

ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ ที่ปลูกในจังหวัดนครปฐม

ทวิวรรณ สาริบท*, วชิราภรณ์ ชูพันธ์*, เยาวลักษณ์ วงศ์พรหม*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลผลิตและคุณลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ผ่านการกลั่นด้วยน้ำ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ผลที่ได้จะนำไปสู่การพัฒนาเป็นสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอเพื่อลดการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ผลจากการศึกษาพบว่าเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ผ่านการกลั่นด้วยน้ำให้สารสกัดที่มีลักษณะทางกายภาพเหมือนกัน แต่เปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งให้ผลผลิตของสารสกัดมากกว่าพันธุ์ทองดี อยู่ที่ 1.167 และ 0.936 %W/W ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดจากเปลือกส้มโอทั้งสองสายพันธุ์ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ไม่แตกต่างกัน เมื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีกว่าสบู่เหลวที่ไม่ผสมสารสกัดเปลือกส้มโออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ แสดงว่าผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้

คำสำคัญ : สบู่เหลว, สารสกัดจากเปลือกส้มโอ, การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

* อาจารย์ประจำ คณะวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยคริสเตียน

Corresponding author, email: Touch2wachi@gmail.com, Tel. 081-1637176

Received : August 10, 2022; Revised : September 23, 2022; Accepted : November 17, 2022

The Antimicrobial Efficiency of Liquid Soap Mixed Pomelo Peel Extracts Planting in Nakhon-pathom Province

Tawiwan Sareebot*, Wachiraporn Choopan*, Yaowaluk Wongprom*

Abstract

This research aimed to study the yield and physical properties of pomelo peel extracts from hydro-distillation method of Thong-dee and Khao-nahm-peung varieties. Then, the antimicrobial activity of the extracts were tested against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by agar disc diffusion method. Moreover, liquid soap mixed pomelo peel extracts was developed to reduce the chemical agents in antimicrobial activity product.

Results indicated that the pomelo peel extracts of Thong-dee and Khao-nahm-peung varieties by hydro-distillation method showed the similar physical properties. However, the extracted yield of Khao-nahm-peung varieties was higher than Thong-dee varieties equal to 1.167 and 0.936 %W/W respectively and no significant difference. The results of antimicrobial activity showed no difference between the both varieties of pomelo peels extracts at concentration of 40 mg/ml against both bacteria species. Furthermore, the antimicrobial activity of liquid soap mixed pomelo peel extracts of Khao-nahm-peung varieties at concentration of 40 mg/ml was significantly more effective than liquid soap without extracts ($p < 0.05$). Thus, this developed product can inhibit the growth of bacteria.

Keywords : Liquid soap, Pomelo peel extracts, Antimicrobial activity

* Instructor, College of Health Sciences, Christian University of Thailand
Corresponding author, email: Touch2wachi@gmail.com, Tel. 081-1637176

Received : August 10, 2022; **Revised :** September 23, 2022; **Accepted :** November 17, 2022

