

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

The Extraction of Essential oils in Herbs for Inhibit Food Pathogen Bacteria

ทักษพร ปิ่นสุวรรณ และ ฉันทน์นันท ศรีพันธ์ลัม*

โปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

*thanyanan_kae@hotmail.com

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด และเหง้ากระชาย โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่า ค่าร้อยละผลที่ได้ของมะกรูด และกระชาย เท่ากับ 0.899 และ 0.106 ตามลำดับ สมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีสีใสมีกลิ่นเฉพาะตัว รสเผ็ดเล็กน้อย ไม่พบตะกอนแขวนลอย และสามารถระเหยได้ดีที่อุณหภูมิห้อง ค่าการละลายในเอทานอลของมะกรูดและกระชายเท่ากับ 2.66 และ 1.4 ตามลำดับ จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยมาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* โดยใช้วิธีการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระชายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 6.25 และ 1.56 mg/mL ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 25 และ 12.5 mg/mL ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยจากกระชายจึงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่ายาปฏิชีวนะเตตราไซคลิน

คำสำคัญ: มะกรูด กระชาย น้ำมันหอมระเหย เชื้ออีโคไล เชื้อสแตปทีโรคอคคัส ออเรียส

Abstract

Extraction of essential oils from *Citrus hystrix* Peel and *Boesenbergia rotunda* by steam distillation was studied. It was found that the percent yield of *Citrus hystrix* and *Boesenbergia rotunda* were 0.899 and 0.106% respectively. All extracted essential oils were clear (no sediment) with the specific odor. They readily were evaporated at room temperature. The solubility of *Citrus hystrix* and *Boesenbergia rotunda* in ethanol were 2.66 and 1.4 respectively. The essential oils were also subjected to antibacterial tests for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, using the minimum inhibitory concentration (MIC) method. The results revealed that the essential oil from *Boesenbergia rotunda* exhibited the higher ability to inhibit *S. aureus* and *E. coli* with the MIC values equaling to 6.25 and 1.56 mg/mL, compared to the essential oil from *Citrus hystrix* with the MIC value equaling to 25 and 12.5 mg/mL. However, their effective are still less than Tetracycline antibiotic.

Keyword: *Citrus hystrix*, *Boesenbergia rotunda*, Essential oil, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

1. บทนำ

ในปัจจุบัน พืชสมุนไพรมีหลากหลายชนิดและมีประโยชน์ในหลายๆด้าน อาทิ เช่น การนำมารับประทานเป็นอาหาร หรือเป็นองค์ประกอบในอาหาร ตลอดจนมีการศึกษานำพืชสมุนไพรมาประยุกต์ใช้เป็นยารักษาโรค หรือแม้กระทั่งมีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรเพื่อมายับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เช่น การศึกษาสารสกัดจากขมิ้นชันพบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* [1] การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชวงศ์ Commelinaceae ที่มีต่อแบคทีเรีย 15 ชนิด พบว่า สารสกัดจากต้นว่านกาบหอยและต้นก้ามปูหลอดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้เช่นเดียวกัน[2] การศึกษาการออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากเครื่องเทศ 12 ชนิด ในการต่อต้าน *Bacillus cereus* ในข้าวหุงสุกพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ได้ [3]

กระชาย และมะกรูด เป็นพืชสมุนไพรในท้องถิ่นที่สามารถพบได้ตามครัวเรือนทั่วไป โดยนำมาใช้ประโยชน์กันมาก ด้านของการนำมาประกอบอาหาร ซึ่งเมื่อนำพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี พบว่า เหง้าของกระชายมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบ เช่น pinene , camphene ส่วนมะกรูด เมื่อนำผิวมะกรูดมากลั่นด้วยไอน้ำ จะพบว่ามีน้ำมันหอมระเหยประมาณ 6-7 % สารสำคัญที่พบ เช่น β -pinene , limonene และ narigin เป็นต้น ซึ่งจากสารสำคัญของพืชสมุนไพรนี้พบว่า มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ [4]

