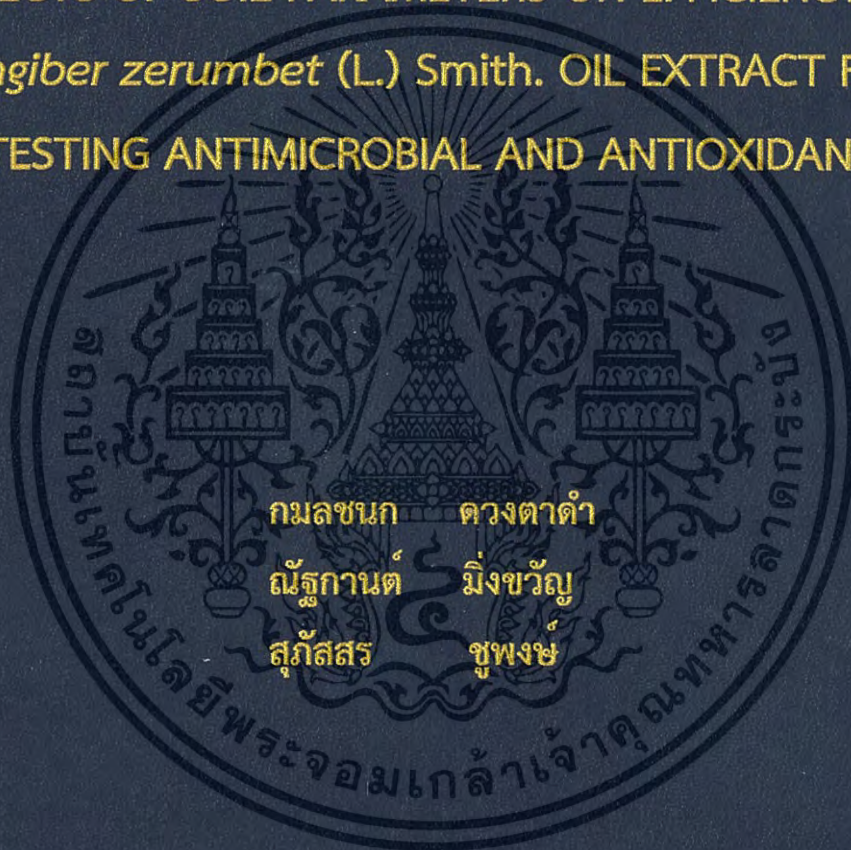


ค่าพารามิเตอร์ดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย  
จากเหง้ากระเทียม ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของ  
จุลินทรีย์ก่อโรค

EFFECTS OF SOIL PARAMETERS ON EFFICIENCY OF  
*Zingiber zerumbet* (L.) Smith. OIL EXTRACT FOR  
TESTING ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2558

ค่าพารามิเตอร์ดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย  
จากเหง้ากระเทียม ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของ  
จุลินทรีย์ก่อโรค

EFFECTS OF SOIL PARAMETERS ON EFFICIENCY OF  
*Zingiber zerumbet* (L.) Smith. OIL EXTRACT FOR  
TESTING ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT



กมลชนก ดวงตาดำ  
ณัฐกานต์ มิ่งขวัญ  
สุภัทสร ชูพงษ์

สงทพ... ๒๕๕๘  
ลงทะเบียน... 149207  
รับเดือนปี... 29.๓.๒๕๕๘

๖๐๐๒๖๖๙/๑๔  
๑๘๘๘๑๑๙๗

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECTS OF SOIL PARAMETERS ON EFFICIENCY OF  
*Zingiber zerumbet* (L.) Smith. OIL EXTRACT FOR  
TESTING ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT



KAMONCHANOK DOUNGTADUM  
NATTAGAN MINGKWAN  
SUPATSORN CHUPONG

A SPECIAL PROJECT EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)  
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

ค่าพารามิเตอร์ดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจาก  
เหง้ากระเทียม ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของ  
จุลินทรีย์ก่อโรค

Effects of Soil Parameters on Efficiency of *Zingiber  
zerumbet* (L.) Smith. Oil Extract for Testing Antimicrobial  
and Antioxidant

ชื่อนักศึกษา

นางสาวกมลชนก ดวงตาตำ รหัสนักศึกษา 55051054  
นางสาวณัฐกานต์ มิ่งขวัญ รหัสนักศึกษา 55051084  
นางสาวสุภัทสร ชูพงษ์ รหัสนักศึกษา 55051204

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา

ปีการศึกษา

2558

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรรณนทกิจ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
(เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ลินจง สุขลำภู ประธานกรรมการ	ลินจง สุขลำภู
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
ผศ.ดร.วรกฤต วรรณนทกิจ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	วรกฤต วรรณนทกิจ

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ค่าพารามิเตอร์ดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจาก เหง้ากระเทียม ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ก่อโรค
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกมลชนก ดวงตาต้า รหัสนักศึกษา 55051054 นางสาวณัฐกานต์ มิ่งขวัญ รหัสนักศึกษา 55051084 นางสาวสุภัทสร ชูพงษ์ รหัสนักศึกษา 55051204
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรรณทักษิณ

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาค่าพารามิเตอร์ดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียม ใน 3 พื้นที่ ได้แก่ เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ, อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา โดยทำการศึกษาค่าพารามิเตอร์ดิน ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณไนโตรเจน, โปแทสเซียม, ฟอสฟอรัส และการแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน พบว่าตัวอย่างดินจาก จ.นครราชสีมา มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ  $6.15 \pm 0.03$  มีปริมาณธาตุไนโตรเจน โปแทสเซียม ฟอสฟอรัสเท่ากับ  $0.15 \pm 0.04$  เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมด  $16.67 \pm 0.46$  mg/L และ  $3.35 \pm 0.65$  mg/kg ตามลำดับ และมีค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวกสูงสุด เท่ากับ  $12.87 \pm 0.11$  cmol/kg อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging พบว่าน้ำมันหอมระเหย จาก จ.นครราชสีมา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $1.32$  mg/ml และพบว่ามีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ  $7.41 \pm 0.07$  mg gallic acid/ml essential oil ในส่วนของการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Micrococcus luteus* ATCC 6633 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ดีที่สุดโดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิด เท่ากัน คือ  $100$   $\mu$ g/m จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าค่าพารามิเตอร์ดินถือเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียม นอกจากนี้ผลที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทาง ด้านเภสัชกรรม เกษตรกรรม และเป็นฐานข้อมูลสนับสนุนการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรอื่นๆ อีกด้วย

**คำสำคัญ :** กระเทียม ค่าพารามิเตอร์ดิน น้ำมันหอมระเหย สมุนไพร สารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Title</b>	Effects of Soil Parameters on Efficiency of <i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Smith. Oil Extract for Testing Antimicrobial and Antioxidant
<b>Students</b>	Miss Kamonchanok Dountadum Student ID 55051054 Miss Nattagan Mingkwan Student ID 55051084 Miss Supatsorn Chupong Student ID 55051204
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Biotechnology)
<b>Department</b>	Biology
<b>Academic Year</b>	2015
<b>Advisor</b>	Asst.Prof.Dr.Worakrit Worananthakij

### Abstract

This research studied on effect parameters of soil relate to effective antioxidant and antibacterial. Essential oils an extracted from rhizome of *Zingiber zerumbet* (L.) smith. which were harvested in 3 areas, Min Buri district in Bangkok province, Meuang district in Chiangmai province and Kaeng Sanam Nang district in Nakhonratchasima province. By researching of soil parameters consists of pH, Nitrogen, Potassium, Phosphorus content and Ion exchange in soil, we found that soil from Nakhonratchasima province has pH, Nitrogen, Potassium, Phosphorus contents equal to  $6.15 \pm 0.03$ ,  $0.15 \pm 0.04$  percent of total nitrogen,  $16.67 \pm 0.46$  mg/L,  $3.35 \pm 0.65$  mg/kg respectively and has the highest cation exchange value of  $12.87 \pm 0.11$  cmol/kg, which is statistically significant ( $p < 0.05$ ). It is also found that soil parameter is relative to anti-oxidant and antibacterial efficiencies from essential oils extraction by testing DPPH scavenging. The best anti-oxidant is from Nakhonratchasima province whose  $IC_{50}$  is equal to 1.32 mg/ml and is statistically significant ( $p < 0.05$ ), and total phenolic compounds is  $7.41 \pm 0.07$  mg gallic acid/ml essential oil. Antibacterial efficiency was tested by agar disc diffusion method, which inhibits *Micrococcus luteus* ATCC 6633 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633. The inhibition concentration was similar for both bacteria which are 100  $\mu$ g/ml. This research can be applied for pharmaceutical, agricultural and also for the study of other medical plants.

**Keywords :** *Zingiber zerumbet* (L.) Smith, Soil Parameters, Essential Oil, Herb, Antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

ในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรภฤต วรรณทกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและความรู้มากมายอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำงานวิจัยนี้ อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานและตรวจสอบความถูกต้องของโครงการพิเศษฉบับนี้อีกด้วย ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ลินจง สุขล้าภู ประธานกรรมการสอบ และ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการสอบ สำหรับข้อแนะนำรวมไปถึงความรู้ที่เป็นประโยชน์เพื่อนำไปแก้ไขในโครงการพิเศษให้ถูกต้อง

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือ เครื่องใช้ ในการทำงานวิจัยครั้งนี้ รวมไปถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา และภาควิชาเคมี ที่ให้การช่วยเหลือและคอยสนับสนุนตลอดการดำเนินงานวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัว ของกลุ่มผู้วิจัยที่ให้โอกาสในการศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนคอยช่วยเหลือและให้กำลังใจกลุ่มผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

กมลชนก ดวงตาดำ  
ณัฐกานต์ มิ่งขวัญ  
สุภัทสร ชูพงษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฉ
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขต.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>3</b>
2.1 กระทือ.....	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	3
2.1.2 ประโยชน์ทางยา.....	4
2.1.3 สภาวะที่เหมาะสมในการปลูก.....	4
2.2 ความหมายและความสำคัญของดิน.....	4
2.2.1 ความเป็นกรด-ด่าง.....	5
2.2.2 ไนโตรเจน.....	6
2.2.3 ฟอสฟอรัส.....	7
2.2.4 โพแทสเซียม.....	7
2.2.5 การแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน.....	8
2.3 น้ำมันหอมระเหย.....	8
2.3.1 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย.....	9
2.4 น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระทือ.....	11
2.4.1 สารออกฤทธิ์ภายในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระทือ.....	11
2.4.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย.....	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 อนุมูลอิสระ .....	14
2.5.1 กลไกการทำงานของอนุมูลอิสระ .....	15
2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ .....	16
2.6.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ.....	16
2.6.2 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ.....	17
2.7 จุลินทรีย์ก่อโรค.....	20
2.7.1 ตัวอย่างแบคทีเรียก่อโรค.....	20
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	22
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>26</b>
3.1 พืชและดินที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย.....	26
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ.....	26
3.3 อุปกรณ์.....	26
3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย.....	26
3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดิน.....	26
3.3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ.....	27
3.3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ.....	27
3.4 สารเคมี.....	27
3.4.1 สารเคมีในการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดิน.....	27
3.4.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ.....	28
3.4.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ.....	28
3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	29
3.5.1 การเตรียมตัวอย่างดินและการตรวจค่าพารามิเตอร์ดิน.....	29
3.5.2 การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัดน้ำมันหอมระเหย.....	31
3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย.....	32
3.5.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านสารจุลชีพด้วยวิธี Agar Diffusion Test.....	32
3.5.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหย.....	33
3.5.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	33
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....</b>	<b>34</b>
4.1 ลักษณะของเหง้าและดินที่ใช้ในการวิเคราะห์.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 ลักษณะภูมิอากาศ.....	35
4.3 ผลการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดิน.....	36
4.3.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง.....	36
4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักในดิน.....	37
4.3.3 การวิเคราะห์หาค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวก .....	38
4.4 ผลการสกัดและผลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย.....	39
4.4.1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหย.....	39
4.4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ .....	40
4.4.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพด้วยวิธี Agar Diffusion Test.....	42
4.5 ผลการศึกษาสารองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย.....	49
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b> .....	<b>52</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	52
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	53
เอกสารอ้างอิง.....	54
ภาคผนวก.....	60
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	61
ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ.....	62
ภาคผนวก ค ภาพแสดงสถานที่เก็บตัวอย่างทั้ง 3 แหล่ง.....	67
ภาคผนวก ง ข้อมูลจากผลการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดินจากตัวอย่างดิน ที่ใช้ปลูกเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง.....	69
ภาคผนวก จ การคำนวณและตารางการวิเคราะห์ค่าความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ .....	77

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงลักษณะภูมิอากาศของทั้ง 3 แหล่ง .....	36
4.2 ผลการตรวจค่าพารามิเตอร์ดินจากตัวอย่างดินของทั้ง 3 แหล่ง .....	39
4.3 แสดงผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง.....	40
4.4 แสดงค่า IC <sub>50</sub> ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง .....	41
4.5 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมันหอมระเหย จากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง.....	41
4.6 แสดงผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 3 แหล่ง .....	42
4.7 แสดงผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 3 แหล่ง .....	45
4.8 แสดงองค์ประกอบหลักที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียม.....	50
ง.1 แสดงผลการวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง ของดินจากทั้ง 3 แหล่ง.....	69
ง.2 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจนของดินจากทั้ง 3 แหล่ง.....	69
ง.3 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมของดินจากทั้ง 3 แหล่ง.....	69
ง.4 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสของดินจากทั้ง 3 แหล่ง.....	70
ง.5 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณการแลกเปลี่ยนไอออนบวกในดินจากทั้ง 3 แหล่ง .....	70
ง.6 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม จ.กรุงเทพฯ.....	71
ง.7 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม จ.เชียงใหม่.....	72
ง.8 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม จ.นครราชสีมา.....	73
ง.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของน้ำมันหอมระเหย จากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร .....	75
ง.10 แสดงค่ามิลลิลิตรของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมของ ทั้ง 3 แหล่ง.....	75
ง.11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	76
จ.1 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ %inhibition โดยออกแบบการทดลองแบบ แฟคทอเรียล.....	77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
จ.2 แสดงแสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0.....	77
จ.3 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ Total Phenolic โดยออกแบบ การทดลองแบบแฟคทอเรียล.....	78
จ.4 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0 .....	78
จ.5 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ pH โดยออกแบบการทดลองแบบ แฟคทอเรียล.....	78
จ.6 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0.....	79
จ.7 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ปริมาณไนโตรเจนในดิน โดยออกแบบ การทดลองแบบแฟคทอเรียล.....	79
จ.8 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0.....	79
จ.9 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ปริมาณโพแทสเซียมในดินโดยออกแบบ การทดลองแบบแฟคทอเรียล.....	80
จ.10 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0.....	80
จ.11 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ปริมาณฟอสฟอรัสในดินโดยออกแบบ การทดลองแบบแฟคทอเรียล.....	80
จ.12 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0.....	81
จ.13 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ การแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล .....	81
จ.14 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0.....	81

## สารบัญญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระทือ.....	3
2.2 แสดงแหล่งที่มาของธาตุไนโตรเจนในดิน .....	6
2.3 แสดงวงจรฟอสฟอรัสในดิน.....	7
2.4 แสดงแหล่งที่มาของธาตุโพแทสเซียมในดิน .....	8
2.5 แสดงลักษณะการกลั่นด้วยน้ำ .....	9
2.6 แสดงขั้นตอนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ .....	10
2.7 แสดงลักษณะของการสกัดด้วยตัวทำละลาย.....	10
2.8 แสดงการสกัดสารตัวอย่างด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด .....	11
2.9 แสดงสูตรโครงสร้างของเมทิล-จินเจอร์ออล .....	11
2.10 แสดงสูตรโครงสร้างของซิเจอโรล .....	12
2.11 แสดงสูตรโครงสร้างของซีร์มโบน.....	12
2.12 แสดงสูตรโครงสร้างของซีร์มโบนออกไซด์ .....	13
2.13 แสดงสูตรโครงสร้างของแคโรฟิลลิน.....	13
2.14 แสดงสูตรโครงสร้างของเทอร์พีนีน.....	14
2.15 การสังเคราะห์วิตามินเอจากเบต้าแคโรทีน.....	18
2.16 โครงสร้างพื้นฐานของโพลีฟินอล.....	18
2.17 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก.....	19
2.18 โครงสร้างทางเคมีของโทรลล็อกซ์.....	20
2.19 โครงสร้างทางเคมีของอิตีทีเอ.....	20
4.1 แสดงลักษณะของเหง้ากระทือจากทั้ง 3 แหล่ง.....	34
4.2 แสดงลักษณะดินที่ใช้ในการปลูกต้นกระทือจากทั้ง 3 แหล่ง .....	35
4.3 แสดงลักษณะของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระทือ .....	39
4.4 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหย จากเหง้ากระทือโดยใช้วิธี Agar Diffusion Test.....	44
4.5 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหย จากเหง้ากระทือ โดยใช้วิธี Agar Diffusion Test .....	46
4.6 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ของน้ำมันหอมระเหย จากเหง้ากระทือ โดยใช้วิธี Agar Diffusion Test .....	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.7 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมโดยใช้วิธี Agar Diffusion Test .....	48
4.8 แสดงผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ.....	49
4.9 แสดงผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา.....	49
4.10 แสดงผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ .....	50
ค.1 พื้นที่เก็บตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ.....	67
ค.2 พื้นที่เก็บตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่.....	67
ค.3 พื้นที่เก็บตัวอย่างจาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา .....	68
ง.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของ น้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 3 แหล่ง .....	74
ง.2 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร.....	76

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประชาชนให้ความสำคัญกับการดูแลสุขภาพมากขึ้น หันมาให้ความสนใจในการออกกำลังกาย การอุปโภค-บริโภค การรักษาโรค และการเลือกใช้ยาเพื่อบรรเทาอาการเจ็บป่วย ซึ่งแนวทางหนึ่งที่ประชาชนส่วนใหญ่ให้ความสำคัญ คือการลดใช้สารเคมีหรือสารสังเคราะห์ต่างๆ ที่ก่อให้เกิดการสะสมและส่งผลเสียต่อสุขภาพในระยะยาว ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ประชาชนหันมาเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมหรือวัตถุดิบที่ประกอบไปด้วยผลผลิตจากธรรมชาติจำพวกพืชสมุนไพร ซึ่งพืชสมุนไพรนั้นมีคุณประโยชน์มากมาย อาทิเช่น การนำมารับประทานและเป็นส่วนประกอบของอาหาร การนำมาใช้เป็นเครื่องสำอางเสริมความงาม รวมทั้งการใช้ควบคุมและป้องกันแมลงศัตรูพืช (สุภาภรณ์ และปิติพร, 2551) หากทำการสกัดพืชสมุนไพรบางกลุ่มในสภาวะที่เหมาะสมจะทำให้ได้องค์ประกอบที่สำคัญ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีกลิ่น ปริมาณ และการนำไปใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดของสมุนไพร อาทิเช่น น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้, น้ำมันหอมระเหยจากพลู และ น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม โดย Tarek และคณะ (2014) ได้พบว่าสารสกัดจากเหง้ากระเทียมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ น้ำมันหอมระเหยเหล่านี้จัดเป็นสารชีวภาพที่มีอัตราการระเหยสูงและมีค่าความเป็นพิษต่ำจึงไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต

กระเทียม (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) เป็นพืชสมุนไพรล้มลุกที่มีลักษณะคล้ายไพลหรือขิง ลำต้นมีลักษณะเป็นหัวอยู่ในดินสีขาวอมเหลืองมีกลิ่นหอม เป็นไม้ที่มีการขยายพันธุ์โดยการแตกหน่อ ปลูกโดยใช้หน่อหรือเหง้า พบได้ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย ออกดอกออกผลตลอดทั้งปีแต่เจริญได้ดีในฤดูฝนมักทิ้งลำต้นเทียมและใบในช่วงฤดูแล้ง (สุตารัตน์, 2553) ดอกมีลักษณะเป็นช่อรูปทรงกระบอกแทงออกมาจากเหง้า มีกลีบดอกสีขาวนวลออกเหลือง นิยมนำมาใช้ประกอบอาหาร เช่น แกงส้มดอกกระเทียม, ต้มกะทิดอกกระเทียม ในภาคใต้นิยมนำเอาดอกและเหง้าของกระเทียมไปแกงกับปลาอย่าง พบการรายงานเกี่ยวกับสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบภายในกระเทียมว่าเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และต้านสารจุลชีพ (Nag และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนของดอกและเหง้าประกอบไปด้วยสารเคมีที่สำคัญมากมาย อาทิเช่น Afzelin, Camphene และ Caryophyllene ที่สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้หลายชนิด เช่น ใช้เป็นยาขับลมแก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ, จุกเสียด, ขับปัสสาวะ, เสมหะเป็นพิษ, ปวดท้อง, รักษาอาการบิด และบำรุงน้ำมัน (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2552) อย่างไรก็ตามองค์ประกอบและประสิทธิภาพของสารภายในพืชทุกชนิดย่อมมีความแตกต่างกันอันเนื่องมาจากปัจจัยหลายประการ ได้แก่ สภาพภูมิอากาศ, อุณหภูมิ, ปริมาณน้ำฝน, ความเข้มแสง, ค่าความเป็นกรด-ด่าง รวมไปถึงธาตุอาหารต่างๆ ภายในดิน บริเวณที่พืชใช้ในการเจริญเติบโต (กฤษฎา และคณะ, 2552) ดังนั้นโครงการพิเศษนี้จึงทำการศึกษาเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าพารามิเตอร์ดินต่างๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียม เพื่อเป็นแนวทางในการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเหง้ากระเทียมและประสิทธิภาพของสารภายในเหง้ากระเทียมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด อีกทั้งยังเป็นข้อมูลสนับสนุนในการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพร ซึ่งสามารถนำไปทดสอบสรรพคุณทางยาต่อไปได้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาค่าพารามิเตอร์ดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม
- 2) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม
- 3) เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านสารจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม
- 4) เพื่อศึกษาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ภายในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในการปลูกต้นกระเทียม (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) ที่ได้จาก 3 แหล่ง ได้แก่ เขตมินบุรี จังหวัดกรุงเทพฯ อำเภอมือง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอกำแพงแสนนาง จังหวัดนครราชสีมา ทำการตรวจสอบค่าพารามิเตอร์ดิน ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณไนโตรเจน, ปริมาณโพแทสเซียม ปริมาณฟอสฟอรัส และความสามารถในการแลกเปลี่ยนกระจุบกในดินนำเหง้ากระเทียมจากทั้ง 3 แหล่ง มาสกัดน้ำมันหอมระเหย จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging และหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method ทำการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 6633 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 รวมถึงการวิเคราะห์สารองค์ประกอบภายในน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง Gas chromatography-mass spectrometry

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านสารจุลชีพ และสารองค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมที่เจริญเติบโตในพื้นที่เพาะปลูกที่แตกต่างกัน
- 2) ทราบสภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อการเพาะปลูกต้นกระเทียมเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพ
- 3) ผลที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถนำไปต่อยอดเพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย และผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้สารเคมีหรือสารสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 กระเทียม

#### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Zingiber zerumbet* (L.) Smith.