ความสำคัญของปัญหาการวิจัย

ในปัจจุบันแบคทีเรียก่อโรคสามารถพบได้ทั่วไป มนุษย์มีโอกาสสัมผัสแบคทีเรียก่อโรคอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ อาจส่งผลให้เกิดโรคติดเชื้อได้ บางโรคอาจรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต แนวทางการป้องกันตนเองจากแบคทีเรียก่อโรคที่ดีทางหนึ่ง คือ การล้างมือให้สะอาดด้วยสบู่เหลวที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย ซึ่งจะช่วยลดการสะสมของแบคทีเรีย และลดความเสี่ยงจากโรคติดเชื้อต่าง ๆ สบู่เหลวที่จำหน่ายโดยทั่วไปมีการเติมสารเคมีที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เช่น ไตรโคลซาน (Triclosan) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Diphenyl ether (Bisphenyl) มีสูตรทางเคมี คือ 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol สูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_7Cl_3O_2$ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง พ.ศ. 2561 ระบุว่าผลิตภัณฑ์จำพวกสบู่เหลว ยาสีฟัน แชมพู ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้า อนุญาตให้ใช้สารไตรโคลซานเป็นสารกันเสียในความเข้มข้นไม่เกิน 0.3% (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง พ.ศ. 2561, 2561) มนุษย์มีโอกาสได้รับไตรโคลซานผ่านทางใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีสารไตรโคลซานเป็นองค์ประกอบ และเกิดการสะสมจนสามารถตรวจพบไตรโคลซานในน้ำนม เลือด และปัสสาวะได้ (Wang & Tian, 2015) นอกจากนี้ยังสามารถพบไตรโคลซานในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน แม่น้ำ ลำคลอง ผ่านการชำระล้างผลิตภัณฑ์ลงท่อระบายน้ำ หลายงานวิจัยพบว่าไตรโคลซานสามารถส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Weatherly & Gosse, 2017) ระบบฮอร์โมน (Witorsch, 2014) อีกทั้งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Yueh & Tukey, 2016) อย่างไรก็ตามองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้ประกาศห้ามใช้สารไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์สบู่อ่อนต้านแบคทีเรีย มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2559 เป็นต้นไป (McNamara & Levy, 2016) ดังนั้นการใช้สบู่เหลวต้านเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาจากสารสกัดธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ จากการศึกษาข้อมูลพบว่ามีหลายงานวิจัยที่ได้ศึกษาสารสกัดจากเปลือกของพืชตระกูลส้มว่ามีสารสำคัญในกลุ่ม Polyphenolic compounds เช่น Catechins, Epicatechin, Procyanidins, Flavone ที่มีคุณสมบัติสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Dosoky & Setzer, 2018; Bora, Kamle, Mahato, Tiwari & Kumar, 2020) ในเปลือกส้มโอประกอบด้วยสารชนิดต่าง ๆ ในปริมาณที่แตกต่างกันออกไป Sir, Elagib & Hassan (2018) รายงานว่าเปลือกของพืชตระกูลส้มประกอบด้วยสารในกลุ่มฟีนอลิกหลายชนิด โดยเฉพาะ Ferulic, Sinapic, Coumaric, Caffeic acid รวมทั้ง Hesperidine และ Naringin เป็นต้น

ส้มโอเป็นผลไม้ที่นิยมปลูกอย่างแพร่หลายในจังหวัดนครปฐม จากผลการสำรวจของกรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ใน พ.ศ. 2559 พบว่าจังหวัดนครปฐมเป็นแหล่งเพาะปลูกส้มโอที่สำคัญอันดับที่ 5 ของประเทศไทย รองจากจังหวัดสมุทรสงคราม จังหวัดพิจิตร จังหวัดปราจีนบุรี และจังหวัดเชียงราย ตามลำดับ มีพื้นที่เพาะปลูกส้มโอ จำนวน 4,811 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2560) ส้มโอมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus maxima* Merr. หรือ *Citrus grandis* Linn. มีชื่อสามัญว่า Pomelo หรือ Shaddock ส้มโอนครชัยศรี (Nakonchaisri pomelo) หมายถึง ส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ซึ่งปลูกในอำเภอนครชัยศรี อำเภอสามปราชญ์และอำเภอกุสุมาลย์ของจังหวัดนครปฐม ส้มโอนครชัยศรีเป็นผลไม้ที่กรมทรัพย์สินทางปัญญาขึ้นทะเบียนเป็น "สิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical indication, GI)" ของจังหวัดนครปฐม จากการลงพื้นที่ชุมชนของอำเภอสามปราชญ์ จังหวัดนครปฐม พบว่าอาชีพหลักของชาวบ้านในชุมชนส่วนใหญ่ประกอบอาชีพทำสวนส้มโอส่งจำหน่ายทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยจำหน่ายแบบทั้งลูกและแบบปอกเปลือกพร้อมรับประทาน ส้มโอนครชัยศรีมีรสหวานอมเปรี้ยว ไม่มีรสขมและรสชา จึงได้รับความนิยมอย่างมาก ส่งผลให้มีเปลือกส้มโอเหลือทิ้งเป็นจำนวนมากในแต่ละปี จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่าเปลือกส้มโอสามารถเพิ่มมูลค่าได้ด้วย การนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (Abirami, Nagarani & Siddhuraju, 2013) จาก

