

ลักษณะทางกายภาพและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากมะกรูด ตะไคร้ และมะนาว

Physical Properties and Anti-Bacterial Activity of Essential Oils Extracted from Kaffir Lime, Lemongrass, and Lime

ฟิรดาว เฮงตา¹, อุมนียะห์ กูนา¹, ยมณ พิทักษ์ภาวศุทธิ¹, สุกัญญา กำลึงมาก^{1*}

Firdao Hengta¹, Umniyah Kuna¹, Yamon Pitakpawasutthi¹, Sukanjana Kamlungmak^{1*}

บทคัดย่อ

น้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันที่พืชสามารถผลิตขึ้นได้ตามธรรมชาติแล้วเก็บไว้ในส่วนต่างๆ ของพืช น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชสมุนไพรจะนำมาทำเป็นน้ำมันนวด ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ยาต้ม และเครื่องปรุงอาหารอีกด้วย โดยงานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาลักษณะทางกายภาพ 2) วิเคราะห์ปริมาณที่กักได้ (% yield) 3) วิเคราะห์ต้นทุนการผลิต 4) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย ผลการศึกษา พบว่าลักษณะทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด มีสีเหลืองทอง กลิ่นหอมฉุน ตันตะไคร้ มีสีเหลืองอ่อน กลิ่นหอมเฉพาะ และเปลือกมะนาว มีสีเหลืองทอง กลิ่นหอมเฉพาะ และมีค่า pH เท่ากับ 3.74, 3.74 และ 3.94 ตามลำดับ % yield ของสมุนไพรเท่ากับ 0.37%, 0.23% และ 0.32% ตามลำดับ ต้นทุนการผลิตต่อ 1 mL เท่ากับ 11.59, 11.13 และ 14.02 บาท ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยใบมะกรูด 0.10-0.18% v/v น้ำมันหอมระเหยต้นตะไคร้ 0.10% v/v และน้ำมันหอมระเหยเปลือกมะนาว 0.18-1.56% v/v มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyrogens* และ *Streptococcus pneumonia* จึงเหมาะสมในการนำน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิด มาพัฒนาตำรับและผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ในอนาคต

คำสำคัญ: การสกัดน้ำมันหอมระเหย, สมุนไพร, ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

Citation:

Hengta F, Kuna U, Pitakpawasutthi Y, Kamlungmak S. Physical properties and anti-bacterial activity of essential oils extracted from kaffir lime, lemongrass, and lime. Health Sci J Thai 2024; 6(4): 57-64. (in Thai); <https://doi.org/10.55164/hsjt.v6i4.267600>

¹ คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

¹ Faculty of Health and Sports Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210, Thailand

* Corresponding author: Tel.: 087-8846635. E-mail address: ksukanjana@tsu.ac.th
Received: Feb 4, 2024; Revised: Jun 26, 2024; Accepted: Jul 26, 2024
<https://doi.org/10.55164/hsjt.v6i4.267600>

Abstract

Plants produce essential oils naturally in different parts. Essential oil from herb plants are used as massage oil, medicine, skin care products, Inhalers, and food ingredients. The objectives of this research were 1) to study the physical characteristics, 2) to assess the amount of distilled essential oil (% yield), 3) to evaluate the distillation cost of essential oil, and 4) to study the antibacterial activity. The results of the study found that the physical characteristics of essential oils from the kaffir lime leaf were yellow gold and had a pungent smell, lemongrass was light yellow and had a particular scent, and lime peel was yellow gold and had a particular scent and pH values were 3.74, 3.74, and 3.94, respectively. The essential oil yields were 0.37%, 0.23%, and 0.32%, respectively. The cost of essential oils per 1 mL was 11.59, 11.13, and 14.02 baht, respectively. Kaffir lime leaf essential oil at concentrations of 0.10-0.18% v/v, lemongrass essential oil at 0.10% v/v, and lime peel essential oil at concentrations ranging from 0.18% to 1.56% v/v demonstrated antibacterial characteristics and were effective to inhibit *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, and *Streptococcus pneumoniae*. Hence, it is suitable to use the potential of these three essential oils to use in formulations and commercial products for future research.