ชื่อสามัญ : Shampoo Ginger, Wild Ginger

ชื่ออื่นๆ : กระเทียมป่า, กะแวน, กะแอน, แหวดำ, เหี่ยวแดง, เหี่ยวดำ

ชื่อวงศ์ : Zingiberaceae

กระเทียม เป็นไม้ล้มลุก เชื่อว่ามีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดียลำต้นเทียมสูงได้ถึง 1 เมตร ใบเป็นใบเลี้ยงเดี่ยวปลายใบเรียวแหลม โคนใบสอบมน ขอบและแผ่นใบเรียบ ก้านใบสั้นมาก กาบใบเรียงตัวกันแน่น หุ้มเป็นลำต้นเทียม ดอกมีลักษณะรวมกันเป็นช่อแบบช่อเชิงลด ก้านช่อดอกยาว 14-45 เซนติเมตร ตั้งตรง แทงออกมาจากเหง้าใต้ดิน ดอกเป็นรูปทรงกระบอกปลายมน ใบประดับมีสีเขียวในตอนแรกแล้วเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม เรียงซ้อนกันแน่นเป็นระเบียบรูปไข่กลับกว้างเกือบกลม ปลายมน ขอบพับเข้าด้านใน ดอกบานสีขาวอมเหลือง โผล่ออกมาจากชอกใบประดับ โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดปลายแยกเป็น 3 แฉก กลีบบนรูปไข่ ปลายแหลม ผิวเกลี้ยง กลีบข้างรูปหอก ปลายเรียวแหลม ผิวเกลี้ยง ดอกบานไม่พร้อมกัน กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นหลอด มีเหง้าใต้ดิน แตกแขนงเป็นกอ เปลือกเหง้าสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองอ่อน ดังรูปที่ 2.1 (กัญญา และอร่าม, 2541)



รูปที่ 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระเทียม (ก) ต้น และช่อดอก (ข) ช่อดอก (ค) เหง้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.1.2 ประโยชน์ทางยา

กระถอมีคุณสมบัติบางประการที่สามารถใช้เป็นยารักษาโรคได้ อาทิเช่น มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ, ป้องกันการเกิดเนื้องอก, ป้องกันการแพ้, ลดไข้, แก้อาการเบื่ออาหาร และป้องกันการตกตะกอนของเกล็ดเลือด ซึ่งภายในกระถอมีสารสำคัญอยู่หลายชนิด ได้แก่ sesquiterpenoids, flavonoids, สารประกอบอะโรมาติก, วานิล, อนุพันธ์เฟอร์อล และสารโพลีฟีนอลอื่นๆ มีการรายงานพบสารโพลีฟีนอลมีสรรพคุณทางชีวภาพมากมายรวมไปถึงเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ แต่พืชที่อุดมไปด้วยสารโพลีฟีนอลมักมีความเป็นพิษ อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับผลกระทบของพิษในกระถอนั้นยังไม่ปรากฏหรือมีการรายงานจากการศึกษาใดๆ ในปัจจุบันได้มีการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้ากระถอ และประเมินความเป็นพิษในเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์แล้ว (Nag และคณะ, 2013)

## 2.1.3 สภาวะที่เหมาะสมในการปลูก

กระถอถือเป็นพันธุ์ไม้ที่ชอบขึ้นในบริเวณป่าดิบแล้ง, ป่าเบญจพรรณ, บริเวณที่มีความชื้น เช่น ริมลำธาร หรือในดินที่มีความร่วนซุย จะออกดอกในช่วงเดือนสิงหาคมถึงกันยายน ติดผลราวเดือนตุลาคม (ก่องกานดา, 2545) เป็นพันธุ์ไม้ที่เพาะปลูกได้ง่ายและไม่มีปัญหาเรื่องการดูแลรักษา สามารถเจริญเติบโตได้เองตามธรรมชาติไม่จำเป็นต้องพึ่งสารเคมี สนับสนุนแนวทางการทำเกษตรอินทรีย์ วิธีการปลูกใช้เหง้าหรือหัวแก่ นิยมปลูกในช่วงต้นฤดูฝน ถ้าปลูกด้วยหน่อควรปลูกในช่วงฝนตกชุกการเพาะปลูกในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันสารอาหาร, อุณหภูมิ, ความชื้น, ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในดินเหล่านี้ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตแตกต่างกัน ทั้งคุณสมบัติและประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ภายในพืชชนิดนั้นๆ ตัวอย่าง เช่น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านสารจุลชีพ เป็นต้น

## 2.2 ความหมายและความสำคัญของดิน

ดินถือเป็นหนึ่งปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจากเป็นแหล่งให้ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต ทั้งนี้เนื่องจากธาตุอาหารพืชจะถูกปลดปล่อยออกจากอินทรีย์วัตถุ และแร่ต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของดินให้อยู่ในรูปที่รากพืชสามารถดึงดูดไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย (พิสิษฐ์, 2557) พืชต่างชนิดกันย่อมมีการเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีลักษณะแตกต่างกัน โดยดินถือเป็นวัตถุที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติเกิดจากแร่ธาตุต่างๆ และอินทรีย์วัตถุที่สลายตัวหรือเน่าเปื่อยผสมผสานกัน และรวมตัวกันเป็นชั้นๆ ห่อหุ้มผิวโลก เมื่อมีน้ำและอากาศผสมอยู่ในอัตราส่วนที่เหมาะสมแล้ว จะช่วยให้พืชเจริญเติบโตและยังชีพอยู่ได้ดังนั้นดินในภูมิภาคที่แตกต่างกันย่อมมีส่วนผสมของแร่ธาตุรวมถึงความอุดมสมบูรณ์แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และภูมิอากาศในบริเวณนั้นๆ โดยค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2.1 ความเป็นกรด-ด่าง

สภาพกรด-ด่างของดินมีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของพืช ดินที่มีปฏิกิริยาเป็นกรดมากๆ พืชจะไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควร การศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของสภาพกรด-ด่างในดินกับการเจริญเติบโตของพืชนั้นได้กระทำกันอย่างกว้างขวางจนเป็นที่ทราบกับทั่วไปแล้วว่า สภาพกรด-ด่างของดิน หรือของสารละลายของธาตุอาหารนั้นมิได้มีอิทธิพลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของพืช นักวิจัยบางท่านได้ทดลองปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกันตั้งแต่ 1-12 ปรากฏว่าพืชเจริญเติบโตได้ดีพอกันตั้งแต่ 3-10 ดังนั้นจึงสรุปว่าอิทธิพลของดินที่เป็นกรดซึ่งมีต่อการเจริญเติบโตของพืชนั้นมีสาเหตุมาจาก  $H^+$  ในสารละลายดินโดยตรง แต่เมื่อดินเป็นกรดหรือต่างสมบัติของดินทางเคมีและชีวภาพจะถูกเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืชมากกว่า ดังนั้นความเป็นกรดของดินจึงมาอิทธิพลในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในทางอ้อมมากกว่าทางตรง (Lal, 2002)

สภาพทางเคมีที่สำคัญซึ่งเกี่ยวข้องอยู่กับสภาพกรด-ด่างของดิน ได้แก่ ระดับธาตุอาหารในดินที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ ดินที่เป็นกรดมากๆ มักจะมีธาตุอาหารบางธาตุเปลี่ยนไป ซึ่งมีผลต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุเหล่านั้นที่พืชจะนำไปใช้ประโยชน์ได้ ดังนี้

### 2.2.1.1 ระดับแคลเซียม, แมกนีเซียม และโพแทสเซียม

ดินที่เป็นกรดอย่างรุนแรงจะมีแคลเซียม และแมกนีเซียม ค่อนข้างต่ำทั้งนี้ จะรวมไปถึงโพแทสเซียมด้วย เพราะธาตุอาหารพวกนี้จะถูกชะละลายออกไปจากดินได้ง่ายมาก โดยทั่วไปดินจะมีระดับแคลเซียมและแมกนีเซียมอย่างเพียงพอเมื่อดินมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 5.5-8.5 ถ้าต่ำกว่าหรือสูงกว่านั้นพืชอาจจะแสดงอาการขาดธาตุอาหารทั้งสามให้ปรากฏได้ สำหรับดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 8.5 มักจะมีระดับแคลเซียมต่ำทั้งนี้เนื่องจากดินซึ่งมี ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระดับนี้แคตไอออนแลกเปลี่ยนได้ ส่วนใหญ่ในดินจะเป็นโซเดียม ซึ่งถ้าดินมีระดับโซเดียมแลกเปลี่ยนได้มากกว่า 40-50% แล้วปัญหาที่เกิดขึ้นคือพืชขาดแคลเซียมและแมกนีเซียมแล้วยังเป็นพิษเนื่องจากโซเดียมมากเกินไปอีกด้วย

### 2.2.1.2 ระดับฟอสฟอรัส

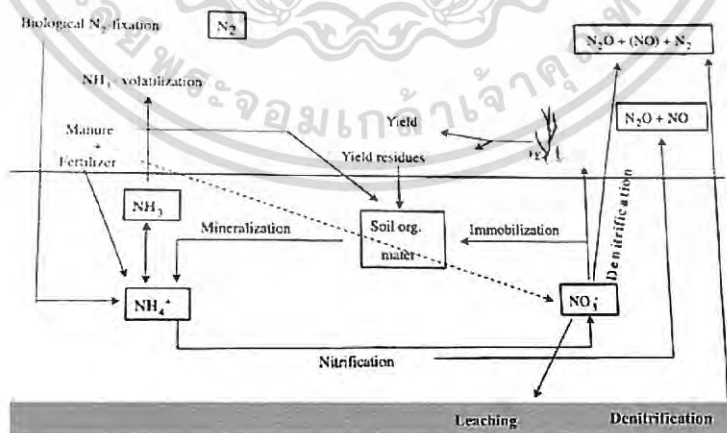
ฟอสเฟตในดินที่พืชจะเอาไปใช้เป็นประโยชน์จะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของดินอย่างเห็นได้ชัด เมื่อดินเป็นกรดมากๆ จะส่งเสริมการตรึงฟอสเฟตให้อยู่ในรูปของเหล็กและอะลูมิเนียมฟอสเฟตซึ่งยากแก่การนำไปใช้ประโยชน์ของพืช ทั้งนี้เนื่องจากในสภาพดังกล่าว เหล็กและอะลูมิเนียมจะอยู่ในสภาพที่ละลายน้ำได้ยากโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กว่า 5.0 เมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟตลงไปบนดินที่เป็นกรด ส่วนใหญ่ของปุ๋ยที่ใส่จะทำปฏิกิริยากับเหล็กและอะลูมิเนียมเสียหมด ทำให้เหลือส่วนที่พืชจะนำไปใช้ได้น้อยลง โดยระดับค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 6-7 เพราะช่วงดังกล่าว ฟอสเฟตในดินจะถูกตรึงน้อยที่สุด

## 2.2.2 ไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีบทบาทในการเจริญเติบโตของพืชอย่างเห็นชัดที่สุด อาทิ เช่น เมื่อให้ปุ๋ยไนโตรเจนแก่พืชสวนครัว พืชจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ใบจะโตและเขียวสดขึ้นทันที ทั้งนี้เป็นเพราะไนโตรเจนเป็นธาตุที่ช่วยให้พืชสร้างโปรตีนได้อย่างเพียงพอ พืชทุกชนิดต้องมีโปรตีน เพราะโปรตีนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่สุดของไซโตพลาสซึม นอกจากนี้ยังพบว่าไนโตรเจนยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในเอนไซม์ต่างๆ ซึ่งจะช่วยเร่งและควบคุมปฏิกิริยาในพืชให้เป็นไปตามปกติ เมื่อพืชได้รับไนโตรเจนในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตเป็นไปตามปกติและแข็งแรง ใบมีสีเขียวสด ส่งผลให้พืชตั้งตัวได้เร็วในระยะแรกของการเจริญเติบโต ช่วยเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้น โดยเฉพาะพืชให้ผลและเมล็ด และช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนให้แก่พืชที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ เช่น ข้าวหรือหญ้าเลี้ยงสัตว์ แต่หากพืชได้รับไนโตรเจนในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ จะส่งผลให้ ใบมีสีเหลือง พืชบางชนิดจะมีลำต้นสีเหลือง บางทีก็มีสีชมพูเจือปนอยู่ด้วย ลำต้นผอมสูง กิ่งก้านลีบเล็กและมีจำนวนน้อย ที่สำคัญจะส่งผลให้พืชเจริญเติบโตช้า ให้ผลผลิตต่ำ และคุณภาพไม่พึงปรารถนา หากพืชได้รับไนโตรเจนในปริมาณที่มากเกินไปจนความจำเป็น(เนื่องมาจากการให้ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างหละหลวม) จะส่งผลให้ คุณภาพของเมล็ด ผล และใบ โดยเฉพาะใบยาสูบเสื่อมสภาพลงได้ พืชแก่ช้ากว่าปกติ ลำต้นจะอ่อน ล้มง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชจำพวก ข้าว และข้าวโพด (Lal, 2002) โดยแหล่งที่มาของไนโตรเจนแสดงไว้ดังรูป 2.2



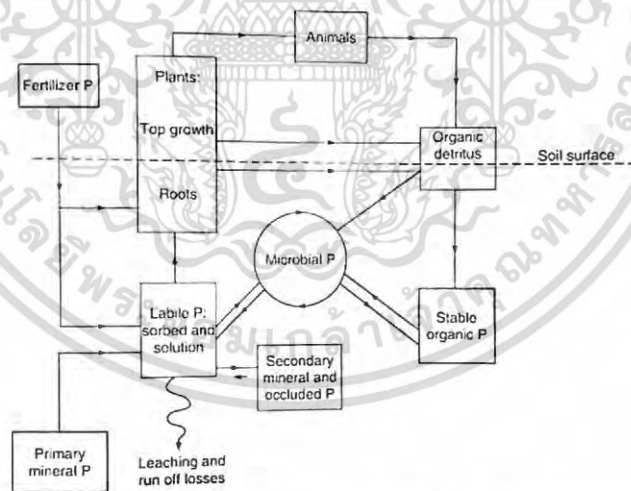
รูปที่ 2.2 แสดงแหล่งที่มาของธาตุไนโตรเจนในดิน

ที่มา : Lal, 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.3 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสที่พบในพืชเกือบทั้งหมดได้มาจากดิน ในดินมักมีฟอสฟอรัสต่ำมาก ประมาณ 0.06% สารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตมี 3 ประเภท 1. สารพวกที่จำเป็นของเซลล์ที่มีชีวิต 2. สารพวกที่เป็นแห่งสะสม 3. สารพวก Intermediate metabolite โดยฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิก (เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติหน้าที่ของเซลล์ การสร้างองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการสืบพันธุ์) นอกจากนี้ฟอสฟอรัสยังเป็นองค์ประกอบที่จำเป็นของสารฟอสเฟต ที่ทำหน้าที่รับช่วงถ่ายทอดพลังงานระหว่างสารต่างๆ ของระบบต่างๆ เช่น ระบบการสังเคราะห์แสงและระบบหายใจในพืช เป็นต้น หากพืชได้รับฟอสฟอรัสในปริมาณที่ไม่เพียงพอกับความต้องการของพืช ไม่ว่าจะในช่วงใดของวัฏจักรของพืชย่อมมีผลทำให้การเจริญเติบโตของพืชผิดปกติ อาทิเช่น พืชมีการเจริญเติบโตที่จำกัด ต้นเล็กผอมแกรน ไม้เถาอาจพบลำต้นบิดเป็นเกลียว เนื้อไม้แข็ง เปราะหักง่าย ใบเล็กผิดปกติสีของใบล่างมักมีสีเหลืองอมสีอื่น (เช่น ข้าวโพดอมสีม่วง) สีของใบบน ใกล้เคียงยอดกับสีของใบล่างต่างกันเด่นชัด ออกดอกช้ากว่าปกติและดอกอาจมีขนาดเล็ก เมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟตลงไปในดิน ฟอสเฟตจำนวนหนึ่งจะถูกตรึง ดินใดที่สามารถตรึงฟอสเฟตได้มากเรียกว่ามีอำนาจในการตรึงสูง โดยปริมาณฟอสเฟตที่พืชสามารถนำไปใช้ได้จริงจะไม่เกิน 10-25% ส่วน 75-90% จะถูกตรึงอยู่ในดินหมดซึ่งยากที่พืชจะนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Ward, 2008) โดยแหล่งที่มาของฟอสฟอรัสแสดงไว้ดังรูป 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงวงจรฟอสฟอรัสในดิน

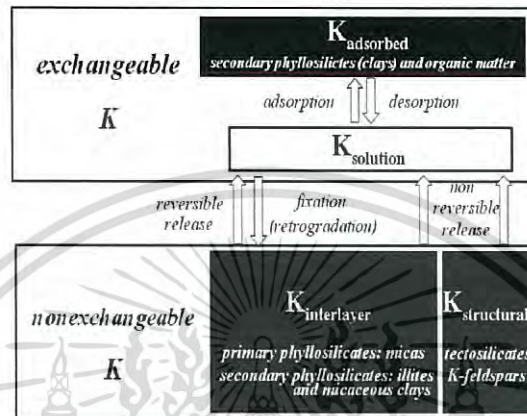
ที่มา : Ward, 2008

### 2.2.4 โพลีแซ็กคาไรด์

โพลีแซ็กคาไรด์เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เมื่อเข้าไปอยู่ในพืช จะอยู่ในรูปเกลืออินทรีย์หรืออนินทรีย์ซึ่งละลายน้ำได้ โพลีแซ็กคาไรด์จำเป็นต่อกิจกรรมหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการสร้างสมต่างๆในเซลล์ที่มีชีวิต โดยโพแทสเซียมมีอิทธิพลต่อพืชในกระบวนการสร้างน้ำตาลและแป้ง การเคลื่อนย้ายแป้งและน้ำตาล กระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจ โดยโพแทสเซียมในดินจะสูญเสียไปจากดินได้ 5 ทาง ได้แก่ การดูดไปใช้ของพืช การถูกชะละลาย การกร่อนของผิวดิน การตรึงโพแทสเซียม และถูกพืชดึงดูดเข้าไปมากเกินความต้องการ โดยโพแทสเซียมที่พืชสามารถดูดและนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันทีจะมีประมาณ 1-2 % ของโพแทสเซียมในดิน (Lal, 2002) แหล่งที่มาของโพแทสเซียมดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงแหล่งที่มาของโพแทสเซียมในดิน  
ที่มา : ดัดแปลงจาก Lal, 2002

### 2.2.5 ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน

ปริมาณแคตไอออนทั้งหมดที่ดินหรือคอลลอยด์นั้นสามารถจะดูดยึดไว้ได้ การที่จะรู้ว่าคอลลอยด์หรือดินมีความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนเท่าใดนั้นจะต้องทำการวิเคราะห์ทางเคมีโดยการไล่ที่แคตไอออนเดิมที่ดูดซับอยู่ที่ผิวของดินเหนียวด้วย  $\text{NH}_4^+$  หรือ  $\text{Ba}^{++}$  แล้วให้แคตไอออนดังกล่าวเข้าไปแทนที่ทั้งหมด จากนั้นก็ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ adsorbed  $\text{NH}_4^+$  หรือ  $\text{Ba}^{++}$  นั้นว่ามีอยู่เท่าใด โดยการบอกเป็นจำนวน milliequivalent ต่อดินเหนียว 100 กรัม ดังนั้นค่าของความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดินเหนียวหรือดินจึงบอกเป็นค่าของ me/100 กรัมของดินเหนียวนั้นๆ ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดินจะมากหรือน้อยและจะแตกต่างกันไปจาก ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดินอื่นๆนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้ ชนิดของคอลลอยด์ดิน, ปริมาณ ของดินเหนียวที่มีอยู่ในดิน, ปริมาณของอินทรีย์วัตถุในดิน เป็นต้น (Lal, 2002)

### 2.3 น้ำมันหอมระเหย

ลักษณะทั่วไปของน้ำมันหอมระเหย เป็นของเหลวใส ไม่มีสีหรือมีสีอ่อนๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้นโดยคุณสมบัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของน้ำมันหอมระเหยจะมีความแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในพืชสมุนไพรแต่ละชนิด (ประเทืองศรี, 2545)

### 2.3.1 วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย

การสกัดกลิ่นหอมออกจากพืชแต่ละชนิดนั้นมีมาตั้งแต่ในสมัยโบราณ นิยมนำไม้หอมมาแช่น้ำทิ้งไว้ และนำน้ำที่มีกลิ่นหอมไปใช้ดื่มหรืออาบ ต่อมามีการพัฒนาวิธีการผลิต และสกัดน้ำมันหอมระเหยตั้งแต่ขั้นตอนที่ง่ายจนถึงวิธีการที่ยุ่ยากซับซ้อนขึ้น วิธีการดังกล่าวมีมากมายหลายวิธีจึงควรพิจารณาลักษณะของพืชให้เหมาะสมกับวิธีการสกัด วิธีที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ การกลั่น และการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (ประเทืองศรี, 2545)

#### 2.3.1.1 การกลั่นน้ำมันหอมระเหย

##### 1.) การกลั่นด้วยน้ำ

เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดของการกลั่นน้ำมันหอมระเหย โดยวิธีนี้พื้นที่กลั่นต้องจุ่มในน้ำเดือดทั้งหมด หรือให้ท่อไอน้ำผ่านการกลั่นน้ำมันหอมระเหยนี้ใช้กับใบไม้บางๆ กลีบดอกไม้อ่อนๆ ข้อควรระวังในการกลั่นโดยวิธีนี้คือ พืชได้รับความร้อนไม่สม่ำเสมอ ตรงกลางมักจะได้รับความร้อนมากกว่าด้านข้าง เกิดปัญหาในการไหม้ของตัวอย่าง มีกลิ่นไหม้ปนมากับน้ำมันหอมระเหยและมีการไม่พึงประสงค์ติดตามในน้ำมันหอมระเหยได้ แก้ไขโดยใช้ไอน้ำ หรือใช้ closed steam coil จุ่มในหม้อต้ม แต่การใช้ steam coil ไม่เหมาะกับดอกไม้บางชนิด เพราะเมื่อกลิบดอกไม้ถูก steam coil จะหดกลายเป็น glutinous mass จึงต้องใช้วิธีใส่ลงไปในน้ำ กลีบดอกไม้จะสามารถหมุนเวียนได้อย่างอิสระในการกลั่นเปลือกไม้ก็เช่นกัน ถ้าใช้วิธีกลั่นด้วยน้ำ น้ำจะซึมเข้าไปและนำกลิ่นออกมา หรือกลิ่นจะแพร่กระจายออกจากเปลือกไม้ได้ง่ายขึ้น ดังนั้น การเลือกใช้วิธีกลั่นจึงขึ้นกับชนิดของพืชที่นำมากลั่นด้วย (ประเทืองศรี, 2545) ลักษณะการกลั่นด้วยน้ำแสดงดังรูปที่ 2.5

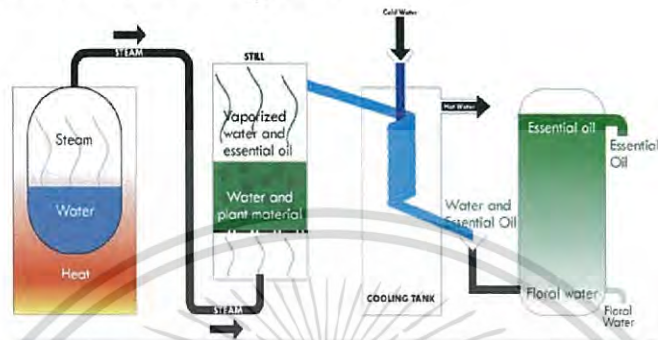


รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะการกลั่นด้วยน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.) การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ

การกลั่นโดยวิธีนี้ใช้ตะแกรงรองของที่จะกลั่นให้เหนือระดับน้ำในหม้อกลั่น ต้มให้เดือด ไอน้ำจะลอยตัวขึ้นไปผ่านพืชหรือตัวอย่างที่จะกลั่น ส่วนน้ำจะไม่ถูกกับตัวอย่างเลย ไอน้ำจากน้ำเดือดเป็นไอน้ำที่อ้อมตัวหรือเรียกว่าไอบีเยก ไม่ร้อนจัดเป็นการกลั่นที่สะดวกที่สุด คุณภาพของน้ำมันออกมาดีกว่าวิธีแรก การกลั่นแบบนี้ใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตน้ำมันหอมระเหยทางการค้า (ประเทืองศรี, 2545) ดังรูปที่ 2.6