ปัญหาข้างต้น ผู้วิจัยเล็งเห็นว่าการนำคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีในสารสกัดจากเปลือกส้มโอมาพัฒนาเป็นสบู์เหลวจะส่งผลดีต่อสิ่งแวดล้อมทดแทนการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อร่างกายและสิ่งแวดล้อม เพราะสารสกัดจากเปลือกส้มโอเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทำการศึกษาประสิทธิภาพของสบู์เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ เป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) ที่สามารถพบได้ในร่างกายมนุษย์โดย *Staphylococcus aureus* พบได้ตามผิวหนังและรูขุมขน สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังเมื่อเกิดบาดแผล หรือปนเปื้อนในอาหารทำให้เกิดอาหารเป็นพิษได้ ส่วน *Escherichia coli* พบได้ในระบบทางเดินอาหาร สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และบางสายพันธุ์ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ อูจาระร่วงได้ (วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์ พัทธี กัมมารเจษฎากุล และ อิสยา จันทน์วิทยานุชิต, 2559) เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ลดการแพร่กระจายของเชื้อโรคต่าง ๆ อีกทั้งยังช่วยลดปริมาณขยะโดยการนำของเหลือทิ้งจากภาคเกษตรมาทำให้เกิดประโยชน์ต่อชุมชน สามารถต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชนเพื่อให้ชุมชนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลผลิตและคุณลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง
2. เพื่อศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum inhibitory concentration: MIC) ของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสบู์เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาที่ 1 : การศึกษาผลผลิตและคุณลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

1.1 การเตรียมเปลือกส้มโอสำหรับนำไปสกัด

คัดเลือกเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ปลูกในจังหวัดนครปฐม ซึ่งเหลือทิ้งจากร้านค้าต่าง ๆ โดยเลือกเปลือกส้มโอที่มีความสดและผิวที่ใกล้เคียงกัน จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดและใช้มีดลอกเปลือกสีขาว (Albedo) ออก ใช้เฉพาะเปลือกสีเขียว (Flavedo) เนื่องจากเป็นส่วนที่มีต่อมน้ำมันมากกว่าเปลือกสีขาว นำมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ และเก็บใส่ภาชนะบรรจุที่มีฝาปิดสนิทนำเข้าตู้เย็นเพื่อรักษาความสดก่อนนำไปใช้ในการสกัด

1.2 การสกัดสารจากเปลือกส้มโอ

สกัดน้ำมันจากเปลือกส้มโอด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro-distillation) ภายใต้ความดันที่ 1.5 kg/cm^3 (~22 psi) อุณหภูมิ 125°C ใช้เวลา 8-12 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับปริมาณเปลือกส้มโอสดที่นำไปกลั่น

การศึกษาที่ 2 : การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum inhibitory concentration: MIC) ของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

2.1 การเตรียมแบคทีเรียในการทดสอบ

นำแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่ได้จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) มาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth (TSB) ในตู้ Incubator shaker ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 °C ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปรับความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ให้ได้ 1.5×10^8 CFU/ml โดยทำการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน McFarland standard No. 0.5

2.2 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum inhibitory concentration: MIC) ของสารสกัดจากเปลือกส้มโอ

