เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

The Proceedings of

55th KU ANNUAL CONFERENCE

Knowledge of the Land : Moving forward to Thailand 4.0

ศาสตร์แห่งแผ่นดินสู่ประเทศไทย 4.0

SCIENCE TECHNOLOGY and ENVIRONMENT

สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม

Science and Genetic Engineering

สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์

Architecture and Engineering

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร

Agro-Industry

สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

Natural Resources and Environment

เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

The Proceedings of 55th Kasetsart University Annual Conference

เล่มที่ 2

สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม

(Subject: Science and Genetic Engineering)

สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์

(Subject: Architecture and Engineering)

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร (Subject: Agro-Industry)

และสาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

(Subject: Natural Resources and Environment)

จัดโดย (Organized by)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Kasetsart University)

ร่วมกับ (in cooperation with)

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (Office of the Higher Education Commission)

กระทรวงศึกษาธิการ (Ministry of Education)

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (Ministry of Agriculture and Cooperatives)

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Ministry of Science and Technology)

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

(Ministry of Natural Resource and Environment)

กระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคม (Ministry of Digital Economy and Society)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (National Research Council of Thailand)

และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (The Thailand Research Fund)

31 มกราคม - 3 กุมภาพันธ์ 2560 (January 31 – February 3, 2017)

ISBN (e-book) 978-616-278-368-5

คำนำ

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคม สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย ได้จัดให้มีการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55 ระหว่างวันที่ 31 มกราคม - 3 กุมภาพันธ์ 2560 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเสริมสร้างและพัฒนาคุณภาพของงานวิจัย และเผยแพร่ความรู้ความก้าวหน้าทางด้านวิชาการและเทคโนโลยี ตลอดจนเป็นการแลกเปลี่ยนความรู้และระดมความคิดเห็นระหว่างนักวิชาการ อันจะนำไปสู่แนวทางการสร้างผลงานวิจัยเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมของประเทศชาติต่อไป

เอกสารฉบับนี้รวบรวมเรื่องเต็มผลงานวิจัยภาษาไทยและภาษาอังกฤษทั้งภาคบรรยายและภาคโปสเตอร์ของ **สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม 33 เรื่อง สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์ 46 เรื่อง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร 26 เรื่อง และสาขาทรัพยากร ธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม 17 เรื่อง** ซึ่งได้ผ่านการคัดเลือกจากคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ประจำสาขา และนำเสนอในการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55

ในนามของคณะกรรมการดำเนินงานจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55 ขอขอบคุณนักวิจัย นักวิชาการ คณาจารย์ที่ได้นำผลงานมาเสนอ และผู้ที่สนใจเข้าร่วมการประชุมทางวิชาการในครั้งนี้ ขอขอบคุณคณะกรรมการทุกฝ่ายที่สละเวลา แรงกาย แรงใจและความคิด ร่วมมือกันจัดเตรียมการประชุม จนทำให้การประชุมทางวิชาการครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

(รองศาสตราจารย์ ดร.ลดาวัลย์ พวงจิตร)
รักษาการแทนรองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ
ประธานคณะกรรมการดำเนินงานจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55

ความสมบูรณ์ของการเสนอผลงาน ในการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 55 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประกอบด้วย หนังสือรับรองการมาเสนอผลงาน และการได้ตีพิมพ์ลงในเอกสารเรื่องเต็ม

เอกสารทางวิชาการ 6/2560

ฝ่ายบริการการศึกษา สำนักทะเบียนและประมวลผล
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทร. 0-2118-0145 โทรสาร 0-2118-0145
E-mail: annualconference@ku.ac.th

สารบัญ

สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม (Subject: Science and Genetic Engineering)

ภาคบรรยาย (Oral Presentation)

1. วท.พว.6/O26 การวิเคราะห์การแปลงเมทริกซ์ของลายมัดหมี่ที่ใช้เทคนิคการค้นแบบหมี่ลวด........ 1
Matrix Transformation Analysis of Mee Laud Technique in Mudmee Pattern
โดย สำคัญ ฮ่อบรรทัด สมบัติ ประจญศานต์ และดรัสวิน วงศ์ปรเมษฐ์

2. วท.พว.20/O46 การศึกษาเชิงเปรียบเทียบของวิธีการเชิงตัวเลขสำหรับการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพที่ใช้การแปรผันรวม........ 11
A Comparative Study of Numerical Methods for TV-Base Image Denoising
โดย โสภิดา จิวประเสริฐ นพดล ชุมชอบ และศิริวรรณ จันทร์แก่น

3. วท.พว.22/O48 การกระจายตัวของขยะพลาสติกในเขตน้ำขึ้นน้ำลงบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี........ 19
Distribution of Plastic Marine Debris in Intertidal Zone at Sichang Island, Chonburi Province
โดย ศรุต ข่ายแก้ว สมฤดี (มีประเสริฐ) จิตประไพ และเจษฎ์ เกษตระทัต

ภาคโปสเตอร์ (Poster Presentation)

1. วท.พว.1/P4 ประสิทธิภาพของกระชายดำต่อพฤติกรรมทางเพศของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วย Streptozotocin........29
Efficiency of Krachai Dum (*Kaempferia parviflora*) on Sexual Behavior in Streptozotocin-induced Diabetic Male Rats
โดย ธีรยุทธ เลิศอมรภัทร และวีระศักดิ์ ฟุ้งเฟื่อง

2. วท.พว.4/P10 ผลของการปรุงต่อปริมาณและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในขลู่ กะเพรา และโหระพา..37
Effect of Cooking on Antioxidant Contents and Activities in Khlu, Holy basil and Sweet Basil
โดย ปิยะวรรณ์ บุญญานุพงศ์ และแวรุสนานี อาแว

3. วท.พว.5/P12 การตรวจสอบคุณสมบัติของโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *Escherichia coli* O157:H7.. 45
Characterization of Monoclonal Antibodies Specific to *Escherichia coli* O157:H7
โดย นันทพร ทองวิจิตร ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์ ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ และชัยวัฒน์ กิตติกูล

4. วท.พว.7/P13 ผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวผลมะกรูดและมะนาวต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans*.......................... 52
Effect of Essential Oils from Leaves and Peels of Kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) and Lime (*Citrus aurantifolia*) on Growth and Biofilm Formation of *Streptococcus mutans*
โดย ลินจง สุขลำภู จุฑาพร พลนอก ณัฏฐา จึงเจริญพาณิชย์ และณัฐวิภา เอการัมย์

5. วท.พว.9/P15 ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบทุเรียนเทศ……………………………….. 61
Mutagenic Activities of *Annona muricata* Linn. Leaf Extract
โดย พราว ศุภจริยาวัตร และสุจริต อุ่นกาศ

6. วท.พว.10/P20 การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบบัวหลวง……………………………68
Acute Toxicity Study of *Nelumbo nucifera* Gaertn. Leaf Extract
โดย พรชัย สินเจริญโภไคย

7. วท.พว.11/P23 Association of PCSK9 Polymorphisms and Lipid-Lowering Response to Statin Therapy in Thai Hypercholesterolemic Patients………………74
By Smith Wanmasae Wisant Sirintronsophon Sureerut Porntadavity and Nutjaree Jeenduang

8. วท.พว.12/P24 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสจากน้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีนด้วย *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะเขย่า..82

Optimization of Bacterial Cellulose from Wastewater of Noodle Process by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 in Shaking Culture

โดย ดวงใจ โอชัยกุล วรัญญา บินอานัด และพรภัสสร มูลสูงเนิน

9. วท.พว.13/P26 การคัดแยกราละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตจากดินสวนผลไม้ในจังหวัดสมุทรสงคราม... 90

Screening of Inorganic Phosphate Solubilizing Molds from Orchard Soils in Samutsongkhram Province

โดย อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์ ศิริพร ทิพย์สิงห์ และวีรญา ทัศน์สุวรรณ

10. วท.พว.14/P28 Study on Preparation Conditions of Poly(hydroxamic acid) from Poly(acrylamide)-grafted-polyethylene Film................................ 98

By Thirawan Nipithakul and Kulsinee Sintasanai

11. วท.พว.15/P30 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ ของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวง...106

Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Total Polysaccharide of Crude Polysaccharide from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*

โดย เกษรา คงกล้า พรชัย หลายพสุ และสุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

12. วท.พว.16/P31 Identification and Characterization of Mannose Binding Protein in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*...................................... 114

By Nopparat Phumkumarn and Ratree Wongpanya

13. วท.พว.17/P32 การเปลี่ยนแปลงดีเอนเอเมทิลเลชันในเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ...121
DNA Methylation Changes in White Blood Cells from Head and Neck Cancer Patient
โดย อารียา อารยะทวีกุล นครินทร์ กิตกำธร และอภิวัฒน์ มุทิรางกูร

14. วท.พว.18/P34 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบยาสูบและรากหางไหลแดงที่มีต่ออัตราการฟักของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel……………….. 128
Efficacy of *Nicotiana tabaccum* Leaves and *Derris elliptica* Root Extract on Eclosion Rate of *Bactrocera dorsalis* Hendel Pupae
โดย ดวงตา จุลศิริกุล อนุสรา ขันตี และสวรรยา ตาขำ

15. วท.พว.19/P36 Effect of Oxidative Phosphorylation Uncoupler Carbonyl Cyanide m-Chlorophenyl Hydrazine (CCCP) on H_2 Production by Unicellular Halotolerant Cyanobacterium *Aphanothece halophytica*……………...136
By Sunisa Pansook Aran Incharoensakdi and Saranya Phunpruch

16. วท.พว.21/P38 การแยก การคัดเลือกและการระบุชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจากข้าวแปลงเกษตรอินทรีย์ 5 ปี...144
Isolation, Screening and Identification of Phosphate Solubilizing Endophytic Bacteria from Five Years Organic Rice Farming
โดย สมคิด ดีจริง และวิชญาพร ปาวงค์

17. วท.พว.23/P39 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้เทคนิค RAPD…..152
Genetic Diversity of Thai Native Chickens Using RAPD Technique
โดย กรกาญจน์ ซูมี และวรกฤต วรนันทกิจ

18. วท.พว.25/P45 การเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ของเลือดในผู้ประกอบอาชีพอู่เรือที่มีภาวะตะกั่วในเลือดสูง………………………………………………………. 160
Hematological Parameters Changing in Shipyard Workers with High Blood Lead Level
โดย วิยดา กวานเหียน สมิตา ภูกัณหา และสุภาภรณ์ ยิ้มเที่ยง

19. วท.พว.26/P51 Growth and Hydrogen Production by Wild Type and Mutant Strains of Unicellular Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*...................168

By Yuwadee Khamheang
Cherdsak Maneerattanarungroj
and Saranya Phunpruch

20. วท.พว.27/P55 Flag Acidic Target Tag (FATT) Improves Solubility and Production Yield of Recombinant *P. falciparum* Plasmepsin V (*Pf*PMV).. 176

By Chaleampol Loymunkong Ratree Wongpanya
and Nonlawat Boonyalai

21. วท.พว.28/P56 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิต Indole-3-acetic acid (IAA) ของ *Bacillus* spp.ที่แยกได้จากดินด่าง.. 184
Optimization of Indole-3-acetic acid (IAA) Production by *Bacillus* spp. Isolated from Alkaline Soil

โดย จันทร์แรม รูปขำ สาวิตร ตระกูลน่าเลื่อมใส
ธนภูมิ มณีบุญ และศิริวัลย์ สร้อยกล่อม

22. วท.พว.31/P59 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน *Parmotrema* sp. 192
Screening for Antibacterial Activities of Lichen-associated Bacteria Isolated from *Parmotrema* sp.

โดย ศรีกาญจนา คล้ายเรือง วัชราภรณ์ พันชัย
สุรีย์พร เจริยงประเสริฐ และปิยะนุช เนียมทรัพย์

23. วท.พว.32/P61 Screening of Green Algae Isolated from Natural Water Sources in Thailand for H_2 Production... 199

By Amornrat Puangplub Aran Incharoensakdi
and Saranya Phunpruch

24. วท.พว.33/P64 Optimization of Growth Regulators for Callus Induction from Thai Rice Cultivar...207

By Manita Kuntapa Amornrat Promboon
and Wannarat Pornsiriwong

25. วท.พว.35/P65 การเตรียมและการวิเคราะห์ ZnO ที่แทรกตัวในโครงสร้าง Cloisite โดยใช้แหล่ง Zn(II) ต่างๆ.. 215
Preparation and Characterization of ZnO Intercalated in Cloisite Clay Using Various Zn(II) Sources
โดย วีรภัทร ฝอยทอง วีกิตต์ ศิริศักดิ์สุนทร อภิสิฏฐ์ ศงสะเสน และพินิจ กิจขุนทด

26. วท.พว.42/P99 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 โดยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs……………………………….224
Genetic Purity Testing of Hybrid Sweet Corn Chai Nat 2 by SSRs Markers
โดย ศุภลักษ์ สัตยสมิทสถิต และจิระ สุวรรณประเสริฐ

27. วท.พว.45/P138 Applied Technique for Chromosome Slide Preparation of Animal Fibroblast Cells for Karyotyping…………………………………………..233
By Wilairat Chumsing Pattra Moonjit Orawan Boodde and Worawidh Wajjwalku

28. วท.พว.48/P143 Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Opuntia elatior* Fruit………240
By Butsarakham Singchai Dumrong Pongputthachat and Umaporn Daengkhwanthong

29. วท.พว.49/P144 Molecular Cloning and Characterization of TSP-EGF from the Banana Shrimp *Fenneropenaeus merguiensis*………………………… 246
By Natthaporn Khwanmuang Wilaiwan Chotigeat and Monwadee Wonglapsuwan

30. วท.พว.57/P181 การศึกษาข้อมูลพิษวิทยาเบื้องต้นของสาร aurisin A จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ในหนูแรทสายพันธุ์ Wistar และไส้เดือนดิน.......... 254
Acute Oral Toxicity of Aurisin A form Luminescent Mushroom (*Neonothopanus nambi*) in Wistar Rats and Earthworm
โดย สุรีย์พร บัวอาจ ยุรวรรณ อนันตนมณี ปรัชญา เอกฐิน จรรยา มณีโชติ อัศศิริ กลางสวัสดิ์ สุพัตรา ชาวกงจักร นิมิต วงศ์สุวรรณ รัศมี เหล็กพรม และวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์

สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์ (Subject: Architecture and Engineering)

ภาคบรรยาย (Oral Presentation)

1. สถ.วศ.1/O11 การออกแบบเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรส โดยใช้ระบบนิวเมติกส์........265

   A Design of Mechanism for Opening the Contained Bags for Fired Seabass Skin Using Pneumatic Systems

   โดย อรุณ สุขแก้ว ธีรพงษ์ อยู่สุข ธีรวัฒน์ สุขลิ้ม และธรรมรัตน์ ไชยวิจิตร

2. สถ.วศ.2/O12 การหาค่าที่เหมาะสมของการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับเหล็กกล้าชนิดแผ่นเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบ SGCD1........ 275

   Optimization of Resistance Spot Welding Process Parameters for SGCD1 Hot-Dipped Zinc-Coated Steel Sheets

   โดย โยธิน จันทร์ทอง ภูเมศวร์ แสงระยับ และกรรณชัย กัลยาศิริ

3. สถ.วศ.4/O24 การหาค่าที่เหมาะสมของการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE429........ 283

   Optimization of Gas Metal Arc Welding Process for JFE429 Ferritic Stainless Steel

   โดย ภูเมศวร์ แสงระยับ ธีรวุฒิ เขื่อนแก้ว พชรพล ตัณฑวิรุฬห์ และกรรณชัย กัลยาศิริ

4. สถ.วศ.5/O37 การเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ OTOP ของที่ระลึกพวงกุญแจรูปฝักมะขามด้วยวิธีการชุบอโนไดซ์........291

   Value Added OTOP Products of Tamarind Metal Souvenir Keychains with Anodizing

   โดย สุวิมล เทียกทุม และธรรม์ณชาติ วันแต่ง

5. สถ.วศ.6/O38 กรณีศึกษาในการนำโปรแกรมแบบจำลองสารสนเทศทางอาคารมาใช้ในการประมาณราคาส่วนงานระบบไฟฟ้าและสื่อสาร........ 298

   A Case Study of the Building Information Modeling Application (BIM) in Electrical System Estimation

   โดย เกียรติศักดิ์ ทองอ่อน และเชาว์ ชมภูอินไหว

6. สถ.วศ.7/O42 การกำจัดฮิวมิคด้วยกระบวนการโอโซเนชันที่มี TiO_2 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา.......306
Humic Removal by Catalytic Ozonation Using TiO_2
โดย จิดาภา โสภาประดิษฐ์ และภัชราภรณ์ สุวรรณวิทยา

7. สถ.วศ.9/O101 การพัฒนาโปรแกรมออกแบบระบบดับเพลิงด้วยก๊าซเฉื่อยด้วย Microsoft Excel.. 314
Development of Inert Gas Fire Extinguishing Systems Design Software Using Microsoft Excel
โดย ถนอมศักดิ์ เชาวน์เสริมสุข และสุภัทร พัฒน์วิชัยโชติ

8. สถ.วศ.10/O103 การออกแบบและพัฒนาเครื่องใส่ปุ๋ยแบบสะพายหลังสำหรับพืชที่ปลูกแบบเป็นแถว.. 322
Design and Development of a Knapsack Fertilizer for Row-Crop Planting
โดย นุสรา สุภาษิ เกรียงไกร แก้วตระกูลพงษ์
และสมพงษ์ เจษฎาธรรมสถิต

9. สถ.วศ.11/O125 การศึกษาการทำความสะอาดเซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรนที่อุดตันจากอนาม็อกแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์แบบซีเควนซิ่งแบตช์.......................... 330
A Cleaning Study of Ceramic Microfiltration Membrane by Fouled of Anammox Bacteria in Sequencing Batch Reactor
โดย ฤชา วงษ์เนตร ศิริพร ลาภเกียรติถาวร
สุวิชภรณ์ วิชกูล และพงศ์ศักดิ์ หนูพันธ์

10. สถ.วศ.13/O127 การตรวจสอบค่า PFD_{avg} ของฟังก์ชันนิรภัยที่มีเงื่อนไขการทำงานโดยใช้เซตส่วนตัดขั้นต่ำ.. 338
PFD_{avg} Verification of the Conditional Safety Function based on Minimal Cut Set
โดย ณัฐวดี เทียมธรรมวงศ์ ทวิช ชูเมือง
วิทยา ทิพย์สุวรรณพร และอาจินต์ น่วมสำราญ

11. สถ.วศ.15/O130 การศึกษามีดตีร้อนพื้นถิ่นเปรียบเทียบลักษณะการใช้งานประจำวันในท้องถิ่น...346
Vernacular Knife Wisdom Comparative Study of Daily Use in Local Areas
โดย ณัฏฐกฤษฎ์ ศุภกรพินธคุปต์

12. สถ.วศ.16/O131 วัสดุพาราฟินเสริมเส้นใยสำหรับหุ่นจำลองโครงสร้าง.......................... 355
Fiber Reinforced Paraffin for Structural Model
โดย ชวาน พรรณดวงเนตร
13. สถ.วศ.17/O134 การออกแบบและสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วย.. 361
Design and Creation of Rolling Machine for Banana Tree Fiber
โดย วิมล บุญรอด ณชพร รัตนาภรณ์ และวาสณา บุญส่ง
14. สถ.วศ.18/O136 การศึกษาคุณลักษณะของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าเมื่อเกิดลัดวงจรภายในขดลวดโรเตอร์.. 370
A Study of Generator Characteristic during Short Circuit Fault inside Rotor
โดย เรืองยศ ประเสริฐยั่งยืน และเกียรติยุทธ กวีญาณ
15. สถ.วศ.19/O137 การศึกษาการอพยพหนีไฟของอาคารสูง 20 ชั้นด้วยแบบจำลองเพลิงไหม้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ.. 377
A Study of Fire Evacuation in 20 Stories High Rise Building via CFD Fire Models
โดย ศุภณัฐ ชัยเจริญ และณัฐศักดิ์ บุญมี
16. สถ.วศ.22/O141 ผลของการบ่มเตรียมสภาพดินตะกอนต่ออัตราการบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนในถังจำลองสภาวะบ่อเลี้ยงกุ้ง... 386
Effect of Bottom Soil Incubation on Inorganic Nitrogen Removal Rates of Shrimp Pond Simulating Tanks
โดย สุภาวดี อัตถาผล วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี และสรวิศ เผ่าทองศุข
17. สถ.วศ.23/O142 การใช้ระบบคุณภาพปรับปรุงกระบวนการจัดซื้อจ้างในโครงการก่อสร้างเขื่อนป้องกันตลิ่งริมแม่น้ำ... 394
The Use of Quality System for the Procurement Process in River Dam's Construction
โดย ปาณสาร เทพเนาว์ กฤษดา พิศลยบุตร เลิศเลขา ธนะชัยขันธ์ เสรีย์ ตู้ประกาย และคมสัน จิระภัทรศิลป

18. สถ.วศ.28/O155 การออกแบบอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมชนิดแกนนอน............................. 401
Design of Blade Angle Adjustment Device for Horizontal Axis Wind Turbine
โดย วีระศักดิ์ ไชยชาญ สุรินทร์ กาญจนะ
และวรรณวิภา ไกรพิทยากร
19. สถ.วศ.29/O156 การใช้ไฟไนต์เอลิเมนต์วิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนของความเค้นและความเครียดของวัสดุเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นทดสอบภายใต้การทดสอบแรงดึง.. 410
FEA Error Analysis of Stress-Strain of Material due to Dimension Variation of Specimen under Tensile Testing
โดย ณัฐกุล คุณปสุต และสัจจาทิพย์ ทัศนียพันธุ์
20. สถ.วศ.30/O157 การศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง... 418
A Study of Factors Affecting to Analog Signal's Receiving of Optical Sensor
โดย พรทิพา นวลเกื้อ ถวัลย์ศักดิ์ เผ่าสังข์
เกรียงไกร แก้วตระกูลพงษ์ และสมพงษ์ เจษฎาธรรมสถิต
21. สถ.วศ.31/O158 การออกแบบและสร้างเครื่องคัดแยกขนาดละมุดแบบเพลาหมุนวางคู่……..426
Design and Fabrication of Sapodilla Sizing Machine Using Expanding Roller
โดย ธรรม์ณชาติ วันแต่ง
22. สถ.วศ.32/O159 การวิเคราะห์ตำแหน่งที่เหมาะสมของการยึดจับโครงสร้างด้วยน็อตคู่ที่วางขนานและเยื้องกันโดยมีแรงกระทำไม่ผ่านศูนย์กลาง…………………. 435
Analysis on Optimal Location of Double-Bolted Joint with Parallel Misalignment Subjected to Eccentric Load
โดย ณรงค์กร กระจ่างสวัสดิ์ และพัชราภรณ์ บุณยวานิชกุล
23. สถ.วศ.34/O161 การใช้จักรยานในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน………….. 443
The Use of Bicycles in the Kasetsart University Bangkhen Campus
โดย จุฑาลักษณ์ ชายศักดิ์ และปิยนุช เวทย์วิวรณ์

24. สถ.วศ.35/O162 การศึกษาคุณค่า ความเชื่อ บรรทัดฐาน และพฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัย โดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑล...... 450
Study of Green Value, Belief, Norm and Behavior of People in Bangkok and Vicinity in Selecting Green Residence
โดย ชุติมา สอิ้งทอง เบญจพล เวทย์วิวรณ์ และปิยนุช เวทย์วิวรณ์

25. สถ.วศ.37/O164 การฟื้นฟูทางชีวภาพดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว โดยใช้จุลชีพเฉพาะ...460
Bioremediation of Soil Contaminated with Used Lubricating Oil Using the Specific Microorganism
โดย รัตนาภรณ์ สร้อยผาบ และสุชาติ เหลืองประเสริฐ

26. สถ.วศ.39/O171 การเปรียบเทียบการโหลดโมดูลโปรแกรมประยุกต์รูปแบบอีแอลเอฟ บนไมโครคอนโทรลเลอร์อาร์มคอร์เท็กเอ็ม 7...................................... 468
Comparison of ELF Application Module Loading on ARM Cortex-M7 Microcontroller
โดย เดชาวัต ศรีสายหยุด และณัฐวุฒิ ขวัญแก้ว

27. สถ.วศ.40/O175 การประเมินปริมาณน้ำท่าและองค์ประกอบของสมดุลน้ำ ในลุ่มน้ำเพชรบุรี โดยแบบจำลอง Soil and Water Assessment Tool.............................. 476
Runoff Estimation and Estimation of Water Balance Components of Phetchaburi Basin Using Soil and Water Assessment Tool
โดย วนัชพร แมงสาโมง และกอบเกียรติ ผ่องพุฒิ

28. สถ.วศ.41/O190 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของปลากะตักแห้งเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดขนาด.. 484
Study on Physical Property of Dried Anchovy: Criteria for Sizing
โดย อำนาจ คูตะคุ เอกสิทธิ์ ศรีธรรม เอกพงษ์ ชีวิตโสภณ และสาทิป รัตนภาสกร

29. สถ.วศ.42/O191 The Design of 2-DOF Fractional Order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ Controller for Coupled-Tank Process... 492
By Sarasit Ritthanont Jutarut Chaoraingern Vittaya Tipsuwanporn and Arjin Numsomran

30. สถ.วศ.43/O194 การสำรวจความพึงพอใจในการทำงานและความตั้งใจในการลาออกจากงานของวิศวกรในอุตสาหกรรมก่อสร้างไทย……………………………..500
Investigation of Job Satisfaction and Turnover Intention of Engineers in Thai Construction Industry
โดย กิตติเชษฐ์ ปะทีปพรศักดิ์ และปิยนุช เวทย์วิวรณ์

31. สถ.วศ.44/O195 การผลิตกระแสไฟฟ้าจากน้ำเสียอุตสาหกรรมนมโดยเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ….507
Electricity Generation from Dairy Industry Wastewater Using Microbial Fuel Cell
โดย ศศิยา บูชา และภัชราภรณ์ สุวรรณวิทยา

32. สถ.วศ.45/O211 การศึกษาต้นทุนค่าก่อสร้างร้านค้าปลีกที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว……………515
Costs of Green Retail Space
โดย จิราพร นวลเขียว และปิยนุช เวทย์วิวรณ์

33. สถ.วศ.46/O212 การศึกษาศักยภาพพลังงานลมเพื่อการสูบน้ำในพื้นที่การเกษตรเขต 21 จังหวัดภาคกลางของประเทศไทย..522
A Study Potential Wind Energy for Pumping in Agricultural Areas in the 21 Provinces of Central Thailand
โดย แสนทรัพย์ ซูรัศมี และจำลอง ปราบแก้ว

34. สถ.วศ.47/O213 การออกแบบและทดสอบประสิทธิภาพปั๊มน้ำแบบก้นหอยในแนวตั้ง……… 530
Design and Testing of a Vertical Scroll Pump Efficiency
โดย จีรวัฒน์ โภคานิตย์ และพลกฤต กฤชไมตรี

35. สถ.วศ.48/O215 การศึกษาพฤติกรรมทางด้านกำลังดัดของคานคอนกรีตเสริมเหล็กที่เสริมกำลังด้วยแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอน………………………… 538
Experimental Study on Flexural Behavior of Reinforced Concrete Beams Strengthened with CFRP Sheets
โดย ธีรเดช พรหมเจริญ และวันชัย ยอดสุดใจ

36. สถ.วศ.50/O223 การพยากรณ์ยอดขายสินค้าแฟชั่นในตลาดออนไลน์กรณีศึกษาแฟนเพจจำหน่ายเสื้อผ้าแฟชั่น…………………………………………………………546
Demand Forecasting on Fashion Products in E-Commerce: A Case Study of Cloths Retail Fanpage
โดย พจนีย์ ศรีอำพันธ์ และพัชรี โตแก้ว ทองรัตนะ

37. สถ.วศ.51/O239 การออกแบบเครื่องบันทึกค่าอัตราการไหลปัสสาวะแบบจานหมุน............ 555
Design of Uroflowmetry Rotating Disc Recording
โดย สมพงษ์ อารีย์ และสิรภพ ตู้ประกาย

38. สถ.วศ.54/O244 การศึกษาเปรียบเทียบโรงตีมีดร้อน.. 567
A Comparative Study of Blacksmith Workshops
โดย ณพงศ์ปกรณ์ ผลินยศ

39. สถ.วศ.55/O250 บทบาทของบรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่ายปลีกในกิจกรรมโลจิสติกส์..............575
The Role of Retail Ready Packaging in Logistics Activities
โดย ตติยา เทพพิทักษ์

40. สถ.วศ.56/O253 Changes and Factors Influencing the Transformation of French
Colonial Building in Vientiane.. 583
By Annita Southiphong

ภาคโปสเตอร์ (Poster Presentation)

1. สถ.วศ.3/P9 สารสกัดผักพื้นบ้านภาคใต้ต่อความคงตัวน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ในสภาวะเร่ง...593
Indigenous Vegetables Extract in Southern of Thailand on Stability of
Refined Palm Oil in Accelerated Storage
โดย สุภาษิต ชูกลิ่น และฌานิกา แซ่แง่ ชูกลิ่น

2. สถ.วศ.20/P113 การทดสอบเพื่อการศึกษาคุณสมบัติทางกลของวัสดุประกอบแบบแผ่น
ที่มีแกนกลาง...602
Experimental Studies of Mechanical Properties of Sandwich
Composite Panel
โดย ปรียานันท์ บุญเปีย ปานฉัตร เปรมานุพันธ์
ไชยวัฒน์ กล่ำพล และพงศ์ธร พรหมบุตร

3. สถ.วศ.21/P114 การผลิตเอทานอลจากมันเทศคุณภาพต่ำด้วยเชื้อ *Saccharomyces
cerevisiae* TISTR 5339.. 610
The Ethanol Production from Low Grade Sweet Potato by
Saccharomyces cerevisiae TISTR 5339
โดย ปาริฉัตร นิลอุปถัมภ์ สุภาษิต ชูกลิ่น
และธณิกานต์ ธรสินธุ์

4. สถ.วศ.25/P115 สถาปัตยกรรมที่ได้รับอิทธิพลตะวันตกในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว..619
Western Influences on Architecture in Lao PDR
โดย ธนูเพชร อ่อนมาวง

5. สถ.วศ.38/P119 การประยุกต์ใช้ระบบสกาดากับการควบคุมพีแอลซีด้วยแบบจำลองในห้องปฏิบัติการพีแอลซี...628
Applying SCADA System base on PLC Control with Simulation Kit in PLC Laboratory
โดย ณัฐดนัย โกสุจริต และสุพรรณ กุลพาณิชย์

6. สถ.วศ.53/P192 การพัฒนาอุปกรณ์เสริมสำหรับรถเข็นคนพิการโดยใช้เทคโนโลยีการเชื่อมต่อของสรรพสิ่ง.. 637
Implementation of Accessories for Wheelchair by Using Internet of Things Technology
โดย ณัฐกิตติ์ วัชรเธียรสกุล สิทธิกร เจริญทรัพย์ และปานวิทย์ ธุวะนุติ

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร (Subject: Agro-Industry)

ภาคบรรยาย (Oral Presentation)

1. อก.22/O185 การศึกษาพฤติกรรมและปัจจัยทางการตลาดบริการที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้ออาหารจากช่องทางฟู้ดทรัค...649
The Study of Consumption Behavior and Service Marketing Factor Affecting Purchase Decision from Food Truck Channel
โดย กรกฎ นิ่มโชคชัยรัตน์ และอัจฉรา เกษสุวรรณ

2. อก.23/O193 Effects of Washing and Extraction with Salt on Characteristics of Salmon (*Salmo salar*) Bone Extract... 658
By Ahsanatun Syahidawati and Kanokrat Limpisophon

ภาคโปสเตอร์ (Poster Presentation)

1. อก.2/P17 ผลของการลวกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ต่อปริมาณฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไข่น้ำ (*Wolffia globosa*)……………………..671
Effect of Blanching in Sodium Chloride Solution on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Water Meal (*Wolffia globosa*)
โดย วันเพ็ญ แสงทองพินิจ บาจารีย์ ศรีเจริญ และมัทรี กร่างปรีชา

2. อก.3/P188 ผลของสารสกัดรำข้าวต่อเซลล์มะเร็งผิวหนัง (A375) ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสี UVA…………………………………………………….678
Effect of Rice Bran Extracts on Skin Cancer Cells (A375) Induced by UVA
โดย ณิชนันทน์ จันทนู กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์ นวลอนงค์ จิระกาญจนากิจ และมาลิน อังสุรังษี

3. อก.4/P47 ผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขก………………………..686
The Effect of Heat Condition on Quality of Salad Dressing (Khaek Salad)
โดย กมลทิพย์ กรรไพเราะ ภารดี พละไชย นัสรินทร์ สุหลงกูด และแวนาซีเราะห์ แวมามุ

4. อก.6/P62 การศึกษาผลของการเติมเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR1331, *Lactobacillus fermentum* TISTR937 และเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนม……………………………………………..694
Study Effect of Addition *Lactobacillus plantarum* TISTR1331, *Lactobacillus fermentum* TISTR937 and Commercial Starter on Quality of Thai Fermented Sausage (Nham) Product
โดย พงศ์ประสิทธิ์ สุวรรณศักดิ์สิน และวลัยรัตน์ จันทรปานนท์

5. อก.7/P67 ผลของการพรีทรีตเม้นต์ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงต่ออายุการเก็บรักษา และคุณภาพของถั่วงอก……………………………………………………….703
The Effect of Ultrasound Pretreatment on Shelf Life and Quality of Bean Sprout
โดย อารียา ปอเจริญ และเสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล

6. อก.8/P71 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบำรุงสายตา...................................... 711
Development of the Eye-nourished Functional Drink
โดย ผาณิตา ชัยดิเรก และเสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล
7. อก.9/P189 บทบาทของ *Aspergillus oryzae* M-01 ในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส
และโปรตีเอสในโคจิถั่วเหลืองเพื่อใช้สำหรับการผลิตทามาริแบบหมักโคจิ
ในน้ำเกลือ..720
Role of *Aspergillus oryzae* M-01 in the Production of Amylase and
Protease Enzymes on Soybean Koji Prepared for Brine Fermentation
of Tamari Soy Sauce
โดย ภานุมาศ คนล่ำ สิทธิสิน บวรสมบัติ
สกุณณี บวรสมบัติ และเรืองชัย จูวัฒนสำราญ
8. อก.10/P81 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือก
ส้มเขียวหวานและเปลือกมะนาว..729
The Study of Antioxidant Activity of Crude Extract from
Tangerine Peel and Lime Peel
โดย วนิสา รุ่งพาณิชย์ และทานตะวัน พิรักษ์
9. อก.11/P82 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้ง
จากเชื้อ *Aspergillus oryzae* อาศัยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิ.....................738
Optimization of Dextrinizing Enzymes Production
from *Aspergillus oryzae* in Koji Machine by Taguchi Method
โดย วีระสิทธิ์ กัลยากฤต ภาสกร วิเวกพรมราช
ประมุข ภระกูลสุขสถิตย์ มังกร โรจน์ประภากร
และสุมัลลิกา โมรากุล
10. อก.12/P83 ผลของการใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขาม
ต่อสมบัติทางกายภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม..............................746
Effect of Microwave Treatment in Heating Tamarind Seed on
Physical Properties of Tamarind Kernel Powder
โดย ศุภวัฒน์ สะถามันต์ เทพกัญญา หาญศีลวัต
พิสิฏฐ์ ธรรมวิถี และศุภกิตต์ สายสุนทร