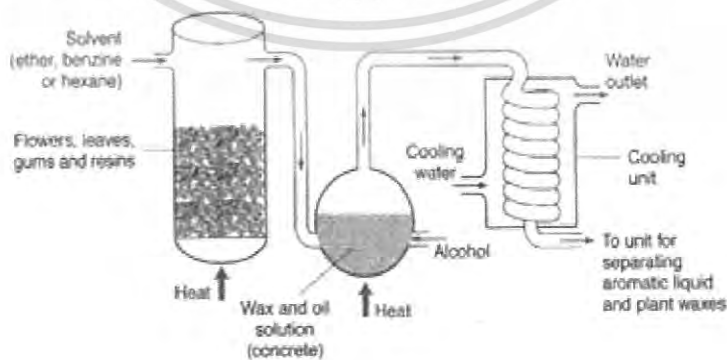


รูปที่ 2.6 แสดงขั้นตอนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ  
ที่มา : <http://www.botanicessence.com/essential-oil> (17 ธันวาคม 2558)

### 2.3.1.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหย

#### 1.) สกัดโดยใช้ตัวทำละลาย

การสกัดโดยวิธีนี้ทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นสูงตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน และเฮกเซน ซึ่งเมื่อสกัดสารหอมจากพืชออกมาจะมีไข, สารสีและแอลบูมินออกมาด้วยนำสารที่สกัดได้ไประเหยไล่ตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำภายใต้ระบบสุญญากาศจะได้ส่วนที่เรียกว่า concrete ดังรูปที่ 2.7 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2548) วิธีนี้ไม่นิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอาหาร เนื่องจากยังมีสารละลายที่เป็นพิษตกค้างอยู่ (Prats และ Jimenez, 2010)



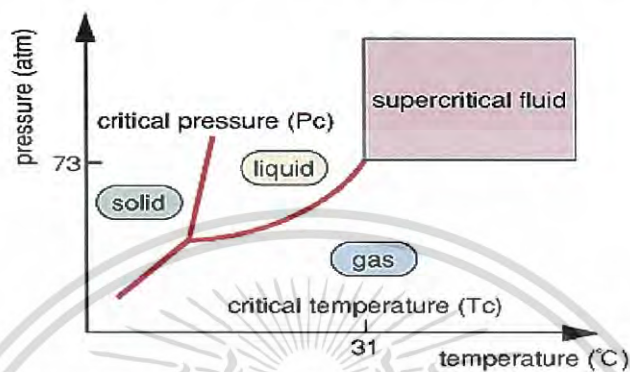
รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะของการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ที่มา : Mcguinness, 2003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.) การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์

วิธีนี้เป็นการสกัดน้ำมันหอมระเหยแบบใหม่ โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ ในรูปของเหลวและแก๊สภายใต้ความดันและอุณหภูมิที่สูง (Prats และ Jimenez, 2010) โดยใช้ความดันประมาณ 200 atm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส น้ำมันหอมระเหยที่ได้จะมีคุณภาพดีและมีความบริสุทธิ์สูงแต่เครื่องมือมีราคาค่อนข้างแพง โดยหลักการและขั้นตอนการสกัดแสดงดังรูปที่ 2.8



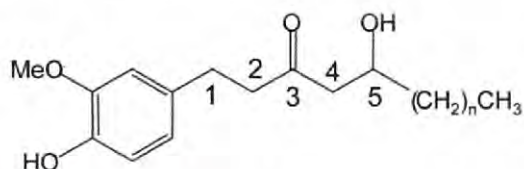
รูปที่ 2.8 แสดงการสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด

ที่มา : <http://www.vcharkarn.com/varticle/38165> (17 ธันวาคม 2558)

## 2.4 น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม

### 2.4.1 สารออกฤทธิ์ภายในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม

2.4.1.1 เมททิล-จินเจอร์อล (Methyl-gingerol) : สารประกอบฟีนอลที่มีองค์ประกอบสำคัญซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน พบมากในพืชตระกูลขิงข่า เป็นสารในกลุ่ม Fatty Alcohols สูตรโมเลกุล  $C_{18}H_{28}O_4$  สารประกอบในกลุ่ม gingerol ประกอบด้วย 4, 6, 8 และ 10-gingerol โดยสารที่มีปริมาณมากที่สุดคือ 6-gingerol ดังรูปที่ 2.9 ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นฉุน, รสเผ็ดและสามารถยับยั้งอาการปวดรวมถึงป้องกันการอักเสบได้ (Shmuel, 2004)

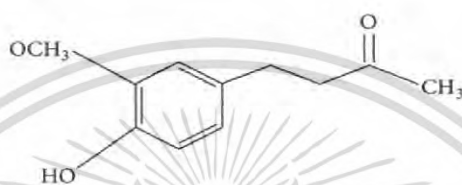


รูปที่ 2.9 แสดงสูตรโครงสร้างของเมททิล-จินเจอร์อล

ที่มา : Yi และคณะ, 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

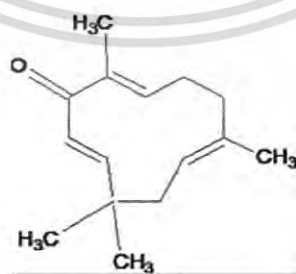
2.4.1.2 ชิเจอโรล (Zingerone) : สารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มเมธอกซีฟีนอล และอนุพันธ์ของฟีนอลคุณสมบัติทางชีวภาพของชิเจอโรล สามารถช่วยในการส่งสัญญาณภายในเซลล์, เป็นแหล่งสะสมพลังงาน, รักษาสมดุลของเยื่อหุ้มเซลล์, เป็นสารอาหาร และต้านเซลล์มะเร็งได้ สารกลุ่มนี้มักพบในผักผลไม้ที่มีกลิ่นฉุนพวกพืชตระกูลขิงข่าจึงมีการนำมาทำเป็นกลิ่นสังเคราะห์ในอาหารหลายชนิด เช่น กลิ่นผลไม้, อุตสาหกรรมเบียร์ และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบชิเจอโรลในผลไม้จำพวก แครนเบอร์รี่, ราสเบอร์รี่ และมะม่วง (Kabuto และคณะ, 2005) รายงานการวิจัยของ Yakugaku (2010) ชิเจอโรล มีคุณสมบัติในการช่วยขับปัสสาวะและป้องกันระบบประสาท มีสูตรโมเลกุล  $C_{11}H_{14}O_3$  ลักษณะโครงสร้างของสารชิเจอโรลแสดงดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 แสดงสูตรโครงสร้างของชิเจอโรล

ที่มา : Ahmad และคณะ, 2015

2.4.1.3 ซีรัมโบน (Zerumbone) : เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มเทอร์พีนประเภท Sesquiterpenes สารซีรัมโบนเป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้ในพืชตระกูลขิง ข่า เมื่อทำการศึกษากายวิภาคศาสตร์ทางเภสัชวิทยาพบว่ามันมีคุณสมบัติในการต้านแผลในกระเพาะอาหาร, เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง และเป็นสารต้านจุลชีพด้วย และมีรายงานว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคลิสมานีเยร์ โดยพบว่าสารซีรัมโบนในกระเทียมมีประสิทธิภาพในการลดเซลล์ที่ติดเชื่อได้เป็นอย่างดี ซีรัมโบน มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_{15}H_{22}O$  (Shmuel, 2004) ลักษณะโครงสร้างของสารซีรัมโบนแสดงดังรูปที่ 2.11

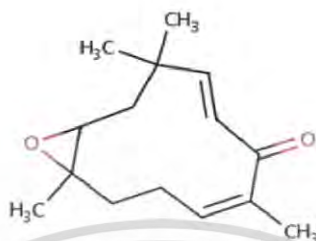


รูปที่ 2.11 แสดงสูตรโครงสร้างของซีรัมโบน

ที่มา : Sidahmed และคณะ, 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

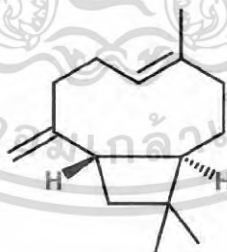
2.4.1.4 ซีรัมโบนออกไซด์ (Zerumbone oxide) : สารประกอบอินทรีย์ประเภท คีโตน มักพบในสมุนไพรมะขามและเครื่องเทศเป็นส่วนประกอบของเหง้าขิง และกระเทียม สูตรโมเลกุล  $C_{15}H_{22}O_2$  ซีรัมโบนออกไซด์มีคุณสมบัติทางชีวภาพในการช่วยส่งสัญญาณภายในเซลล์, เป็นแหล่งพลังงาน และเป็นสารอาหาร (Shmuel, 2004) ลักษณะโครงสร้างของสารซีรัมโบนออกไซด์แสดงดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 แสดงสูตรโครงสร้างของซีรัมโบนออกไซด์

ที่มา : Chhabra และคณะ, 1975

2.4.1.5 แคริโอฟิลลีน (Caryophyllene) : สารประกอบอินทรีย์ประเภทเทอร์พีน (เฮกสควิเทอร์พีนไฮโดรคาร์บอน) เป็นส่วนประกอบที่สามารถพบได้ในน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรหลายชนิด สูตรโมเลกุล  $C_{15}H_{24}$  จัดเป็นสารที่ก่อให้เกิดกลิ่นฉุนและมีรสเผ็ดในพืชสมุนไพร พบมากในพริกไทยดำ นอกจากนี้พบว่าเป็นสารที่มีคุณสมบัติมากมาย เช่น มีฤทธิ์ในการต้านโรคพิษสุราเรื้อรัง, ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท และช่วยรักษาอาการปวด มีการนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารได้เนื่องจากไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต (Bhatia, 2008) ลักษณะโครงสร้างของสารแคริโอฟิลลีน แสดงดังรูปที่ 2.13

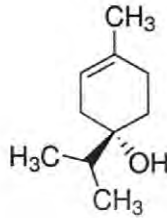


รูปที่ 2.13 แสดงสูตรโครงสร้างของแคริโอฟิลลีน

ที่มา : Park และคณะ, 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.6 เทอพิเนน (Terpinen-4-ol) : สารประกอบอินทรีย์ประเภทเทอร์พีน สูตรโมเลกุล  $C_{10}H_{18}O$  มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อรา มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง และต้านการอักเสบและเป็นส่วนประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากใบชาและจันทร์เทศ (Hammer, 2012)



รูปที่ 2.14 แสดงสูตรโครงสร้างของเทอร์พินิน

ที่มา : Yi, 2014

#### 2.4.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง อาทิ เช่น มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท, ระบบทางเดินอาหาร, ระบบทางเดินหายใจ, ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และต้านการออกฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยมีประโยชน์ในด้านการต้านทานต่อจุลินทรีย์ซึ่งพบว่ามีสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยออกฤทธิ์ต้านทานต่อจุลินทรีย์ในวงกว้างรวมถึงแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และพบว่าแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อน้ำมันหอมระเหยมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ของ Outer membrane ซึ่งเป็นสารประกอบที่อยู่ในกลุ่ม Lipopolysaccharide จึงทำให้ผนังเซลล์แกรมลบมีความแข็งแรงกว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (Calo และคณะ, 2015)

#### 2.5 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยวอยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่เสถียร พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมสิ่งมีชีวิต และเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เกิดจากกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามากสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไป เพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่โดยที่อนุมูลอิสระมีคุณสมบัติในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นเหมือนสารทั่วไป และสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ, ความเป็นกรด-ด่าง และความชื้น (Halliwell, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.1 กลไกการทำงานของอนุมูลอิสระ

เมื่อออกซิเจนในอากาศได้รับความร้อนหรือถูกแสงจะเกิดการแตกพันธะแบบเสมอภาค อนุมูลอิสระของออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวสองตัว เรียกว่า “ไดเรดิคัล” และเมื่อมีเรดิคัลอื่นที่เหมาะสมมารับไฮโดรเจนจากสารอินทรีย์ไปจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ขั้นตอนในการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนเริ่มต้น, ขั้นตอนเพิ่มจำนวน และขั้นตอนสุดท้ายซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ (อัษฎนา, 2544)

#### 1.) ขั้นตอนเริ่มต้น

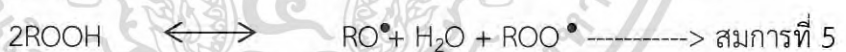
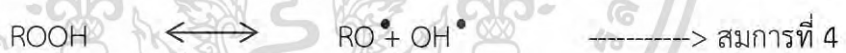
ขั้นตอนแรกของปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ เกิดจากสารต่างๆ และปฏิกิริยาการแตกตัวของสารดังที่ได้ระบุไว้ทั้งหมดนี้ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ(R) ดังสมการที่ 1



เมื่อ singlet oxygen ทำปฏิกิริยากับไขมัน (RH) จะทำให้เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide : ROOH) ดังสมการที่ 2 โดยปฏิกิริยาตามสมการดังกล่าวอาจเกิดจากปฏิกิริยาของ triplet oxygen ( $^3\text{O}_2$ ) ซึ่งเป็นโมเลกุลของออกซิเจนในสภาวะพื้นได้แต่ต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไลพอกซิเจนเนส



พันธะ O-O ในไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นพันธะที่สลายง่าย ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระในรูปแบบต่างๆ ดังสมการที่ 3-5



#### 2.) ขั้นตอนเพิ่มจำนวน

ปฏิกิริยาในขั้นตอนพหุคูณจะเกิดขึ้นใน 2 ลักษณะ ได้แก่ การตั้งอะตอมของไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลของสารข้างเคียง และการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจนที่อยู่ในสภาวะพื้นทำให้ได้อนุมูลอิสระโมเลกุลใหม่

#### 3.) ขั้นตอนสุดท้าย

ในขั้นตอนเทอร์มิเนชันปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคือปฏิกิริยาระหว่าง อนุมูลอิสระ 2 โมเลกุล มารวมกันทำให้เกิดสารที่มีความเสถียรเป็นผลให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระจบสิ้นลง

ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระมีผลกระทบต่อร่างกายในหลายรูปแบบโดยรวมคือการทำลายสมดุลของระบบต่างๆ หรือก่อให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบของเซลล์ เช่น ทำลายองค์ประกอบของ

เยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ lipid bilayer และintegral protein เป็นผลให้เกิดความผิดปกติและการตายของเซลล์ (อัญชญา, 2544)

อนุมูลอิสระสามารถทำลายพันธะเปปไทด์ของสารประเภทโปรตีนซึ่งกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบย่อยของโปรตีนต่างๆ นั้นมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง โดยเฉพาะการทำปฏิกิริยากับอนุมูลไฮดรอกซิล ( $\text{OH}^-$ ) ทำให้เกิดการแตกหักหรือเปลี่ยนแปลงของพันธะซึ่งจะนำไปสู่ความผิดปกติและการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ต่างๆ โดยกรดอะมิโนทุกชนิดล้วนเป็นเป้าหมายของปฏิกิริยาดังกล่าวโดยโมเลกุลของกรดอะมิโนที่สำคัญ ได้แก่ ไทโรซีน, ฮิสทีดีน, เมไทโอนีน และซิสเทอีน (Le และคณะ, 2007) ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระยังสามารถทำลายดีเอ็นเอได้ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเป็นที่ทราบกันดีว่าความเสียหายของดีเอ็นเอส่วนมากมักเกิดจากการได้รับรังสีต่างๆ แต่ความเสียหายโดยตรงที่ดีเอ็นเอได้รับจากรังสีนั้นเป็นเพียง 20% ของความเสียหายทั้งหมดเท่านั้น สาเหตุหลักที่แท้จริงของความเสียหายของดีเอ็นเอดังกล่าว มาจาก ROS ซึ่งเกิดจากการแตกตัวของโมเลกุลของน้ำเนื่องจากการได้รับรังสีโดยปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดจากอนุมูลไฮดรอกซิล ( $\text{OH}^-$ ) เป็นหลัก ซึ่งซูเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จะไม่ทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอโดยตรงแต่จะทำปฏิกิริยากับธาตุโลหะบางชนิด เช่น ธาตุเหล็ก (Fe) และทองแดง (Cu) ดังที่กล่าวมาแล้วทำให้เกิดเป็นอนุมูลไฮดรอกซิล ( $\text{OH}^-$ ) เพื่อทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอต่อไป (อัญชญา, 2544)

## 2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 1999) สารเหล่านี้มีกลไกการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง, ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ หรือเข้าจับกับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระอาจหมายถึงสารเคมีหรือเอนไซม์ที่สามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตั้งต้นที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาได้โดยสารตั้งต้นดังกล่าวจะรวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย ได้แก่ ไขมัน, คาร์โบไฮเดรต, โปรตีน และดีเอ็นเอ (พรทิพย์, 2546) สารต้านอนุมูลอิสระจะต้องมีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เป็นเป้าหมายของปฏิกิริยาออกซิเดชันและต้องสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ (อัญชญา, 2544)

### 2.6.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งสารที่มาจากธรรมชาติ และสารสังเคราะห์ขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ ได้แก่ กรดอะมิโน, วิตามินซี, แคโรทีนอยด์, ฟลาโวนอยด์, เมลานอยดิน, โทโคฟีรอล, แทนนิน, เปปไทด์ และกรดอินทรีย์อื่นๆ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารสังเคราะห์นั้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีมากมายหลายชนิด ได้แก่ tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) และ tert-butylthioquinone (TBHQ) เป็นต้น โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้ 5 ประเภท (อัญญา, 2544) ดังนี้

1.) Primary antioxidant ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกและโทโคฟีรอล รวมถึงสารโทโคฟีรอลสังเคราะห์บางชนิด เช่น alkyl gallate, BHA, BHT และ TBHQ เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้จะทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยการให้อิเล็กตรอนแก่โมเลกุลของอนุมูลอิสระให้เป็นสารที่มีความเสถียร

2.) Oxygenscavenger ได้แก่ วิตามินซี และอนุพันธ์ เช่น Ascorbylpalmitate, Erythorbic acid (isoascorbic acid) และ Sodium Erythorbate เป็นต้น สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนซึ่งจะเป็นการกำจัดโมเลกุลของออกซิเจนส่วนเกินในระบบปิด

3.) Secondary antioxidant ได้แก่ Dilaurylthiopropionate และ Thiopropionic acid สารในกลุ่มนี้จะไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ  $Fe^{2+}$  ดักจับออกซิเจน ดูดซับรังสียูวีไว้ เป็นต้น (Gordon, 2001)

4.) Enzymic antioxidant ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆ ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเอนไซม์เหล่านี้แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ Primary antioxidant enzyme และ Ancillary antioxidant enzyme ซึ่งสารเหล่านี้จะทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนและอนุพันธ์โดยเฉพาะไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

5.) Chelating agent หรือ Sequestrant ได้แก่ Citric acid, Amino acid และ Ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA) เป็นต้น สารกลุ่มนี้จะทำหน้าที่จับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระให้กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีความเสถียร

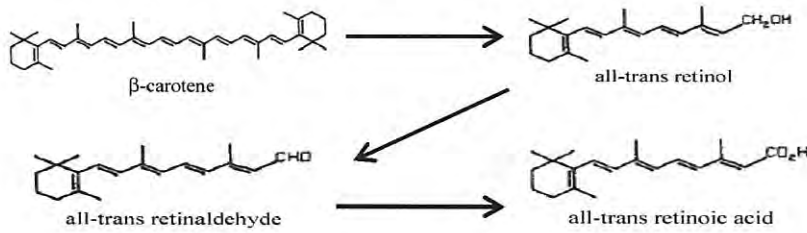
## 2.6.2 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

### 2.6.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ

กลไกการยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระโดยสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ จะแตกต่างกันออกไป ตามคุณสมบัติของสารนั้นๆ เช่น คุณสมบัติการละลายในน้ำหรือไขมัน (Le และคณะ, 2007) ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญต่อไปนี้

### 1.) เบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -carotene)

เมื่อเข้าสู่เซลล์เบต้าแคโรทีนจะเปลี่ยนเป็นวิตามินเอโดยการแตกหักของพันธะคู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางโมเลกุล ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 การสังเคราะห์วิตามินเอจากเบต้าแคโรทีน

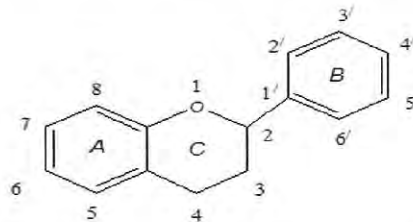
ที่มา : อัญญา, 2544

### 2.) วิตามินอี (Vitamin E)

ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตวิตามินอีจะปรากฏเป็นสารประเภทไขมัน (Le และคณะ, 2007) แบ่งย่อยได้ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -tocopherol,  $\rho$ -tocopherol และ  $\delta$ -tocopherol ซึ่งจะขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่เมธิลที่ติดอยู่กับ Chromane ring (อัญญา, 2544) วิตามินอีมีคุณสมบัติเป็นโมเลกุลที่ให้อิเล็กตรอนซึ่งจะทำปฏิกิริยารีดักชันกับอนุมูลเพอรอกซิลเพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระในขั้นตอนพรอบพาเกิน (Le และคณะ, 2007)

### 3.) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีโครงสร้างหลักเป็นวงแหวนโรมาติกและมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุลอย่างน้อย 1 หมู่ หรือมากกว่านั้น แสดงในรูปที่ 2.16 คือ สามารถละลายน้ำได้ที่พบในพืชมักรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์สารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุด คือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบสำคัญต่างๆ เช่น สารประกอบฟีนอลิก อย่างง่าย, ฟีนิลโพรพานอยด์, ฟีนอลิกควินิน และโพลีฟีนอลิก เช่น ลิกนิน และแทนนิน (Le และคณะ, 2007)



รูปที่ 2.16 แสดงโครงสร้างพื้นฐานของโพลีฟีนอล

ที่มา : สาทิต, 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

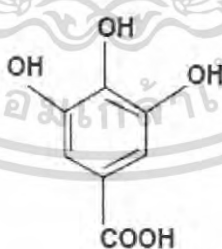
สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวไล่ออนุมูลอิสระที่สำคัญ คือ อนุมูลเปอร์ออกซิล และยังทำหน้าที่เป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นตัวให้อิโตรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอกทีฟ ด้วยหน้าที่ต่างๆ เหล่านี้ จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอนุมูลเพอรอกซิล โดยทำให้อนุมูลอิสระกลายเป็นสารที่มีความเสถียร ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาในชั้นตอนพรอบพาเกชัน และทำหน้าที่เป็น chelating agent ช่วยดักจับไอออนของโลหะซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) การเกิดอนุมูลอิสระไว้ในโมเลกุล อีกทั้งยังช่วยทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ ทำหน้าที่ให้อิโตรเจน และกำจัด ROS ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับค่า redox potential ของหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลและคุณสมบัติเฉพาะตามโครงสร้างเคมีของสารดังกล่าว

#### 2.6.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์

สารต้านออกซิเดชันที่พัฒนาสังเคราะห์ขึ้นส่วนใหญ่จะออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็กและใช้โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันที่มีในธรรมชาตินำมาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมีและมีฤทธิ์ที่ดีขึ้น (Shi และคณะ, 2011) ตัวอย่างเช่น

##### 1.) กรดแกลลิก (Gallic acid)

กรดแกลลิกหรือ 3, 4, 5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_7H_6O_5$  เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชาและเปลือกไม้โอ๊ค โดยทั่วไปใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของกรดแกลลิก คือ สามารถยับยั้งเชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี (นฤมล, 2551) ดังรูปที่ 2.17



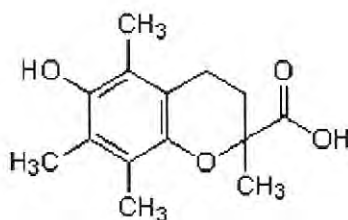
รูปที่ 2.17 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก

ที่มา : Labieniec และ Gabryelak, 2003

##### 2.) โทรล็อกซ์ (trolox)

โทร็อกซ์ หรือ 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_{14}H_{18}O_4$  เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ดัดแปลงโครงสร้างโดยการเปลี่ยนสายอัลเคนเป็นหมู่คาร์บอกซิลิก ดังรูปที่ 2.18 ทำให้มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีส่งผลให้ออกฤทธิ์ได้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เร็วกว่าวิตามินอี ในการวิจัยจึงนิยมใช้โทรลล็อกซ์เป็นสารมาตรฐานในการตรวจสอบกิจกรรมต้านออกซิเดชัน (นฤมล, 2551)

