ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การสร้างน้ำมันหอมระเหยในเซลล์เพาะเลี้ยงของเอื้องครั่ง

ผู้เขียน นายจักรพันธ์ จุลศรีไกวัล

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร.สุนีย์ จันทร์สกาว	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ผศ.ดร.ธนภัทร ทรงศักดิ์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
รศ.ดร.เฉลิมพล เกิดมณี	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
รศ.เอื้อพร ไชยวรรณ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาเรื่องนี้ทำเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากแต่ละส่วน (ดอก ใบ ราก และลำต้นเทียม) ของกล้วยไม้ 4 ชนิดได้แก่ ช้างกระ ช้างเผือก ฟ้ามุ่ย และเอื้องครั่ง และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตน้ำมันหอมระเหยในเซลล์เพาะเลี้ยงของกล้วยไม้โดยใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพต่าง ๆ 4 วิธีได้แก่วิธี (1) elicitation, (2) permeabilization, (3) two-phase system และ (4) feeding precursor การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้ใช้เทคนิค Head Space-Solid Phase Microextraction (HS-SPME) และ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ผลการทดลองพบว่าองค์ประกอบหลักทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จากแต่ละส่วนของพืช แต่ละชนิดมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน และยังพบน้ำมันหอมระเหยในส่วนอื่นนอกจากดอกของกล้วยไม้คือ ส่วนใบ ราก และลำต้นเทียม เมื่อใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการเพิ่มปริมาณ พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงของเอื้องครั่งมีการเจริญเติบโตได้ดีในระยะเวลาสั้น จึงทำการเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงของเอื้องครั่งมาใช้ทำการวิจัย โดยใช้เทคนิคทางชีวภาพพบว่าองค์ประกอบหลักทางเคมีที่วิเคราะห์ได้จากเซลล์เพาะเลี้ยงของเอื้องครั่งได้แก่ *alpha*-panasinsen (16.34%), *beta*-selinene (9.08%) และ *gamma*-gurjunene (6.13%) ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองเพื่อเพิ่มปริมาณและชนิดองค์ประกอบทางเคมีในเซลล์เพาะเลี้ยงของเอื้องครั่งโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพ 4 วิธีการดังกล่าวข้างต้น ได้พบว่าองค์ประกอบหลักทางเคมีที่ใช้เทคนิค elicitation ได้แก่ *alpha*-panasinsen (13.68%), *beta*-selinene (8.08%) และ *gamma*-gurjunene (5.15%) เทคนิค permeabilization ได้แก่ ethyl dodecanoate (66.25%) และ ethyl decanoate (8.25%) เทคนิค two-phase system ได้แก่ ethyl hexadecanoate (28.57%), ethyl pentadecanoate (23.80%) และ pentadecanal (9.53%) ตามลำดับ ผลการทดลองเติมสารตั้งต้นโดยอาศัยเทคนิค feeding precursor พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงของเอื้องครั่งสามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นสารทุติยภูมิอื่นได้หลายชนิด เช่น สามารถเปลี่ยน geranyl acetate เป็น geranial, geraniol, neral และ nerol จากผลของการศึกษาการเพาะเลี้ยงเอื้องครั่งโดยเทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพนี้แสดงให้เห็นว่า เทคนิค elicitation สามารถเพิ่มปริมาณและชนิดของน้ำมันหอมระเหยในกลุ่ม sesquiterpenes ได้ดีกว่าเทคนิคอื่น ซึ่งถ้าหากว่ามีการปรับเปลี่ยนสภาพสิ่งแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้นให้มีความเหมาะสมมากยิ่งขึ้นแล้ว เช่น การประยุกต์ใช้เทคนิค elicitation ร่วมกับเทคนิค feeding precursor พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะสามารถเพิ่มปริมาณและชนิดขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเซลล์เพาะเลี้ยงของเอื้องครั่งได้ และการใช้เทคนิค feeding precursor สามารถใช้เป็นแบบจำลองในการสร้างน้ำมันหอมระเหยในเซลล์เพาะเลี้ยงของกล้วยไม้ได้ ผลของการศึกษาเรื่องนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถใช้เป็นต้นแบบในการสังเคราะห์น้ำมันหอมระเหยจากกล้วยไม้ได้ในระยะเวลาสั้น และนำไปประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรมได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Essential Oil Production in Cell Culture of *Dendrobium parishii* Rchb.f.

Author Mr. Jakaphun Julsrigival

Degree Doctor of Philosophy (Pharmacy)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Sunee Chansakaow	Advisor
Asst. Prof. Dr. Thanapat Songsak	Co-advisor
Assoc. Prof. Dr. Chalermpol Kirdmanee	Co-advisor
Assoc. Prof. Aueporn Chaiwan	Co-advisor

ABSTRACT

The purposes of this research work were to study the volatile constituents from each parts of orchids (flowers, leaves, roots and pseudobulbs) of 4 orchids including *Rhynchostylis gigantea Ridl., Rhynchostylis gigantea* var. *harrisonianum Holtt,. Vanda coerulea* and *Dendrobium parishii* Rchb.f. and to improve the effectiveness of essential oil production from the cell cultures. Four biotechnological methods were used for improving the quantity and kinds of chemical compounds of volatile constituents included, (1) elicitation, (2) permeabilization, (3) two-phase system and (4) feeding precursor. Derived chemical components of volatile constituents were examined by using Head Space-Solid Phase Microextraction technique (HS-SPME) together with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). It was found from this study that when comparing the important constituents of chemical compound of these four studied plants, there were different compounds existed among these plants and the various volatile compounds were presented not only in the flowers but also in leaves, roots and pseudobulbs. It was further found that cell cultures obtained from

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

D. parishii were promising in improving quantity and grew well under short period culture. So that cell cultures of *D. parishii* were selected for this studying. The main aromatic compounds analyzed from cell culture of *D. parishii* were *alpha*-panasinsen (16.34%), *beta*-selinene (9.08%) and *gamma*-gurjunene (6.13%), respectively.

Four biotechnological techniques as mentioned formerly were used to improve the effectiveness of essential oil production in cell culure of *D. parishii*. The results of study showed that the main volatile compounds of cell culture tested with elicitation technique were *alpha*-panasinsen (13.68%), *beta*-selinene (8.08%) and *gamma*-gurjunene (5.15%), tested with permeabilization technique were ethyl dodecanoate (66.25%) and ethyl decanoate (8.25%), tested with two-phase system were ethyl hexadecanoate (28.57%), ethyl pentadecanoate (23.80%) and pentadecanal (9.53%), respectively. In feeding precursors study, the results indicated that the cell cultures of *D. parishii* can transform precursors to some secondary metabolites of essential oil such as geranial, geraniol, neral and nerol from geranyl acetate. Results achieved from this study revealed that elicitation technique can enhance and improve chemical constituents in essential oil and give more sesquiterpene composition than the other methods. And if some appropriate biotechnologies were applied together with providing the optimal environmental conditions in media of cell culture such as elicitation coupled with feeding precursor, more kinds and quantities of secondary metabolites of volatile constituents of *D. parishii* were able to assay from cell culture technique. In addition, feeding precursor technique could be used for modeling of metabolites of volatile constituents of cell culture technique in orchid plants. The results obtained from this study revealed that the cell cultures of orchids will be a possible tool for producing some essential oils compounds in short period of time and apply in pharmaceutical production.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved