

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดมะกรูดเพื่อพัฒนาเป็นสเปรย์ระงับกลิ่นเท้า Antibacterial Activity of Citrus hystrix Extracts and Their Application in Foot Deodorant Spray Development

กมลรัตน์ นทีสินทรัพย์^{1,*}, กรรณิกา เงินบุตรโคตร¹, โสฬส พึ่งทัศน์¹ และประดิษฐ์ หวังมาน²
Kamonrat Nateesinsub^{1,*}, Kannika Ngoebudkote¹, Sorot Phungtat¹,
and Pradit Wangman²

¹โรงเรียนมัธยมสาธิตวัดพระศรีมหาธาตุ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

¹Wat Phrasrimahadhat Secondary Demonstration School, Phranakhon Rajabhat University

²Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

*Corresponding Author E-mail Address: kamomrat@pnru.ac.th

Received May 19, 2025; Revised May 30, 2025; Accepted May 31, 2025

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะกรูดและผิวมะกรูดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 ที่แยกได้จากเท้าของผู้มีกลิ่นเท้า และ 2) คัดเลือกสารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุดเพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า การทดลองใช้วิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากผิวมะกรูดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสามชนิดได้ดีกว่าสารสกัดจากใบมะกรูด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) เท่ากับ 125 µg/ml ต่อเชื้อทั้งสามชนิด จากนั้นจึงนำสารสกัดจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นดังกล่าวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพร และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียอีกครั้งด้วยวิธีเดียวกัน ผลการทดสอบพบว่าสเปรย์สมุนไพรสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกัน สรุปได้ว่าสารสกัดจากผิวมะกรูดและผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพรที่พัฒนาขึ้นมีศักยภาพในการนำไปใช้ควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้า

คำสำคัญ: มะกรูด; *Staphylococcus aureus*; สารสกัดสมุนไพร

Abstract

This research aimed to (1) investigate the antibacterial activity of kaffir lime (*Citrus hystrix*) leaf and peel extracts against *Staphylococcus aureus*, FT Isolate 1, and FT Isolate 2 bacteria isolated from individuals with foot odor and (2) develop a herbal foot deodorant spray using the most effective extract. The antibacterial activity was assessed using the agar well diffusion method. The results showed that the peel extract exhibited greater inhibition against all three bacterial strains compared to the leaf extract. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of the peel extract were both 125 µg/ml for all tested strains. The peel extract at the MIC level was then used to formulate a herbal foot spray. The final product was re-evaluated for antibacterial activity using the same method, and the results confirmed that the spray effectively inhibited the growth of all three bacterial strains. In conclusion, *Citrus hystrix* peel extract and its derived herbal spray demonstrated significant potential for controlling odor-causing bacteria on the feet.

Keywords: *Citrus hystrix*; *Staphylococcus aureus*; Herbal extracts

บทนำ

เนื่องจากปัจจุบันเกิดสภาวะโลกร้อนมากขึ้นกว่าทุกปี ส่งผลให้อุณหภูมิสูงขึ้น ร่างกายก็จะมีการขับเหงื่อเพิ่มมากขึ้นเพื่อเป็นการช่วยลดอุณหภูมิของร่างกาย และสิ่งที่ส่งผลตามมาก็คือกลิ่นกาย กลิ่นเท้า ซึ่งเกิดจากการหลั่งสารจากต่อมกลิ่นที่อยู่ใต้ผิวหนัง บริเวณที่มีความอับชื้น เช่น รักแร้ ขาหนีบ ซอกนิ้วเท้า บริเวณเหล่านี้มีโอกาสที่สิ่งขับถ่ายจากผิวหนัง เช่น เหงื่อ สารหลังจากต่อมกลิ่นออกมา เมื่อเกิดการขับเหงื่อแล้วจะเป็นบริเวณที่เกิดการระเหยไปได้ยาก ทำให้เกิดการสะสมและเป็นแหล่งอาหารชั้นดีของเชื้อจุลินทรีย์ เกิดการย่อยสลายเป็นสารที่มีกลิ่นฉุนระเหยออกมา (อรรธวุฒิ รัตนศักดิ์, 2550) ก่อให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ต่อคนรอบข้างส่งผลให้ขาดความมั่นใจในการทำลายบุคลิกภาพ และกลิ่นเท้าก็เป็นอีกปัญหาหนึ่งที่หลายคนให้ความสนใจ สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นเท้าคือเหงื่อ ซึ่งทำให้เกิดแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ เช่น *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ในวงศ์ Micrococcaceae มีรูปร่างกลม สามารถเจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปตามผิวหนังและเยื่อบุผิวของร่างกายมนุษย์และสัตว์ ซึ่งนอกจากเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นแล้วยังสามารถเป็นเชื้อก่อโรคได้ (อัยรินทร์, 2565) ปัจจุบันกระแสนิยมผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรมีเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยสูงกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากสารเคมี สมุนไพรจึงมีโอกาพัฒนา