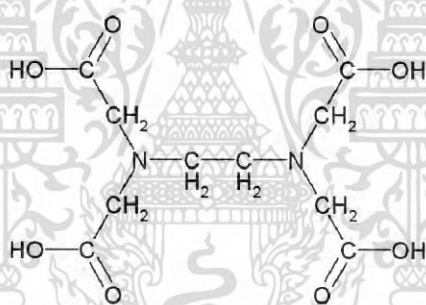


รูปที่ 2.18 โครงสร้างทางเคมีของโทรลล็อกซ์

ที่มา : J.Serb.Chem, 2016

### 3.) อีดีทีเอ (EDTA)

อีดีทีเอ หรือ Ethylenediaminetetraacetic acid มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_{10}H_{16}N_2O_8$  มีคุณสมบัติเป็นสารคีเลต ดังรูปที่ 2.19 โดยสามารถจับกับธาตุโลหะที่มีประจุ เช่น ตะกั่ว เหล็ก สังกะสี ซึ่งประโยชน์ทางการแพทย์สามารถนำมาใช้กำจัดไอออนของโลหะต่างๆ ได้ (นฤมล, 2551)



รูปที่ 2.19 โครงสร้างทางเคมีของอีดีทีเอ

ที่มา : Fujii, 1978

## 2.7 จุลินทรีย์ก่อโรค

จุลินทรีย์ก่อโรค หมายถึง จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในมนุษย์และสัตว์จุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในอาหาร จะเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ แบคทีเรีย, รา, ไวรัส และปรสิต แต่จุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคที่มีอาหารเป็นสื่อ ได้แก่ แบคทีเรียซึ่งแบคทีเรียจัดเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม แบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถอยู่เป็นอิสระนอกร่างกายมนุษย์ได้ มีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่จำเป็นต้องอาศัยอยู่ในเซลล์ของมนุษย์เพื่อการดำรงชีวิต หากแบ่งตามการติดสีย้อมแกรมจะแบ่งได้ 2 ชนิด โดยแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ติดสีน้ำเงินจะ เรียกว่า แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) ถ้าติดสีแดง เรียกว่า แบคทีเรียชนิดแกรมลบ (Gram negative bacteria) (พนัส, 2558)

### 2.7.1 ตัวอย่างแบคทีเรียก่อโรค

#### 1.) *Escherichia coli*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เคลื่อนที่โดยใช้แฟลเจลล่า จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม ประเภท fecal coliform มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์ และมนุษย์ เป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์ และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ นอกจากนี้ยังพบว่า *E. Coli* เป็นสาเหตุที่สำคัญในการก่อให้เกิดอาหารเน่าเสีย และอาการท้องเสียบ่อยที่สุดทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ แต่อาการมักไม่รุนแรง โดย *E. coli* ในทางเดินอาหารอาจแบ่งออกเป็นชนิดต่างๆ ตามคุณสมบัติทางวิทยาภูมิคุ้มกัน และคุณสมบัติในการทำให้เกิดโรค ยกตัวอย่างเช่น Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) ที่สร้างสารซึ่งเป็นพิษต่อระบบทางเดินอาหาร ทำให้ท้องเสีย, Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) ซึ่งรุกรานเซลล์เยื่อบุลำไส้คล้ายโรคบิดจากเชื้อชิเกลลล่าทำให้มีไข้สูง ท้องเสียรุนแรง, Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) ทำให้ถ่ายเป็นเลือดเชื้อในกลุ่มนี้ที่เป็นที่รู้จักมากที่สุดคือเชื้อชนิด O157:H7 นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เกิด Hemolytic-uremic syndrome และไตวายเฉียบพลันได้ (Richard และคณะ, 2000)

#### 2.) *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิประมาณ 7-48 องศาเซลเซียส ไม่เคลื่อนที่ และไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างกลม มีประมาณ 20 สายพันธุ์ เป็นส่วนหนึ่งของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในผิวหนังและโพรงจมูก เป็นแบคทีเรียก่อโรคชนิดหนึ่ง เมื่อ *S. aureus* ปนเปื้อนลงไปในอาหาร จะสร้างสารพิษที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซินขึ้น ซึ่งแบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ชนิด A, B, C1, C2, C3, D, E และ H ชนิดที่พบบ่อยซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษ คือ A กับ D สารพิษนี้มีคุณสมบัติพิเศษ คือสามารถทนความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที ไม่ถูกทำลายแม้ต้มเดือดครึ่งชั่วโมง สารพิษนี้ละลายได้ในน้ำและสารละลายเกลือ เชื้อ *S. aureus* จะสร้างสารพิษที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Richard และคณะ, 2000) เนื่องจากสารพิษนี้ทนต่อความร้อนได้ดีมาก ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาหารเป็นพิษ หลังจากรับประทานอาหารที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง อาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *S. aureus* คือ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ปวดท้องจากสารพิษ อาการมักเกิดขึ้นอย่างเฉียบพลัน (สุดสายชล และคณะ, 2554)

### 3.) *Micrococcus luteus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ อยู่ในวงศ์ Micrococcaceae เจริญได้ในภาวะที่มีอากาศ หรือมีออกซิเจนเท่านั้น สามารถสร้างเอนไซม์ Catalase ได้โดยเกิดปฏิกิริยา catalase-positive *M. Luteus* พบได้ทั่วไปในดิน น้ำ และกระจายในอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่า เป็นจุลินทรีย์เจ้าถิ่นบนผิวหนังของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมไปถึงบริเวณช่องปาก เยื่อต่างๆ ภายในร่างกาย โดยแบคทีเรียชนิดนี้ถูกค้นพบโดย Alexander Fleming ในปี คศ.1928 *M. Luteus* สามารถเข้าสู่ร่างกายผู้ป่วยติดเชื้อ เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อปฏิกิริยาต่างๆ ภายในร่างกาย และสามารถเหนียวนำไปเกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต *M. Luteus* เป็นแบคทีเรียที่ทนร้อน ทนต่อการฉายรังสีมากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น โดยสามารถดูดกลืนความยาวคลื่นที่ 350-475 นาโนเมตร จัดเป็นแบคทีเรียที่ทนร้อนได้มากที่สุด (Young และคณะ, 2010)

### 4.) *Bacillus subtilis*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลล่า จัดอยู่ในวงศ์ Bacillaceae ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับ *Clostridium* และ *Desulfotomaculum* เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางประมาณ 30-45 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ เจริญในค่า pH ช่วงกว้าง ตั้งแต่ 2-11 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ พบได้ทั่วไปในดิน เจริญเติบโตได้โดยใช้สารอาหารจากการย่อยสลายของ ซากพืช ซากสัตว์ และอื่นๆ *B. subtilis* สร้างและหลั่งเอนไซม์พวก carbohydrate และ protease ออกจากเซลล์ได้หลายชนิดทำให้สามารถย่อยสลายสารต่างๆ ได้หลาย ชนิด เช่น cellulose, แป้งต่างๆ และโปรตีนต่างๆ ได้มาก ส่วนใหญ่จะพบประมาณ 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> เซลล์ในดิน 1 gm แต่ถ้าในดินที่มีสารอาหารน้อยก็อาจจะพบในจำนวนน้อย *B. Subtilis* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร ได้แก่ การเน่าเสียของเนื้อสัตว์ น้านม และอาหารกระป๋อง เป็นต้น (Richard และคณะ, 2000)

## 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุภลักษณ์ และปัญญวัฒน์ (2552) ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลหมากในส่วนต่างๆ 4 ส่วน ได้แก่ เปลือกหมากดิบ เปลือกหมากสุก เมล็ดหมากดิบ และเมล็ดหมากสุก ทดสอบกับจุลินทรีย์ 5 ชนิด คือ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Candida albicans* โดยการ streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งโดยวิธี Disc diffusion เทียบกับ Positive control ที่เป็นยาปฏิชีวนะดังนี้ แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ใช้ erythromycin 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียแกรมลบคือ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ใช้ streptomycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยีสต์ คือ *Candida albicans* ใช้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

amphotericin b 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ negative control เป็นสารละลายเอทานอล 50% จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากหมากที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์มี 2 ส่วน คือ สารสกัดจากเมล็ดหมากดิบและสารสกัดจากเมล็ดหมากสุก ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์เฉพาะจุลินทรีย์แกรมบวกเท่านั้นโดยที่ปริมาณสารสกัดเท่ากัน สารสกัดเมล็ดหมากสุกให้ฤทธิ์การต้านเชื้อสูงกว่าเมล็ดหมากดิบ คือ 11.33 และ 10.00 มม. ต่อ *S. Aureus* และ 8.67 และ 7.67 มม. ต่อเชื้อ *B. cereus*

กิริติ (2556) ทำการศึกษาการต้านการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ด้วยสารสกัดจากสมุนไพรไทย และศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะในการต้านการเจริญของแบคทีเรียนี้ โดยศึกษาสมุนไพรไทย 11 ชนิด ได้แก่ เหงือกปลาหมอ เพชรสังฆาต กระชายดำ เสดดพังพอน หญ้าหนวดแมว ชะเอมเทศ หญ้าหวาน อัญชัน ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย และไพล ซึ่งสกัดด้วยน้ำและเอทานอล 95% จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อดังกล่าว และทดสอบหาความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration ; MIC) พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรกระชายดำ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาได้ แต่ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Methicilin sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA) โดยแสดงขอบเขตการยับยั้งอยู่ในช่วง 12-18 มม. และมีค่า MIC เท่ากับ 0.0195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ เมื่อทดสอบสารสกัดจากกระชายดำร่วมกับยาปฏิชีวนะในการต้านการเจริญของเชื้อ MRSA พบว่าสารสกัดกระชายดำและยาเซฟโซซิทินมีฤทธิ์เสริมกันในการต้านการเจริญของ MRSA โดยทำให้ค่า MIC ของกระชายดำ และเซฟโซซิทิน (cefotixin) ลดลง ซึ่งจากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ากระชายดำมีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาเป็นสารต้าน MRSA ได้

ลักษณะและคณะ (2556) น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลขิงมีสารประกอบที่สำคัญอยู่หลายชนิดสารเหล่านี้มีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์มากมาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้าขิงสด และสกัดจากแคปซูลขิงจากแหล่งจำหน่ายในประเทศไทย ผลจากเทคนิค Gas chromatography Mass spectrometry พบว่ามีสารประกอบกว่า 20 ชนิด ในน้ำมันหอมระเหยของเหง้าขิงสด และ 5 ชนิดในน้ำมันหอมระเหยของแคปซูลขิง โดย zingiberene เป็นส่วนประกอบที่พบมากที่สุด ในน้ำมันหอมระเหยของเหง้าขิงสดและแคปซูลขิง มวลสารจาก mass spectrum และค่า retention index ที่คำนวณเทียบกับฐานข้อมูลของ NIST ให้ผลสอดคล้องกันในการตรวจสอบชนิดของสารประกอบที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากขิง

วาริรัตน์ (2557) ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้ส่วนเหง้าสด 4 ชนิด ของพืชตระกูลขิง (*Zingiber officinale*) ข่า (*Alpinia galangna*) กระชาย (*Boesebergia rotunda*) และขมิ้นขาว (*Curcuma mangga*) ทำการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี Agar well diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบที่ความเข้มข้นสารสกัดเท่ากับ 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ โดยสารสกัดจากกระชายสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีที่สุด มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration : MBC) เท่ากับ 0.05 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากขิงสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* *E. coli* และ *P.aeruginosa* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 50, 100 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า MBC เท่ากับ 100, 200 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การทดสอบความสามารถในการเป็นสารกำจัดเชื้อจุลินทรีย์โดยทดสอบการกำจัดแบคทีเรียบนพื้นผิวปูนกทิลพีดีในโรงพยาบาล พบว่าสารสกัดจากขิงสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 52.13-94.59 เมื่อใช้สารสกัดเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อสัมผัสกับเชื้อเป็นเวลา 5 นาที จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากขิงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ดังนั้นจึงสามารถนำสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์กำจัดเชื้อที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมในอนาคตเพื่อลดการใช้สารเคมีและเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรพื้นบ้านอีกทางหนึ่ง

Anish และคณะ (2013) ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, Folin-Ciocalteu method และ Total flavonoids ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ ที่ความเข้มข้น 15, 30, 60, 120, 300, 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์สารองค์ประกอบด้วย HPLC ของสารสกัดจากเหง้ากระเทียม *Zingiber zerumbet* (L.) Smith พบว่าเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยเฟอร์อล ในการนำมาใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมยาอย่างปลอดภัย นั้นขึ้นอยู่กับผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งจากการวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอล และฟลาโวนอยด์ พบว่าเท่ากับ  $33.64 \pm 3.22$  mg GAE/g essential oil และ  $26.79 \pm 0.68$  mg QUE/g essential oil ตามลำดับ มีค่า  $IC_{50}$  จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 417.14  $\mu$ g/ml และมีค่า  $EC_{50}$  ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เท่ากับ 385.07  $\mu$ g/ml สรุปได้ว่าสารสกัดจากเหง้ากระเทียมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงและมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ

Singh และคณะ (2014) ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้าของกระเทียม ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิค GC / MS พบส่วนประกอบที่สำคัญ 98.4% ดังนี้ zerumbone (75.2%),  $\alpha$ -Caryophyllene (7.1%), camphene (5.1%), eucalyptol (2.4%) และ camphor (3.0%) ศึกษาการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.6  $\mu$ g/ml และวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu มีค่า 5.05 mgGAE/100 g essential oil นำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้กับสารองค์ประกอบหลัก zerumbone มาทดสอบ Antimalarial, Antileishmanial และ Antimicrobial พบว่าน้ำมันหอมระเหยและ zerumbone มีฤทธิ์ในการต้านทานต่อ malaria และ leishmanial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่การต้านทานต่อ microbial มีเพียงน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ในการต่อต้าน

Sidahmed และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารซีรัมโบนจากเหง้ากระเทียม ในการต้านการอักเสบและการติดเชื้อในกระเพาะอาหาร พบว่าเหง้ากระเทียมมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ลดไข้ แก้ปวด ต้านการอักเสบ, เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ, เป็นสารต้านมะเร็ง และเป็นยาต้านจุลชีพ ซีรัมโบนเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่โดดเด่นจากเหง้ากระเทียมและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาสารซีรัมโบน จากเหง้ากระเทียมที่มีผลต่อการต้านการอักเสบและการติดเชื้อในกระเพาะอาหาร

Mukherjee และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาสารซีรัมโบนที่แยกได้จากกระเทียมในการยับยั้งการเกิดโรคไลสมาเนียร์ ด้วยคุณสมบัติที่มากมาย และกลไกที่เป็นเอกลักษณ์ของพืชตระกูลจิง-ซ่า จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีการนำพืชตระกูลนี้มาใช้เป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรค สารซีรัมโบนถือเป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้ในกระเทียม เมื่อทำการศึกษาการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่ามีคุณสมบัติในการต้านแผลในกระเพาะอาหาร, เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง และเป็นสารต้านจุลชีพ ในการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า ซีรัมโบนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ และยับยั้งการเกิดโรค Leishmania โดยพบว่าสารซีรัมโบนในกระเทียมมีประสิทธิภาพในการลดเซลล์ที่ติดเชื้อได้เป็นอย่างดี โดยงานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารซีรัมโบนในการยับยั้งการเกิดโรคไลสมาเนียร์ และพัฒนายาจากสมุนไพรอีกด้วย

Farjana และคณะ (2011) ทำการศึกษาความสามารถในการต้านจุลชีพของสารสกัดจากเหง้ากระเทียม *Zingiber zerumbet* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน ได้แก่ เอทานอล คลอโรฟอร์ม และปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา พบว่าที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม เท่ากัน สารที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *V. parahemolyticus* ดีที่สุด ให้ขนาด clear zone เท่ากับ 10 มิลลิเมตร และยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด มีขนาด clear zone เท่ากับ 9 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นสารที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และคลอโรฟอร์ม ซึ่งแสดงให้เห็นฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียและเชื้อราปานกลาง ค่า MIC ของสารที่สกัดด้วยเอทานอล ปิโตรเลียมอีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม อยู่ที่ 128-256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus lutea* ในส่วนของแกรมลบ ได้แก่ *V. parahemolyticus*, *E. coli*, *S. typhi* และ *P. aeruginosa* นอกจากนี้สารที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ยังให้ค่า MIC ของ *V. parahemolyticus* เท่ากันทั้งหมด คือ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสารสกัดจากเหง้ากระเทียมด้วยเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 พืชและดินที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

เก็บส่วนของเหง้าของต้นกระทือและเก็บตัวอย่างดินจาก 3 แหล่งที่แตกต่างกัน ได้แก่ แขวงมีนบุรี เขตมีนบุรี จังหวัดกรุงเทพฯ ตำบลช้างเผือก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ และตำบลสีสุก อำเภอแก่งสนามนาง จังหวัดนครราชสีมา โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือน กุมภาพันธ์ 2559

### 3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

3.2.1 *Bacillus subtilis* ATCC 6633

3.2.2 *Escherichia coli* ATCC25922

3.2.3 *Micrococcus luteus* ATCC 6633

3.2.4 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

### 3.3 อุปกรณ์

#### 3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย

3.3.1.1 ชุดกลั่นไอน้ำ

3.3.1.2 ตู้อบลมร้อน

3.3.1.3 เครื่องปั่น

3.3.1.4 ถาดสแตนเลส

3.3.1.5 กระบอกตวง

3.3.1.6 แท่งแก้วคนสาร

3.3.1.7 ขวดรูปชมพู่

3.3.1.8 ขวดสีชาสำหรับเก็บตัวอย่างที่สกัดได้

#### 3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดิน

3.3.2.1 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

3.3.2.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม

3.3.2.3 เครื่องเขย่า

3.3.2.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง

3.3.2.5 เครื่องกลั่น

3.3.2.6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

3.3.2.7 เตาหย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.2.8 ตะแกรงร่อน
- 3.3.2.9 ขวดรูปชมพู่
- 3.3.2.10 บิวเรต
- 3.3.2.11 ปีเปตแก้ว
- 3.3.2.12 กระจกบอทวง
- 3.3.2.13 ขวดปรับปริมาตร
- 3.3.2.14 แ่งแก้วคนสาร
- 3.3.2.15 ปีกเกอร์
- 3.3.2.16 หลอดปั่นเหวี่ยง

### 3.3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ

- 3.3.3.1 เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท
- 3.3.3.2 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- 3.3.3.3 เครื่องเขย่า
- 3.3.3.4 ไมโครเวลเพลท
- 3.3.3.5 ไมโครปีเปต
- 3.3.3.6 หลอดทดลอง
- 3.3.3.7 ปีเปตแก้ว
- 3.3.3.8 ปีกเกอร์

### 3.3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ

- 3.3.4.1 หม้อนึ่งอัตโนมัติ
- 3.3.4.2 ตู้ปลอดเชื้อ
- 3.3.4.3 ตู้บ่มเชื้อ
- 3.3.4.4 งานเลี้ยงเชื้อ
- 3.3.4.5 กระจกครอบ
- 3.3.4.6 ไม้พันสำลี
- 3.3.4.7 ตะเกียงแอลกอฮอล์

## 3.4 สารเคมี

### 3.4.1 สารเคมีในการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดิน

- 3.4.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ไนโตรเจนในดิน
  1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
  2. Mixed catalyst
  3. อินดิเคเตอร์ผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สารละลายกรดบอริก
  5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
  6. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก
  7. สารละลายมาตรฐาน tris-(hydroxymethyl) amino
- 3.4.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์การแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน
1. สารละลายโซเดียมออกไซด์
  2. เอทานอล
  3. สารละลายแอมโมเนียมออกไซด์
  4. สารละลายมาตรฐานโซเดียม
- 3.4.1.3 สารที่ใช้ในการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในดิน
1. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต
  2. สารละลายแอนติโมนี โพลแทสเซียมทาเทรท
  3. สารละลายกรดบอริก
  4. สารละลาย Color reagent
  5. สารละลายกรดแอสคอบิก
  6. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต
  7. สารละลาย Bray No.2
- 3.4.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ
- 3.4.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบด้วยวิธี DPPH
1. DPPH (2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)
  2. เอทานอล
  3. น้ำกลั่น
  4. กรดแอสคอบิก
- 3.4.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
1. Folin-Ciocalteu reagent
  2. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต
- 3.4.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ
- 3.4.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ
1. Mueller-Hinton agar (MHA)
  2. Nutrient agar (NA)
  3. ยาปฏิชีวนะ Tetracyclines

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.5.1 การเตรียมตัวอย่างดินและการตรวจค่าพารามิเตอร์ดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินจากทั้ง 3 แหล่ง หลังจากทำการเก็บเกี่ยวต้นกระถือแล้วสุ่มเก็บตัวอย่างดิน 5 จุด ทั่วพื้นที่ปลูก โดยใช้จอบหรือเสียมขุดดินเป็นรูปตัว V ลึก 15 เซนติเมตร แชะเอาดินด้านหนึ่ง เป็นแผ่นหนาประมาณ 2-3 เซนติเมตร จากปากหลุมถึงกันหลุม นำดินที่เก็บทั้ง 5 จุด มารวมกันใส่ถุงพลาสติก (กรมพัฒนาที่ดิน, 2555) เก็บไว้ในที่แห้งและพ้นแสง เพื่อทำการตรวจค่าพารามิเตอร์ดินต่างๆ ต่อไป ดังนี้

##### 3.5.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของดิน (ตัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

ชั่งตัวอย่างดิน 20 กรัม ลงในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้อัตราส่วน ดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 ใช้แท่งแก้วคนสารละลายดินในบีกเกอร์เป็นเวลา 5-10 นาที แล้วพักทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter

##### 3.5.1.2 การวิเคราะห์ไนโตรเจนในดิน (ตัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

ชั่งตัวอย่างดินจำนวน 2.50 กรัม ใส่ในหลอดย่อยโดยใช้ mixed catalyst สำเร็จรูปและกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาณ 15 มิลลิลิตรเป็นสารย่อยดิน หลังจากนั้นนำไปย่อยในเตาย่อย จนได้สารละลายใสและไม่มีอิมพัลเคลือบเม็ดดิน (ประมาณ 2 ชั่วโมง) เติมสารละลายกรดบอริกปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่เพื่อใช้ดักจับแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้น และเติม mix Indicator ลงไปประมาณ 2 หยด นำตัวอย่างดินที่ย่อยแล้วไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่น ก่อนเริ่มกลั่นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 40 มิลลิลิตร (เติมจากเครื่องกลั่น) สีของอินดิเคเตอร์จะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีฟ้า นำสารละลายที่ได้จากการกลั่นไปไทเทรตด้วยสารละลาย 0.025 M HCl จนสีของอินดิเคเตอร์เปลี่ยนกลับไปเป็นสีชมพู ความเข้มข้นของสีจะอ่อนลงกว่าเดิม เนื่องจากอินดิเคเตอร์เจือจางลง ใช้สารละลาย tris-(hydroxymethyl) amino เป็นสารมาตรฐาน

การคำนวณความเข้มข้นที่แท้จริงของ HCl คำนวณได้จาก

$$N_1 = N_2 V_2 / V_1$$

$N_1$  = ความเข้มข้นที่แท้จริงของกรด HCl (M)

$N_2$  = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน tris (M)

$V_2$  = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน tris ( $\text{cm}^3$ )

$V_1$  = ปริมาตรเฉลี่ยของกรด HCl ที่ใช้ในการไทเทรต ( $\text{cm}^3$ )

ความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างดินคำนวณได้จาก

$$\% \text{ total N} = 1.4 N_1 V / W$$

$N_1$  = ความเข้มข้นที่แท้จริงของกรด HCl (M)