Staphylococcus aureus และ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ตามลำดับ ที่มักพบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนม เนื้อสัตว์ ผักและไข่ไก่ ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษ *S. aureus* เป็นเชื้อที่มีความสำคัญมากในทางการแพทย์และสาธารณสุข โดยจัดเป็นเชื้ออันดับสามที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง และสามารถเข้าสู่กระแสเลือดของมนุษย์ได้ [1] ส่วนเชื้อ *E. coli* ปกติอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น พบเป็นจำนวนมากในอุจจาระ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุดในเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลวแต่อาการมักไม่รุนแรง เชื้อนี้มักปนมากับอาหารและน้ำ จะแพร่สู่คนได้โดยการรับประทานอาหารและเครื่องดื่มที่มีเชื้อชนิดนี้ปนเปื้อนอยู่ [5]

น้ำมันหอมระเหย (essential oil) เป็นสารประกอบอินทรีย์ เป็นผลผลิตจากการสกัดจากทั้งพืชและสัตว์ ในส่วนของพืชนั้นอาจสกัดมาจากส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชนั้นๆ เช่น สกัดมาจากผล ดอก ใบ เมล็ด เปลือก ฯลฯ วิธีการสกัดที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ การกลั่นด้วยไอน้ำและการใช้สารเคมีเป็นตัวทำละลาย และหลังจากการสกัด น้ำมันหอมระเหยจะถูกนำมาวิเคราะห์เพื่อแยกหาสารสำคัญ[6] ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่ได้ในแต่ละครั้งนั้นจะมีคุณภาพที่แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น แหล่งที่มาของพืช อายุของพืช เทคนิคและวิธีการกลั่น เวลาที่ใช้ในการกลั่น เป็นต้น โดยมีการตรวจสอบคุณสมบัติทั้งทางกายภาพและการตรวจสอบลักษณะทั่วไป เช่น การหาค่าดัชนีหักเหของน้ำมันหอมระเหย สี กลิ่น รส เป็นต้น [7]

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร โดยใช้สมุนไพร 2 ชนิดคือ กระชาย และมะกรูด มีการตรวจสอบคุณภาพของน้ำมันหอมระเหยจากการสกัดจากพืชสมุนไพร โดยตรวจสอบคุณสมบัติทั่วไปและคุณสมบัติทางกายภาพ ซึ่งสารสกัดดังกล่าวเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์อีกทั้งช่วยทดแทนการใช้สารเคมีได้

2. วิธีการทดลอง

2.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร

นำสมุนไพรตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด คือ กระชาย (รากสด) และมะกรูด (ผิวมะกรูดสด) นำมาล้างด้วยน้ำให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้งพอหมาด จากนั้นหั่นพืชให้เป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่งน้ำหนักพืชที่ใช้ 250 g หลังจากนั้นนำพืชที่เตรียมไว้ใส่ในขวดก้นกลม และทำการสกัดพืชโดยการกลั่นด้วยไอน้ำด้วยชุดอุปกรณ์การกลั่นด้วยไอน้ำ เปิดน้ำเข้าเครื่องควบแน่นและเปิดให้ความร้อนตามลำดับ ทิ้งไว้จนได้น้ำมันหอมระเหยออกมาในภาชนะรองรับ เก็บสารที่ได้ใส่กรวยแยก ทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไซเก็บส่วนน้ำมันหอมระเหย และทำการขจัดน้ำออกด้วยการเติม anhydrous Na_2SO_4 และเก็บส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหยใส่ขวด จากนั้นชั่งน้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่ได้และเก็บในภาชนะขวดสีชาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C สำหรับนำไปใช้ทดลองต่อไป

2.2 การตรวจสอบคุณภาพน้ำมันหอมระเหย

ตรวจสอบลักษณะที่ปรากฏภายนอก ความคงตัวและค่าการระเหยของน้ำมันหอมระเหย ทดสอบสิ่งปนเปื้อนในน้ำมันหอมระเหย และหาค่าการละลายในเอทานอล โดยวิธีที่ระบุใน British Pharmacopoeia ปี 2003 เล่ม IV [8]

2.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* จากโปรแกรมชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยเลี้ยงในอาหารวุ้น Nutrient agar เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อมา 2 ลูบเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth เขย่าด้วยเครื่อง Shaker ที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง เชื้อจะมีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10⁸ CFU/mL