Keywords: Extraction of essential oils, Herbs, Antibacterial

บทนำ

ประเทศไทยมีภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญงอกงามของพืชนานาชนิด โดยเฉพาะสมุนไพรที่มีอยู่มากมายหลายชนิด ทั้งที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติและจากการเพาะปลูกบางชนิด⁽¹⁾ โดยในพื้นที่อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง มีพืชสมุนไพร มากมาย ซึ่งคนในพื้นที่ก็จะนำพืชสมุนไพรนี้ไปใช้ประโยชน์ ในด้านต่างๆ ทั้งทางด้านการรักษา ยาบำรุงร่างกาย และใช้ในการ ประกอบอาหาร เป็นต้น และเนื่องด้วยในปัจจุบันผู้คนส่วนใหญ่ เริ่มหันมาสนใจในสุขภาพมากขึ้น น้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมัน ที่พืชสามารถผลิตขึ้นมาได้ตามธรรมชาติแล้วเก็บไว้ในส่วนต่างๆ ของพืช น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชสมุนไพรจะนำมาทำเป็น น้ำมันนวด ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว น้ำหอม เครื่องสำอาง ยาต้ม และเครื่องปรุงแต่งอาหารอีกด้วย ซึ่งน้ำมันหอมระเหย จากสมุนไพรส่วนใหญ่จะได้จากกระบวนการสกัด ซึ่งกระบวนการ สกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรก็มีวิธีการที่หลากหลาย แตกต่างกันไป⁽²⁻³⁾ ซึ่งในปัจจุบันการสกัดน้ำมันหอมระเหย มีหลากหลายวิธี การกลั่นน้ำมันหอมระเหย (Distillation) เป็น วิธีหนึ่งที่ยอดนิยมอย่างแพร่หลายในการสกัดน้ำมันหอมระเหย หลักการของการกลั่น คือใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเข้าไปแยก น้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืช โดยการแทรกซึมเข้าไปใน เนื้อเยื่อพืช ความร้อนจะทำให้สารละลายออกมากลายเป็นไอน้ำปนมากับน้ำร้อนหรือไอน้ำ อย่างไรก็ตามการกลั่นเพื่อให้ได้น้ำมัน หอมระเหยที่มีคุณภาพดีนั้น ต้องอาศัยเทคนิคและกระบวนการ ทางเคมีและกายภาพหลายอย่างประกอบกัน โดยทั่วไป เทคนิค การกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่ใช้กันอยู่มี 3 วิธี ได้แก่ 1) การกลั่น ด้วยน้ำร้อน (Water distillation) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุด โดยการนำ วัตถุดิบลงไปต้มในน้ำโดยตรง 2) การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ

(Water and steam distillation) ลักษณะการกลั่นเป็นการนำ วัตถุดิบโดยที่วัตถุดิบไม่ได้แช่อยู่ในน้ำร้อนขณะทำการกลั่น และ 3) การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) ซึ่งเป็นการกลั่นที่ คล้ายกับการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำแต่แตกต่างกันตรงที่หม้อกลั่น แยกออกจากชุดหม้อต้มไอน้ำ ทำให้การกลั่นโดยวิธีนี้มีต้นทุน ในการกลั่นเพิ่มสูงขึ้น⁽⁴⁾

พื้นที่ภาคใต้มีการปลูกพืชสมุนไพรมะกรูด ตะไคร้ มะนาว กันอย่างแพร่หลายและมีทุกครัวเรือน จึงเหมาะแก่การนำสมุนไพร เหล่านี้มาเป็นวัตถุดิบหลักในการกลั่นน้ำมันหอมระเหย การกลั่น น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด ตะไคร้และเปลือกมะนาว ที่นิยมใช้กันจะเป็นการกลั่นด้วยน้ำ และการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ โดยการสกัดด้วยไอน้ำ ปัจจุบันเป็นที่นิยมอย่างมากเนื่องจาก เป็นวิธีที่ง่าย ซึ่งระบบการกลั่นมีความซับซ้อนที่น้อยกว่าเมื่อ เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยวิธีอื่นๆ จากข้อมูลงานวิจัยก่อนหน้า พบว่า ใบมะกรูด มีสรรพคุณ แก้อาการไอ ขับเสมหะ โดยน้ำมัน หอมระเหยจากผิวมะกรูดมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และยังสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus*⁽⁵⁾ ต้นตะไคร้ มีการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และ ตะไคร้หอมในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. agalactiae*, และ *E. coli* ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้และตะไคร้หอม สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้ดี⁽⁶⁾ และมะนาว เป็นไม้ผลมีรสเปรี้ยวจัด มีสรรพคุณแก้อาการเจ็บคอ ไอ รวมทั้ง เป็นยาบำรุงผิวจัดอยู่ในไม้ผลตระกูลส้ม (Citrus) ผลสีเขียว จากงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าพืชในตระกูล Citrus ได้แก่ มะนาว มะกรูด มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี โดยเฉพาะ *S. aureus* และบางงานวิจัยยังพบว่ายับยั้ง Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ซึ่งเป็น *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Methicillin จัดเป็นยา

ในกลุ่ม B-lactam antibiotics⁽⁷⁾

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ศึกษาลักษณะทางกายภาพ วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้ (% yield) ต้นทุนการผลิต ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย Group A *Streptococcus* (GAS) ของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ใบมะกรูด ต้นตะไคร้ และเปลือกมะนาว เพื่อนำมาพัฒนาตำรับและผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ โดยใช้สารสกัดจากสมุนไพรจากธรรมชาติให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการศึกษาต่อไป

วิธีการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้เป็นวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ (Laboratory experiment) รายงานผลและวิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และร้อยละ ทำการศึกษาระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2566 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2566 ณ คณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

แบคทีเรีย:

เชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923 *Streptococcus pneumoniae* ATCC44164 และ *Streptococcus pyogenes* clinical isolate

วัตถุดิบหรือสารสำคัญ:

สมุนไพร 3 ชนิด ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* D.C.) ต้นตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf) เปลือกมะนาว (*Citrus auratifolia* Swingle) และน้ำกลั่น

เครื่องมือและอุปกรณ์:

เครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหยจาก J.S.D.MACHINERY

LIMITED PARTNERSHIP เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง และ pH meter โดยเครื่องมือจะได้รับการ Calibration โดยบริษัท กิ๊ปไทย จำกัด ปีละ 1 ครั้ง

วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยสมุนไพร

การสกัดน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ ใบมะกรูด ต้นตะไคร้ และเปลือกมะนาว จะสกัดด้วยวิธีเดียวกัน โดยสกัดแยกแต่ละชนิด โดยใช้เครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย ดังนี้ 1) ทำความสะอาดสมุนไพร โดยการล้างน้ำ แล้วผึ่งลมให้แห้ง หั่นสมุนไพรเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปบด ชั่งน้ำหนักแล้วจดบันทึกไว้ ดังแสดงในภาพที่ (Figure) 1 2) เติมน้ำลงในเครื่องกลั่นสมุนไพร สูงกว่าส่วนของสมุนไพรประมาณ 1 นิ้ว หรือปริมาณกันตะแกรงนำวัตถุดิบใส่ในตะแกรง พร้อมปิดฝาให้เรียบร้อย 3) การติดตั้งคอนเดนเซอร์ ให้ใช้เทปพันเกลียวพันที่ท่อเกลียวคอนเดนเซอร์ ยกขึ้นหมุนใส่บนตัวถังกลั่น 4) เปิดสวิทช์ทำความร้อนให้ได้อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส จึงเปิดสวิทช์ปั้มน้ำหล่อเย็น เพื่อเอาน้ำเย็นเข้าไปเลี้ยงคอนเดนเซอร์ให้เย็น จะมีน้ำและน้ำมันหอมระเหยออกมาพร้อมกัน รอสักพักจะเกิดการแยกชั้นของน้ำมันกับน้ำ สามารถทยอยเปิดเอาน้ำมันออกจากหลอดแก้ว เมื่อน้ำในหลอดแก้วมีปริมาณมาก สามารถเปิดวาล์ว เพื่อให้น้ำไหลลงถังกลั่น เพื่อจะไม่ให้น้ำแห้ง 5) ในขณะทำการกลั่นหมดแล้ว ให้ปิดสวิทช์ทั้ง 2 อัน (สวิทช์ทำความร้อน และสวิทช์น้ำหล่อเย็น) และปิดวาล์ว น้ำเย็นเข้าคอนเดนเซอร์ และเปิดวาล์ว 1/2 ด้านบน-ลงให้หมด เพื่อเอาน้ำที่อยู่ในคอนเดนเซอร์ออกให้หมด แล้วเปิดฝาเพื่อเอาวัตถุดิบที่กลั่นหมดแล้วออก 6) เก็บน้ำมันหอมระเหยแบบเข้มข้น (Pure essential oil) จากนั้นเก็บน้ำมันหอมระเหยแบบเจือจาง (Impure essential oil) ตามลำดับไว้ในภาชนะที่บดแสงและเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



(a)



(b)



(c)

Figure 1 The 3 types of herbs are (a) Kaffir lime leaf (b) Lemongrass and (c) Lime peel

การศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น

ศึกษาลักษณะทางกายภาพ โดยสังเกตสีและกลิ่น ของน้ำมันหอมระเหยที่กลั่น และวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter และวัดซ้ำจำนวน 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยเข้มข้นที่กลั่น

คำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำมันหอมระเหยเข้มข้น นำมาหาค่าเฉลี่ย การหา % yield ของน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้โดยหาได้จาก

สมการ เปอร์เซ็นต์น้ำมันหอมระเหย (%) เท่ากับ [ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (mL)/น้ำหนักตัวอย่างพืช (g)]*100

การวิเคราะห์ต้นทุนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น

ต้นทุนการผลิต คือ ต้นทุนใช้ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบด้วย ต้นทุนวัตถุดิบ ต้นทุนค่าแรง ต้นทุนค่าไฟ ทั้งนี้ไม่คิดต้นทุนเครื่องมือ โดยต้นทุนวัตถุดิบ คัดจากค่าสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด และค่าน้ำกลั่น ค่าสมุนไพรจากข้อมูลพื้นฐานการเกษตร

ด้านพืช แมลงเศรษฐกิจ กลุ่ม ศูนย์ สถาบันเกษตรกร จังหวัดพัทลุง ราคาผลผลิตเฉลี่ย (บาท/กิโลกรัม) ใบมะกรูด 30 บาท ต้นตะไคร้ 10 บาท และเปลือกมะนาว 30 บาท ค่าแรงงานที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิต⁽⁸⁾ คิดจากข้อมูลประกาศอัตราค่าจ้างขั้นต่ำ จังหวัดพัทลุง ให้กำหนดอัตราค่าจ้างขั้นต่ำเป็นเงินวันละ 320 บาท ตกเป็นชั่วโมงละ 40 บาท และค่าไฟในการผลิตหน่วยละ 4.70 บาท ดังสมการ (2 และ 3) ดังนั้น จึงคำนวณต้นทุนการกลั่นน้ำมันหอมระเหย ดังสมการ (4) และวิเคราะห์ต้นทุนน้ำมันหอมระเหยต่อ 1 mL

- การคำนวณค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น คือ $(\text{กำลังไฟฟ้า (W)} \times \text{จำนวนเครื่องไฟฟ้า}) / 1,000 \times \text{จำนวนชั่วโมงที่ใช้ใน 1 วัน}$ เท่ากับ จำนวนหน่วยต่อวัน (Unit) (2)
- ค่าไฟฟ้า เท่ากับ ค่าพลังงานไฟฟ้าต่อหน่วย $\times$ จำนวนหน่วย (3)
- การคำนวณต้นทุนการกลั่นน้ำมันหอมระเหยเข้มข้น คือ ต้นทุนการผลิต เท่ากับ $(\text{ต้นทุนวัตถุดิบ} + \text{ค่าแรงงาน} + \text{ค่าไฟ}) / \text{ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่น (mL)}$ (4)

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยเข้มข้นและเจือจาง

การเตรียมสารทดสอบจากตัวอย่าง โดยนำน้ำมันหอมระเหยจากการกลั่นแบบเข้มข้นและเจือจาง อัตราส่วน 10:1 มาเจือจางแบบ Two fold dilution โดยแต่ละตัวอย่างตั้งต้น 100 % (% v/v) และเจือจางด้วย Muller Hinton Broth จาก Undilute 1:2 1:4 1:8 1:16 1:32 1:64 1:128 1:256 1:512 และ 1:1024 ดังแสดงในตารางที่ (Table) 1 เมื่อเจือจางส่วนในสี่เรียบร้อยแล้ว จะทำการทดสอบกับเชื้อ โดยนำเชื้อต่างๆ ที่เตรียมให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 1×10^6 CFU/mL และใช้ยา Vancomycin เป็น Positive control

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย โดยใช้วิธี Broth dilution method เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (Minimum inhibitory concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (Minimum bactericidal concentration; MBC) โดยนำเชื้อที่ได้เลี้ยงในอาหาร (Brain heart infusion broth: BHI broth) บ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเลือกถ่ายโคโลนี เลี้ยงใน (Trypticase soy broth (Hardy diagnostics criterion, santamaria, USA)) แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่ตู้บ่มเพาะเชื้อ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ McFarland No.0.5 (ประมาณ 10^8 CFU/mL) นำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution method

การทดสอบหาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี Resazurin assay โดยดูการละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นมา 100 ไมโครลิตร แล้วใส่ในภาชนะเลี้ยงชนิด 96 หลุม จากความเข้มข้นต่ำไปสูง โดยทำซ้ำตัวอย่างละ 4 หลุม

และใส่เชื้อลงในภาชนะเลี้ยงทุกหลุมปริมาตร 10 ไมโครลิตร ซึ่งจะอยู่ในแถวที่ 11 และ อาหารเหลวที่ไม่ใส่เชื้อ เพื่อตรวจสอบภาวะไร้เชื้อ ซึ่งจะอยู่ในแถวที่ 12 จากนั้นนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำภาชนะเลี้ยงไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สังเกตค่าการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย จากความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโต สังเกตจากหลุมที่ใส หากมีเชื้อเจริญเติบโต จะพบสารละลายขุ่น

การทดสอบหาค่า Minimal bactericidal concentration (MBC) โดยนำสารละลายจากภาชนะเลี้ยงเชื้อที่ใช้ศึกษาหาค่า MIC หลุมที่สารละลายใส Streak ลงบนอาหารแข็ง BHI Agar แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบผลการทดลองโดยสังเกตความเข้มข้นต่ำสุดของสารตัวอย่างที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ เป็นค่า MBC

Table 1 Two-Fold Dilution and concentration of essential oils

Well number	Ratio	% v/v
1	1:2	50.00
2	1:4	25.00
3	1:8	12.50
4	1:16	6.25
5	1:32	3.13
6	1:64	1.56
7	1:128	0.78
8	1:256	0.39
9	1:512	0.20
10	1:1024	0.10