$V$  = ปริมาตรของกรด HCl ที่ใช้ในการไทเทรตข้อ 7 ( $\text{cm}^3$ )

$W$  = น้ำหนักของตัวอย่างดินที่ใช้ (g)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5.1.3 การวิเคราะห์โพแทสเซียมในดิน (ดัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

ชั่งตัวอย่างดิน 5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมสารละลาย 1.0 โมลาร์  $\text{NH}_4\text{OAc}$  pH 7.0 ลงไป 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง orbital shaker นาน 30 นาที หลังจากนั้นกรองสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง Whatman No.5 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศแล้วล้างดินที่ค้างอยู่ใน erlenmeyer flask ด้วย 1.0 M  $\text{NH}_4\text{OAc}$  pH 7.0 อีกประมาณ 30 มิลลิลิตร และกรองสารละลายทั้งหมดรวมกัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

เจือจางสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมให้มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายที่ได้เรียกว่า intermediate standard จากนั้นเจือจาง intermediate standard ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายที่ได้นี้เรียกว่า working standard เติมสารละลาย Sr ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร (เท่ากับจำนวนตัวอย่างดิน) ใบละ 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายที่กรองได้จาก ข้อ 3 ลงไปตัวอย่างละ 2.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้งหมดไปวัดการปลดปล่อยแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม (รัชดาภรณ์, 2551)

### 3.5.1.4 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในดิน (ดัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

ชั่งตัวอย่างดิน 2.5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ เติมสารที่ใช้สกัดดินลงไป 25 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 60 วินาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.5 รองรับสารละลายที่กรองได้ด้วยขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร ผสม Color reagent และสารละลายกรดแอสคอบิก ในอัตราส่วน 1:1 หลังจากนั้นเติมสารละลายผสมในข้อ 3 ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสที่เจือจางแล้ว 1, 2, 3, 4 และ 6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่เติมสารละลาย color reagent และกรดแอสคอบิกไว้ ฉีดน้ำกลั่นไล่สารที่ติดอยู่บริเวณคอขวดลงไป พร้อมทั้งเขย่าให้สาร ทำปฏิกิริยากัน แต่ยังไม่ต้องปรับปริมาตร หลังจากนั้นปิเปตสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ที่เติมสารละลาย color reagent และกรดแอสคอบิก ไว้แล้ว ฉีดน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยแล้วเขย่าให้สารทำปฏิกิริยากัน เปรียบเทียบความเข้มของสีกับสารละลายมาตรฐาน ถ้าสีจางมากให้เพิ่มสารสกัดที่กรองได้ลงไปอีก 10 มิลลิลิตร ถ้าความเข้มของสีอยู่ระหว่างสารละลายมาตรฐาน 1 และ 2 มิลลิลิตร ให้เพิ่มสารสกัดที่กรองได้ลงไปอีก มิลลิลิตร และหากสีเข้มเกินไปให้เจือจางสารสกัดที่กรองได้ลงในอัตราส่วนที่เหมาะสม นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 720 นาโนเมตร จากนั้นนำมาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (mg/kg)} = \frac{B \times X}{A}$$

เมื่อ  $A =$  น้ำหนักของตัวอย่างดิน (กรัม)  
 $B =$  น้ำยาสกัด (มิลลิลิตร)  
 $X =$  ค่าที่อ่านได้

### 3.5.1.5 การแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน (ดัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

ชั่งดิน 4 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่งเพื่อหาความชื้นของดิน นำดินไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desiccator นำไปชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณความชื้น

ชั่งดิน 4 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนมาใส่ในหลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมอะซิเตท 33 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่า 5 นาที ด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่แรงเหวี่ยง 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ทำเช่นเดิมนี้ 4 ครั้ง หลังจากเทส่วนใสครั้งสุดท้ายทิ้งแล้วเติมเอทานอล 33 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่า 5 นาทีแล้วนำไปปั่นเหวี่ยง เทส่วนใสทิ้ง ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง เติมสารละลายสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตท 33 มิลลิลิตร เขย่า แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเก็บส่วนใส แล้วเติมสารละลายสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตท 33 มิลลิลิตร ทำเหมือนเดิมทั้งหมด 3 ครั้ง ปรับปริมาตรของส่วนใสที่ได้ ในขวดปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร หาปริมาณโซเดียมในสารละลายที่สกัดได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม เตรียมกราฟมาตรฐานโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมให้มีความเข้มข้น 0.02, 0.06, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นำค่าความเข้มข้นของโซเดียมกับค่า emission จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม มาสร้างกราฟมาตรฐาน และนำค่า emission ของตัวอย่างดิน มาเทียบกับกราฟมาตรฐาน จะทราบค่าความเข้มข้นของโซเดียมในตัวอย่างดิน นำไปคำนวณหาค่าการแลกเปลี่ยน ประจุในดิน

$$\text{การคำนวณค่าการแลกเปลี่ยนประจุในดิน} = \frac{\text{ความเข้มข้นของโซเดียมในดิน}}{\text{น้ำหนักดินแห้ง}} \times 10$$

### 3.5.2 การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัดน้ำมันหอมระเหย

นำเหง้ากระเทียมที่ได้มาล้างให้สะอาดแล้วหั่นเป็นแว่นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หลังจากได้ตัวอย่างที่อบแห้งแล้ว ให้นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นเก็บในที่แห้ง และเย็น เพื่อเตรียมนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหยต่อไป

#### 3.5.2.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยน้ำ

นำตัวอย่างพืชที่ปั่นละเอียดแล้ว 75 กรัม มาใส่ลงในภาชนะสำหรับสกัด และเติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างพืชที่บรรจุลงภาชนะทำสกัดด้วยน้ำ โดยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่สกัดต้องใช้อุณหภูมิที่พอเหมาะและคอยระวังการเดือดอย่างรุนแรงด้วย ใช้เวลาสกัดประมาณ 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ปิดเครื่องสกัดและเก็บตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไว้ในขวดสีชาแล้วห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหย

3.5.3.1 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging (Bonina และคณะ, 2000)

เตรียมตัวอย่างสารสกัดที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้น 2600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นำตัวอย่างสารสกัด 100 ไมโครลิตร มาเติมสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ที่มีความเข้มข้น 0.025 มิลลิโมลาร์ จำนวน 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท ทำการทดสอบ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้กรดแอสคอบิกเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ หา % DPPH inhibition จากสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs. control} - \text{Abs. Sample}}{\text{Abs. control}} \times 100$$

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า Effective concentration (EC 50) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism ในการคำนวณ (<http://www.softwarehax.com/graphpad-prism-crack/2015/>)

3.5.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric (Kahkonen และคณะ, 1999)

ชั่งตัวอย่างสารสกัด 0.10 กรัม ในเอทานอล (blank) 5 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น  $10^{-1}$  ดูดสารละลายมา 0.1 มิลลิลิตร เติมเมทานอล 0.9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น  $10^{-2}$  ดูดสารละลายมา 0.1 มิลลิลิตร เติมเมทานอล 0.9 มิลลิลิตรอีกครั้ง จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น  $10^{-3}$  ดูดสารละลายที่มีความเข้มข้น  $10^{-3}$  มา 300 ไมโครลิตร ใส่ในขวดสีชา เติม Folin-Ciocalteu reagent 1.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 % (w/v) 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม เก็บไว้ในที่มืด 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง หาปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอบิก

### 3.5.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านสารจุลชีพด้วยวิธี Agar Diffusion Test (ประสาทร และคณะ, 2551)

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Micrococcus luteus* ATCC 6633 โดยการ spread เชื้อที่ต้องการทดสอบบน Mueller-Hinton agar ให้ทั่ว ด้วยไม้พันสำลีปลอดเชื้อ ทิ้งไว้จนกระทั่งเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแห้ง หยดน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นในระดับต่างๆ ปริมาณ 5 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Tetracyclines ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้น *Micrococcus luteus* ATCC 6633 จะใช้ Tetracyclines ที่ความเข้มข้น 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้ตัวทำละลายเอทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้ววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (clear zone) จากขอบด้านหนึ่งของ clear zone ไปยังขอบอีกด้านหนึ่งผ่านจุดศูนย์กลางของกระดาษกรอง (ดิสก์) ในหน่วยมิลลิเมตร

สูตรการวัดขนาด clear zone

ขนาดของ clear zone (มม.) = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone กับดิสก์ - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์

### 3.5.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระที่เอามาวิเคราะห์สารภายในด้วยเทคนิค Gas Chromatography – Mass spectroscopy (GC-MS) (Hewlett Packard 247 HP6890/5973) ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังสภาวะที่ใช้ประกอบด้วย อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นจาก 60 องศาเซลเซียส (คงไว้ 2 นาที) และเพิ่มขึ้นในอัตรา 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนเป็น 180 องศาเซลเซียส (คงไว้ 4 นาที) อุณหภูมิของเครื่องตรวจจับสัญญาณ 300 องศาเซลเซียส คอลัมน์เป็นชนิด HP-5MS (30 เมตร, 0.25 ไมโครเมตร, 0.25 มิลลิเมตร) ก๊าซพาเป็นก๊าซฮีเลียม อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรที่ฉีด 1 ไมโครลิตร และ split ratio 50:1 สภาวะของ Mass spectrometry Mass ionization เป็น electron impact 70 eV mass analyzer เป็น quadrupole อุณหภูมิของส่วน ionization คือ 230 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของส่วน mass analyzer 150 และ 280 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 50-700 amu

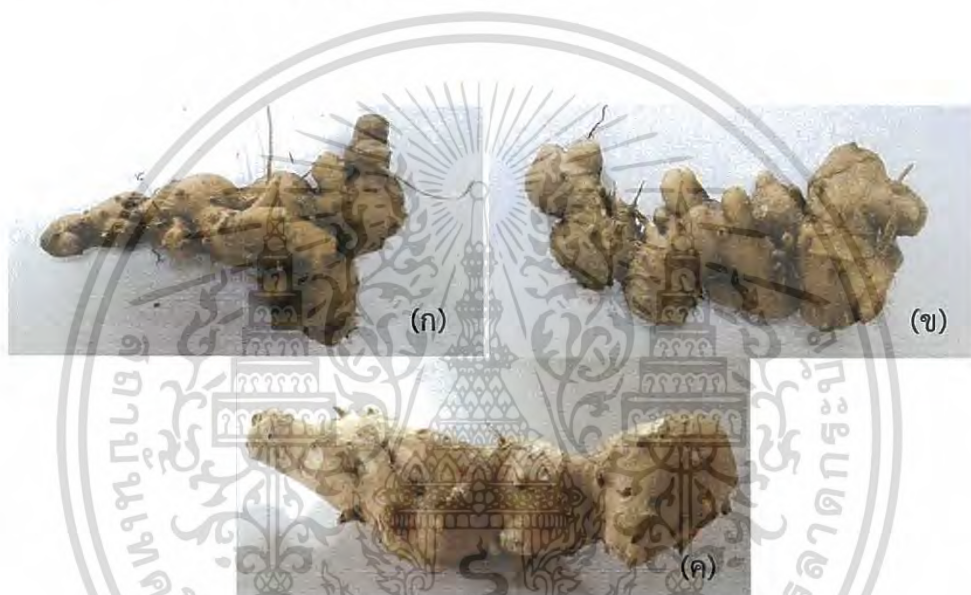
### 3.5.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยมีการวางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และวิเคราะห์ผลการศึกษาโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี Tukey's range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Minitab 16

## ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

### 4.1 ลักษณะของเหง้าและดินที่ใช้ในการวิเคราะห์

จากการเก็บตัวอย่างเหง้ากระเทียมจาก 3 แหล่ง ได้แก่ เขตมีนบุรี จังหวัดกรุงเทพฯ อำเภอมือง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอแก้งสนามนาง จังหวัดนครราชสีมา มาทำการล้างทำความสะอาดเศษดินที่ติดอยู่ตามพื้นผิวของเหง้าออก พบว่าเหง้ากระเทียมมีลักษณะคล้ายเหง้าหรือหัวของขิง ข่า และไพล ซึ่งมีสีน้ำตาลอมเหลือง มีข้อปล้องชัดเจน ดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะของเหง้ากระเทียมจากทั้ง 3 แหล่งที่มา

(ก) เหง้ากระเทียมจาก จ. กรุงเทพฯ

(ข) เหง้ากระเทียมจาก จ. เชียงใหม่

(ค) เหง้ากระเทียมจาก จ. นครราชสีมา

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ปลูกทั้ง 3 พื้นที่ มาทำการวิเคราะห์ พบว่าดินที่ใช้ในการปลูกต้นกระเทียมในแต่ละพื้นที่มีลักษณะที่ต่างกันอย่างชัดเจน โดยดินจาก จ.นครราชสีมา มีความร่วนซุยมากกว่าดินจาก จ.กรุงเทพฯ และ จ.เชียงใหม่ ซึ่งดินส่วนใหญ่มีลักษณะแห้งและจับตัวกันเป็นก้อน ในส่วนของ จ.เชียงใหม่ มีสีน้ำตาลเข้มที่สุด รองลงมา คือ จ.กรุงเทพฯ และ จ.นครราชสีมา ตามลำดับ (รูปที่ 4.2) ซึ่งส่วนใหญ่ดินที่มีสีดำ สีน้ำตาลเข้ม หรือสีคล้ำ มักจะเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง เนื่องจากมีการคลุมเคล้าด้วยอินทรีย์วัตถุมากโดยเฉพาะดินชั้นบน แต่บางกรณีสีคล้ำของดินอาจจะ เป็นผลมาจากอิทธิพลของปัจจัยที่ควบคุมการเกิดดินอื่นๆ นอกเหนือไปจากการมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ ในดินมากก็ได้ เช่น ดินที่พัฒนามาจากวัสดุต้นกำเนิดดินที่ผุพังสลายตัวมาจากหินที่ประกอบด้วยแร่ที่มี แอกลสารนี้เป็นแอกลสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้าน การค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีเข้ม เช่น หินภูเขาไฟ และมีระยะเวลาการพัฒนาไม่นาน หรือดินมีแร่แมงกานีสสูง ก็จะทำให้ดินที่มีสีคล้ำได้เช่นกัน (เกษมศรี, 2541)



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะดินที่ใช้ในการปลูกต้นกระทือจากทั้ง 3 แหล่งที่มา

(ก) เหง้ากระทือจาก จ. กรุงเทพฯ

(ข) เหง้ากระทือจาก จ. เชียงใหม่

(ค) เหง้ากระทือจาก จ. นครราชสีมา

## 4.2 ลักษณะภูมิอากาศ

จากการเก็บตัวอย่างเหง้ากระทือและดินที่ใช้ปลูกในแต่ละพื้นที่มาทำการวิเคราะห์ โดยเก็บในช่วง วันที่ 8-9 กุมภาพันธ์ 2559 ซึ่งมีลักษณะภูมิอากาศของทั้ง 3 พื้นที่ ดังนี้

### 4.2.1 ลักษณะภูมิอากาศของ จ.กรุงเทพฯ

จากการเก็บตัวอย่างใน จ.กรุงเทพฯ ทำการเก็บใน วันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2559 พบว่ามีอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 30.7 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดอยู่ที่ 17.0 องศาเซลเซียส มีความเร็วลมสูงสุดที่ 5.6 กิโลเมตรต่อชั่วโมง ในเวลา 14.30 น. และมีปริมาณฝนตั้งแต่ต้นปี เท่ากับ 72.6 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.1)

### 4.2.2 ลักษณะภูมิอากาศของ จ.เชียงใหม่

จากการเก็บตัวอย่างใน จ.เชียงใหม่ ทำการเก็บใน วันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2559 พบว่ามีอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 28.7 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดอยู่ที่ 12.2 องศาเซลเซียส มีความเร็วลมสูงสุดที่ 16.7 กิโลเมตรต่อชั่วโมง ในเวลา 12.21 น. และมีปริมาณฝนตั้งแต่ต้นปี เท่ากับ 34.2 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.1)

### 4.2.3 ลักษณะภูมิอากาศของ จ.นครราชสีมา

จากการเก็บตัวอย่างใน จ.นครราชสีมา ทำการเก็บใน วันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2559 พบว่ามีอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 25.2 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดอยู่ที่ 12.6 องศาเซลเซียส มีความเร็วลมสูงสุดที่ 27.8 กิโลเมตรต่อชั่วโมง ในเวลา 10.05 น. และมีปริมาณฝนตั้งแต่ต้นปี เท่ากับ 38.0 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ลักษณะภูมิอากาศของทั้ง 3 แหล่ง ในช่วงวันที่ 8-9 กุมภาพันธ์ 2559

แหล่งที่มา	อุณหภูมิ (°C)		ลมสูงสุด		ปริมาณฝน ตั้งแต่ต้นปี (mm)
	สูงสุด	ต่ำสุด	ความเร็ว (km/hr)	เวลา	
จ.กรุงเทพฯ	30.7	17.0	5.56	14.30	72.6
จ.เชียงใหม่	28.7	12.2	16.68	12.21	34.2
จ.นครราชสีมา	25.2	12.6	27.8	10.05	38.0

ที่มา : กรมอุตุนิยมวิทยา

### 4.3 ผลการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในการปลูกต้นกระเทียมจาก 3 แหล่ง มาทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดิน ประกอบด้วย ค่าความเป็นกรด-ด่าง, ปริมาณไนโตรเจน, โพแทสเซียม, ฟอสฟอรัส และค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน ให้ผลการวิเคราะห์ดังนี้

#### 4.3.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วย pH meter พบว่าดินจาก จ.นครราชสีมา มีความเป็นกรด-ด่าง สูงที่สุด รองลงมาเป็นดินจาก จ.กรุงเทพฯ และ จ.เชียงใหม่ โดยมีค่าที่วัดได้ ดังนี้  $6.10 \pm 0.03$ ,  $5.88 \pm 0.04$  และ  $5.50 \pm 0.04$  ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.2 เมื่อประเมินระดับปฏิกิริยาเคมีในช่วงที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.50-6.10 ซึ่งถือว่าเป็นช่วงที่มีความเป็นกรดอยู่ในเกณฑ์เล็กน้อยถึงเป็นกรดจัด (เอิบ, 2542) พบว่าค่า pH ที่มีความเป็นกรดเล็กน้อยถึงปานกลาง กล่าวคือ มีค่า pH สูงกว่า 5.5 จะพบกิจกรรมของแบคทีเรียและแอกทีโนมัยซีทในดินมาก โดยแอกทีโนมัยซีทสามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนที่ย่อยสลายได้ยากหลายชนิด นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารปฏิชีวนะขึ้นมาเป็นพิษเพื่อยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์อื่นที่มาแย่งทรัพยากรต่างๆ ที่ขาดแคลนในดินอีกด้วย (คณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา, 2548) หากดินมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำพืชจะดูดซับอลูมิเนียมแทนธาตุอาหารที่จำเป็น ส่งผลให้พืชต่างๆ นั้นมีอัตราการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ ให้ผลผลิตต่ำ และสารออกฤทธิ์ภายในมีประสิทธิภาพต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักในดิน

#### 4.3.2.1 ปริมาณไนโตรเจน

จากการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนของตัวอย่างดินด้วยวิธี Kjeldahl method พบว่า ดินจาก จ.นครราชสีมา จ.กรุงเทพฯ มีปริมาณความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดมากกว่าดินจาก จ.เชียงใหม่ โดยมีค่าเท่ากับ  $0.15 \pm 0.04$ ,  $0.15 \pm 0.01$  และ  $0.14 \pm 0.05$  เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมด ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.2 เมื่อทำการประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของไนโตรเจนในดินจากทั้ง 3 พื้นที่พบว่าปริมาณไนโตรเจนอยู่ในระดับต่ำ คือ มีค่าอยู่ในช่วง 0.1–0.3 เปอร์เซ็นต์ หากพืชมีระดับไนโตรเจนต่ำจะส่งผลให้การสังเคราะห์โปรตีนลดลงทำให้ระดับของคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นและสะสมอยู่ในพืชเป็นปริมาณมาก เมื่อมีปริมาณที่สูงมากเกินไปจะส่งผลให้ต้นพืชล้มได้เนื่องจากไนโตรเจนช่วยสร้างแต่โปรโทพลาซึมและแย่งเอาคาร์โบไฮเดรตในส่วนที่ควรจะได้นำไปใช้สร้างเซลล์ลูโลสเสียหมด มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนลำต้นขาดในที่สุด (คณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา, 2548)

#### 4.3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียม

จากการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมด้วยวิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของไอออนที่สกัดได้ โดยใช้เครื่อง Atomic absorption spectrometry (AAS) ในการวิเคราะห์ พบว่าดินจาก จ.นครราชสีมา มีปริมาณโพแทสเซียมมากที่สุด รองลงมาเป็นดินจาก จ.กรุงเทพฯ และดินจาก จ.เชียงใหม่ โดยมีค่าเท่ากับ  $16.67 \pm 0.46 \text{ mg/l}$ ,  $15.35 \pm 0.50 \text{ mg/l}$  และ  $14.45 \pm 2.90 \text{ mg/l}$  ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.2 เมื่อทำการประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของโพแทสเซียมในดินจากทั้ง 3 พื้นที่ที่มีปริมาณโพแทสเซียมอยู่ในระดับต่ำมาก คือมีค่าน้อยกว่า 30 mg/l (บุญแสน, 2547) ปริมาณโพแทสเซียมที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมดมีเพียง 1-2% ของปริมาณโพแทสเซียมในดิน ซึ่งจะอยู่ในส่วนของสารละลายดิน หากมีปริมาณโพแทสเซียมต่ำจะทำให้มีปริมาณแป้งน้อย พบว่ามี reducing sugar มากและมี non-reducing sugar น้อยลง โดยเฉพาะในราก ทำให้ขอบใบชิดกลายเป็นสีน้ำตาลและแห้ง ธัญพืชมักมีเมล็ดลีบ พืชหัวมีแป้งน้อยแต่น้ำมาก (คณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา, 2548)

#### 4.3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสของตัวอย่างดินด้วยวิธี Molybdenum blue method พบว่า ดินจาก จ.นครราชสีมา มีปริมาณฟอสฟอรัสมากที่สุด รองลงมาเป็นดินจาก จ.เชียงใหม่ และดินจาก จ.กรุงเทพฯ โดยมีค่าเท่ากับ  $3.35 \pm 0.65 \text{ mg/kg}$ ,  $3.27 \pm 0.15 \text{ mg/kg}$  และ  $3.10 \pm 0.31 \text{ mg/kg}$  ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.2 ซึ่งความเข้มข้นของไอออนฟอสเฟตในสารละลายดินโดยทั่วไป จะมีค่าต่ำมาก คือ น้อยกว่า 0.1 mg/kg ถ้าหากมีไอออนฟอสเฟตมากกว่า 5 mg/kg จะเกิดปฏิกิริยาผันกลับ คือ เหล็ก ไฮดรอกไซด์หรือ

อะลูมิเนียมฟอสเฟต จะทำปฏิกิริยาจับกับไอออนฟอสเฟตเกิดเป็นเหล็กฟอสเฟตหรืออะลูมิเนียมฟอสเฟต ซึ่งละลายยากขึ้น (คณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา, 2548)

จากการวิเคราะห์ธาตุอาหารหลักภายในดิน พบว่าดินจากทั้ง 3 แหล่งที่มา มีปริมาณธาตุอาหารหลักอยู่ในเกณฑ์ที่ค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้เนื่องมาจากปัจจัยหลายประการ อาทิเช่น ข้อจำกัดในการนำธาตุอาหารมาใช้ประโยชน์ของพืช ภูมิอากาศ การพังทลายของหน้าดิน รวมไปถึงปฏิกิริยาต่างๆ ภายในดินที่เปลี่ยนธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้

#### 4.3.3 การวิเคราะห์หาค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวก

จากการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวกของตัวอย่างดินด้วยวิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของไอออนที่สกัดได้ โดยใช้เครื่อง AAS ในการวิเคราะห์ พบว่าดินจาก จ.นครราชสีมา มีปริมาณการแลกเปลี่ยนไอออนบวกมากที่สุด รองลงมาเป็นดินจาก จ.กรุงเทพฯ และดินจาก จ.เชียงใหม่ มีค่าเท่ากับ  $12.87 \pm 0.11$  cmol/kg,  $12.78 \pm 1.05$  cmol/kg และ  $12.14 \pm 0.35$  cmol/kg ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.2 เมื่อทำการประเมินระดับปริมาณความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนบวกในดินจากทั้ง 3 พื้นที่ที่มีปริมาณอยู่ในระดับต่ำ คือมีค่าอยู่ในช่วง 5-15 cmol/kg (กองวิเคราะห์ดิน, 2553) โดยประจุบวกจะดูดยึดอยู่ที่ผิวของ clay micelle รากพืชสามารถดึงดูดประจุบวกที่เป็นธาตุอาหารได้โดยตรงจากพื้นผิวของ clay micelle หากดินไม่มีอำนาจในการดูดยึดประจุบวกที่เป็นธาตุอาหารพืชจะสูญหายไปจากดิน เนื่องจากดินมีความเป็นประจุลบ ซึ่งมีผลต่อการดูดซับธาตุอาหารส่วนใหญ่ที่มีประจุบวกไว้ให้จุลินทรีย์ได้นำไปใช้ การช่วยดูดซับ  $H^+$  ในสารละลายดิน เป็นการช่วยปรับสมดุล  $H^+$  ไม่ให้เปลี่ยนแปลงเร็วเกินไปช่วยรักษาระดับและช่วยให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี ซึ่งค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวกในดินจะขึ้นอยู่กับชนิดคอลลอยด์ดิน ปริมาณดินเหนียว และอินทรีย์วัตถุ หากมีค่าเหล่านี้สูงจะทำให้มีปริมาณการแลกเปลี่ยนประจุบวกสูงขึ้นเช่นกัน (คณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา, 2548)

จากการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดินที่สำคัญในครั้งนี พบว่า ถึงแม้ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวกจะไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง แต่ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการดูดซึมธาตุอาหารต่างๆ ของพืช ทำให้พืชสามารถดูดซึมธาตุอาหารต่างๆ ได้ดีขึ้น กล่าวโดย ตัวอย่างดินจาก จ.นครราชสีมา มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม เข้าใกล้ความเป็นกลางมากที่สุด เท่ากับ  $6.10 \pm 0.03$  ทำให้จุลินทรีย์ รวมไปถึงสิ่งมีชีวิตต่างๆ ภายในดินสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ช่วยในการดูดซึมธาตุอาหารต่างๆ ของพืช ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตและให้ผลผลิตที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการตรวจค่าพารามิเตอร์ดินจากตัวอย่างดินทั้ง 3 แหล่ง

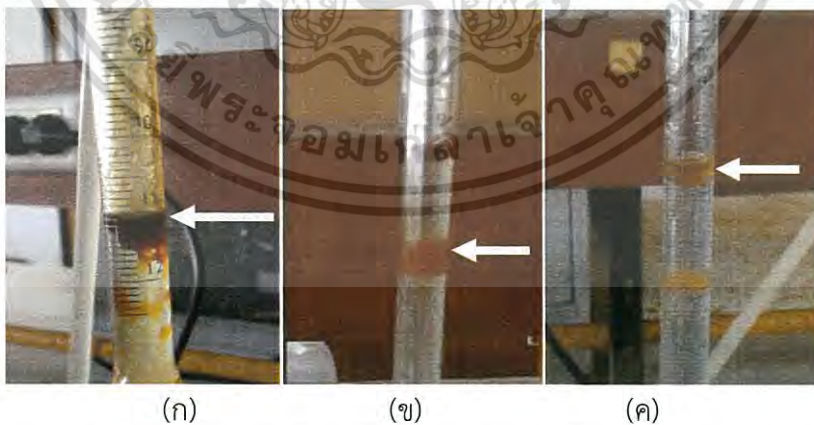
ตัวอย่างดิน	ค่าพารามิเตอร์ดิน				
	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมด (%)	ปริมาณความเข้มข้นของโพแทสเซียม (mg/L)	ปริมาณความเข้มข้นของฟอสฟอรัส (mg/kg)	CEC (cmol/kg)
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	5.88±0.03 <sup>b</sup>	0.15±0.01 <sup>a</sup>	15.35±0.50 <sup>b</sup>	3.10±0.31 <sup>c</sup>	12.78±1.05 <sup>b</sup>
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	5.50±0.05 <sup>c</sup>	0.14±0.05 <sup>b</sup>	14.45±2.90 <sup>c</sup>	3.27±0.15 <sup>b</sup>	12.14±0.35 <sup>c</sup>
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	6.10±0.03 <sup>a</sup>	0.15±0.04 <sup>a</sup>	16.67±0.46 <sup>a</sup>	3.35±0.65 <sup>a</sup>	12.87±0.11 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ )

#### 4.4 ผลการสกัดและผลการศึกษากฎวิธีทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย

##### 4.4.1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียม มีลักษณะที่แตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ โดยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียมของ จ.นครราชสีมา มีลักษณะเป็นของเหลว มีสีน้ำตาลเข้มที่สุด รองลงมาเป็นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียมใน จ.กรุงเทพฯ มีสีน้ำตาลที่อ่อนกว่าเล็กน้อย ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียมใน จ.เชียงใหม่ มีสีน้ำตาลอ่อนที่สุด ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระเทียม

(ก) คือ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระเทียมใน จ.นครราชสีมา

(ข) คือ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระเทียมใน จ.กรุงเทพฯ

(ค) คือ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระเทียมใน จ.เชียงใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากตัวอย่างเหง้ากระเทียมแห้งบด 100 กรัม พบว่าเหง้ากระเทียมจาก จ.นครราชสีมา ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด รองลงมาเป็น จ.กรุงเทพฯ และ จ.เชียงใหม่ โดยมีค่าผลได้ต่อน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 1.41 เปอร์เซ็นต์ 1.21 เปอร์เซ็นต์ และ 0.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แห่ง

แหล่งที่มา	น้ำหนักแห้ง (g)	ปริมาณน้ำมัน หอมระเหย (ml)	ค่าผลได้ (%)
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	100	1.2067	1.2
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	100	0.5542	0.6
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	100	1.4067	1.4

จากตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าค่าผลได้ต่อน้ำหนักแห้ง ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 พื้นที่ มีปริมาณที่ใกล้เคียงกับในงานวิจัยของ Sri และคณะ (2005) ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าของกระเทียมมีค่าผลได้ เท่ากับ 1.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อปริมาณน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ อายุการเก็บเกี่ยว สภาพดินที่ใช้ในการปลูก และธาตุอาหารต่างๆ ในดิน

#### 4.4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

##### 4.4.2.1 ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging

เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระเทียมด้วยน้ำ มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยทำการเจือจางน้ำมันหอมระเหยให้มีความเข้มข้น 12 ระดับ คือ 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400 และ 2600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา, อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 1.49 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism ในการคำนวณ

ตารางที่ 4.4 แสดงค่า IC<sub>50</sub> ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเหง้ากระเทียมของทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ค่า IC <sub>50</sub> (mg/ml)
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	1.99
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	1.49
อ.แก่งสนามนาง จ.นครราชสีมา	1.32

#### 4.4.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมที่ความเข้มข้น  $10^{-3}$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วทำการเปรียบเทียบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $9.174 \pm 1.31$  มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรน้ำมันหอมระเหย รองลงมา คือ น้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา โดยมีค่าเท่ากับ  $7.414 \pm 0.07$  มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรน้ำมันหอมระเหย และน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $5.836 \pm 0.11$  มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรน้ำมันหอมระเหย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/ml essential oil)
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	$9.17 \pm 1.31^a$
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	$5.84 \pm 0.11^c$
อ.แก่งสนามนาง จ.นครราชสีมา	$7.41 \pm 0.07^b$

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ )

จากผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เทียบกับผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า น้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด คือ  $9.27 \pm 1.31$  มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรน้ำมันหอมระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่า น้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา กลับมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ต่ำที่สุด คือ มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวคือ ผลการทดสอบทั้ง 2 วิธี ไม่มีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า จ.กรุงเทพฯ แสดงให้เห็นว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH นั้น มีหลายกลุ่ม มิได้มีเพียงสารในกลุ่มฟีนอลิกเท่านั้นจากรายงานของ Blois (1958), Yakozawa และคณะ (1998) ซึ่งพบสารในกลุ่ม glutathione, cysteine, ascorbic acid, tocopherol, flavonoids, tannin และ aromatic amines (p-phenylenediamine, p-aminophenol) ที่ต้านและลดการเปลี่ยนสีของสาร DPPH โดยปฏิกิริยา Hydrogendonating ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

#### 4.4.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านสารจุลชีพด้วยวิธี Agar Diffusion Test

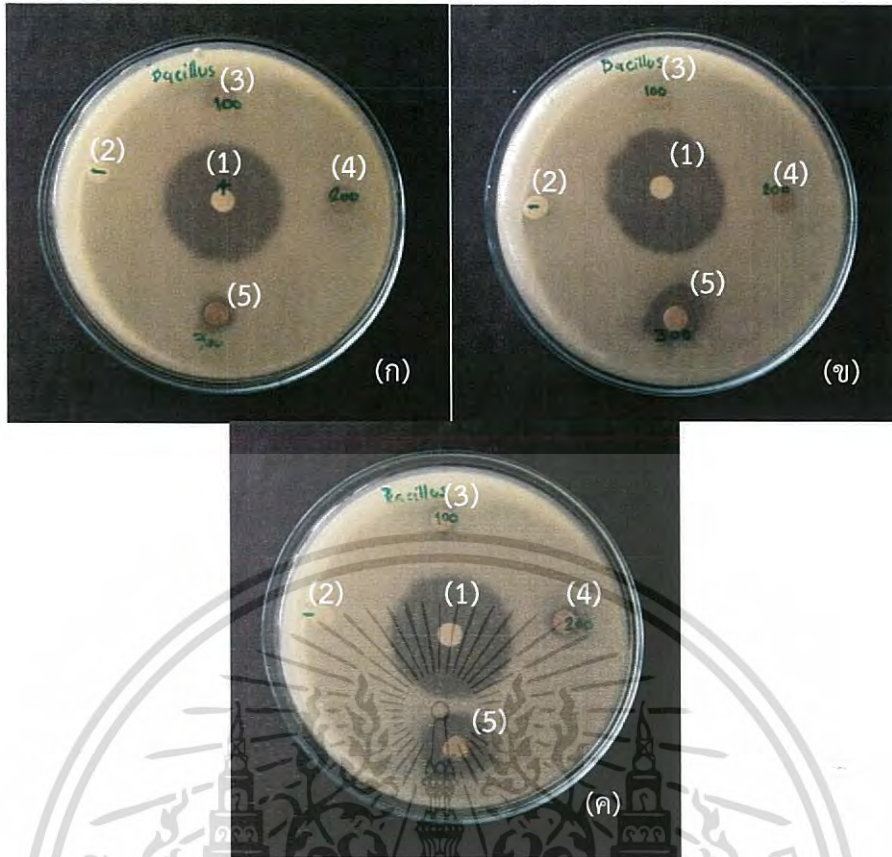
จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 6633 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ด้วยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แห่งโดยวิธี Agar Diffusion Test แล้ววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์รอบแผ่นดิสก์ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แห่ง มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 และ *M. luteus* ATCC 6633 ในขณะที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ดังรูปที่ 4.6 และ 4.7

สำหรับความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหย ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ นั้น มีบริเวณการยับยั้งที่กว้างที่สุด รองลงมาเป็นน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา และ จ.กรุงเทพฯ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 10.06, 8.37 และ 4.21 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ ที่ความเข้มข้น 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เท่ากับ 3.15 และ 2.39 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา และ กรุงเทพฯ ไม่สามารถยับยั้งได้ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าว (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหย จาก 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ความเข้มข้นของ น้ำมันหอมระเหย ( $\mu\text{g/ml}$ )	ขนาด clear zone (mm)
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	300	4.21
	200	-
	100	-
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	300	10.06
	200	3.15
	100	2.39
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	300	8.37
	200	-
	100	-
Tetracycline	1	24.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม ทั้ง 3 แหล่ง โดยใช้วิธี Agar Diffusion Test (ก) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ (ข) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ (ค) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา

(หมายเลข) แสดงตำแหน่งของความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบ ดังนี้

- (1) positive control : ยาปฏิชีวนะ tetracycline ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (2) negative control : เอทานอล
- (3) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (4) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (5) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

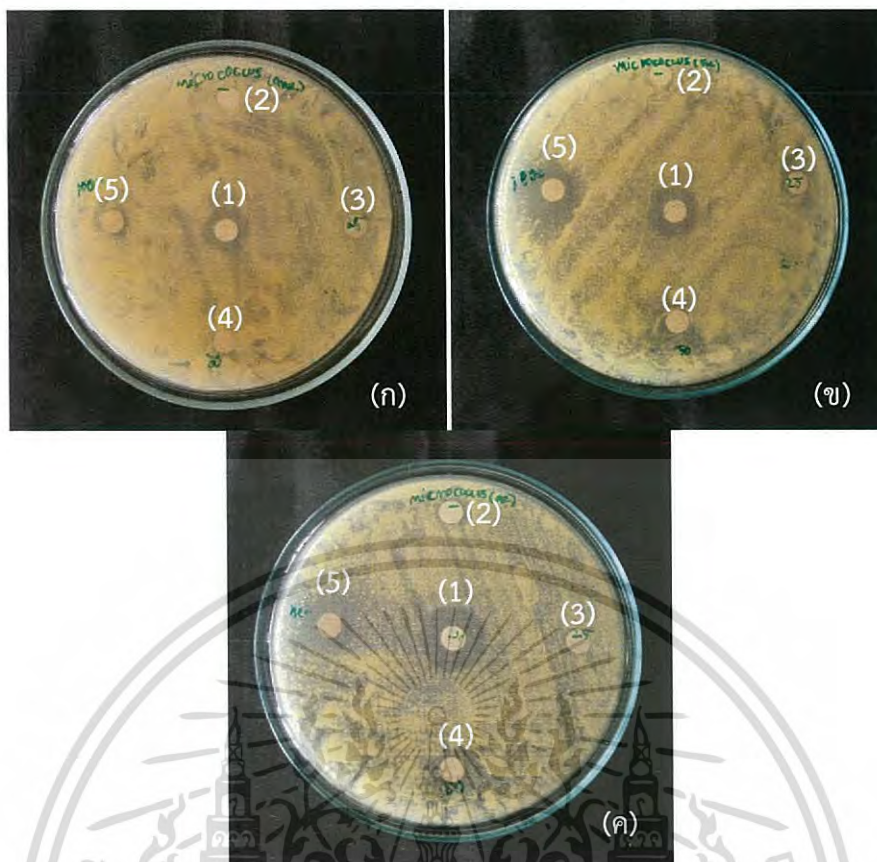
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในตารางที่ 4.7 พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระทือ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* ATCC 6633 ได้เช่นกัน สังเกตจากบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญรอบแผ่นดิสก์ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* ATCC 6633 เท่ากันทั้ง 3 แหล่ง คือ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า น้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อกว้างที่สุด เท่ากับ 9.53 มิลลิเมตร รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา และ กรุงเทพฯ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เท่ากับ 5.30 และ 1.08 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหย จาก 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ความเข้มข้นของ น้ำมันหอมระเหย ( $\mu\text{g/ml}$ )	ขนาด clear zone (mm)
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	100	1.08
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	100	9.53
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	100	5.30
Tetracycline	0.25	6.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

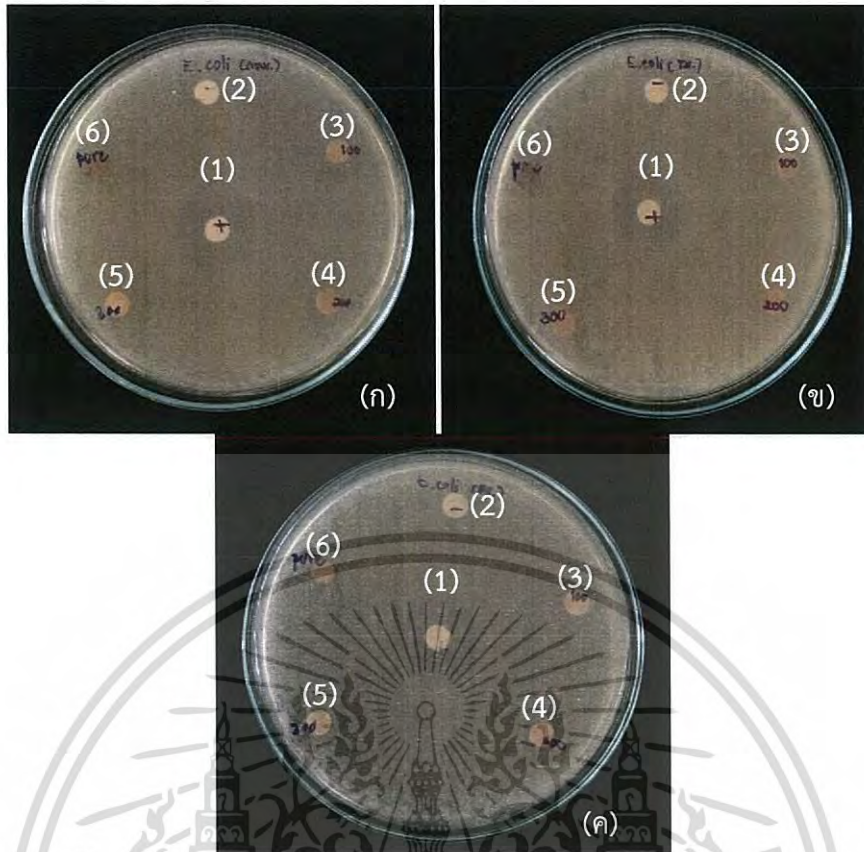


รูปที่ 4.5 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* ATCC 6633 ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม ทั้ง 3 แหล่ง โดยใช้วิธี Agar Diffusion Test (ก) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ (ข) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ (ค) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา

(หมายเลข) แสดงตำแหน่งของความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบ ดังนี้

- (1) positive control : ยาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (2) negative control : เอทานอล
- (3) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (4) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (5) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สำหรับการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่งไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้ ถึงแม้ว่าในการทดสอบจะใช้น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นเริ่มต้นจากการสกัดก็ตาม แสดงในรูปที่ 4.6 และ 4.7 ตามลำดับ

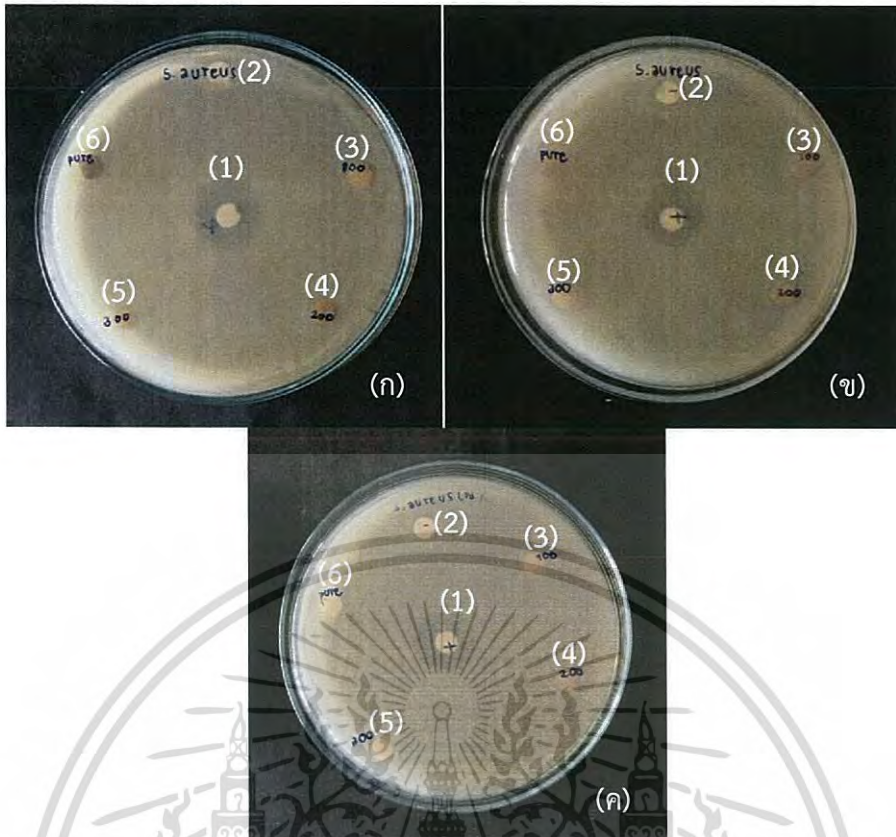


รูปที่ 4.6 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม ทั้ง 3 แหล่ง โดยใช้วิธี Agar Diffusion Test (ก) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ (ข) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ (ค) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา

(หมายเลข) แสดงตำแหน่งของความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบ ดังนี้

- (1) positive control : ยาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (2) negative control : เอทานอล
- (3) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (4) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (5) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (6) น้ำมันหอมระเหยที่ไม่ได้ทำการเจือจาง (pure)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Straphylococcus aureus* ATCC 25923 ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระทือ ทั้ง 3 แหล่ง โดยใช้วิธี Agar Diffusion Test (ก) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ (ข) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ (ค) ผลการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา

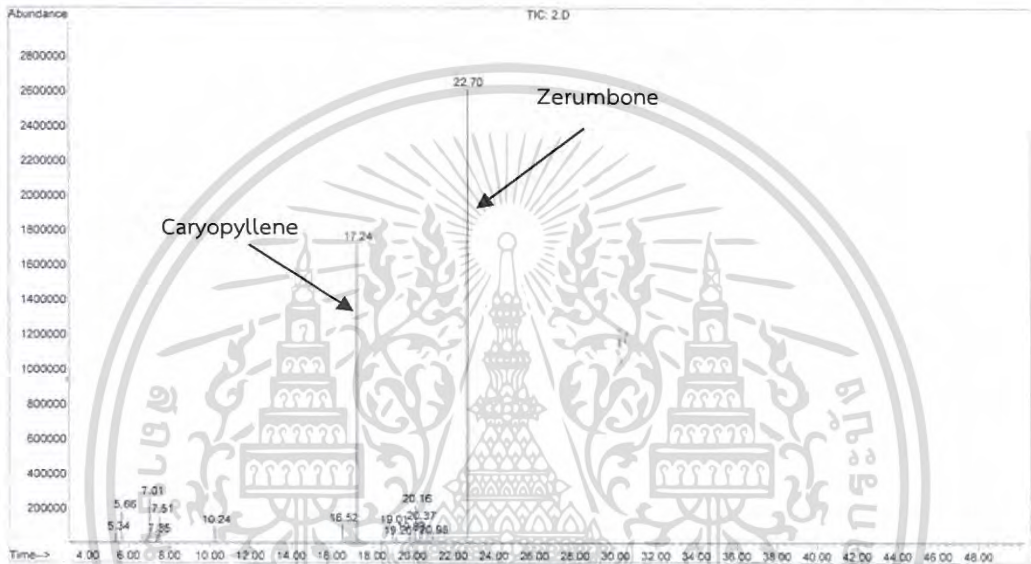
(หมายเลข) แสดงตำแหน่งของความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบ ดังนี้

- (1) positive control : ยาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (2) negative control : เอทานอล
- (3) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (4) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (5) น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- (6) น้ำมันหอมระเหยที่ไม่ได้ทำการเจือจาง (pure)