2.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) [9]

นำหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อและทำให้แห้ง จำนวน 12 หลอด เขียนหมายเลขกำกับไว้ที่หลอด ใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวใส่ลงในหลอดที่ 2-12 หลอดละ 1 mL จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารสกัดลงในหลอดที่ 1,2 หลอดละ 1 mL ผสมสารในหลอดที่ 2 ให้เข้ากัน ใช้ปิเปต ดูดสาร ในหลอดที่ 2 จำนวน 1 mL ลงในหลอดที่ 3 ทำซ้ำในหลอดต่อไปจนถึงหลอดที่ 11 (เปลี่ยนปิเปตทุกครั้งที่เปลี่ยนหลอด) ผสมสารในหลอดที่ 11 ให้เข้ากันดี ดูดสารละลายทิ้งไป 1 mL หลอดที่ 12 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อ เพียงอย่างเดียวใช้เป็น Positive control จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียลงในทุกหลอดๆละ 1 mL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 16-18 ชั่วโมง สังเกตหลอดสุดท้ายที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียเจริญหรืออาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่น วัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ 660 nm บันทึกค่าและแปรผลเป็นค่า MIC ในหน่วย mg/mL เปรียบเทียบความสามารถการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยยาปฏิชีวนะเตตราไซคลิน (Tetracycline)

3. ผลการทดลอง

3.1 ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกระชายและ มะกรูด โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระชาย มีค่าร้อยละผลที่ได้เฉลี่ยเท่ากับ 0.106 ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด มีค่าร้อยละผลที่ได้เฉลี่ยเท่ากับ 0.899

3.2 ผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำมันหอมระเหย

3.2.1 การตรวจสอบลักษณะทั่วไปของน้ำมันหอมระเหยที่ปรากฏภายนอก

นำตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยที่ผ่านการกลั่นมาทดสอบ สถานะ สี กลิ่น รส ความใส-ขุ่น และตะกอนแขวนลอย แสดงผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทั่วไปของน้ำมันหอมระเหย

ลักษณะ	ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	
	กระชาย	มะกรูด
สถานะ	ของเหลว	ของเหลว
สี	ใสไม่มีสี	เหลืองอ่อน
กลิ่น	กลิ่นเฉพาะตัว	กลิ่นเฉพาะตัว
รส	รสเผ็ดเล็กน้อย	รสเผ็ดเล็กน้อย
ความใส-ขุ่น	ใส	ใส
ตะกอนแขวนลอย	ไม่พบ	ไม่พบ

จากตารางแสดงลักษณะทั่วไปของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด ในการสกัดแต่ละครั้งนั้น ลักษณะของน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวใส มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสเผ็ดเล็กน้อย ไม่พบตะกอนแขวนลอย มีการแยกชั้นระหว่างน้ำและน้ำมันหอมระเหยอย่างชัดเจนและมีน้ำหนักเบากว่าน้ำ

3.2.2 การศึกษาความคงตัวและสภาพการระเหยของน้ำมันหอมระเหย (Fixed oils and resinified volatile oils)

จากการศึกษาความคงตัวและสภาพการระเหยของน้ำมันหอมระเหย โดยการนำตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย จำนวน 1 หยด หยดลงบนกระดาษกรองที่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง กระดาษกรองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งคุณสมบัติน้ำมันหอมระเหยเมื่อสัมผัส กับอากาศและแสงจะต้องเกิดการระเหยหรือแปรสภาพได้ง่าย แสดงว่า น้ำมันหอมระเหยมีความสามารถในการระเหยได้ดี

3.2.3 การหาสิ่งปนเปื้อนในน้ำมันหอมระเหย (Foreign ester in essential oils)

จากการศึกษาหาสิ่งปนเปื้อนโดยการนำตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยจำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย โพลีเอทิลีนไกลคอลในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 10 % นำไปให้ความร้อนผ่านน้ำเป็นระยะเวลา 2 นาที พบว่า ภายในหลอดทดลองนั้นไม่เกิดผลึกบริเวณข้างหลอดทดลอง แสดงว่า ไม่พบการปนเปื้อนในน้ำมันหอมระเหย ทั้งนี้ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยนั้นไม่เกิดปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชันกับด่าง (สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์) จึงไม่มีสิ่งตกค้างอื่นๆ

