 70: 213-215.
16. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C, Sapcharoen S, Nitayanon P. Prevalence of M protein gene in group C and group G streptococci Isolated from patients in Thailand. *Jpn Infect Dis* 2017; 63: 108-110.

17. Tribuddharat C, **Srifuengfung S**. Epidemiology of *Moraxella catarrhalis* infections among Thai patients treated at Siriraj Hospital, Thailand during 2012-2015. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2017; 48: 1267-1273.
18. Tribuddharat C, Pongpech P, **Srifuengfung S**. *Haemophilus influenzae* from patients at largest university tertiary care center, Thailand 2012-2015. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2017 ;48: 331-337.
19. Tribuddharat C, Pongpech P, **Srifuengfung S**, Meethai C. Prevalence and drug susceptibility of *Salmonella* isolated from patients in Bangkok, Thailand. J Glob Antimicrob Resist 2016; 6: 162-164.
20. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C. Phoomniyom S, Chuanphung S. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolated from patients in Bangkok, Thailand. J Glob Antimicrob Resist 2016; 5: 86-87.
21. Phongsamart W, **Srifuengfung S**, Chatsuwan T, Nunthapisud P, Treerathaweeraphong V, Rungnobbakhun P, Sricharoenchai S, Chokephaibulkit K. Changing trends in serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive diseases in Central Thailand, 2009–2012. Human Vaccines & Immunotherapeutics 2014; 10: 1866-1873.
22. **Srifuengfung S**, Phongsamart W, Tribuddharat C, Chatsuwan T, Rungnobbakhun P, Sapcharoen S, Chokephaibulkit K. Serotype distribution and antibiotic susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in patients aged 50 years or older in Thailand. Human Vaccines & Immunotherapeutics 2014; 10: 40-44.
23. Asavapiriyant S, Lolekha R, Roongpisuthipong A, Wiratchai A, Chalermchokcharoenkit A, Ausavapipit J, **Srifuengfung S**, et al. Sexually transmitted infections among HIV-infected women in Thailand. BMC Public Health 2013; 13: 373-384.
24. Srisukha V, Tribuddharat C, Nukoolkarn V, Bunyapraphatsara N, Chokephaibulkit K, Phoomniyomb S, Chuanphung S, **Srifuengfung S**. Antibacterial activity of essential oils from *Citrus hystrix* (makrut lime) against respiratory tract pathogens. Sc Asia 2012; 38: 212-217.
25. Nakayama S, Tribuddharat C, Prombhul S, Shimuta K, **Srifuengfung S**, Unemo M, Ohnishi M. Molecular analyses of TEM genes and their corresponding penicillinase-

- producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Bangkok, Thailand. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56: 916-920.
26. Badri T, Tribuddharat C, **Srifuengfung S**, Dhiraputra C. High prevalence of *bla*_{OXA-23} in oligoclonal carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2010; 41: 625-635.
 27. **Srifuengfung S**, Assanasen S, Tuntawiroon M, Meejanpetch S. Comparison between *Pseudomonas aeruginosa* siderophores and desferrioxamine for iron acquisition from ferritin. Asian Biomed 2010; 4: 631-635.
 28. Thapa B, Tribuddharat C, Rugdeekha S, Techachaiwiwat W, **Srifuengfung S**, Dhiraputra C. Rifampin resistance in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Thailand. Nepal Med Coll 2009; 11: 232-237.
 29. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C, Comerungsee S, Chatsuwan T, Treerathanaweeraphong V, Rungnobbakhun P, Nunthapisud P, Chokephaibulkit K. Serotype coverage of pneumococcal conjugate vaccine and drug susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from invasive or non-invasive diseases in central Thailand, 2006-2009. Vaccine 2010; 28: 3440-3449.
 30. **Srifuengfung S**, Roongpisuthipong A, Asavapiryanont S, Lolekha R, Tribuddharat C, Lokpichart S, Sungthong P, Tongtep P. Prevalence of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* in HIV-seropositive patients and gonococcal antimicrobial susceptibility: an update in Thailand. Jpn Infect Dis 2009; 62: 467-470.
 31. Pongpech P, Naenna P, Taipobsakul Y, Tribuddharat C, **Srifuengfung S**. Prevalence of ESBL and a class 1 integron integrase (*INT11*) gene of *Escherichia coli* in Thai patients and healthy adults. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2008; 39: 425-429.
 32. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C, Champreeda P, Daniels J, Chokephaibulkit K, Wongwan, N. Polwichai P. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from patients with respiratory tract infections in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2008; 39: 461-465.
 33. Paitoonpong L, Chitsomkasem A, Chantrakooptungool S, Kanjanahareutai S, Tribuddharat C, **Srifuengfung S**. *Bartonella henselae*: First reported isolate in a human in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2008; 39: 123-129.

34. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C. *Roseomonas gilardii* subsp. *rosea*, a pink bacterium associated with bacteremia: the first case in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007; 38: 876-881.
35. **Srifuengfung S**, Chayakulkeeree M, Chokephaibulkit K, Tribuddharat C. Five-year study of antimicrobial susceptibility and beta-lactamase production in *Haemophilus influenzae*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007; 38: 469-477.
36. **Srifuengfung S**, Chokephaibulkit K, Tribuddharat C. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolated from hospitalized patients in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007; 38: 469-477.
37. Phongsamart W, **Srifuengfung S**, Dejsirilert S, Chatsuwat T, Nunthapisud P, Treerathanaweeraphong V, Rungnobbhakhun P, Chokephaibulkit K. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *S. pneumoniae* causing invasive disease in Thai children younger than 5 years old, 2000-2005. *Vaccine* 2007; 25: 1275-1280.
38. Pushlished DNA sequence to GenBank. Locus AY553333 1897 bp DNA linear BCT 01-May-2005. *Pseudomonas aeruginosa* class 1 integron IMP-15 (bla IMP-15), dihydrofolate reductase (dhfr), and aminoglycoside 6-N-acetyltransferase (aac (6)) genes, complete cds. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
39. Pushlished DNA sequence to GenBank. Locus AY553332 1505 bp DNA linear BCT 01-May-2005. *Pseudomonas aeruginosa* class 1 integron IMP-14 (blaIMP-14) and aminoglycoside 6-N-acetyltransferase (aac (6)) genes, complete cds. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
40. **Srifuengfung S**, Thammawart S, Leelarasamee A, Chokephaibulkit K, Dejsirilert S, Tribuddharat C. Pneumococci: drug susceptibilities and preliminary epidemiological studies by penicillin binding protein genotyping. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005; 36: 658-662.
41. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C, Yungyuen T, Wensentia T. Respiratory tract infection caused by bacteria (Non-*Mycobacterium* and their antibiogram in HIV-positive patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005;36: 709-712.
42. **Srifuengfung S**, Chokephaibulkit K, Yungyuen T, Tribuddharat C. Bacteremia and antimicrobial susceptibilities in HIV-infected patients at Siriraj Hospital. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36: 347-351.

43. **Srifuengfung S**, Chokephaibulkit K, Yungyuen T, Tribuddharat C. *Salmonella* meningitis and antimicrobial susceptibilities. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36: 312-315.
44. Jareoncharsri P, Bunnag C, Fooanant S, Tunsuriyawong P, Voraprayoon S, **Srifuengfung S**, Chertsak Dhiraputra. An open label, randomized comparative study of levofloxacin and amoxicillin/clavulanic acid in the treatment of purulent sinusitis in adult Thai patients. *Rhinology* 2004; 42: 23-29.
45. **Srifuengfung S**, Tiensasitorn C, Yungyen T, Dhiraputra C. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* mucoid and non-mucoid type. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35: 893-896.
46. Chokephaibulkit K, **Srifuengfung S**, Mingbanjerdsuk J, Tosasuk K, Vanprapar N, Chearskul S, et al. Evaluation of susceptibility status of invasive pneumococcal isolates to various antibiotics and risk factors associated with invasive penicillin-nonsusceptible pneumococcal infection: Bangkok 1997-1998. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000; 31: 498-505.
47. **Srifuengfung S**, Sangsawang M, Komolpis P, Dhiraputra C, Chompanee B. Bacterial pathogens (non-*Mycobacterium*) from sputum culture and antimicrobial susceptibility. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1998; 29: 96-99.
48. **Srifuengfung S**, Gherunpong V, Nimrat S. Serogroup distribution and antimicrobial susceptibility of beta-hemolytic streptococci in clinical isolates. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1994; 25: 139-143.
49. **Srifuengfung S**, Thanagrumbetha W. Biotypes, toxigenicity and antibiotic sensitivity of *Corynebacterium diphtheriae*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1993; 24: 444-448.
50. **Srifuengfung (Sriyosachati) S**, Cox CD. Siderophore-mediated iron acquisition from transferrin by *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 1986; 52: 885-891.
51. Ankenbauer R, **Srifuengfung (Sriyosachati) S**, Cox CD. Effects of siderophores on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* in human serum and transferrin. *Infect Immun* 1984; 49: 132-140.

- ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับชาติ List of publication จำนวน 37 เรื่อง

1. Chongtrakool P, Wangleotsakulchai P, Tabboon T, Thuncharoon H, Pummangura C, Samretwit D, Yungyuen T, Khowwigkai P, Suttisaewan T, **Srifuengfung S**. Isolation and antibiotic susceptibility profile of *Salmonella* spp. from patients in a tertiary care hospital in Thailand. J Med Assoc Thai 2023 ;
2. Chongtrakool P, Choochur P, Srifuengfung M, Sawatdijaroongrat B, Pummangura C, Samretwit D, **Srifuengfung S**. Isolation and antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* in a tertiary care hospital, a 6-year study (2016 to 2021). J Med Assoc Thai 2022;105: 335-339.
3. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C. Antibody detection for determining prevalence of *Helicobacter pylori*. Siriraj Med J 2013; 65 Suppl 6: 43-45.
4. Pulsrikarn C, Pornreongwong S, Tribuddharat C, Meethai C, **Srifuengfung S**. Serogroup and serovar distribution of *Salmonella* in Siriraj Hospital. Siriraj Med J 2013;65 Suppl 6: 34-37.
5. **Srifuengfung S**, Chokephaibulkit K. Detection of bacterial antigen in cerebrospinal fluid in patients with bacterial meningitis: A literature review. J Med Assoc Thai 2010; 93 (Suppl 5): 71-75.
6. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C, Chokephaibulkit K, Comerungsee S. Fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* from a university hospital, Thailand. J Med Assoc Thai 2010; 93 (Suppl 5): 35-39.
7. **Srifuengfung S**, Chokephaibulkit K, Tribuddharat C, Comerungsee S. A description of antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* - Siriraj Hospital, Thailand: 2008. J Med Assoc Thai 2010; 93 (Suppl 5): 27-34.
8. **Srifuengfung S**. *Streptococcus suis* infection. Siriraj Med J 2009;61:334-338.
9. Tribuddharat C, **Srifuengfung S**, Chiangjong W. Preliminary study of randomly-amplified polymorphic DNA analysis for typing extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* J Med Assoc Thai 2008;91:527-532.
10. Tribuddharat C, **Srifuengfung S**, Chiangjong W. A correlation between phenotypes and genotypes of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* in a university hospital. J Infect Dis Antimicrob Agents 2007; 24: 117-123.

11. Tantilipikorn P, Bunnag C, **Srifuengfung S**, Dhiraputra C, Tiensasitorn C, Jareoncharsri P, Tunsuriyawong P, Assanasen P, Bedavanija A. A surveillance study of bacteriologic profile in rhinosinusitis. *Siriraj Med J* 2007; 59: 177-180.
12. **Srifuengfung S**, Poonwan N, Tribuddharat C, Chokephaibulkit K. Prevalence of *Nocardia* species isolated from patients with respiratory tract infections at Siriraj Hospital, Thailand. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 2007; 24: 1-6.
13. Treebupachatsakul P, **Srifuengfung S**, Chayakulkeeree M. Brain abscess due to *Listeria monocytogenes* : first case report in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2006; 89: 1516-1520.
14. Phongsamart W, **Srifuengfung S**, Tiensasitorn C, Vanprapar N, Chearskul S, Chokephaibulkit K. The first pediatric case of *Staphylococcus aureus* with heterogenous resistant to vancomycin endocarditis in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2005; 88.Suppl 8: S264-268.
15. **Srifuengfung S**, Tribuddharat C, Yungyuen T. Bacterial study of autopsy specimens. *J Med Assoc Thai* 2005 ;88: 643-646.
16. Chaiprasert A, Prammananan T, Tingtoy N, Srimuang S, Ajratanakool W, Jearanaisilavong J, **Srifuengfung S**, Dhiraputra C. Six-year report of Mycobacteria recovered from automated culture system at Siriraj Hospital. *Siriraj Hosp Gaz* 2004; 56: 477-484.
17. **Srifuengfung S**, Thamlikitkul V. In vitro activity of telithromycin against *Streptococcus pneumoniae* isolated from patients in Siriraj Hospital. *J Infect Dis Antimicrob Agents (Thailand)* 2004; 21: 79-81.
18. **Srifuengfung S**, Techachaiwiwat W, Dhiraputra C. The antibiotic susceptibility of *Enterococcus* species in Siriraj Hospital during 1994 and 2001. *J Infect Dis Antimicrob Agents (Thailand)* 2004; 21: 47-52.
19. **Srifuengfung S**, Komolpis P, Yungyuen T, Techachaiwiwat W, Tribuddharat C. Prevalence of *Vibrio* species isolated from fecal specimen of patients with diarrhea in Siriraj Hospital during 1994-2001. *J Infect Dis Antimicrob Agents (Thailand)* 2004; 21: 83-88.
20. **Srifuengfung S**, Techachaiwiwat W, Dhiraputra C. Serological study of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *J Med Assoc Thai* 2004; 87: 935-938.