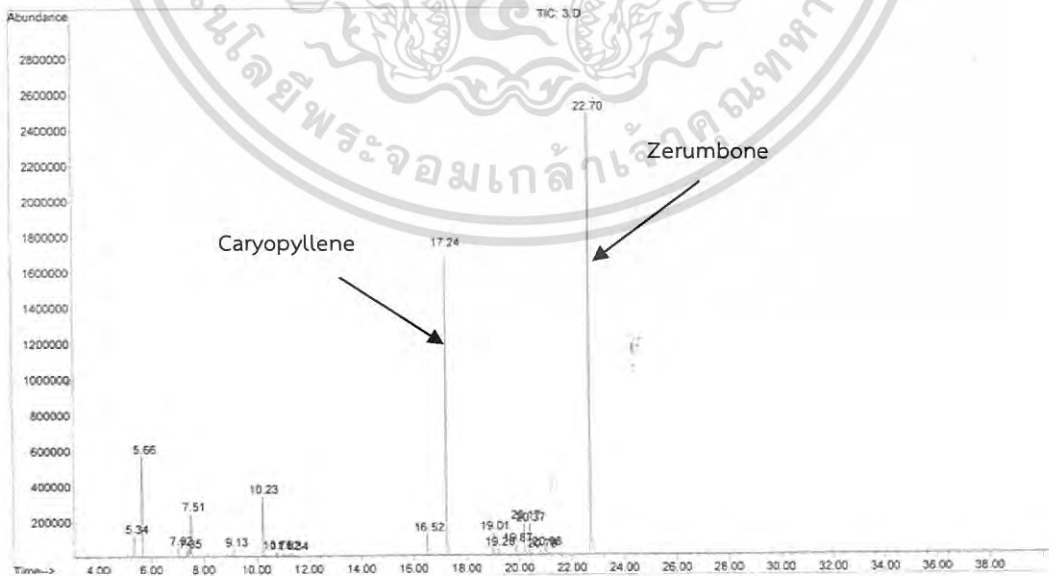
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 ผลการศึกษาสารองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

จากการศึกษาองค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่อง GC-MS โดยอาศัย Mass fragmentation ของ MS โดยเทียบกับฐานข้อมูล พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียมของ จ.กรุงเทพฯ และ จ.นครราชสีมา มีสารองค์ประกอบหลักเหมือนกัน ได้แก่ Caryophyllene และ Zerumbone โดยให้ retention time ในนาที่ที่ 17.24 และ 22.70 ตามลำดับ แสดงใน chromatogram ดังรูปที่ 4.10 และ 4.11 ขณะที่น้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ พบสารองค์ประกอบหลักถึง 3 ชนิด ด้วยกัน ได้แก่ Terpinen-4-ol, Caryophyllene และ Zerumbone โดยให้ retention time ในนาที่ที่ 11.01, 17.23 และ 22.70 ตามลำดับ แสดงใน chromatogram ดังรูปที่ 4.12

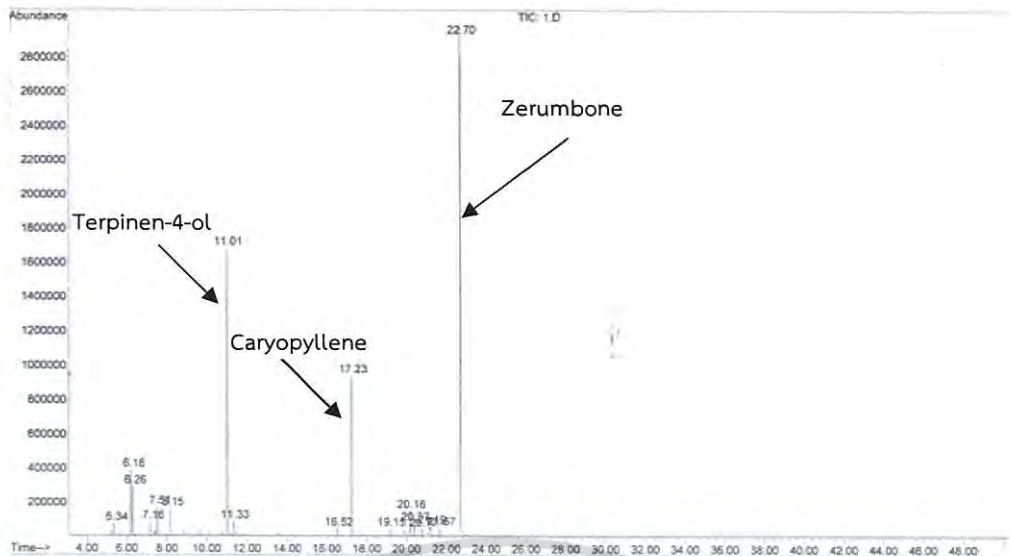


รูปที่ 4.8 แสดงผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ



รูปที่ 4.9 แสดงผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดงผลการวิเคราะห์สารองค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่

พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก เขตมินบุรี จ.กรุงเทพฯ พบสาร Zerumbone 46.37% และ Caryophyllene 28.01% น้ำมันหอมระเหยจาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา พบสาร Zerumbone 39.09% และ Caryophyllene 25.81% น้ำมันหอมระเหยจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ พบสาร Zerumbone 45.38%, Caryophyllene 11.44% และ Terpinen-4-ol 20.75% ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงองค์ประกอบหลักที่สำคัญในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียม

ชื่อสาร	สูตรโครงสร้าง*	เขตมินบุรี จ.กรุงเทพฯ	อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	อ.เมือง จ.เชียงใหม่
Zerumbone		46.37%	39.09%	45.38%
Caryophyllene		28.01%	25.81%	11.44%
Terpinen-4-ol		-	-	20.75%

ที่มา : \* Zerumbone : Heyam และคณะ, 2015, Caryophyllene : Park และคณะ, 2011, Terpinen-4-ol : Yi, 2014

จากตารางที่ 4.8 สารองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม จากงานวิจัยของ Heyam และคณะ (2015) พบว่า สาร Zerumbone มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและสามารถเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งไม่มีความสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูง แต่พบว่ามีสารองค์ประกอบหลัก Zerumbone เป็นสารประกอบหลักที่พบอีกชนิดหนึ่ง คือ Caryophyllene ในงานวิจัยของ Bhatia (2008) กล่าวว่า Caryophyllene เป็นสารที่ก่อให้เกิดกลิ่นฉุนในน้ำมันหอมระเหย และมีฤทธิ์ในการต้านโรคพิษสุราเรื้อรัง, ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท และช่วยรักษาอาการปวด มีการนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารได้เนื่องจากไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต จึงเป็นเหตุให้น้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมมีกลิ่นค่อนข้างแรง

นอกจากนี้ยังมี Terpinen-4-ol สารองค์ประกอบหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ เท่านั้น ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด มีความสอดคล้องกับผลจากงานวิจัยของ Singh และคณะ (2014) ที่ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของสารสกัดหยาบจากเหง้ากระเทียมและพบว่าสาร Terpinen-4-ol มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เช่นกัน



## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยของตัวอย่างเหง้ากระเทียมอบแห้ง 100 กรัม พบว่าตัวอย่างจาก จ.นครราชสีมา ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด รองลงมาเป็นตัวอย่างจาก จ.กรุงเทพฯ และ จ.เชียงใหม่ โดยมีเปอร์เซ็นต์ผลได้ เท่ากับ 1.41 เปอร์เซ็นต์ 1.21 เปอร์เซ็นต์ และ 0.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในส่วนของการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดินพบว่าดินจาก จ.นครราชสีมา มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณโพแทสเซียม ปริมาณฟอสฟอรัส รวมไปถึงการแลกเปลี่ยนประจุบวกในดินสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังนี้คือ  $6.10 \pm 0.03$ ,  $0.15 \pm 0.03$  เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมด,  $16.50 \pm 0.27$  mg/L,  $3.35 \pm 0.65$  mg/kg และ  $13.28 \pm 0.77$  cmol/kg ตามลำดับ รองลงมาเป็นตัวอย่างดินจาก จ.กรุงเทพฯ และ จ.เชียงใหม่

ในการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจาก จ. นครราชสีมา มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดโดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็น จ.กรุงเทพฯ และ จ.เชียงใหม่ โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.49 และ 1.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) จากการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมด พบว่า ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด รองลงมาเป็น จ.นครราชสีมา และ จ.เชียงใหม่ มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ  $9.17 \pm 1.31$ ,  $7.41 \pm 0.07$  และ  $5.84 \pm 0.11$  มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรน้ำมันหอมระเหย ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ในส่วนของการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 4 ชนิด พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* ATCC 6633 และ *B. subtilis* ATCC 6633 ดีที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ เท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกันน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา และ จ.กรุงเทพฯ โดยน้ำมันหอมระเหยจาก จ.กรุงเทพฯ จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อต่ำที่สุด แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจาก จ.นครราชสีมา และ จ.กรุงเทพฯ พบองค์ประกอบหลักที่เหมือนกัน ได้แก่ Zerumbone และ Caryophyllene ในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนี้ จ.นครราชสีมา พบ Zerumbone 39.09% Caryophyllene 25.81% ในขณะที่ จ.กรุงเทพฯ พบ Zerumbone

46.37% Caryophyllene 28.01% ในส่วนของน้ำมันหอมระเหยจาก จ.เชียงใหม่ พบ Zerumbone 39.09% Caryophyllene 25.81% ไม่ว่างกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

45.38% Terpinen 20.75% และ Caryophyllene 11.44% จากผลการศึกษาค้างนี้แสดงให้เห็นว่าค่าพารามิเตอร์ดินเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระตือในกรณีด้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้เป็นเพียงผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับค่าพารามิเตอร์ดินที่มีผลต่อประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระตือในบางจังหวัดเท่านั้น ซึ่งผลที่ได้อาจมีความแตกต่างกับผลการศึกษาที่ศึกษาจากจังหวัดอื่น ๆ ดังนั้นจึงควรศึกษากลุ่มตัวอย่างให้ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น

การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ ควรเพิ่มวิธีการทดสอบ เพื่อให้ทราบถึงสารออกฤทธิ์ที่มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น เช่น การทดสอบด้วยวิธี FRAP และ ORAC เป็นต้น

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ควรเพิ่มตัวอย่างจุลินทรีย์กลุ่มแกรมบวกและแกรมลบให้หลากหลายมากขึ้น เพื่อให้ทราบถึงผลของประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคว่าสามารถยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มแกรมบวก หรือ แกรมลบได้



## เอกสารอ้างอิง

กัญจนา ติวิเศษ และอร่าม คุ่มกลาง. 2542. ผักพื้นบ้านภาคอีสาน. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การ  
สงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

เกษมศรี ชับซ้อน. 2541. ปฐพีวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: นานาส์พิมพ์.

ก่องกานดา ชยามฤต และลีนา ผู้พัฒนาพงศ์. 2545. สมุนไพรไทย ตอนที่ 7. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์  
ประชาชน จำกัด.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2541. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ :  
เรื่องธรรมการพิมพ์.

นฤมล น้อยหอย. 2551. “ผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดและการแปรรูปต่อคุณสมบัติการต้าน  
ออกซิเดชันและสารประกอบกลุ่มไตรเทอร์ปีนในใบบัวบก.” วิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นิธยา รัตนานนท์ และประสงค์ ศิริวงศ์วิไลชาติ “การพัฒนาสารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อใช้ในการ  
ยืดอายุผลิตภัณฑ์อาหาร” ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี  
อุตสาหกรรม บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี. 2545. การผลิตสมุนไพรและเครื่องเทศ. กรมส่งเสริมการเกษตร(การกลั่น  
ด้วยน้ำ).

ประสาทร บิริสุทธิเพ็ชร, พิทัย กาญจนบุตร และสาธิต พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. “การทดสอบฤทธิ์ต้าน  
เชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ.” ในการประชุมทางวิชาการสัตวแพทยศาสตร์  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น ครั้งที่ 9 คณะสัตวแพทยศาสตร์. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปราณอม ธรรมศิริ. 2555. “การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการ  
ต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบยาตองและยาตองเห่า.” ศูนย์วิทยาศาสตร์ศึกษา  
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

พิสิษฐ์ สิ้นฐานิช. 2557. “แนวทางการวางระบบการพัฒนาที่ดินที่มีปัญหาทางการเกษตรของภาค  
ตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย.” กรุงเทพฯ : กรมพัฒนาที่ดิน. เอกสารอัดสำเนา

ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. 2549. “ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีน  
อลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.” วารสารวิชาการ.อบ. 8(2) : 76-88.

ลักขณา เจริญใจ, วิภาวี เสาทิน และปรีชา บุญจุง. 2556. “การศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันระเหย  
ง่ายจากเหง้าขิงสดและแคปซูลขิงในประเทศไทย.” วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน; 9(1) : 52-63.

วรยุทธ์ ยอดบุญ, ประเวทย์ ต้อยเต็มวงศ์ และชมณี ต้อยเต็มวงศ์. 2555. “ผลของสารสกัดสมุนไพรใน  
การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร.” หน้า 228-237. ใน การประชุมทางวิชาการของ  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50 สาขาวิทยาศาสตร์, สาขาทรัพยากรธรรมชาติและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มอนูญาตให้หน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วาริรัตน์ หนูหิต. 2557. “การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศิวาพร ศิวาเวช. 2542. “การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร.” ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรสิทธิ์ วัชรโรทยาน และทัศนีย์ อัดตะนันท์. 2537. “ชุดตรวจสอบกรด-ด่างของดินวัดได้ละเอียดกว่าของนอก.” *โลกธุรกิจรายสัปดาห์*, 2(66) : 28-29.

สรสิทธิ์ วัชรโรทยาน, วิโรจ อิมพิทักษ์, ทัศนีย์ อัดตะนันท์, ชัยฤกษ์ สุวรรณรัตน์, สุเทพ ทองแพ, พงษ์สันต์ สีจันทร์, ขวลิต ฮงประยูร และ ปรีเนียม ทองแพ. 2533. *คู่มือปฏิบัติการวิชาปฐพีวิทยาเบื้องต้นโดยใช้ระบบโสตทัศนูปกรณ์*. พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพฯ. ชวนพิมพ์. น.47-100

สัณห์ลักษณ์ สำรวย. 2551. “การประมาณเวลาการเสียชีวิตของศพจากระดับโซเดียมโพแทสเซียมและคลอไรด์ในเลือด.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สาธิต อินตะ. 2557. “การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารกลุ่มโพลีฟีนอลในสารสกัดที่เป็นน้ำ, เอทานอล, อะซิโตนไตรล ของสมุนไพรรตริผลา ด้วยเทคนิค HPLC” วิทยานิพนธ์ วิทยาศาตรบัณฑิต (รังสีเทคนิค), มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สุดสายชล หอมทอง, นพวัฒน์ ภูคำ, วาทีณี พิทักษ์พงศ์, ฐิติพรรณ บางบำรุง และณัฐพร เกตุรัตน์มาลี. 2554. “การแพร่กระจายของ *Staphylococcus aureus* ในผลไม้พร้อมบริโภคบริเวณอำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี”. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*

สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน. 2555. การเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์สำหรับการปลูกพืช. อรวรรณ กริ่งเกษมศรี. 2555. “ปริมาณสารโพลีฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเมล็ดของผลไม้ไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อัญชญา เจนวิถีสุข. 2544. “การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรรไทย.” วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Ahmad, B., Rehman, M.U., Amin, I., Arif, A., Rasool, S., Bhat, S.A., Afzal, I. Hussain, I., Bilal, S. and Mir, M.R. 2015. “A Review on Pharmacological Properties of Zingerone 4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone)”. Molecular Biology Lab, Division of Veterinary Biochemistry, Faculty of Veterinary Sciences & Animal Husbandry, Sher-e-Kashmir University of Agricultural Science & Technology (SKUAST-K), India

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Bhatia, SP., Letizia, CS. and Api, AM. 2008. Fragrance material review on beta-Caryophyllene alcohol. *Food Chem Toxicol.* Nov;46 Suppl 11:595-6. doi: 10.1016/j.fct.2008.06.030. Epub Jul 1.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable from radical. 461-7: 1199-1208.
- Bonina, F., Puglia, C., Tomaina, A., Mulinacci, N., Romani, A. and Vincier, F. F. 2000. *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effect of three lyophilized extracts of *Sedum telephium* L. leaves *J. Pharm. Pharmacol.*, 52: 1279-1285.
- Calo, J.R., Crandall, P.G., Corliss, A., O'Bryan and Ricke, S.C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food system. Department of Food Science University of Arkansas Fayetteville, AR, USA.
- Chhabra, N.P., Dhillon, R.S., Wadia, M.S. and Kalsi, P.S. 1975. "Structure of zerumbone oxide: A new sesquiterpene epoxy ketone from *Zingiber zerumbet* Smith (wild ginger oil)". *Indian J Chem.* 13 :222-24.
- Dae, O.K., Ki, W.L., Hyong, J. L. and Chang, Y. L. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals *J. Agric. Food Chem.*, 50:3713-3717.
- Fujii, R. "The complexing and adsorption of cadmium in soils in the presence of EDTA and NTA." 1978 :2-11.
- Gordon, M.H. 2001. Measuring antioxidant activity. In: Pokorný J, Yanishlieva, N., Gordon, M. editors. *Antioxidants in food: practical application*. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. P73-84.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, S.T. and Heinonen, M. 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 47: 3954-3962.
- Kabuto, H., Nishizawa, M., Tada, M., Higashio, C., Shishibori, T. and Kohno, M. 2005. Zingerone [4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression in mouse striatum and increases superoxide scavenging activity in serum. *Neurochem Res.* Mar;30(3):325-32.

- Halliwel, B. 1997. "Antioxidants and human disease : A general introduction." Nutrition Review. 55 :S44-S52
- Halliwel, B. 1999." Food-derived antioxidants. Evaluating their importance in food and in vivo." Food Science and Arricultural Chemistry 18:1-29.
- Hammer, K. A., Carson, C. F. and Riley, T. V. 2012. "Effects of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Essential Oil and the Major Monoterpene Component Terpinen-4-ol on the Development of Single- and Multistep Antibiotic Resistance and Antimicrobial Susceptibility". Antimicrobial Agents and Chemotherapy 56 (2): 909–915.
- Labieniec, M. and Gabryelak, T. 2003. Image of Chemistry structure gallic acid. (Accessed 5<sup>th</sup> January 2013).
- Lal, R. 2002. Encyclopedia of soil science. USA.
- Lan, Y.,Li, H.,Chen,Y.,Zhang, Y.,Liu, N.,Zhang, Q. and Wu Q. 2009. "Essential oil from Zanthoxylum bungeanum Maximand its main components used as transdermal penetration enhancers : a comparative study." School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, China.
- Le, P.C.G., Hunghe, L.F. and Miler, J.M. 2007. Free radical scavengers vitamin A, C and E plus magnesium reduce noise trauma. *Free Radic. Biol. Med.* 42, 1454-1463.
- Mc Guinness, H. (2003). Aromatherapy therapy basics. 2<sup>nd</sup> ed., London : Hodder & Stoughton.
- Malek, S.N.A., Ibrahim, H.,Lai, H.S.,Serm, L.G.,Seng, C.K.,Yusoff, M.M. and Ali, N.A. 2005. "Essential Oils of *Zingiber ottensii* Valet. And *Zingiber zerumbet* (L.) Sm. From Sabah Malaysia." *Malaysian Journal of Science* 24: 49-58.
- McGuinness, H. (2003). Aromatherapy therapy basics. 2<sup>nd</sup> ed., London : Hodder & Stoughton.
- Morimoto,Y. and Shibata, Y. 2010. Effects of various fragrant ingredients on desmopressin-induced fluid retention in mice. *Yakugaku Zasshi.* Jul;130(7):983-7.
- Mukherjee, D.,Singh, C.B.,Dey, S.,Mandal, S.,Ghosh, J.,Mallick, S.,Hussain, A.,Swapana, N.,Ross, S.A. andPal, C. 2016. "Induction of apoptosis by zerumbone isolated

from *Zingiber zerumbet* (L.) Smith in protozoan parasite *Leishmania donovani* due to oxidative stress.”

- Nag, A., Bandyopadhyay, M. and Mukherjee, A. 2013. “Antioxidant Activities and Cytotoxicity of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith Rhizome.” *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2(3) : 102-108.
- Park, K.R., Nam, D., Yun, H.M., Lee, S.G., Jang, H.J., Sethi, G., Cho, S.K. and Ahn, K.S. Cancer Letters. 2011.  $\beta$ -Caryophyllene oxide inhibits growth and induces apoptosis through the suppression of PI3K/AKT/mTOR/S6K1 pathways and ROS-mediated MAPKs activation.
- Prats, SM. and Jimenez, A. 2005. Essential oil : analysis by GC. Edited by Cazes, J. In Encyclopedia of chromatography. 2nd ed., CRC Press.
- Richard, K., Robinson, C.A. and Batt, P.P. 2000. Encyclopedia of Microbiology
- Scott, D.A. 2005. “Antioxidant Properties of 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid”, *Cosmetics and Toiletries*, Vol. 91
- Shi, L.E., Zhang, Z.L., Xing, L.Y., Yang, D.D., Guo, Y.P., Guo, X.F., Zhao, L.M. and Tang, Z.X. 2010. Antioxidants extraction by supercritical CO<sub>2</sub>. College of life and Environment Science, Hangzhou Normal University, Hangzhou, Zhejiang, China
- Sidahmed, H.M.A., Hashim, N.M., Abdulla, M.A., Ali, H.M., Mohan, S., Abdelwahab, S.M., Taha, M.E., Fai, L.M. and Vadivelu, J. 2015. “Antisecretory, Gastroprotective, Antioxidant and Anti-Helicobacter Pylori Activity of Zerumbone from *Zingiber Zerumbet* (L.) Smith.” Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Singh, C.B., Chanu, S.B., Kh, L., Swapana, N., Cantrell, C. and Ross, S.A. 2014. “Chemical composition and biological activity of the essential oil of rhizome of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith.” *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 3(3): 130-133.
- Tarek, N., Hassan H.M., Sameh M.M., Ghani, A., Radwan, I.A., Hammouda, O. and Ahmed, O.E. 2014. “Comparative chemical and antimicrobial study of nine essential oils obtained from medicinal plants growing in Egypt.” *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 3(2) :149–156.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Tao, Y., Li, W., Liang, W. and Breemen, R.B.V. 2010. "Identification and Quantification of Gingerols and Related Compounds in Ginger Dietary Supplements Using High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry." Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy University of Illinois College of Pharmacy 833 S Wood St. Chicago, IL USA
- Ward Chesworth. 2008. Encyclopedia of soil science. USA.
- Yokozawa, T., Chen, C.P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka, G.I. and I, Nishioka. 1998. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem. Pharmacol.* 56: 215-222.
- Young, M., Artsatbanov, V., Beller, H.R., Chandra, G., Chater, K.F., Dover, L.G., Goh, E.B., Kahan, T., Kaprelyants, A.S., Kyrpides, N., Lapidus, A., Lowry, S.R., Lykidis, A., Mahillon, J., Markowitz, V., Mavromatis, K., Mukamolova, G.V., Oren, A., Rokem, J.S., Smith, M.C., Young, D.I. and Greenblatt, C.L. 2010. "Genome sequence of the Fleming strain of *Micrococcus luteus*, a simple free-living actinobacterium". *Journal of Bacteriology* 192 (3): 841-860.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### สูตรอาหาร Nutrien agar (NA)

Beef extract	3.00	กรัม
Peptone	5.00	กรัม
NaCl	15.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม
Distilled Water	1,000	มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งสารตามปริมาณอาหารที่ต้องการ
2. ละลายส่วนประกอบต่างๆในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตรโดยให้ละลายอุ่นก่อนแล้วจึงใส่ส่วนประกอบอื่นๆคนให้ละลาย ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร แล้วต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
3. เมื่อเตรียมอาหารเสร็จแล้วให้นำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

#### สูตรอาหาร Mueller Hitton Agar (MHA)

Mueller Hitton Agar (MHA) เป็นอาหารสำเร็จรูปปริมาตรที่ใช้คือ 38 กรัม ต่อปริมาตรน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย

Beef, infusion form	300	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Casein acid hydrolyate	17.5	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled Water	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH 7.3 ± 0.2