เป็นพืชเศรษฐกิจ ซึ่งสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศ ตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 12 และสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติรายประเด็น ด้านการพัฒนาสมุนไพร ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และไม่มีสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม

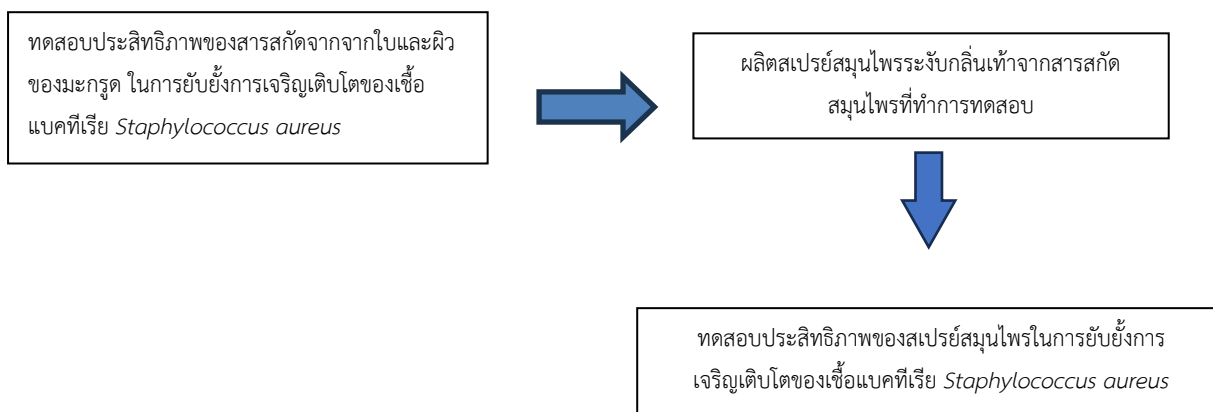
ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาสารสกัดจากใบและผิวของมะกรูด ที่จะช่วยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้า เนื่องจากช่วงเวลาที่พืชมักจะมีนักเรียนบางกลุ่มทำกิจกรรมกลางแจ้ง เช่น เล่นกีฬา ส่งผลให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ต่อบุคคลรอบข้าง อีกทั้งทำให้เกิดผลกระทบต่อรายวิชาที่มีคาบเรียนในช่วงบ่ายเนื่องจากกลิ่นเท้ารบกวนระหว่างการเรียนรู้ทำให้บรรยากาศในการเรียนลดลง ผู้วิจัยจึงต้องการแก้ปัญหาในจุดนี้ โดยจะศึกษาสมุนไพรที่สามารถการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้า เพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นเท้าต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบมะกรูดและผิวมะกรูดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*
2. เพื่อคัดเลือกสารสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* มาผลิตเป็นสเปรย์สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า

กรอบแนวคิดการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยและพัฒนา (Research and Development: R&D) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย คือ มะกรูด (*Citrus hystrix*) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นสาเหตุของกลิ่นเท้า และนำสารสกัดที่มีประสิทธิภาพไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบในรูปแบบสเปรย์สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนหลักตามกรอบแนวคิดในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัย

1) การเก็บข้อมูล

งานวิจัยนี้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพร โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างจากเท้าของผู้มีกลิ่นเท้า ด้วยสารสกัดสมุนไพรจากใบมะกรูดและผิวมะกรูด โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 8 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียมสารสกัดหยาบจากมะกรูด

นำผิวและใบมะกรูดมาล้างให้แห้ง จากนั้นห่อด้วยผ้าขาวบางและแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% เป็นเวลา 3 วัน นำสารละลายที่ได้มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporation) และคำนวณร้อยละผลได้ (% yield) จากนั้นนำสารสกัดเปรียบเทียบกับน้ำหนักวัตถุดิบแห้ง

ขั้นตอนที่ 2: การแยกเชื้อแบคทีเรียจากเท้า

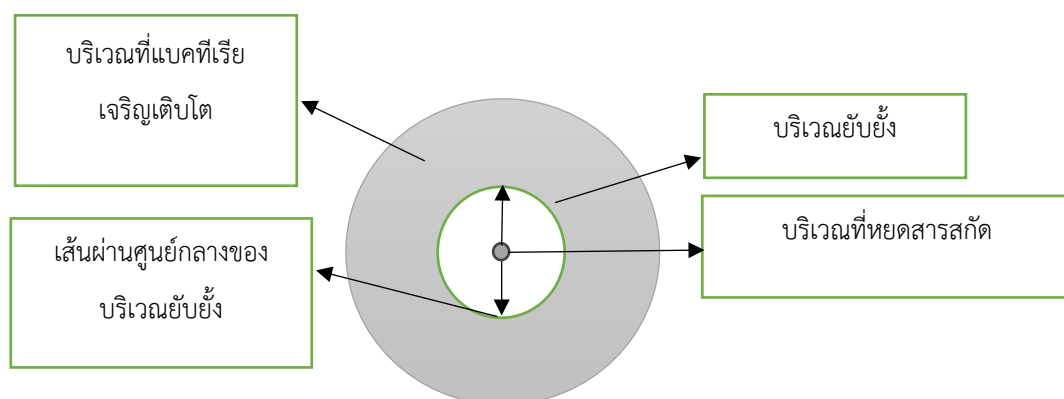
เก็บตัวอย่างเชื้อจากเท้าของผู้มีกลิ่นเท้าด้วยการ swab แล้วนำลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Nutrient Broth) บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการ streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง และคัดแยกโคโลนีที่มีลักษณะเหมือนกัน เพื่อให้ได้แบคทีเรียบริสุทธิ์

ขั้นตอนที่ 3: การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และเชื้อที่ได้จากการแยก (FT Isolate 1 และ FT Isolate 2) มาเพาะลงบนจานเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร แล้วบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้เชื้อสดสำหรับทดสอบ

ขั้นตอนที่ 4: การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Agar Well Diffusion

ปรับความขุ่นของสารละลายเชื้อให้เท่ากับ McFarland 0.5 แล้วนำมาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค spread plate เเจาะรูบนจานด้วย cock borer และหยดสารสกัดลงไป ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดรัศมีของบริเวณยับยั้งเชื้อ (clear zone) และคำนวณพื้นที่เฉลี่ยของ clear zone เพื่อนำไปวิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ



ภาพที่ 2 วิธีการสังเกตบริเวณยับยั้ง (clear zone)

ที่มา : ภาพวาดโดย พิศพงศ์ บุญฤกษ์ เมื่อวันที่ 11 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2568

ขั้นตอนที่ 5: การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC)

เตรียมชุดสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ (1.56–50.0 มก./มล.) เจือจางใน Nutrient Broth และเติมเชื้อในอัตราส่วน 1:1 แล้วบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการขึ้นหรือตะกอนคือค่า MIC

ขั้นตอนที่ 6: การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้ (MBC)

นำหลอดที่ไม่แสดงการเจริญของเชื้อในขั้นตอน MIC มา streak ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งและบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อคือค่า MBC

ขั้นตอนที่ 7: การเตรียมผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพร

เลือกสารสกัดที่ให้ผลการยับยั้งสูงสุด และใช้ความเข้มข้นที่ใกล้ค่าควบคุม MIC มาผสมเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์ โดยมีส่วนผสมหลัก ได้แก่ แอลกอฮอล์ 95%, น้ำกลั่น, สารสกัดหยาบ และสารช่วยประสาน (Tween)

ขั้นตอนที่ 8: การทดสอบประสิทธิภาพของสเปรย์สมุนไพร

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 ด้วยวิธี Agar well diffusion เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 4 โดยหยดสเปรย์สมุนไพรลงในหลุมของจานเพาะเชื้อ วัดค่า clear zone และคำนวณประสิทธิภาพการยับยั้งเปรียบเทียบกับสารสกัดเดี่ยว

2) การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัยนี้ใช้สถิติเชิงพรรณนาเพื่อสรุปผลการทดลองในแต่ละขั้นตอน โดยเริ่มจากการคำนวณร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบจากผิวและใบมะกรูด โดยเทียบสัดส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดที่ได้กับน้ำหนักวัตถุดิบแห้ง เพื่อประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการสกัด ต่อมาในการประเมินฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ใช้วิธี Agar well diffusion โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ (clear zone) เป็นหน่วยมิลลิเมตร แล้วคำนวณพื้นที่ของวงกลม (πr^2) เพื่อหาค่าเฉลี่ยของพื้นที่ยับยั้ง และคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ (triplicate) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 อย่างชัดเจน

ในส่วนของการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) จะพิจารณาจากความใสของสารละลายในหลอดทดลอง และการไม่ปรากฏโคโลนีบนจานเลี้ยงเชื้อตามลำดับ โดยบันทึกค่าที่ต่ำที่สุดซึ่งให้ผลตามเกณฑ์ ทั้งนี้ การประเมินผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพรที่พัฒนาขึ้นจะดำเนินการด้วยวิธีเดียวกับการทดสอบสารสกัดหยาบ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพหลังการพัฒนาในเชิงเชิงปริมาณ และรายงานผลในรูปแบบของค่าเฉลี่ยขนาดบริเวณยับยั้ง พร้อมนำเสนอในรูปแบบตารางและแผนภาพ เพื่อให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างเป็นระบบระหว่างสารสกัดในรูปแบบดั้งเดิมและผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

ผลการวิจัย

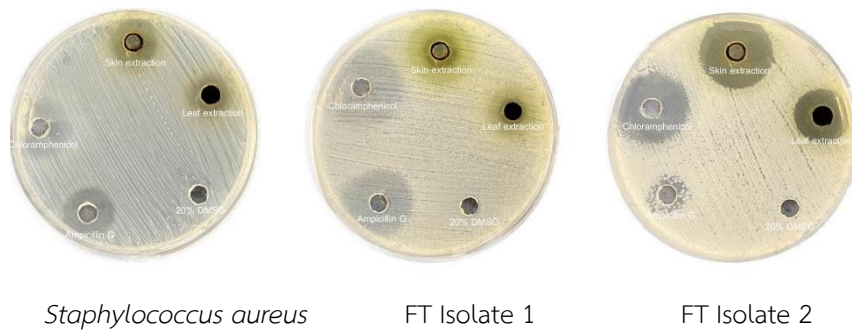
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างจากเท้าของผู้มีกลิ่นเท้า ด้วยสารสกัดสมุนไพรจากใบมะกรูดและผิวมะกรูด เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพร ได้ผลการวิจัยดังนี้

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, เชื้อรหัส FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 ด้วยสารสกัดจากผิวมะกรูดและใบมะกรูด

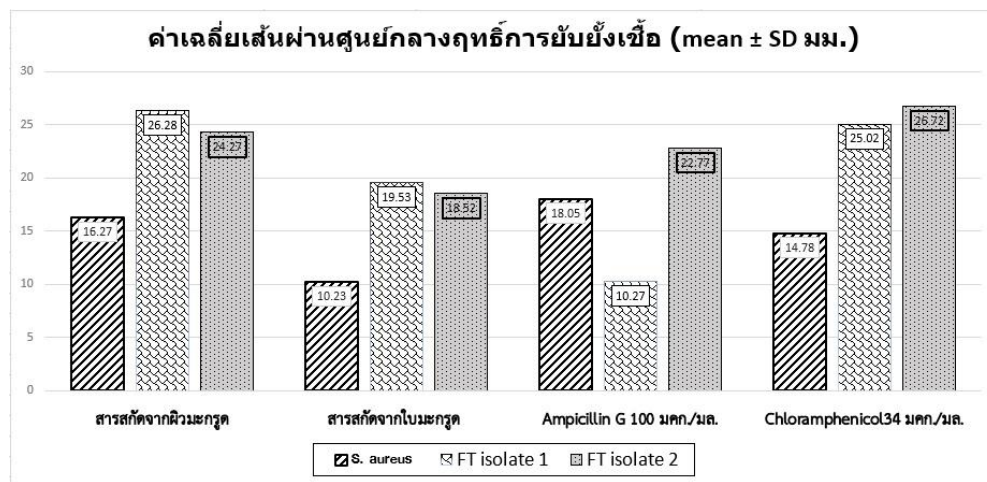
แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (mean $\pm$ SD มม.)				
	สารสกัดจาก ผิวมะกรูด	สารสกัดจาก ใบมะกรูด	Ampicillin G	Chloramphenicol	10% DMSO
	500 มก./ มล.	500 มก./ มล.	100 มก./มล.	34 มก./มล.	
<i>S. aureus</i>	16.27 $\pm$ 0.42	10.23 $\pm$ 0.51	18.05 $\pm$ 0.46	14.78 $\pm$ 0.33	-
FT isolate 1	26.28 $\pm$ 0.41	19.53 $\pm$ 0.30	10.27 $\pm$ 0.45	25.02 $\pm$ 0.15	-
FT isolate 2	24.27 $\pm$ 0.45	18.52 $\pm$ 0.33	22.77 $\pm$ 1.12	26.72 $\pm$ 0.39	-