นำแบคทีเรียมาเกลี่ยให้ทั่วบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller - hinton agar แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อให้เชื้อถูกดูดซับอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำ Paper disc ขนาด 6 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำสารสกัดเปลือกส้มโอทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่เจือจางให้ได้ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 5 ไมโครลิตร หยดลงบน Paper disc จากนั้น นำไปป้อนในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 2 °C เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง หน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง โดยมีสารละลายไตรโคโลซาน ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมที่แสดงผลบวก และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมที่แสดงผลลบ สารสกัดจากเปลือกส้มโอที่มีประสิทธิภาพดี จะถูกนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอต่อไป

การศึกษาที่ 3 : การศึกษาประสิทธิภาพของสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

3.1 การเตรียมสารละลายสำหรับทำสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ

นำ Sodium lauryl ether sulfate 1 กิโลกรัม Lauryl glucoside 150 กรัม Cocamidopropyl betaine 150 กรัม หัวน้ำหอม 25 กรัม Glycerine 60 กรัม และ Bronidox I 3 กรัม ผสมแล้วกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นค่อย ๆ เติมน้ำสะอาด 1,480 กรัม ลงไป โดยขณะเทน้ำต้องคอยกวนสารละลายไปด้วย แล้วจึงนำกรดมะนาว 4 กรัม สารเพิ่มความหนืด (Aminol C-02S) 68 กรัม และสารสกัดที่ได้จากเปลือกส้มโอที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียผสมลงไปในส่วนตอนสุดท้าย

3.2 การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) ของสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอโดยวิธี Agar disc diffusion

นำสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอที่พัฒนาขึ้นมาทดสอบการยับยั้งของแบคทีเรียโดยวิธี Agar disc diffusion โดยมีสารละลายไตรโคโลซานความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมที่แสดงผลบวก และใช้สบู่เหลวที่ไม่ได้ผสมสารสกัดเปลือกส้มโอ เป็นตัวควบคุมที่แสดงผลลบ โดยทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง หน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ข้อมูลผลการสกัดสารจากเปลือกส้มโอและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง วิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย วิเคราะห์สถิติโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสบู่มะนาวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เทียบกับสบู่เหลวที่ไม่ได้ผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ และสารละลายไตรโคลซาน วิเคราะห์สถิติโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลการวิจัย

การศึกษาที่ 1 : การศึกษาผลผลิตและคุณลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

จากการนำเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่เหลือทิ้งจากร้านค้ามาสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ พบว่าได้ปริมาณสารสกัด 0.936 และ 1.167 %W/W ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการสกัดสารจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งโดยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ

เปลือกส้ม โอสายพันธุ์	น้ำหนัก เปลือกส้มโอ (กิโลกรัม)	เวลาใน การกลั่น (ชั่วโมง)	ผลผลิต น้ำมัน (มิลลิลิตร)	% น้ำมัน (W/W)	ความหนาแน่น (กรัม/ มิลลิลิตร)	ลักษณะ ภายนอก
ทองดี	7.10	8.00	80.05	0.936	0.83	น้ำมันใส สีเหลืองอ่อน
ขาวน้ำผึ้ง	9.60	11.50	135.00	1.167	0.83	น้ำมันใส สีเหลืองอ่อน
p-value	-	-	-	0.317	-	-

การศึกษาที่ 2 : การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum inhibitory concentration: MIC) ของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

นำสารสกัดเปลือกส้มโอทั้ง 2 สายพันธุ์ มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี Agar disc diffusion จากนั้นทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง หน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง พบว่าสารสกัดเปลือกส้มโอทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่า *Escherichia coli* โดยค่า MIC ของสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* อยู่ที่ 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า MIC ของสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* อยู่ที่ 20 และ 30 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง หน่วยเป็นมิลลิเมตร ของสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*