21. Aswapokee N, Tiengrim S, Charoensook B, Choochotaworn C, **Srifuengfung S**. Activities of respiratory quinolones against respiratory bacteria. J Inf Dis Antimicrob Agents (Thailand) 2002; 19: 49-55.
22. Jareonchasri P, Bunnag C, Tunsuriyawong P, Voraprayoon S, **Srifuengfung S**, Dhiraputra C, Bedanvanija A. Bacteriologic profile of acute and chronic maxillary sinusitis. J Inf Dis Antimicrob Agents (Thailand) 2001;18: 96-102.
23. Chokephaibulkit K, Sitthitrai P, Wanprapa N, Chearskul S, **Srifuengfung S**, Pingwang B, et al. Comparison of BACTEC automated blood culture system and conventional system in hospitalized pediatric patients. J Med Assoc Thai 1999; 82:1011-1016.
24. Leelarasamee A, Nilakul C, Tien-Grim S, **Srifuengfung S**, Susaengrat W. *Streptococcus suis* toxic-shock syndrome and meningitis. J Med Assoc Thai 1997; 80 :63-68.
25. **Srifuengfung S**, Komolpis P. *Clostridium tertium* septicemia: A case report. J Inf Dis Antimicrob Agents (Thailand) 1994; 11: 125-127.
26. **Srifuengfung S**, Dhiraputra C. Bacterial meningitis and brain abscess in Siriraj Hospital. J Inf Dis Antimicrob Agents (Thailand) 1993; 10: 13-17.
27. **Srifuengfung S**, Thanagrumbetha W. *Pseudomonas aeruginosa* cross infection in six wards of Siriraj Hospital. J Inf Dis Antimicrob Agents (Thailand) 1992; 10: 83-86.
28. **Srifuengfung S**, Gherunpong V, Nimrat S, Komolpis P, Charoenpol I. Development of coagglutination kit for rapid serogrouping of streptococci. J Med Tech Assoc Thai 1991; 19: 103-108.
29. Siripoonkiat P, Gherunpong V, Komolpis P, Sornchai C, **Srifuengfung S**. Identification of *Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae* by using X, V and XV disk prepared at Siriraj Hospital. J Inf Dis Antimicrob Agents (Thailand) 1991; 8: 83-86.
30. Komolpis P, Sriyoschat S, **Srifuengfung S**, Septicemic case caused by *Erysipelothrix rhusiopathiae*. J Inf Dis Antimicrob Agents (Thailand) 1989; 6: 158-161.
31. **Srifuengfung (Sriyosachati) S**, Prasithirun S, Koviriyakmol V, Kongsamran S. Biotypes, toxigenicity and antibiotic sensitivity of *Corynebacterium diphtheriae*. J Med Assoc Thai 1982; 65: 638-641.
32. Gherunpong V, Kongsamran S, **Srifuengfung (Sriyosachati) S**. Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* among female patients in Siriraj Hospital. J Med Assoc Thai 1982; 6: 172-175.

33. Srifuengfung (Sriyosachati) S, Komolpis P. Antibiotic resistance and transferrable R factor in *Shigella* isolated at Siriraj Hospital. Bull Infect Dis Group Thai 1981; 42: 75-81.
34. Gherunpong V, Kongsamran S, Srifuengfung (Sriyosachati) S. The identification of *Neisseria gonorrhoeae* by the Phadebact Gonococcal Test, a further modification technique. Bull Infect Dis Group Thai 1981; 4: 277-287.
35. Srifuengfung (Sriyosachati) S, Chulasamaya M. Transformation of multiple antibiotic resistance in gonococci. J Med Assoc Thai 1979; 62: 589-595.
36. Srifuengfung (Sriyosachati) S, Sanitary condition of food sold in Hatyai, Songkla Province. Bull Fac Med Tech Mahidol University 1978; 2: 133-141.
37. Srifuengfung (Sriyosachati) S, Chulasamaya M. Multiple antibiotic resistance in gonococci. J Med Assoc Thai 1978; 61: 586-592.