11. อก.14/P87 การพัฒนากระบวนการผลิตเนยมะพร้าวและโปรตีนมะพร้าวเข้มข้น
จากกะทิสด...754
Process Development for Coconut Butter and Coconut Protein
Concentrate Production
โดย ธนธรณ์ เกิดสวัสดิ์ และปาริฉัตร หงสประภาส

12. อก.15/P190 ผลของสายพันธุ์มะม่วงสุกที่มีต่อคุณภาพของน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม............ 762
Effect of Varieties of Thai Ripe Mango on the Quality of Drinking
Mango Juice
โดย นภาพร สีทา และปิ่นมณี ขวัญเมือง

13. อก.16/P93 ผลของส่วนผสมต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีน้ำมันมะพร้าว
เป็นส่วนประกอบ.. 771
Effect of Ingredients on Qualities of Lotion Product Containing
Coconut Oil
โดย ญาณตา พ่วงศิริ เทพกัญญา หาญศีลวัต
หทัยรัตน์ ริมคีรี และอนุวัตร แจ้งชัด

14. อก.17/P103 คุณสมบัติของไซลาเนสชอบอุณหภูมิสูงจาก *Thermobifida fusca* PA 1-1.. 778
Characteristics of Thermophilic Xylanase from
Thermobifida fusca PA 1-1
โดย มังกร โรจน์ประภากร ดนัย ขอประเสริฐ
วีระสิทธิ์ สรรพมงคลไชย และวิรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตนา

15. อก.19/P122 อิทธิพลของกลีเซอรอลต่อสมบัติทางกายภาพและความร้อน
ของฟิล์มสตาร์ชมันสำปะหลัง.. 786
Effect of Glycerol on Physical and Thermal Properties of Tapioca
Starch Films
โดย บัวผัน พวงศิลป์ และศศิประภา ปิติภัทรวรโชติ

16. อก.20/P128 ผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อแบบแผนของโปรตีนมะพร้าว
ในน้ำกะทิ...794
Effect of Sodium Chloride Addition on Coconut Protein Profiles
in Coconut Milk
โดย นวรัตน์ ธนทวีธรรม และปาริฉัตร หงสประภาส

17. อก.24/P136 Effect of pH and Fructose Addition on Aroma and Color Characteristics of Papain Hydrolyzed Rice Bran Protein Concentrate………………… 801

By Supeeraya Arsa and Chockchai Theerakulkait

18. อก.25/P145 การเตรียมกากมะพร้าวจากกากคั้นกะทิเพื่อนำไปดัดแปรทางเคมีและเสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร…………………………………………….. 809

Preparation of Coconut Residue for Chemical Modification and Addition in Food Products

โดย มุก ลิ้มมณี และพิณทิพย์ รัมภกาภรณ์

19. อก.27/P147 ผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่อสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของพลับฝาด (*Diospyros kaki*)………………………………………….. 817

The Effect of Fruit Harvesting Stages on the Phytochemical Compounds and Bioactivities of Astringent Persimmons (*Diospyros kaki*)

โดย ลลิตา คชารัตน์ อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ ประภัสสร รักถาวร เกสรี กลิ่นสุคนธ์ และวีระศรี เมฆตรง

20. อก.28/P148 ปริมาณที่เหมาะสมของข้าวไรซ์เบอร์รี่ เห็ด และความชื้นสำหรับส่วนผสมหลักในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปผลิตด้วยกระบวนการเอ็กซ์ทรูชั่น………….825

The Optimal amount of Riceberry Rice, Mushroom and Feed Moisture for the Main Ingredients in Instant Porridge Using Extrusion Process

โดย ทศพล ลิมศรีเพชร กมลวรรณ แจ้งชัด อนุวัตร แจ้งชัด และจุฬาลักษณ์ จารุนุช

21. อก.29/P169 การสกัดสีธรรมชาติจากฝักคูนและประยุกต์ใช้ในการย้อมบนผ้าไหม………. 833

Extraction of Eco-friendly Natural Dyes from Golden Shower Pods and their Application on Silk Fabric

โดย ณัฐดนย์ รุ่งเรืองกิจไกร นวรัตน์ ชาติวิวัฒน์พรชัย ณัฐนิช ดิษฐถาพร ขนิษฐา วัชราภรณ์ และนิตยา ทับทิมทัย

22. อก.30/P173 ระยะการสุกของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส..841
Fruit Ripening Stages of *Carissa carandas* Linn. on Antioxidant and α- Glucosidase Inhibition Activities
โดย เกสรี กลิ่นสุคนธ์ อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ ประภัสสร รักถาวร ลลิตา คชารัตน์ เวธนี สุรวณิชนิรชร และเพ็ญศรี เนียมยิ้ม

23. อก.31/P191 การประยุกต์วิธีตรวจวัดไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ในกระดาษสัมผัสอาหารด้วย TENAX®..849
The Application of Formaldehyde Migration for Food Contact Papers by Using TENAX®
โดย วีภาภรณ์ เฉลยจิตต์กุล สุรันยา จารุภูมิ และงามทิพย์ ภู่วโรดม

24. อก.32/P174 ผลของการบรรจุแบบแอ็กทิฟต่อคุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์.................. 858
Effect of Active Packaging on Quality of Flavor-shredded Straw Mushroom (*Volvarilla volvacea*)
โดย จุฬารัตน์ หงส์วลีรัตน์ จรรยา วังนิยม และนันทนา ศรีจันทึก

สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (Subject: Natural Resources and Environment)

ภาคบรรยาย (Oral Presentation)

1. ทส.4/O31 ความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นและรูปแบบการใช้ประโยชน์แต่ละสังคมพืช ป่าชุมชนบ้านต้นต้อง ตำบลพิชัย อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง.........867
Tree Species Diversity and Utilization Pattern of Each Plant Community in Ban Ton Tong Community Forest, Tambon Phichai, Amphur Mueang, Lampang Province
โดย ราวิน รักนา พสุธา สุนทรห้าว และนิตยา เมี้ยนมิตร

2. ทส.5/O32 สังคมพืชไม้ป่าระยะเริ่มต้นพัฒนา ในพื้นที่ป่าชุมชนอนุรักษ์ 3 แห่ง จังหวัดปราจีนบุรีและจังหวัดสระแก้ว……………………………………………...875
Forest Plant Community in the Initiative Stage of Development at the Three Conserved-Community Forest Areas in Prachinburi Province and Sa Kaeo Province, Thailand
โดย ปารีณา ธนโรจนกุล พฤทธิ์ ราชรักษ์ และวิรงรอง ดวงใจ

3. ทส.7/O44 ความเป็นไปได้ในการใช้น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมผลิตปลาส้มระดับครัวเรือนเพื่อการปลูกผักบุ้งจีน…………………………………...884
Utilization Possibility of Effluent from Pla Som Household Industrial Wastewater Treatment System for Growing Morning Glory (*Ipomcea aquatica* Forsk.)
โดย อลิสา คำละออ อรอนงค์ ผิวนิล และกิตติชัย ดวงมาลย์