สารสกัดเปลือกส้มโอ	เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกส้มโอ (มก./มล.)				
		50	40	30	20	10
พันธุ์ทองดี	<i>Escherichia coli</i>	11.63 ± 0.62	9.00 ± 0.73	8.75 ± 0.58	7.13 ± 0.34	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	11.81 ± 0.83	11.19 ± 0.83	7.44 ± 0.51	7.25 ± 0.45	6.56 ± 0.63
พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง	<i>Escherichia coli</i>	9.81 ± 0.83	9.56 ± 0.63	7.06 ± 0.77	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	9.56 ± 0.63	9.31 ± 0.48	6.88 ± 0.89	6.88 ± 0.62	-

หมายเหตุ - คือ ไม่เกิดโซนยับยั้ง

จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ให้เส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง ขนาด 9 มิลลิเมตรขึ้นไป หรืออยู่ในระดับยับยั้ง (Obi, 2014) ซึ่งมีความเข้มข้น เท่ากับ 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (4% W/V) โดยทั้งสองพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน อีกทั้งจากการลงพื้นที่ในเขตอำเภอนครชัยศรี และ อำเภอสสามพราน พบว่าปริมาณของเปลือกส้มโอเหลือทิ้งพันธุ์ขาวน้ำผึ้งมีมากกว่าพันธุ์ทองดี ผู้วิจัยจึงเลือกใช้สารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง มีความเข้มข้น เท่ากับ 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (4% W/V) มาพัฒนาเป็นสบู์เหลวจากสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งเพื่อลดการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาที่ 3 : การศึกษาประสิทธิภาพของสบู์เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

นำสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (4% W/V) มาพัฒนาเป็นสบู์เหลวจากสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งตามสูตรข้างต้น จากนั้นนำมาทดสอบการยับยั้งของแบคทีเรียโดยวิธี Agar disc diffusion โดยมีสารละลายไตรโคลซานความเข้มข้น 0.3% เป็นตัวควบคุมที่แสดงผลบวก และใช้สบู์เหลวที่ไม่ได้ผสมสารสกัดเปลือกส้มโอ เป็นตัวควบคุมที่แสดงผลลบ โดยทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง หน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง วิเคราะห์สถิติโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) ผลการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 พบว่า สบู์เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอที่พัฒนาขึ้นนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าสบู์เหลวที่ไม่ผสมสารสกัดเปลือกส้มโอ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Agar disc diffusion

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Mean $\pm$ SD; mm)		
	สารละลายไตรโคซาน (0.3%)	สบู่เหลวที่ผสมสารสกัดเปลือกส้มโอ (4% W/V)	สบู่เหลวที่ไม่ผสมสารสกัดเปลือกส้มโอ
<i>Escherichia coli</i>	20.63 $\pm$ 1.20 ^a	12.38 $\pm$ 1.78 ^b	6.50 $\pm$ 0.73 ^c
<i>Staphylococcus aureus</i>	20.63 $\pm$ 1.20 ^a	13.50 $\pm$ 1.41 ^b	6.44 $\pm$ 0.63 ^c

หมายเหตุ

a คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ ระหว่างสารละลายไตรโคซานกับสบู่เหลวที่ผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ

b คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ ระหว่างสบู่เหลวที่ผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอกับสบู่เหลวที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ

c คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$ ระหว่างสารละลายไตรโคซานกับสบู่เหลวที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ

การอภิปรายผลการวิจัย

1. การศึกษาผลผลิตและคุณลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

จากผลการศึกษาพบว่า เปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ผ่านการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro-distillation) ให้สารสกัดจากเปลือกส้มโอที่มีลักษณะทางกายภาพ เช่น เป็นน้ำมันใส สีเหลืองอ่อน มีความหนาแน่น 0.83 กรัม/มิลลิลิตร เหมือนกัน แต่เปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งให้ผลผลิตของสารสกัดมากกว่าเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีอยู่ที่ 1.167 และ 0.936 %W/W ตามลำดับ ดังตารางที่ 1 ซึ่งปริมาณผลผลิตของสารสกัดเปลือกส้มโอที่ได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Phat, Tuyen, Huynh & Truc (2020) ที่นำเปลือกส้มโอ (*Citrus grandis* L.) ที่ปลูกในประเทศเวียดนามมาผ่านการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro-distillation) พบว่าผลผลิตของสารสกัดเปลือกส้มโออยู่ในช่วง 1.0-1.9% ขึ้นอยู่กับขนาดของชิ้นเปลือกส้มโอ สัดส่วนของน้ำต่อเปลือกส้มโอ อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการกลั่น

2. การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum inhibitory concentration: MIC) ของสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดส้มโอพันธุ์ทองดีและส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ผ่านการกลั่นด้วยน้ำ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* สอดคล้องกับงานวิจัยของปริยานุช ฤกษ์ประสิทธิ์ และ พรทิพย์ จิงถาวรณ (2552) ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อของสารสกัดจากส้มโอต่อจุลินทรีย์ต่าง ๆ พบว่า สารสกัดส้มโอพันธุ์ทองดีและส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ผ่านเครื่องบีบอัด (Roller pressed) ก่อนการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro-distillation) มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* และ *Saccharomyces cerevisiae* นอกจากนี้จากการทดลองพบว่า สารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ผ่านการกลั่นด้วยน้ำ สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่า *Escherichia coli* โดยค่า MIC ของสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* อยู่ที่ 10 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และ

ค่า MIC ของสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* อยู่ที่ 20 และ 30 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hongpattarakere, Chanthachum & Chanthaphon (2008) พบว่าค่า MIC ของสารสกัดเปลือกส้มโอผ่านการกลั่นด้วยน้ำ ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* อยู่ที่ > 2.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และงานวิจัยของ Shan, Cai, Brooks & Corke (2007) ที่ตั้งข้อสังเกตว่าแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารสกัดสมุนไพรมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน โดยแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อชั้นนอก และสารไลโปพอลิแซคาไรด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ช่วยกันป้องกันการซึมผ่านของสารต่าง ๆ ได้ดี ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่มีโครงสร้างเหล่านี้ จึงทำให้สารสกัดสมุนไพรสามารถออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ อย่างไรก็ตามจากผลการวิจัยข้างต้น ดังตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (4% W/V) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ให้เส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง ขนาด 9 มิลลิเมตรขึ้นไป หรืออยู่ในระดับยับยั้งโดยสารสกัดเปลือกส้มโอทั้งสองพันธุ์มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ผู้วิจัยจึงเลือกใช้สารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (4% W/V) มาพัฒนาเป็นสบู่เหลวผสมสารสกัดเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งต่อไป เนื่องจากปริมาณของเปลือกส้มโอเหลือทิ้งพันธุ์ขาวน้ำผึ้งมีมากกว่าพันธุ์ทองดี

3. การศึกษาประสิทธิภาพของสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

ผลการศึกษาดังตารางที่ 3 เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (4% W/V) มาพัฒนาเป็นสบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดียิ่งขึ้น ให้ขนาดโซนยับยั้งเฉลี่ยอยู่ที่ 12.38 ± 1.78 และ 13.50 ± 1.41 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของพัชรภรณ์ ฐิตวงศ์เสวต, เสาวลักษณ์ วงษ์จันลา และวิจิตร จันตาวงศ์ (2559) ที่นำสารสกัดจากมะขามป้อมมาพัฒนาเป็นสบู่ต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสบู่ผสมสารสกัดจากมะขามป้อมจะให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้งที่กว้างกว่าสารสกัดจากมะขามป้อม ทั้งใน *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* แสดงว่า สารเคมีที่เป็นส่วนผสมของสบู่หรือสบู่เหลวก็มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย จึงช่วยเสริมฤทธิ์สารสกัดจากพืช ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