5. การได้รับรางวัลทางวิชาการ

- 5.1 รางวัลศิริราชเชิดชูเกียรติ ประจำปี พ.ศ. 2558 จากคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
- 5.2 รางวัลศิริราชเชิดชูเกียรติ ประจำปี พ.ศ. 2556 จากคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
- 5.3 ได้รับรางวัล 6 ครั้งเป็น Full scholarship เพื่อไปประชุมและเสนอผลงานวิจัยในรูปแบบโปสเตอร์ ในการประชุมวิชาการนานาชาติ ณ เมือง Cape Town ประเทศ South Africa, เมือง Bethesda รัฐ Maryland ประเทศสหรัฐอเมริกา (2 ครั้ง), เมืองไทเป ประเทศไต้หวัน, เมือง Rio de Janeiro ประเทศบราซิล, เมือง Hyderabad ประเทศอินเดีย



Resume
Chanwit Tribuddharat, M.D., Ph.D.
(รศ.นพ.ชาญวิทย์ ตริพุทธรัตน์)

Associate Professor, Department of Microbiology
President, Siriraj Medical Staff Organization
(ประธานคณะกรรมการบริหารองค์กรแพทย์ศิริราช)
Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

Born: July 7, 1968
Home address: 13/204 Soi 9 Nantawan (Wongwan-Pinklao), Kanchanapisek Rd., Bangpai, Bangkhae, Bangkok 10160.
Telephone: +66 2061 4990
E-mail: chanwit.tri@mahidol.ac.th
Office: 4th floor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, 10700 Thailand.
Telephone: 662-419-7053, 662-419-7054
Facsimile: 662-411-3106
Mobile phone: +668 1632 6331

Education:

April 1-30, 2002: Exchange scholar, Department of Bacteriology, Juntendo University, Tokyo, Japan.
1999-2001: Postdoctoral fellow, Department of Microbiology and Infectious Diseases, University of Calgary, Alberta, Canada.
1994-1999: Ph.D., Department of Microbiology and Immunology, Rosalind Franklin University of Medicine and Science, North Chicago, Illinois, USA.
1987-1993: M.D., Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

Experience:

Teaching experience

Present: Associate Professor, Department of Microbiology, Mahidol University, Bangkok, Thailand
1995-1999: Teaching Assistant, in Medical Microbiology and Immunology class for medical students. Rosalind Franklin University of Medicine and Science, North Chicago, IL, USA
1993-1994: Instructor, Department of Microbiology, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Administration

2019-Present: President, Siriraj Medical Staff Organization
2016-2017: Vice President for International Collaborations, National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Ministry of Science and Technology, Thailand
2015-2016: President, Siriraj Medical Staff Organization
2015: Assistant Dean for International Relations (Dean Prasit Watanapa)
2010-2015: Assistant Dean for International Relations (Dean Udom Kachintorn)
2010: Assistant Dean for International Relations and Centers of Excellence (Dean Theerawat Kulthanant)

Health Policies and Scientific Committees

2019-Present: Infection Control Committee member, Communicable Disease Control, under the Communicable Disease Control Act (2019), Ministry of Public Health, Thailand
2018-Present: Expert, International Collaborations, National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Ministry of Science and Technology, Thailand
2001-Present: Committee/Trainer, Society of Nosocomial Infection Control of Thailand

2004-2014:	Committee, National Antimicrobial Resistance Surveillance Center, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand (NARST)
2014-present:	Expert, Department of Livestock Development (DLD), Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand
2015:	Scientific Committee for Global Health Policy, Prince Mahidol Award Conference (PMAC)
May 18-26, 2015:	Thai Delegate for World Health Assembly 68 (WHA68) on Antimicrobial Resistance (AMR), Geneva, Switzerland
October 5, 2017:	Invited Thai representative for United Nations Conference on Trade and Development (UNCTAD) for a presentation on the topic of "Thailand's Approach to Combating Antibiotic Resistance"