unit: mm., ต่อปริมาณสารสกัดที่หยดลงไป 50 μ l

จากตารางที่ 1 สารสกัดจากผิวมะกรูดและใบมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด โดยสารสกัดจากผิวมะกรูดมี clear zone ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, เชื้อรหัส FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 เท่ากับ 16.27 $\pm$ 0.42, 26.28 $\pm$ 0.41 และ 24.27 $\pm$ 0.45 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากใบมะกรูดมี clear zone เท่ากับ 10.23 $\pm$ 0.51, 19.53 $\pm$ 0.30 และ 18.52 $\pm$ 0.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ ชุดควบคุมเชิงลบ คือ 20% DMSO ไม่เกิด clear zone ชุดควบคุมเชิงบวก ได้แก่ Ampicillin G. และ Chloramphenicol เกิด clear zone โดย Ampicillin G. เกิด clear zone เท่ากับ 18.05 $\pm$ 0.46, 10.27 $\pm$ 0.45 และ 22.77 $\pm$ 1.12 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ Chloramphenicol เกิด clear zone เท่ากับ 14.78 $\pm$ 0.33, 25.02 $\pm$ 0.15 และ 26.72 $\pm$ 0.39 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 และ 4



ภาพที่ 3 บริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผิวมะกรูดและใบมะกรูด
ที่มา : ภาพถ่ายโดย ประดิษฐ์ หวังมาน เมื่อวันที่ 5 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2568



ภาพที่ 4 กราฟแสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผิวมะกรูดและใบมะกรูด
ที่มา : ภาพวาดโดย กรรณิกา เงินบุตรโคตร เมื่อวันที่ 13 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2568

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของผิวมะกรูด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC)

ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (mean ± SD มม.) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัด								
แบคทีเรีย	500 มก./มล.	250 มก./มล.	125 มก./มล.	62.50 มก./มล.	31.25 มก./มล.	15.62 มก./มล.	7.81 มก./มล.	10% DMSO
<i>S. aureus</i>	14.78 ± 0.35	13.72 ± 0.43	11.53 ± 0.49	-	-	-	-	-
FT isolate 1	26.28 ± 0.40	24.23 ± 0.44	20.78 ± 0.36	18.77 ± 0.55	14.02 ± 0.31	10.03 ± 0.12	-	-
FT isolate 2	24.02 ± 0.37	21.28 ± 0.45	17.52 ± 0.20	15.50 ± 0.22	-	-	-	-

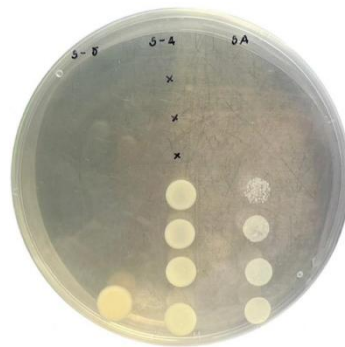
unit: mm., ต่อปริมาณสารสกัดที่หยดลงไป 50 µl

จากตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผิวมะกรูด (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) คือ 125 $\mu\text{g/ml}$ โดยมี clear zone ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* เชื้อรหัส FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 เท่ากับ 11.53 ± 0.49 , 20.78 ± 0.36 และ 17.52 ± 0.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 บริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างๆ
ที่มา : ภาพถ่ายโดย ประดิษฐ์ หวังมาน เมื่อวันที่ 7 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2568

เมื่อนำค่าความเข้มข้นเดียวกันไปทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) พบว่าได้ผลการทดสอบเท่ากัน คือ 125 $\mu\text{g/ml}$ ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 บริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้นต่างๆ
ที่มา : ภาพถ่ายโดย ประดิษฐ์ หวังมาน เมื่อวันที่ 9 เดือน มีนาคม พ.ศ.2568

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, เชื้อรหัส FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 ด้วยสเปรย์สมุนไพร

แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (mean $\pm$ SD มม.)	
	สเปรย์ที่มีส่วนผสมสารสกัด	สเปรย์ที่ไม่มีส่วนผสมสารสกัด
	ผิวมะกรูด (125 มก./มล.)	ผสมสารสกัดผิวมะกรูด
<i>S. aureus</i>	12.03 $\pm$ 0.45	-
FT isolate 1	22.51 $\pm$ 0.32	-
FT isolate 2	18.48 $\pm$ 0.38	-

จากตารางที่ 3 สเปรย์สมุนไพรที่ผสมสารสกัดจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้น 125 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, เชื้อรหัส FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 ได้ โดยมี clear zone เท่ากับ 12.03 $\pm$ 0.45, 22.51 $\pm$ 0.32 และ 18.48 $\pm$ 0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ ชุดควบคุมเชิงลบ คือ สเปรย์แอลกอฮอล์ที่ไม่มีสารสกัด ไม่เกิด clear zone

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากผิวมะกรูดและใบมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากเท้าของผู้มีกลิ่นเท้า ได้แก่ FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 โดยสารสกัดจากผิวมะกรูดแสดงประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่ศึกษา โดยมีค่า clear zone สูงสุด 26.28 $\pm$ 0.41 มิลลิเมตร ต่อเชื้อ FT Isolate 1 ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน เมื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) ของสารสกัดผิวมะกรูด พบว่ามีค่าเท่ากับ 125 $\mu\text{g/ml}$ ต่อเชื้อทั้งสามชนิด จากผลการทดลองดังกล่าว ผู้วิจัยได้นำสารสกัดจากผิวมะกรูดที่ความเข้มข้น 125 $\mu\text{g/ml}$ ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบสเปรย์สมุนไพร และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้ออีกครั้ง พบว่าสเปรย์สมุนไพรยังคงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยให้ค่า clear zone เท่ากับ 12.03 $\pm$ 0.45, 22.51 $\pm$ 0.32 และ 18.48 $\pm$ 0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 ซึ่งมีประสิทธิภาพเหนือกว่าสเปรย์แอลกอฮอล์ที่ไม่มีสารสกัด จึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากผิวมะกรูดมีศักยภาพในการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย และสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขอนามัยเท้าได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ โดยสามารถอภิปรายผลการวิจัยได้ดังนี้

จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากผิวมะกรูดและใบมะกรูดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และเชื้อรหัส FT Isolate 1 และ FT Isolate 2 ได้ทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญที่อยู่ในพืชสมุนไพรทั้งสองส่วนมีฤทธิ์ต้านจุลชีพอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบ

ประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ความเข้มข้นเท่ากัน พบว่าสารสกัดจากผิวมะกรูดมีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยมีค่า clear zone มากกว่า โดยสารสกัดจากผิวมะกรูดมีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยและสารประกอบกลุ่ม monoterpenes ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่แข็งแรง