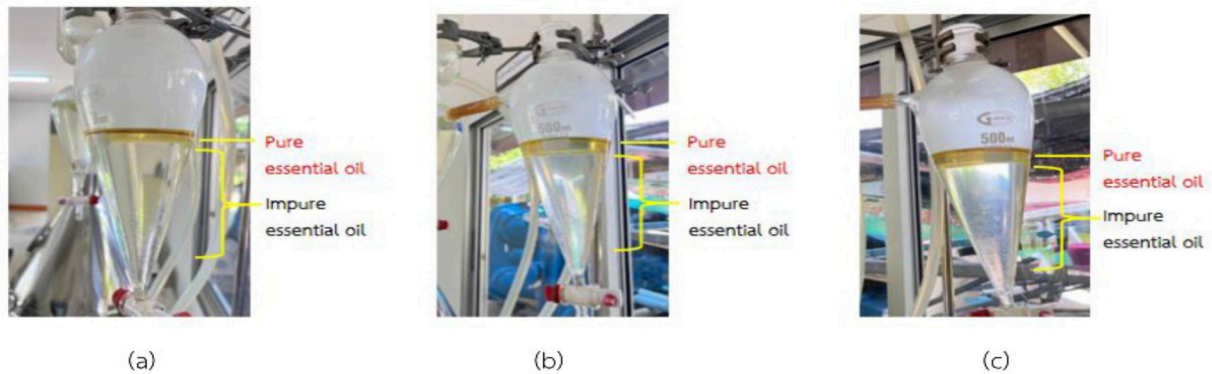
ผลการศึกษา

ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมีสีเหลืองทอง กลิ่นหอมฉุน จากต้นตะไคร้และเปลือกมะนาวมีสีเหลืองอ่อน กลิ่นหอมเฉพาะ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำมันหอมระเหยเข้มข้นใบมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.74 ต้นตะไคร้ เท่ากับ 3.74 และเปลือกมะนาว เท่ากับ 3.94 ดังแสดงในตารางที่ (Table) 2 และดังแสดงในภาพที่ (Figure) 2 ซึ่งค่าเฉลี่ยของสมุนไพรรทั้ง 3 ชนิด มีความเป็นกรดเนื่องจากมะกรูดและมะนาวเป็นพืชในตระกูล Citrus ที่มีรสเปรี้ยวจัด ทำให้ไปเพิ่มความเป็นกรดยิ่งขึ้น⁽⁷⁾ จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากต้นตะไคร้มีความเป็นกรดโดยมีค่าเฉลี่ย pH เท่ากับ 4.93⁽⁹⁾

Table 2 Color, Smell and pH of pure essential oil

Herbs	Color of essential oil	Smell of essential oils	pH of pure essential oil			
			n1	n2	n3	Average±SD
Kaffir lime leaf	Yellow gold	Pungent smell	3.80	3.70	3.73	3.74±0.04
Lemongrass	Light yellow	Particular scent	3.66	3.78	3.80	3.74±0.06
Lime peel	Yellow gold	Particular scent	4.00	3.93	3.89	3.94±0.04

**Figure 2** The characteristics of the essential oil layer separated from the water after extracting herbs from (a) Kaffir lime leaf (b) Lemongrass and (c) Lime peel**ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่น**

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ใบมะกรูด ต้นตะไคร้ และเปลือกมะนาว แม้ว่าน้ำหนักเริ่มต้นของสมุนไพรแต่ละชนิดไม่เท่ากันแต่มีปริมาณเท่ากัน (เต็มตะแกรง) และพบว่าน้ำหนักก่อน-หลังกลั่นของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดลดลง ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยเข้มข้นของใบมะกรูด

เท่ากับ 18.5 mL ต้นตะไคร้ เท่ากับ 12 mL และเปลือกมะนาว เท่ากับ 18 mL เปอร์เซ็นต์น้ำมันหอมระเหย (% yield) ของสมุนไพรเท่ากับ 0.37%, 0.23%, และ 0.32% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ (Table) 4 แม้ว่า % yield จะน้อยแต่มีมูลค่าสูง และสามารถใช้บรรเทาอาการต่างๆ

Table 4 Weight of herb, preparation time, distillation time, unit of electricity, amount and yield of pure essential oils

Herbs	Weight of herb		Preparation time before Distillation		Unit of electricity (unit)	Amount of pure essential oils (mL)	Yield of essential oil (% yield)
	Before distillation (g)	After distillation (g)	distillation (hr)	time (min)			
Kaffir lime leaf	5,000	4,300	2	90	0.33	18.5	0.37
Lemongrass	5,200	4,000	2	90	0.33	12	0.23
Lime peel	5,700	4,200	2	90	0.33	18	0.32