Training Programs

2015-Present:	International training course on "One Health Approach to Antimicrobial Resistance (OHAMR)", Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.
2014-2016:	Traier for Surveillance of Antimicrobial Resistance in Animal Meat, Department of Livestock Development (DLD), Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand
September, 2014:	Traier, Workshop on "Strategic Action Plan on Control, Prevention and Containment of Antimicrobial Resistance associated with Food Animals in ASEAN countries", WHO Collaborative Center for Antimicrobial Resistance in Animal, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University
October 2 – 31, 2006:	Traier for WHO Fellows: Study on Microbiology Emphasizing on Molecular studies of <i>Pseudomonas</i> : Antimicrobial Resistance and Nosocomial infections

Research interest

Antibiotic resistance, nosocomial bacteria, molecular typing, infection and immunity:

1. Mechanisms of cephalosporin and class A beta-lactamase inhibitor resistance in *Burkholderia pseudomallei*.
2. Characterization of plasmid-borne AmpC beta-lactamase in Gram-negative bacteria.
3. Enzyme kinetics analyses of metallo-beta-lactamases, IMP-14 and IMP-15, from *Pseudomonas aeruginosa*.
4. Production of antibodies against an imipenem outer membrane porins, OprD and OprF, from *Pseudomonas aeruginosa*.
5. Molecular typing of pan-drug resistant nosocomial pathogens: *Acinetobacter baumannii* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).
6. Characterization of Community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) Thai isolate.
7. Fluoroquinolone resistance via *gyrA* and *qnrA* genes in *Escherichia coli*.
8. Study of Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in Gram-negative bacteria.
9. Study of the Integron element, a multiple antibiotic resistance gene capturing elements, and their horizontal gene transfer in Gram-negative bacteria.
10. Molecular epidemiology of multi-drug resistant nosocomial pathogens.
11. Molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* and emerging *bla*_{TEM-135}, an ESBL precursor gene.
12. Study of enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* from food producing animals, their international spread and resistance genes.
13. Molecular Epidemiology of *Clostridioides difficile* isolated from human and pigs.

Publications (Past 5 years)

1. Htoo HH, Brumage L, Chaikeeratisak V, Tsunemoto H, Sugie J, **Tribuddharat C**, Pogliano J, Nonejuie P. Bacterial Cytological Profiling as a Tool To Study Mechanisms of Action of Antibiotics That Are Active against *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Mar 27;63(4). pii: e02310-18. doi: 10.1128/AAC.02310-18.

2. Lugsomya K, Yindee J, Niyomtham W, **Tribuddharat C**, Tummaruk P, Hampson DJ, Prapasarakul N. Antimicrobial Resistance in Commensal *Escherichia coli* Isolated from Pigs and Pork Derived from Farms Either Routinely Using or Not Using In-Feed Antimicrobials. *Microb Drug Resist*. 2018 Sep;24(7):1054-1066.
3. **Tribuddharat C**, Srifuengfung S. Epidemiology of *Moraxella catarrhalis* infections among Thai patients treated at Siriraj Hospital, Thailand during 2012-2015. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2017 Nov; 48(6): 1267-1273.
4. **Tribuddharat C**, Srifuengfung S. Multiple drug resistance in *Haemophilus influenzae* isolated from patients in Bangkok, Thailand. *J Glob Antimicrob Resist*. 2017 Jun;9:121-123.
5. **Tribuddharat C**, Pongpech P, Srifuengfung S. *Haemophilus influenzae* from patients at the largest university tertiary care center, Thailand 2012-2015. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2017 Mar;48(2):331-7.
6. **Tribuddharat C**, Pongpech P, Charoenwatanachokchai A, Lokpichart S, Srifuengfung S, Sonprasert S. Gonococcal Antimicrobial Susceptibility and Prevalence of *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-135} Genes in Thailand. *Jpn J Infect Dis*. 2017 Mar 24;70(2):213-215. doi: 10.7883/yoken. JJID.2016.209. Epub 2016 Aug 31.
7. **Tribuddharat C**, Pongpech P, Srifuengfung S, Meethai C. Prevalence and drug susceptibility of *Salmonella* isolated from patients in Bangkok, Thailand. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016 Sep;6:162-4. doi: 10.1016/j.jgar.2016.05.004.
8. Jitwasinkul T, Suriyaphol P, Tangphatsornruang S, Hansen MA, Hansen LH, Sørensen SJ, Permpikul C, Rongrungruang Y, **Tribuddharat C**. Plasmid metagenomics reveals multiple antibiotic resistance gene classes among the gut microbiomes of hospitalised patients. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016 Sep;6:57-66. doi: 10.1016/j.jgar.2016.03.001.
9. Pagdepanichkit S, **Tribuddharat C**, Chuanchuen R. Distribution and expression of the Ade multidrug efflux systems in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Can J Microbiol*. 2016 Apr 28:1-8.
10. Disratthakit A, Prammananan T, **Tribuddharat C**, Thapisuttikul I, Doi N, Leechawengwongs M, Chaiprasert A. Role of gyrase mutations in pre-extensively and extensively drug-resistant Tuberculosis in Thai clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Aug 22;60:5189-5197.
11. Srifuengfung S, **Tribuddharat C**, Sapcharoen S, Nitayanon P. Prevalence of M Protein Gene in Group C and Group G Streptococci Isolated from Patients in Thailand. *Jpn J Infect Dis*. 2016 May 9.
12. Prombhul S, **Tribuddharat C**, Laikijrungs P, Aranya C, Bamrungsri N, Mekviwattanawong S. New variant of an imipenemase, IMP-32, in *Klebsiella pneumoniae* from a fatal case of a Thai patient. *J Med Microbiol*. 2016 Jun;65(6):572-3. doi: 10.1099/jmm.0.000252. Epub 2016 Mar 22.
13. Srifuengfung S, **Tribuddharat C**, Phoomniyom S, Chuanphung S. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolated from patients in Bangkok, Thailand. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016;5:86–87.