ในเชิงเคมี สารสำคัญที่ตรวจพบในผิวมะกรูด ได้แก่ ลิโมนีน (limonene), ซิตรัล (citral), α -pinene และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยการแทรกซึมเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ทำให้ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเสียหายและเกิดการรั่วไหลขององค์ประกอบภายในเซลล์ ส่งผลให้เซลล์หยุดการเจริญหรือถูกทำลาย (Bassolé & Juliani, 2012; Burt, 2004) จากผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) ที่ 125 $\mu\text{g/ml}$ สำหรับสารสกัดจากผิวมะกรูดในเชื้อทุกชนิด สะท้อนถึงความแรงของสารต้านจุลชีพที่มีคุณภาพดีและสม่ำเสมอ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Radulović et al. (2010) ที่ระบุว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรตระกูล Citrus มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้อย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อสารสกัดถูกพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพร พบว่าประสิทธิภาพยังคงอยู่ในระดับสูง โดยมีค่า clear zone เทียบได้กับสารสกัดดั้งเดิม แม้จะมีแนวโน้มลดลงบ้าง เนื่องจากความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ในสูตรผลิตภัณฑ์ลดลงหรือเกิดการกระจายตัวในระบบตัวทำละลาย ซึ่งอาจส่งผลต่อความสามารถในการซึมผ่านสู่เชื้อแบคทีเรียได้บ้าง อย่างไรก็ตาม การที่ clear zone ยังคงอยู่ในระดับที่มีนัยสำคัญทางสถิติแสดงถึงศักยภาพของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาแล้ว (Helander et al., 1998)

โดยรวมแล้ว ผลการวิจัยในครั้งนี้สนับสนุนการใช้พืชสมุนไพรในกลุ่ม Citrus เป็นแหล่งสารต้านจุลชีพธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพสูง และสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยได้จริง โดยเฉพาะในรูปแบบสเปรย์สมุนไพรที่สะดวก ปลอดภัย และเป็นมิตรกับผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะ

1) ข้อเสนอแนะจากงานวิจัย

1.1 ควรควบคุมปัจจัยแวดล้อมในการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากเท้า เช่น ความชื้น อุณหภูมิ และพฤติกรรมการใช้รองเท้า เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นมาตรฐานและสามารถเปรียบเทียบได้อย่างชัดเจน

1.2 ควรศึกษาความคงตัวของสารสกัดจากผิวมะกรูดและผลิตภัณฑ์สเปรย์สมุนไพรในระยะยาว ภายใต้สภาวะต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิห้อง การสัมผัสแสง และระยะเวลาการจัดเก็บ เพื่อประเมินอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์

1.3 ควรมีการประเมินด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ เช่น การทดสอบการระคายเคืองผิวหนัง (skin irritation test) หรือการแพ้สารสกัดเบื้องต้น เพื่อบริการนำไปใช้จริงในกลุ่มผู้บริโภค

1.4 ควรปรับปรุงผลิตภัณฑ์ในด้านกลิ่น ความรู้สึกขณะใช้ (sensory test) และบรรจุภัณฑ์ เพื่อเพิ่มความน่าสนใจและการยอมรับจากผู้บริโภค

2) ข้อเสนอแนะเพื่อการทำวิจัยในอนาคต

2.1 ควรเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียร่วมกับมะกรูด เช่น ตะไคร้ ใบฝรั่ง หรือฟ้าทะลายโจร เพื่อพัฒนาเป็นสูตรผสมที่เสริมฤทธิ์กัน

2.2 ควรขยายผลการวิจัยไปสู่การทดสอบภาคสนามกับผู้มีปัญหากลิ่นเท้าจริงในชีวิตประจำวัน เพื่อประเมินผลการใช้ในสภาพแวดล้อมจริงและระดับความพึงพอใจ

2.3 ควรศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในระดับโมเลกุล เพื่อสนับสนุนข้อค้นพบทางชีวภาพและเคมีอย่างลึกซึ้ง และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการจดสิทธิบัตรหรือพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์

เอกสารอ้างอิง

อัยรินทร์ กนกเลิศวงศ์. 2565. การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส จากน้ำมันถั่วดาว

อินคา. สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

อรรธวุฒิ รัตนศักดิ์. 2550. โครงสร้างตลาดผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายในประเทศไทย. สารนิพนธ์เศรษฐศาสตร์
มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. *Molecules*, 17(4), 3989-4006.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

Helander, I. M., Alakomi, H.-L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M., & von Wright, A. (1998). Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3590-3595. <https://doi.org/10.1021/jf980154m>

Radulović, N., N., Đ., R., P., & and Zlatković, B. (2010). Volatiles from the Leaves of *Carum graecum* Boiss. et Heldr. subsp. *graecum* (Apiaceae) from Serbia. *Journal of Essential Oil Research*, 22(6), 518-520. <https://doi.org/10.1080/10412905.2010.9700387>