เตรียมโดยทำการชั่งอาหาร 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตรจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมสารละลายเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic) (Kahkonen และคณะ, 1999)  
การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน โดยมีหลักการ คือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

#### 1.1 สารเคมี

1.1.1 Folin-Ciocalteu reagent

1.1.2 โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{NaCO}_3$ ) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์

1.1.3 สารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น

#### 1.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้นเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2.2 นำมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 20 40 60 80 100 120 และ 140

ตามลำดับ

1.2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 300

ไมโครลิตร

1.2.4 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

1.2.5 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ผสม

ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มืด

1.2.6 นำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

1.2.7 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณแกลลิกในหน่วย

ไมโครกรัม

## ภาคผนวก ข (ต่อ)

### 2. การวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay (Bonina และคณะ, 2000)

1. เตรียมสารละลายตัวอย่างในเอทานอลโดยกำหนดให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น เท่ากับ 2600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางโดยลดความเข้มข้นลงให้มีความเข้มข้น ดังนี้ 2,400 2,200 2,000 1,800 1,600 1,400 1,200 1,000 800 600 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2. เตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol โดยการชั่งสาร DPPH จำนวน 0.004 กรัม นำไปละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0.2 ไมโครกรัมต่อไมโครโมล เก็บใส่ขวด Duran ท่อด้วยอลูมิเนียมฟอล์ยและเก็บสารละลายในที่ปลอดภัย ควรเตรียมสารละลาย DPPH ใหม่ทุกครั้ง ไม่ควรเตรียมทิ้งไว้

3. การเตรียมสารละลายวิตามินซี เตรียมสารละลายวิตามินซีโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย เตรียมได้จากการทำ Stock Solution เริ่มจากการชั่งวิตามินซีปริมาณ 0.001 กรัม เตรียมที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเป็น 100 40 20 10 5 2.5 1.25 และ 0.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

### 3. การวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดิน

ในการตรวจค่าพารามิเตอร์ดิน จะทำการตรวจค่าพารามิเตอร์ดินที่เกี่ยวข้องทั้งหมด 5 ค่า คือ ค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน, ปริมาณไนโตรเจนในดิน, ปริมาณโพแทสเซียมในดิน, ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน และการแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน

#### 3.1 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในดิน (ดัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

##### 3.1.2 สารเคมีและการเตรียม

1. กรด  $H_2SO_4$  เข้มข้น (98%) LR grade
2. Mixed catalyst : ผสม  $K_2SO_4$  :  $CuSO_4$  : Se ในอัตราส่วน 100 : 10 : 1 กรัม
3. Mixed indicator : เตรียมโดยละลาย methyl red 0.066 กรัม bromocresol green 0.099 กรัม ใน 95% ethanol ประมาณ 80 มิลลิลิตร ปรับสีของอินดิเคเตอร์ให้เป็นสีเขียวด้วย 0.1 M NaOH แล้วเติม 95% ethanol จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายกรดบอริกและอินดิเคเตอร์ : เตรียมโดยละลาย  $H_3BO_3$  60 กรัม ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 1800 มิลลิลิตร ใน erlenmeyer flask ขนาด 2000 มิลลิลิตร คนด้วยเครื่องคนแม่เหล็กจน  $H_3BO_3$  ละลายหมด เติมอินดิเคเตอร์ผสมใน ข้อ 3 ลงไป 2.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 2000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข (ต่อ)

5. สารละลาย 40% NaOH : ใส่น้ำกลั่นประมาณ 1800 มิลลิลิตร ลงใน ปีกเกอร์ขนาด 2000 มิลลิลิตร นำไปวางในอ่างน้ำเย็น เพื่อช่วยระบายความร้อน เติม NaOH ลงไป ครั้งละ 5-10 กรัม พร้อมทั้งคบให้สารละลายหมดก่อนจึงเติมเพิ่มลงไปใหม่จนครบ 800 กรัม ทิ้งไว้ให้ เย็นจึงเติมน้ำกลั่นเพิ่มจนสารละลายมีปริมาตรรวมเป็น 2000 มิลลิลิตร

6. สารละลายกรด HCl : เตรียมโดยปิเปตกรด HCl เข้มข้น (37% ความหนาแน่น  $1.19 \text{ g/cm}^3$ ) 4.14 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 2000 มิลลิลิตร แล้วปรับ ปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายกรดความเข้มข้น 0.025 M

7. สารละลายมาตรฐาน tris-(hydroxymethyl) amino methane : เตรียม โดยนำสารดังกล่าวไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงเพื่อไล่ความชื้น จากนั้นทิ้ง ให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้น ซึ่ง tris-(hydroxymethyl) amino methane มา 0.3028 กรัม ละลาย ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

### 3.2 การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมในดิน (ดัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

#### 3.2.1 สารเคมีและการเตรียม

1. สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตต : เตรียมโดยเจือจาง glacial acetic acid 115 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปริมาตรประมาณ 1600 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$  Solution : 25%) ลงไป 140 มิลลิลิตร คนสารละลายด้วยเครื่องคนแม่เหล็ก ปล่อยให้ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิของ สารละลายลดลงใกล้อุณหภูมิห้องปรับ pH เป็น 7.0 ด้วยสารละลายเจือจางของกรดอะซิติก หรือ แอมโมเนีย แล้วปรับปริมาตรสารละลายเป็น 2 มิลลิลิตร

2. สารละลายมาตรฐาน K (Stock Standard Solution) : เตรียมจาก KCl (AR grade) โดยนำสารนี้ไปอบที่อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้ เย็นในโถแก้วดูดความชื้น ซึ่งสารนี้มีมา 1.9067 กรัม ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายซึ่งมีความเข้มข้น  $1000 \text{ mg-K/dm}^3$  เก็บสารละลายนี้ในที่มืด

## ภาคผนวก ข (ต่อ)

### 3.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน (ดัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

#### 3.3.1 สารเคมีและการเตรียม

1. สารละลาย ammonium molybdate : เตรียมโดยละลาย  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (AR grade) 15 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร และกรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เข้มข้น 140 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา
2. สารละลาย antimony potassium ttrate : เตรียมโดยละลาย  $\text{KSbO} \cdot \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$  (AR grade) 0.50 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร
3. สารละลายกรดบอริก : เตรียมโดยละลาย  $\text{H}_3\text{BO}_3$  24.73 กรัม ในน้ำร้อน ประมาณ 350 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร
4. สารละลาย Color reagent : เตรียมโดยผสมสารละลาย ammonium molybdate 30 มิลลิลิตร, antimony potassium ttrate 30 มิลลิลิตร, กรดบอริก 90 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดพลาสติก
5. สารละลายกรด Ascobic : เตรียมโดยละลายกรด ascorbic (AR grade) 2.50 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้ไม่ควรเก็บไว้ใช้เกิน 2 วัน
6. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต : เตรียมโดยนำสาร  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ไปอบที่ อุณหภูมิ 100-110 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถแก้ว ดูดความชื้น ชั่งสารนี้ 0.4394 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรเก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดพลาสติก และควรเก็บไว้ในที่มืดหากต้องการเตรียมเพื่อใช้เป็นเวลานาน สารละลายนี้มีความเข้มข้น 100 mg-P/L
7. สารละลาย Bray No.2 : เตรียมโดยละลาย  $\text{NH}_4\text{F}$  (AR grade) 1.11 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรด HCl เข้มข้น (37 %w/w) ลงไป 8.1  $\text{cm}^3$  แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

### 3.4 การวิเคราะห์การแลกเปลี่ยนไอออนในดิน (ดัดแปลงจาก สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

#### 3.4.1 สารเคมีและการเตรียม

1. สารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 1 N (สารละลาย A) ละลาย sodium acetate trihydrate 136 กรัม ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 950 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้ได้อุณหภูมิห้อง แล้วปรับ pH ของสารละลายให้มี pH 8.2 ด้วย acetic acid หรือ sodium hydroxide ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
2. Ethanol 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข (ต่อ)

3. สารละลายแอมโมเนียมออกไซด์ ความเข้มข้น 1 N (สารละลาย B) เติมกรดน้ำส้มเข้มข้น จำนวน 57 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 68 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนถึงอุณหภูมิห้อง ปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 7.0 ด้วย กรดน้ำส้ม หรือ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. สารละลายมาตรฐานโซเดียม สำหรับทำ standard curve (สารละลาย C) นำเกลือโซเดียมคลอไรด์มาอบให้แห้งในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำมาทำให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้น ชั่งมา 2.5418 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร สารละลายมีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

ภาพแสดงสถานที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้ง 3 แห่ง



รูปภาคผนวก ค 1 พื้นที่เก็บตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ

ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่างมีลักษณะภูมิประเทศที่อุดมสมบูรณ์ มีคลองล้อมรอบ ดินในบริเวณแปลงปลูกมีความชุ่มชื้นไม่แห้งหรือแฉะจนเกินไป ไม่มีขอบรั้ว ไม่มีคอก ไม่มีการใส่ปุ๋ยและปล่อยให้พืชถูกแสงแดดแบบเต็มที่



รูปภาคผนวก ค 2 พื้นที่เก็บตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่

ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่างมีลักษณะภูมิประเทศที่อุดมสมบูรณ์ ดินในบริเวณแปลงปลูกมีความชุ่มชื้นไม่แห้งหรือแฉะจนเกินไป ไม่มีขอบรั้ว ไม่มีคอกสัตว์ ไม่มีการใส่ปุ๋ยและปล่อยให้พืชถูกแสงแดดแบบเต็มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค (ต่อ)



รูปภาคผนวก ค 3 พื้นที่เก็บตัวอย่างจาก อ.แก่งสนามนาง จ.นครราชสีมา

ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่างมีลักษณะภูมิประเทศที่อุดมสมบูรณ์ ดินในบริเวณแปลงปลูกมีความชุ่มชื้นไม่แห้งหรือแฉะจนเกินไป ไม่มีขอบรั้ว ไม่มีคอกสัตว์ ไม่มีการใส่ปุ๋ย มีการใช้สแลนกรองแสงในแปลงปลูก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

### 1. ข้อมูลจากผลการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดินจากตัวอย่างดินที่ใช้ปลูกเหง้ากระทือ ทั้ง 3 แหล่งที่มา

ตารางภาคผนวก ง ที่ 1 แสดงผลการวัดค่าความเป็นกรด - ด่างของดินจากทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ค่าความเป็นกรด - ด่าง			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	6.100	6.150	6.090	6.113
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	5.890	5.840	5.920	5.883
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	5.500	5.480	5.530	5.503

ตารางภาคผนวก ง ที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจนของดินจากทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมด)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	0.146	0.153	0.150
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	0.123	0.164	0.143
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	0.122	0.177	0.150

ตารางภาคผนวก ง ที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมของดินจากทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ปริมาณโพแทสเซียม (mg/l)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	17.100	16.500	15.450	16.350
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	15.500	15.900	15.800	15.733
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	16.800	16.400	16.300	16.500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง (ต่อ)

ตารางภาคผนวก ง ที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสของดินจากทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ปริมาณฟอสฟอรัส (mg/kg)			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	3.200	3.250	2.850	3.100
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	3.330	3.290	3.190	3.270
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	3.080	2.880	4.100	3.353

ตารางภาคผนวก ง ที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณการแลกเปลี่ยนไอออนบวกในดินจากทั้ง 3 แหล่ง

แหล่งที่มา	ปริมาณการแลกเปลี่ยนไอออนบวก (cmol/kg)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	12.950	12.796	12.873
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	12.389	11.894	12.141
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	13.828	12.735	13.282

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง (ต่อ)

2. ข้อมูลจากผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่งที่มา

ตารางภาคผนวก ง ที่ 6 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม จ.กรุงเทพฯ

ความเข้มข้นของสารสกัด (µg/ml)	% inhibition			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
400	4.959	3.967	7.769	5.565
600	11.405	10.744	10.413	10.854
800	10.744	9.256	4.794	8.264
1000	15.868	17.686	30.413	21.322
1200	26.281	24.132	26.446	25.620
1400	31.405	33.884	32.397	32.562
1600	38.512	37.686	39.837	38.678
1800	43.306	45.785	47.273	45.455
2000	48.760	51.240	50.909	50.303
2200	53.719	54.050	54.545	54.105
2400	58.017	59.504	58.843	58.788
2600	67.273	68.595	62.975	66.281

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง (ต่อ)

ตารางภาคผนวก ง ที่ 7 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม จ.เชียงใหม่

ความเข้มข้นของสารสกัด ( $\mu\text{g/ml}$ )	% inhibition			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
400	-4.132	1.1570	1.818	1.488
600	-1.157	5.7851	0.000	1.543
800	9.752	10.579	7.438	9.256
1000	15.702	17.851	15.868	16.474
1200	18.182	18.678	20.661	19.174
1400	45.950	46.446	45.455	45.950
1600	49.752	49.091	52.231	50.358
1800	55.868	60.000	57.025	57.631
2000	61.818	58.017	59.835	59.890
2200	60.331	60.826	60.826	60.937
2400	68.264	67.769	67.273	67.769
2600	69.091	68.264	68.595	68.650

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

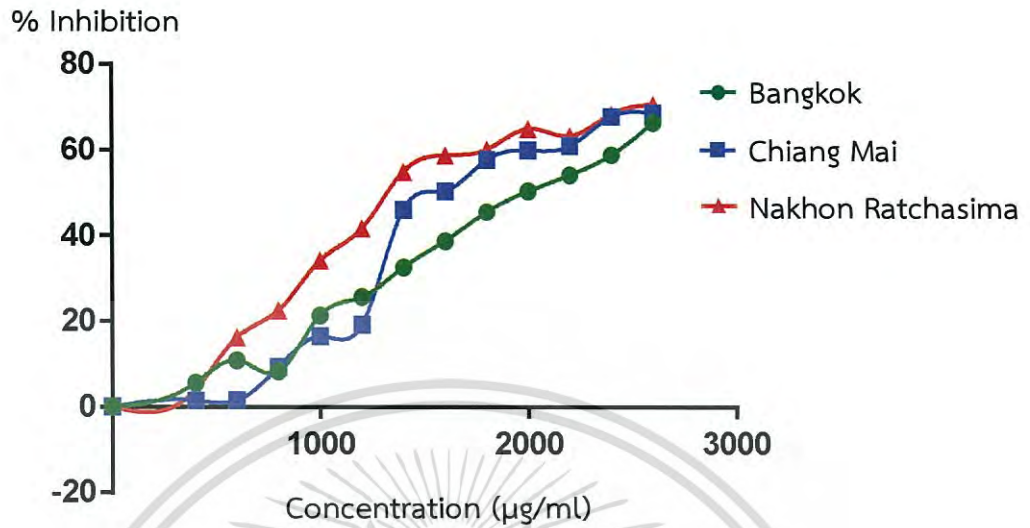
## ภาคผนวก ง (ต่อ)

ตารางภาคผนวก ง ที่ 8 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียม จ.นครราชสีมา

ความเข้มข้นของสารสกัด (µg/ml)	% inhibition			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
400	1.818	3.306	6.777	3.967
600	17.521	17.025	14.050	16.198
800	19.339	20.826	27.273	22.479
1000	35.537	33.223	33.554	34.105
1200	37.521	39.174	48.099	41.598
1400	51.901	55.702	57.025	54.876
1600	57.190	58.512	60.496	58.733
1800	60.331	60.826	59.008	60.055
2000	67.934	65.289	61.488	64.904
2200	63.471	63.802	62.314	63.196
2400	67.934	67.273	69.917	68.375
2600	70.579	70.083	71.240	70.634

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง (ต่อ)



รูปภาคผนวก ง ที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากทั้ง 3 แหล่งที่มา

## ภาคผนวก ง (ต่อ)

### 3. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมในทั้ง 3 แหล่งที่มา

ตารางภาคผนวก ง ที่ 9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

แหล่งที่มา	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร					ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	0.686	0.688	0.693	0.479	0.784	0.666
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	0.370	0.375	0.378	0.368	0.352	0.369
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	0.511	0.518	0.510	0.504	0.502	0.509

ตารางภาคผนวก ง ที่ 10 แสดงค่ามิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระเทียมทั้ง 3 แหล่ง

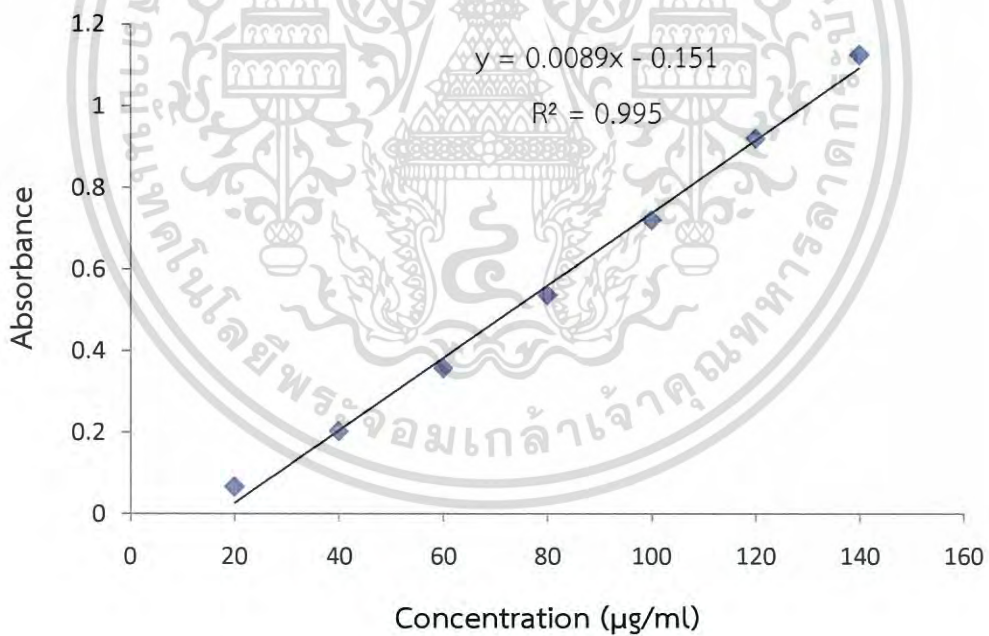
แหล่งที่มา	มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตรของน้ำมันหอมระเหย					ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ	9.400	9.420	9.480	7.070	10.500	9.170
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	5.650	5.850	5.910	5.830	5.940	5.840
อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา	7.330	7.430	7.360	7.520	7.430	7.410

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง (ต่อ)

ตารางภาคผนวก ง ที่ 11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Concentration Gallic acid ( $\mu\text{g/ml}$ )	Absorbance (765 nm)
20	0.065
40	0.201
60	0.356
80	0.535
100	0.719
120	0.919
140	1.124



รูปภาคผนวก ง ที่ 2 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

การคำนวณและตารางการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางภาคผนวก จ ที่ 1 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ %Inhibition โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	2	2661.7	2661.7	1330.9	55.73	0.000
B	11	52626.0	52626.0	4784.2	200.33	0.000
Error	94	2244.9	2244.9	23.9		
Total	107	57532.7				

S = 4.88689 R-Sq = 96.10% R-Sq (adj) = 95.56%

ตารางภาคผนวก จ ที่ 2 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

B	N	Mean	Grouping
12	9	68.522	A
11	9	64.977	A B
10	9	59.320	B C
9	9	58.365	B C
8	9	54.380	C D
7	9	49.256	D E
6	9	44.463	E
5	9	28.797	F
4	9	23.967	F
3	9	13.333	G
2	9	9.532	G H
1	9	3.049	H

หมายเหตุ : ในช่อง A ตัวแปรที่มีความหมายดังนี้ 1=ตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ, 2=ตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ 3=ตัวอย่างจาก อ.แก่งสนามนาง จ.นครราชสีมา ส่วนในช่อง B คือความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหย โดย 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12 เท่ากับ 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ (ต่อ)

ตารางภาคผนวก จ ที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ Total Phenolic โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	2	16.4075	16.4075	8.2037	22373.85	0.000
Error	6	0.0022	0.0022	0.0004		
Total	8	16.4097				

S = 0.0191485 R-Sq = 99.99% R-Sq (adj) = 99.98%

ตารางภาคผนวก จ ที่ 4 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

A	N	Mean	Grouping
1	3	9.123	A
3	3	7.413	B
2	3	5.817	C

หมายเหตุ : ในช่อง A ตัวแปรมีความหมายดังนี้ 1=ตัวอย่างจาก เขตมินบุรี จ.กรุงเทพฯ, 2=ตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ 3=ตัวอย่างจาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา

ตารางภาคผนวก จ ที่ 5 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ pH โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	2	0.54500	0.54500	0.27250	545.00	0.000
Error	6	0.00300	0.00300	0.00050		
Total	8	0.54800				

S = 0.0223607 R-Sq = 99.45% R-Sq (adj) = 99.27%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ (ต่อ)

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

A	N	Mean	Grouping
3	3	6.107	A
2	3	5.857	B
1	3	5.507	C

หมายเหตุ : ในช่อง A ตัวแปรมีความหมายดังนี้ 1=ตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ, 2=ตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ 3=ตัวอย่างจาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา

ตารางภาคผนวก จ ที่ 7 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ปริมาณไนโตรเจนในดิน โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	2	0.0000202	0.0000202	0.0000101	15.17	0.005
Error	6	0.0000040	0.0000040	0.0000007		
Total	8	0.0000242				

S = 0.000816497 R-Sq = 83.49% R-Sq (adj) = 77.98%

ตารางภาคผนวก จ ที่ 8 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

A	N	Mean	Grouping
3	3	0.1473	A
1	3	0.1453	A B
2	3	0.1437	B

หมายเหตุ : ในช่อง A ตัวแปรมีความหมายดังนี้ 1=ตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ, 2=ตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ 3=ตัวอย่างจาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา

## ภาคผนวก จ (ต่อ)

ตารางภาคผนวก จ ที่ 9 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ปริมาณโพแทสเซียมในดิน โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	2	1.07520	1.07520	0.53760	5376.00	0.000
Error	6	0.00060	0.00060	0.00010		
Total	8	1.07580				

S = 0.01 R-Sq = 99.94% R-Sq (adj) = 99.93%

ตารางภาคผนวก จ ที่ 10 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

A	N	Mean	Grouping
3	3	16.50	A
1	3	16.34	B
2	3	15.70	C

หมายเหตุ : ในช่อง A ตัวแปรมีความหมายดังนี้ 1=ตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ, 2=ตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ 3=ตัวอย่างจาก อ.แก่งสนามนาง จ.นครราชสีมา

ตารางภาคผนวก จ ที่ 11 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ ปริมาณฟอสฟอรัสในดิน โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	2	0.097800	0.097800	0.048900	489.00	0.000
Error	6	0.000600	0.000600	0.000100		
Total	8	0.098400				

S = 0.01 R-Sq = 99.39% R-Sq (adj) = 99.19%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ (ต่อ)

ตารางภาคผนวก จ ที่ 12 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

A	N	Mean	Grouping
3	3	3.350	A
2	3	3.270	B
1	3	3.100	C

หมายเหตุ : ในช่อง A ตัวแปรมีความหมายดังนี้ 1=ตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ, 2=ตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ 3=ตัวอย่างจาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา

ตารางภาคผนวก จ ที่ 13 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของ การแลกเปลี่ยนประจุบวกในดิน โดยออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	2	0.48069	0.48069	0.24034	24034411.0	0 0.000
Error	6	0.00000	0.00000	0.00000		
Total	8	0.48069				

S = 0.000100000 R-Sq = 100.00% R-Sq (adj) = 100.00%

ตารางภาคผนวก จ ที่ 14 แสดงการจัดกลุ่มข้อมูลของโดยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

A	N	Mean	Grouping
3	3	12.95	A
1	3	12.73	B
2	3	12.39	C

หมายเหตุ : ในช่อง A ตัวแปรมีความหมายดังนี้ 1=ตัวอย่างจาก เขตมีนบุรี จ.กรุงเทพฯ, 2=ตัวอย่างจาก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และ 3=ตัวอย่างจาก อ.แก้งสนามนาง จ.นครราชสีมา