Honorary

1. The Royal Thai Government Scholarship for Ph.D. program in Microbiology and Immunology 1994-1999.
2. Young Investigator Award from the Infectious Disease Association of Thailand. October 17, 2001.
3. Young Investigator Award and Research Presentation Award from the Infectious Disease Association of Thailand. October 4-7, 2003.
4. Research Presentation Award from the Infectious Disease Association of Thailand. October 9-12, 2004.
5. Basic Science Investigator Award from the Infectious Disease Association of Thailand. October 20-22, 2006.
6. Outstanding Thesis Award 2010 on the thesis by Dr. Badri Thapa (Medical Microbiology, International Program, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University): Molecular Characterization of *Acinetobacter baumannii* Integrated with Genomic Resistance Island. Major Advisor: Asst. Prof. Chanwit Tribuddharat
7. American Society for Microbiology: Country Liaison to Thailand; since May, 2009.
8. American Society for Microbiology: Acting Ambassador to Thailand; since Jan, 2012.
9. American Society for Microbiology: Ambassador to Thailand; Jul 2012-Dec 2017 (retired).

CURRICULUM VITAE

NAME PIRIYAPORN CHONGTRAKOOL
DATE OF BIRTH 1 May 1963
SEX Female
NATIONALITY Thai
POSITION April 1985 – February 1997 Medical technologist
March 1997 – Present Lecturer

ADDRESS

HOME 285, Soi Sawang 6, Mahanakorn Road, Bangkok, Thailand.
OFFICE Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Siriraj
Hospital, Mahidol University, Bangkok, 10700, THAILAND.
E-mail address piriyaporn.cho@mahidol.edu , piriyaporn@gmail.com

EDUCATION

June 1981 - February 1985 Faculty of Medical Technology, Mahidol University,
Bangkok B.Sc.(Med. Tech.)
June 1992 - May 1997 Faculty of Graduate Studies, Mahidol University,
Bangkok. M.Sc.(Microbiology)
April 2001 – March 2006 Department of Bacteriology, Juntendo University,
Tokyo, Japan. Ph.D. (Medical Science)

WORKING

April 1985 – October 2013 Department of pathology, Faculty of Medicine
Ramathibodi hospital, Mahidol University, Bangkok,
Thailand
November 2013 - Present Department of microbiology, Faculty of Medicine Siriraj
hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