ผลการวิเคราะห์ต้นทุนการกลั่นน้ำมันหอมระเหย

ต้นทุนน้ำมันหอมระเหยต่อ 1 mL เท่ากับ 11.59, 11.13 และ 14.02 บาท ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำมันหอมระเหยที่ผู้วิจัยได้กลั่น พบว่ามีต้นทุนที่ถูกกว่าน้ำมันหอมระเหยตามท้องตลาด ซึ่งราคาน้ำมันหอมระเหยตามท้องตลาด ต่อ 1 mL ของใบมะกรูด ต้นตะไคร้ เปลือกมะนาว เท่ากับ 33, 29 และ 29 บาท ตามลำดับ⁽¹⁰⁾ จากข้อมูลพื้นฐานการเกษตรด้านพืช แมลงเศรษฐกิจ กลุ่ม ศูนย์ สถาบันเกษตรกร จังหวัดพัทลุง ราคาผลผลิตเฉลี่ย

(บาท/กิโลกรัม) ต้นตะไคร้ 10 บาท มะนาว 30 บาท⁽¹¹⁾ และ ใบมะกรูดราคาตามท้องตลาดอยู่ที่ 20-70 บาท⁽¹²⁾ แต่ในพื้นที่ป่าพะยอมผู้วิจัยได้ซื้อในราคา 30 บาทต่อกิโลกรัม หากสามารถนำผลผลิตกลั่นเป็นน้ำมันหอมระเหย จะช่วยเพิ่มมูลค่าและสร้างรายได้ที่สูงขึ้นในกับเกษตรกร ทำให้สามารถเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรในท้องถิ่นได้ในเชิงพาณิชย์ ดังแสดงในตารางที่ (Table) 5

Table 5 Evaluation of the distillation cost of pure essential oil

Herbs	Essential oil cost per 1 mL (Baht)			
	Electricity cost	Minimum wage cost	Raw materials cost	Total cost
Kaffir lime leaf	0.07	3.42	8.10	11.59
Lemongrass	0.13	6.67	4.33	11.13
Lime peel	0.09	4.44	9.50	14.02

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อและฆ่าเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีศักยภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* *S. pyrogens* และ *S. pneumoniae* ได้โดยการหาค่า MIC และค่า MBC ต่อแบคทีเรียด้วยการเจือจางพบว่าใบมะกรูดมีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.10-0.18% v/v

ต้นตะไคร้ พบว่ามีค่าความเข้มข้น 0.10% v/v และเปลือกมะนาว พบว่ามีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.18-1.56% v/v และพบว่า มีเพียงน้ำมันหอมระเหยแบบเจือจางจากต้นตะไคร้ศักยภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. pyrogens* และ *S. pneumoniae* ได้ มีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.39-1.56% v/v ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ (Table) 6

Table 6 Antimicrobial activity (MIC/MBC) of pure essential oil and impure essential oil

Herb	Pure essential oil						Impure essential oil					
	<i>S. Aureus</i>		<i>S. Pyrogens</i>		<i>S. Pneumonia</i>		<i>S. Aureus</i>		<i>S. Pyrogens</i>		<i>S. Pneumonia</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Kaffir lime leaf (% v/v)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.18	-	-	-	-	-	-
Lemongrass (% v/v)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	-	-	0.39	1.56	1.56	0.78
Lime peel (% v/v)	0.18	0.18	0.18	0.39	0.18	1.56	-	-	-	-	-	-
Vancomycin (µg/mL)	0.50	0.50	1.00	4.00	1.00	1.00	0.50	0.50	1.00	4.00	1.00	1.00

Note: (-) No activity

อภิปรายผล

ในพื้นที่อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง มีพืชสมุนไพรมากมายซึ่งคนในพื้นที่ก็นำพืชสมุนไพรนี้ไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ทั้งทางด้านการรักษา ยาบำรุงร่างกาย และใช้ในการประกอบอาหาร เป็นต้น ในปัจจุบันผู้คนส่วนใหญ่เริ่มหันมาสนใจในสุขภาพมากขึ้น น้ำมันหอมระเหยเป็นน้ำมันที่พืชสามารถผลิตขึ้นมาได้ตามธรรมชาติ หากสามารถนำผลผลิตกลั่นเป็นน้ำมันหอมระเหย จะช่วยเพิ่มมูลค่าและสร้างรายได้ที่สูงขึ้นให้กับเกษตรกร ทำให้สามารถเพิ่มมูลค่าของพืชสมุนไพรในท้องถิ่นได้ในเชิงพาณิชย์ จากรายงานหลายฉบับได้แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยได้ช่วยบรรเทาความเครียด ทำให้สดชื่นและเพิ่มพลังงานแก่ผู้ใช้ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อจุลินทรีย์ เชื้อไวรัส และมีการอ้างว่าสามารถบรรเทาอาการของโรคอัลไซเมอร์ โรคหลอดเลือดอุดตัน โรคปวดกล้ามเนื้อ หรือแม้กระทั่งโรคมะเร็ง⁽¹³⁻¹⁶⁾ นอกจากนี้พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยธรรมชาติจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดโรคได้ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยสังเคราะห์ซึ่งมักมีสารระคายเคืองผิวผสมอยู่ด้วย เช่น ตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นต้น⁽¹⁷⁾ จากการศึกษางานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า มะกรูด (*Citrus hystrix* D.C.) ทั้งผลและใบมีกลิ่นหอม