3.2.4 ค่าการละลายในเอทานอล (The solubility in ethanol)

จากการศึกษาการละลายในเอทานอลจากตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย วิเคราะห์จากปริมาตรของเอทานอลที่ทำให้ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยใส แสดงผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่าการละลายในเอทานอลจากตัวอย่างน้ำมันหอมระเหย

ชนิดของน้ำมันหอมระเหย	อุณหภูมิ(°C)	ปริมาตรเฉลี่ยของ 90% เอทานอลที่ทำให้ตัวอย่างขุ่น (mL)	ปริมาตรเฉลี่ยของ 90% เอทานอลที่ทำให้ตัวอย่างใส (mL)
กระชาย	27.0	0.10	1.40
มะกรูด	28.0	0.10	2.66

จากผลในตารางพบว่า ปริมาตรของเอทานอลที่ทำให้ตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยใสจะใช้ในปริมาณที่น้อย แสดงว่า น้ำมันหอมระเหยสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ไดคลอโรมีเทน เอทานอล ซึ่งค่าการละลายในเอทานอลจะเป็นค่าที่แสดงถึงควมมีขุ่นของน้ำมันหอมระเหยบ่งบอกถึงความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่างๆ

3.3 ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC)

ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* โดยใช้วิธีการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระชายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 6.25 และ 1.56 mg/mL ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 25 และ 12.5 mg/mL ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยจากกระชายจึงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดแต่มีประสิทธิภาน้อยกว่ายาปฏิชีวนะเตตราไซคลิน แสดงค่าดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ชนิดของสาร	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) mg/mL	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
มะกรูด	25	12.5
กระชาย	6.25	1.56
Tetracycline	0.08	0.39

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกระชายและ มะกรูด โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระชาย มีค่าร้อยละผลที่ได้เฉลี่ยเท่ากับ 0.106 และ 0.899 ตามลำดับ

ผลทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหย พบว่า น้ำมันหอมระเหยมีลักษณะเป็นของเหลวใส มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสเผ็ดเล็กน้อย ไม่พบตะกอนแขวนลอย และสามารถระเหยได้ดีที่อุณหภูมิห้อง ค่าการละลายในเอทานอลของมะกรูดและกระชายเท่ากับ 2.66 และ 1.4 ตามลำดับ และผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* โดยใช้วิธีการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกระชายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่ายาปฏิชีวนะเตตราไซคลิน

5. เอกสารอ้างอิง

- [1] พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์,วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัยและสุภัณฑิต นิรมรัตน์. (2553).“ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*.” พิษวิทยาไทย, 1 (-), 15-28.
- [2] อารีย์ วงศ์เราประเสริฐ. (2546).“ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชวงศ์ Commelinaceae ที่มีต่อแบคทีเรียบางชนิด”. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [3] นवलจันทร์ ใจใสและสุภาพร ล้ำเลิศธน. (2550).“ผลการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยผิวมะกรูดต่อ *Bacillus cereus* ในซ้างหุงสุก.” มหาวิทยาลัยนเรศวร, 3 (เมษายน-พฤศจิกายน), 195-203.
- [4] อรัญญา มโนสร้อยและ จิรเดช มโนสร้อย. (2548). “น้ำมันหอมระเหยและสารสกัดจากสมุนไพรไทย”สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- [5] “เชื้อ *Escherichia coli*” (ออนไลน์) สืบค้นเมื่อ กันยายน,2554,จาก <http://infectious.thaihealth.net>
- [6] วาสนา กระพุ่มทอง. (2552).การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยจอร์านีโอลจากเหง้าว่านนางคำและใบแป๊ะตำลึง โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.
- [7] สุรพล นธการกิจกุล.(ม.ป.ป.)การควบคุมคุณภาพน้ำมันหอมระเหยในผลิตภัณฑ์สปา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- [8] Appendix X M. Volatile oils.(2003).British Pharmacopoeia Volume II.
- [9] อมรรัตน์ สีสุกอง และคณะ.(2550).การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากวัชพืชท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรี. โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.