ประวัติและผลงานผู้วิจัย

1. ข้อมูลส่วนตัว

- 1.1 ชื่อ นางหทัยา นามสกุล ธัญญะ
โทรศัพท์เคลื่อนที่ 08-1285-3080 อีเมล danguhuttaya@gmail.com
- 1.2 เกิดวันที่ 12 เดือน มกราคม พ.ศ. 2506 อายุ 54 ปี
- 1.3 ที่อยู่ปัจจุบันเลขที่ 436 ถนน บางบอน 5 ตำบล บางบอน อำเภอ บางบอน
จังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10150 โทรศัพท์ 0-2108-3661
- 1.4 ที่ทำงาน ส่วนราชการ / หน่วยงาน งานจุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์
โรงพยาบาลตากสิน
เลขที่ 5.4.3 ถนน สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอ เจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนา กรมหลวงนราธิวาสราชนครินทร์ ตำบล/แขวง คลองสาน อำเภอ/เขต คลองสาน
จังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10600 โทรศัพท์ 02-4370123 ต่อ 1231
- 1.5 ตำแหน่งปัจจุบัน นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ

2. ข้อมูลการศึกษา

- คุณวุฒิ (ถ้ามี)
- ระดับปริญญาตรี
วิชาเอก วิทยาศาสตร์บัณฑิต สถานศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - ระดับปริญญาโท
วิชาเอก วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สถานศึกษา มหาวิทยาลัยมหิดล
 - ระดับปริญญาเอก
วิชาเอก - สถานศึกษา -
 - หลักสูตรสำคัญอื่นๆ หลักสูตรบริหารการแพทย์และสาธารณสุข รุ่นที่ 7

3. ข้อมูลประสบการณ์ / ความเชี่ยวชาญ

- 3.1 ประสบการณ์ในวิชาชีพ/การทำงานที่ผ่านมา (ตำแหน่ง หน้าที่ หน่วยงาน ระยะเวลา).....
- พ.ศ. 2530-2535 นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ 3-4 กลุ่มงานพยาธิวิทยา
..... โรงพยาบาลตากสิน
- พ.ศ. 2536-2554 นักเทคนิคการแพทย์ 5-8 หัวหน้างานจุลชีววิทยา กลุ่มงาน
..... ชั้นสูตรโรคกลาง โรงพยาบาลตากสิน
- พ.ศ. 2554 -2562 นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ หัวหน้างาน
..... จุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลตากสิน
- พ.ศ. 2562-ปัจจุบัน นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ หัวหน้ากลุ่มงาน
..... เทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลตากสิน

- 3.2 ประสบการณ์ในงานด้านวิชาการ / วิจัย (เช่น วิทยากร ที่ปรึกษา) สาขาวิชา.....ที่ปรึกษาด้าน
วิชาการโรงพยาบาลราชพิพัฒน์. ร่วมนิพนธ์หนังสือคู่มือการปฏิบัติงานแบบที่เรียและรา.....
สำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ร่วมกับ
CDC พิมพ์ครั้งที่ 1 ธันวาคม 2557 และเข้าร่วมจัดทำแผนปฏิบัติการป้องกันและควบคุม.....
วัณโรค พ.ศ.2561-2564 กับสำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข.....
- 3.3 ความเชี่ยวชาญด้าน.....จุลชีววิทยา.....
4. งานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์หรือเผยแพร่ภายใน 5 ปี (ทั้งที่เป็นเจ้าของโครงการและร่วมโครงการ)
เทคนิค Xpert MTB/RIF ในการวินิจฉัยกลุ่มผู้ป่วยสงสัยวัณโรคของโรงพยาบาลตากสิน ตีพิมพ์ใน
วารสารเทคนิคการแพทย์ ปีที่ 47 ฉบับที่ 1 เดือนเมษายน 2562 หน้า 6840-6858.....
5. งานวิจัยที่กำลังดำเนินการอยู่ การประเมินผลวิธีการตรวจหาไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบดี
ด้วยเครื่องตรวจประเภท Point of Care Test: : GeneXpert และ iPonatic : การศึกษานำร่อง.....
6. ผลงานวิจัยที่เคยได้รับ.....ทุนโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์จากจุฬาลงกรณ์.....
มหาวิทยาลัย ประจำปี พ.ศ.2528 และทุนมูลนิธิโรงพยาบาลตากสินประจำปี พ.ศ. 2562.....
7. เกียรติยศ รางวัลที่ได้รับ.....ทุนการศึกษาระดับปริญญาโทจาก S.T.D.B. กระทรวงวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยี, The best of บณก.21 (ขยัน ตั้งใจ ใฝ่เรียนรู้) คนดีศรีตากสิน ประจำปี พ.ศ.2561 กรรมการ
สภาเทคนิคการแพทย์ พ.ศ. 2562-2563 (ผู้แทนกรุงเทพมหานคร) และประธานโครงการ BMA-CASCADE