มีสรรพคุณได้แก่ แก้อาการไอ ขับเสมหะ โดยน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูดมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และยังสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus*⁽⁵⁾ ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf) ที่มีกลิ่นหอม มีการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีการรายงานค่า MIC เท่ากับ 3.13 และ MBC เท่ากับ 6.25 µg/mL และเชื้อ *S. agalactiae* *E. coli* พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้ดี ซึ่งผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีการรายงานฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปากและลำคอ ได้แก่ *S. aureus* *S. pyrogens* และ *S. pneumoniae* พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 0.10 และ MBC เท่ากับ 0.10 (% v/v)⁽⁶⁾ และมะนาว (*Citrus auratigolia* Swingle) มะนาวเป็นไม้ผลมีรสเปรี้ยวจัด มีสรรพคุณแก้อาการเจ็บคอ ไอ รวมทั้งเป็นยาบำรุงผิว จากงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าพืชในตระกูล Citrus ได้แก่ มะนาว มะกรูด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี โดยเฉพาะ *S. aureus* และบางงานวิจัยยังพบว่ายับยั้ง Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ซึ่งเป็น *S. aureus*

ที่ต่อต้านยา Methicillin จัดเป็นยาในกลุ่ม B-lactam antibiotics⁽⁷⁾ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ต้นทุนในการกลั่นน้ำมันหอมระเหยจากต้นตะไคร้ใช้ต้นทุนการผลิตน้อยกว่าใบมะกรูดและเปลือกมะนาว อีกทั้งน้ำมันหอมระเหยจากต้นตะไคร้แบบเข้มข้นและเจือจาง มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี

โดยสรุป จากผลการวิจัยพบว่าการสกัดน้ำมันหอมระเหยสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ใบมะกรูด ต้นตะไคร้ และเปลือกมะนาว ด้วยวิธีการสกัดแบบน้ำและไอน้ำ ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากใบมะกรูดมีค่าเท่ากับ 18.5 mL มีสีเหลืองทอง กลิ่นหอมฉุน ต้นตะไคร้ เท่ากับ 12 mL มีสีเหลืองอ่อน กลิ่นหอมเฉพาะ และเปลือกมะนาว เท่ากับ 18 mL มีสีเหลืองทอง กลิ่นหอมเฉพาะ มีเปอร์เซ็นต์น้ำมันหอมระเหย (% yield) ของสมุนไพรเท่ากับ 0.37, 0.23 และ 0.32 ตามลำดับ ต้นทุนน้ำมันหอมระเหยต่อ 1 mL เท่ากับ 11.59, 11.13 และ 14.02 บาท ตามลำดับ การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำมันหอมระเหยเข้มข้นใบมะกรูด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.74 ต้นตะไคร้ เท่ากับ 3.74 และเปลือกมะนาว เท่ากับ 3.94 จากผลการวัดค่า pH พบว่า น้ำมันหอมระเหยทุกชนิดมีค่าเป็นกรด ผู้วิจัยจึงมีแนวทางในการขึ้นตำรับ โดยการใช้สารเพื่อปรับความเป็นกรด เช่น Dipotassium Phosphates (K_2HPO_4 , DKP) (Anhydrous, 98%) และ Potassium Dihydrogen Phosphates (KH_2PO_4 , MKP) (Anhydrous, 98%) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยพบว่า น้ำมันหอมระเหยเข้มข้นจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* *S. pyrogens* และ *S. pneumoniae* ใบมะกรูดมีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.10-0.18% v/v ต้นตะไคร้ พบว่ามีค่าความเข้มข้น 0.10% v/v และเปลือกมะนาวพบว่ามีค่าความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.18-1.56% v/v มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะต้นตะไคร้ และใบมะกรูดมีศักยภาพในการนำมาผลิตในเชิงพาณิชย์ เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์น้ำมันหอมระเหย (% yield) ที่สูงกว่าเปลือกมะนาว และเมื่อวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตน้ำมันหอมระเหยต่อ 1 mL พบว่า น้ำมันหอมระเหยต้นตะไคร้และใบมะกรูดมีต้นทุนต่ำกว่ามะนาว ทำให้สามารถนำน้ำมันหอมระเหยตะไคร้และมะกรูดที่สกัดมาพัฒนาเป็นตำรับหรือผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ ให้เกิดประโยชน์สูงสุด เช่น สเปรย์พ่นคอ ยาต้ม น้ำมันนวด เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาการสุขภาพและการกีฬา มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง ที่สนับสนุนทุนการวิจัย และอำนวยความสะดวก และเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการต่างๆ และขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ให้ความปรึกษาและคำแนะนำจนกระทั่งงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Chaichana C, Wongkalasin S, Manotuang D. The analysis of suitable area in Thai herb planting for support of Thai herbal medicine at Luang Pu Faep Supinyo Hospital: a case study of Sakon Nakhon province. *Humsu* 2021; 40(4): 32-46. (In Thai)
2. Luang-In V, Aromatherapy from essential oils. *BUSCU* 2018; 23(1): 61-78. (In Thai)
3. Pipatpaiboon N, Mayod T, Nuphan P, Huchaiyaphum N, Meesang M, Srichamnan S. Comparison volume of essential oils of fresh and dried kaffir lime leaves from the distillation of essential oils with a 30 liter stiller. *J. Agric. Sci. Technol.* 2022; 3(1): 12-22. (In Thai)
4. Jirukakul P. Research and development on components natural oil extractor with supercritical carbon dioxide technique (sc-co₂) and combination mixer magnetic. [Internet]. 2023 [Cited in 9 October, 2023]. Available from: <https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2584>
5. Maymam K, Pongtatt S, Sakulsaowapakkul N, Maymam K, Nateesinsub K, Bunroek P. The comparison of inhibiting efficiency of *Staphylococcus aureus* by three types of essential oils: lemongrass, kaffir lime leaves, and *Centella asiatica* (Linn.) Urban. *Suan Sunandha Meeting 9th National Academic Conference on Upgrading Research to Innovation* 2021; 1(1): 43-52. (In Thai)
6. Ekpenyong CE, Akpan E, Nyoh A. Ethno-pharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts. *Chin J Nat Med* 2015; 13(5): 321-37.
7. Monatrakulsreepian P. Antibacterial Activities of essential oils from the plants *Citrus* spp. against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Rangsit University Research* 2021. (In Thai)
8. Announcement regarding minimum continuous matters (No.10) Gazette. Announcement and general edition 2019. Volume 136, Special Section 316. [Internet]. 2023 [Cited in 9 October, 2023]. Available From: <https://shorturl.asia/Qx3LO>
9. Jittabut P, Tooklang P, Liawklang S, Bamrungra D. The system extracting essential oil from herbal