งานวิจัยนี้สนับสนุนว่าสารสกัดจากเปลือกส้มโอมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อของแบคทีเรียได้ สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สบู่เหลวผสมสารสกัดจากเปลือกส้มโอ เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้และเพิ่มมูลค่าให้ของเหลือทิ้งจากภาคการเกษตร ในการศึกษาวิจัยในลำดับต่อไป ควรมีการประเมินช่วงเวลาอายุการเก็บรักษา (Shelf life) ของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาติอาจสลายตัวได้ง่าย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 (เครือข่ายวิจัยอุดมศึกษาภาคกลางตอนล่าง)

เอกสารอ้างอิง

- กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2560). *สถานการณ์การปลูกส้มโอ ปี 2559* เรียงตามเนื้อที่ปลูกจากมากไปน้อยรายจังหวัด. สืบค้นจาก <http://www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant/rortor/fruit2/pomelo.pdf>
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง พ.ศ. 2561 (2561, 19 ตุลาคม). *ราชกิจจานุเบกษา*. เล่ม 135 ตอนพิเศษ 363 ง, หน้า 18-22.
- ปริญานุษ ฤกษ์ประสิทธิ์ และ พรทิพย์ จิงถาวรณ. (2552). *ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อของสารสกัดจากส้มต่อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค*. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ). มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพมหานคร.
- พัชรารณ ฐิตวงศ์เศวต, เสาวลักษณ์ วงษ์จันลา และวิจิตร จันดาวงศ์. (2559). สบู่ต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดจากผลมะขามป้อม. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)*, 8(15), 27-39.
- วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, พัชร กัมมารเจษฎากุล และ อิสยา จันทรวิธานุชิต. (2559). ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922. *วารสารมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติวิชาการ*, 19(38), 35-48.
- Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2013). Antimicrobial activity of crude extract of *Citrus hystrix* and *Citrus maxima*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(1), 296-300.
- Bora, H., Kamle, M., Mahato, D. K., Tiwari, P., & Kumar, P. (2020). Citrus essential oils (CEOs) and their applications in food: An overview. *Plants*, 9(3), 357. doi: 10.3390/plants9030357.
- Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2018). Biological activities and safety of *Citrus* spp. essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1966. doi: 10.3390/ijms19071966.
- Hongpattarakere, T., Chanthachum, S., & Chanthaphon, S. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30, 125-131.
- McNamara, P. J., & Levy, S. B. (2016). Triclosan: An instructive tale. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(12), 7015-7016. doi: 10.1128/AAC.02105-16.
- Obi, C. N. (2014). Antibacterial activities of some medicated soaps on selected human pathogens. *American Journal of Microbiological Research*, 2(6), 178-181. doi: 10.12691/ajmr-2-6-3.
- Phat, D. T., Tuyen, K. C., Huynh, X. P. & Truc, T. T. (2020). Extraction process optimization and characterization of the pomelo (*Citrus grandis* L.) peel essential oils grown in Tien Giang Province, Vietnam. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 7(4), 26-33. doi: 10.37929/nveo.780505.

- Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1), 112–119.
- Sir Elkhatim, K. A., Elagib, R. A., & Hassan, A. B. (2018). Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese citrus fruits. *Food Science & Nutrition*, 6(5), 1214–1219. doi: 10.1002/fsn3.660.
- Wang, C. F. & Tian, Y. (2015). Reproductive endocrine-disrupting effects of triclosan: Population exposure, present evidence and potential mechanisms. *Environmental Pollution*, 206, 195–201. doi: 10.1016/j.envpol.2015.07.001.
- Weatherly, L. M. & Gosse, J. A. (2017). Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 20(8), 447–469. doi: 10.1080/10937404.2017.1399306.
- Witorsch, R. J. (2014). Critical analysis of endocrine disruptive activity of triclosan and its relevance to human exposure through the use of personal care products. *Critical Reviews in Toxicology*, 44(6), 535–555. doi: 10.3109/10408444.2014.910754.
- Yueh, M. F. & Tukey, R. H. (2016). Triclosan: A widespread environmental toxicant with many biological effects. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 56, 251–272. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010715-103417.