- plants by using rice husk as fuel. STBRU 2020; 4(2): 65-79. (In Thai)
10. Botanicessence. Pure essential oils. [Internet]. 2024 [Cited in 24 June, 2024]. Available from: <https://botanicessence.com/essential-oil/home/products.jsp?range=eo&screen=1&sort=rank&sys=2023-01-01>
 11. Strategy and Information Group, Phatthalung provincial agricultural extension office. Basic agricultural information on plants, economic insects, groups, centers, and farmer institutes. Phatthalung Province. [Internet]. 2023 [Cited in 9 October, 2023]. Available from: https://www.opsmoac.go.th/phatthalung-dwl-files-451191791792?fbclid=IwAR2Zi_eUELXhXPQ1K7r_wDv5KZNPkDAEXSUPT5O39b-CaoE5j32D8Kcz0Kq8
 12. Department of Thai Traditional and Alternative Medicine. [Internet]. 2024 [Cited in 24 June, 2024]. Available from: https://abdul.dtam.moph.go.th/thaiherbs/herb_pdf/0167.pdf?fbclid=IwZXh0bgNhZW0CMTAAAR2oaKKuu_XKuCj8Dc5WROBYNwz6jnm3kF9czvcll0nQGN-gJy_fxvMnRIw_aem_djcNE6lpJbLARN45vJNiPA
 13. Perry N, Perry E. Aromatherapy in the management of psychiatric disorders clinical and neuropharmacological perspectives. *CNS Drugs* 2006; 20(4): 257-280.
 14. Jimbo D, Kimura Y, Taniguchi M, Inoue M, Urakami K. Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics* 2009; 9(4): 173-179.
 15. Smith CA, Collins CT, Crowther CA. Aromatherapy for pain management in labor. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011; 6(7): CD009215.
 16. Lai TK, Cheung MC, Lo CK, Ng KL, Fung YH, Tong M, Yau CC. Effectiveness of aroma massage on advanced cancer patients with constipation: a pilot study. *Complement. Ther. Clin. Pract.* 2011; 17(1): 37-43.
 17. Celeiro M, Guerra E, Lamas JP, Lores M, Garcia-Jares C, Llompart M. Development of a multianalyte method based on micro-matrix-solid-phase dispersion for the analysis of fragrance allergens and preservatives in personal care products. *J. Chromatogr. A.* 1344 (2014): 1-14.