4. ทส.10/O49 การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางการเงินของกระบวนการผลิตปลาส้มบริเวณกว๊านพะเยา……………………………………………………………………... 892
Financial Worthiness Analysis of Pla-Som Production around Phayao Lake
โดย ทวีพร กัณณีย์ สามัคคี บุณยะวัฒน์ ซูชีพ พิพัฒน์ศิถี และเกษม จันทร์แก้ว

5. ทส.13/O59 องค์ประกอบของพรรณพืชในป่าทุ่งธรรมชาติและที่จัดการเพื่อการใช้ประโยชน์ของสัตว์ป่าในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ จังหวัดกาญจนบุรี… 899
Floristic Composition in Natural and Managed Savannah for Wildlife Utilization in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province
โดย ยามีรา นันลา และดวงใจ ศุขเฉลิม

6. ทส.24/O144 การใช้ประโยชน์จากน้ำมันที่ใช้แล้วเพื่อผลิตสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า…….. 907
The Utilization of Oil Used to Produce a Herbal Foot Deodorant Soap
โดย สุธีรา สุนทรารักษ์

7. ทส.26/O172 Corporate Carbon Footprint of Limestone Aggregate Production in Thailand: an Industrial Rock-Construction as a Case………………… 915
By Atima Dubsok and Suthirat Kittipongvises

8. ทส.27/O187 การเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมระหว่างเอกพันธ์และวิวิธพันธ์..923
Transesterification with Cocatalyst between Homogeneous and Heterogeneous Catalyst
โดย ณิชฐมนต์ สายนภา กรณ์กนก อายุสุข
และคณิต กฤษณังกูร

9. ทส.28/O188 การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) แบบผสมผสานในระบบปิดและแบบพัฒนาต่อจุดคุ้มทุน......... 931
Comparative Cost of Production between Closed Polyculture System and Intensive Culture System on the Breakeven Point of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)
โดย ทิพย์วิภา มีไชย ภาสิณี วรชนะนันท์
และพงศ์เชษฐ์ พิชิตกุล

10. ทส.31/O238 ความสามารถในการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกจากทางใบปาล์มน้ำมันในช่วงความถี่โทรคมนาคม..................................... 940
Electromagnetic Shielding Capabilities of Woodceramics Made from Oil Palm Frond in Telecommunication Frequency Range
โดย บุญยฤทธิ์ ปัญญายืน พงษ์ศักดิ์ เฮงนิรันดร์
และไตรรัตน์ เนียมสุวรรณ

11. ทส.32/O254 ผลกระทบจากการทำไม้บนพื้นที่สูงต่อความหลากหลายของพืชและสมบัติทางกายภาพของดิน ในพื้นที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่.....948
Logging Impact on Steep Terrain to Plant Diversity and Soil Physical Properties at Royal Agricultural Station Angkhang in Chiang Mai Province
โดย ขรรค์ชัย ประสานัย สุภัทรา ถึกสถิต
นพรัตน์ คิคคุริวาระ และวาทินี กฤษณะพันธ์

12. ทส.33/O259 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรียวัตถุและฟอสฟอรัสในดินบริเวณพื้นที่พืชอิงอาศัยของเห็ดเสม็ดในจังหวัดตรัง..955
Seasonal Soil Organic Matter and Phosphorus Dynamics in Mixed Forests with Fruiting of *Boletus griseipurpureus* in Trang Province
โดย ลัดดาวัลย์ แก้วส่งแสง อมรรัตน์ อังอัจฉะริยะ สุวิทย์ จิตรภักดี ขวัญตา ตันติกำธน และเอนก สาวะอินทร์

ภาคโปสเตอร์ (Poster Presentation)

1. ทส.8/P33 Plant Development and Nutrient Content in Thai Vetiver Grass under Flooded Condition..965
By Katarut Chusreeaeom and Nualchavee Roongtanakiat

2. ทส.16/P49 แบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสารของดินเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งที่บำบัดด้วยวิธีการต่างๆ..973
Catabolic Response Profile of Sediments from Shrimp Cultivation Pond Treated with Different Remediation Methods
โดย ปิยาภรณ์ สมสมัคร และพรภัค ธนะเศวต

3. ทส.22/P107 การจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี....981
The Solid Waste Management in Prince of Songkla University, Pattani Campus
โดย นารูมา มะบากอ นูรีซาวาตี สาเมาะ โซเฟีย ยามิง มดีฮะห์ สาแม รัชนก ซันประสิทธิ และนภารัตน์ ไวยเจริญ

4. ทส.25/P120 Culm Density and Fiber Morphology of *Dendrocalamus asper* and *Dendrocalamus membranaceus*.. 989
By Buapan Puangsin Korawit Chitbanyong and Sawitree Pisuttipiched

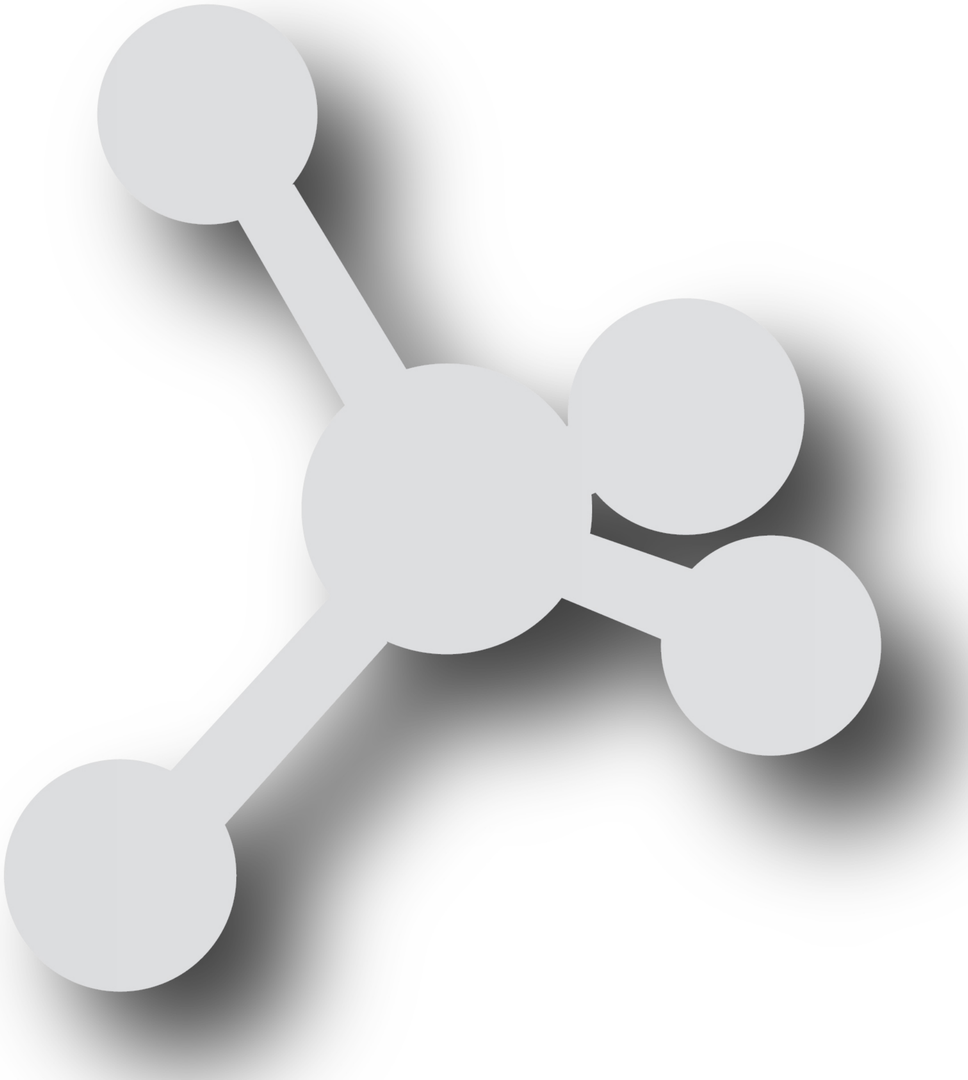
5. ทส.30/P149 สมการมวลชีวภาพเหนือพื้นดินของไม้วงศ์โกงกางบางชนิด บริเวณสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งทะเลอันดามัน จังหวัดระนอง.........................996
Above Ground Biomass Equation of Some Rhizophoraceae in Andaman Coastal Research Station for Development, Ranong Province
โดย วาทินี สวนผกา ขวัญเนตร ทองศรี
และเดชา ดวงนามล

สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม

Subject: Science and Genetic Engineering

ภาคบรรยาย

Oral Presentation



การวิเคราะห์การแปลงเมทริกซ์ของลายมัดหมี่ที่ใช้เทคนิคการค้นแบบหมี่ลวด
Matrix Transformation Analysis of Mee Laud Technique in Mudmee Pattern

สำคัญ ฮ่อบรรทัด[1*] สมบัติ ประจญศานต์[2] และ ดรัสวิน วงศ์ปรเมษฐ์[3]

Samkhan Hobanthad[1*], Sombat Prajonsant[2] and Drusawin Vongpramate[3]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์หลักของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเกิดลวดลายของผ้ามัดหมี่ที่ใช้เทคนิคการค้นแบบหมี่ลวด และใช้การแปลงเมทริกซ์อธิบายการเกิดลายรวมถึงนำแนวความคิดมาประยุกต์ใช้กับการสร้างโปรแกรมจำลองลายผ้า ผลการศึกษา พบว่า การเกิดลวดลายของไหมมัดหมี่เกิดจากกระบวนการค้นหมี่ และกระบวนการมัดย้อมเส้นด้ายก่อนทอซึ่งมีความสัมพันธ์กัน สำหรับการค้นหมี่แบบหมี่ลวดสามารถอธิบายโดยใช้การแปลงเมทริกซ์ 2 ขั้นตอน คือ 1) การแปลงเมทริกซ์ เพื่อสะท้อนลายอันเนื่องมาจากการค้นหมี่แบบไป-กลับโดยส่งผลให้ลายมีความสมมาตรบนแกน x และ 2) การแปลงเมทริกซ์เพื่อซ้ำลาย สำหรับการมัดย้อมนั้น เกิดจากการขยายแม่ลายโดยการแปลงทางเรขาคณิต 2 แบบ คือ แบบสะท้อน และแบบเลื่อนแกนทางขนาน นอกจากนี้เมื่อนำแนวความคิดไปพัฒนาเป็นโปรแกรมจำลองลายผ้าเปรียบเทียบกับการทอจริงจาก 3 หมู่บ้าน พบว่าการเลื่อนตัวของแม่ลายตรงกัน

ABSTRACT

The main purpose of this research is to understanding “Mee Laud” technique in Mudmee (Ikat) pattern and to explain the formation of pattern using matrix transformation. Moreover, the result is applied to computer programming. The results indicate that the formation of pattern is explained by the relation of binding phase and tie-dyeing. For algorithm of binding phase, the first process is to use matrix transformation for reflection of motif which gives a symmetric pattern on x-axis. The other process is to use matrix transformation for repetition of motif. For tie-dyeing, the motif is used a reflection or a translation in geometric transformation. Finally, the result of computer programming compare with cloth experiment of three weaving villages is coordinate motif translation.

Key Words: matrix transformation, pattern, motif, Ikat, Mudmee

* Corresponding author; e-mail address: S.hobanthad@gmail.com

[1]สาขาวิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ บุรีรัมย์ 31000

[1]Department of Mathematic, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Buriram 31000

[2]สาขาวิชาเทคโนโลยีสถาปัตยกรรม คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ บุรีรัมย์ 31000

[2]Department of Architectural Technology, Faculty of Industrial Technology, Buriram Rajabhat University, Buriram 31000

[3]สาขาวิชาเทคโนโลยีสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ บุรีรัมย์ 31000

[3]Department of Information Technology, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Buriram 31000

คำนำ

หัตถอุตสาหกรรมชุมชนผ้าไหม ผ้าฝ้ายของไทยและผลิตภัณฑ์แปรรูป นอกจากเป็นหัตถอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งการส่งออกและการซื้อขายภายในประเทศแล้วยังเป็นอุตสาหกรรมที่ควรค่าแก่การดำรงไว้ซึ่งเอกลักษณ์ทางวัฒนธรรม เพราะการทอผ้ามีประวัติที่ยาวนาน และองค์ความรู้ส่วนใหญ่ได้จากการสืบทอดภูมิปัญญาจากบรรพบุรุษ เมื่อพิจารณาแหล่งผลิตผ้าทอ พบว่ากระจายตัวอยู่ภูมิภาคต่าง ๆ ผ้าทอในแต่ละที่จะสะท้อนอัตลักษณ์ของแต่ละพื้นถิ่น (วัฒนะ, 2555) เกิดผลิตภัณฑ์ชุมชนที่ส่งผลต่อการท่องเที่ยวของประเทศ สร้างรายได้อย่างงามให้กับชุมชนนอกเหนือจากการทำเกษตรกรรม อย่างไรก็ตามในสภาวการณ์ที่มีความรุนแรงของการแข่งขันทางเศรษฐกิจส่งผลให้ทั้งไหมและฝ้ายประสบปัญหาหลายด้าน ทั้งในแง่ของการตลาด การเข้าถึงผู้บริโภค ความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ รวมถึงการก้าวทันยุคสมัยที่เปลี่ยนไปอันเกิดจากการรับวัฒนธรรมตะวันตกเข้าสู่วิถีชีวิตมากขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้พฤติกรรมการสวมใส่ในยุคปัจจุบันไม่ตอบรับกับภาพลักษณ์ผ้านุ่งผ้าถุง อีกทั้งขาดความหลากหลายของลวดลายทั้งที่มีความสัมพันธ์กับความถี่ในการซื้ออย่างมีนัยสำคัญ (มาลิณี, 2549) นักวิจัยส่วนหนึ่งพยายามเติมเต็มจุดอ่อนที่สำคัญด้วยการวิจัยและพัฒนาลวดลายผ้าให้มีความหลากหลาย เช่น การพัฒนาต้นแบบลวดลายเรขศิลป์ 2 มิติจากลวดลายส่วนประดับปราสาทขอม (สมบัติ, 2558) การพัฒนาโปรแกรมช่วยออกแบบลายผ้าโดยใช้คอมพิวเตอร์ (เจียรนัย, 2548) การวิเคราะห์อัลกอลิธึมลายเรขาคณิตในผ้าขิดเพื่อประยุกต์ใช้ในการออกแบบลวดลายใหม่ (อิทธิพล, 2552) เมื่อพิจารณาแล้วโดยส่วนใหญ่มีแนวความคิดเชิงเรขาคณิตเป็นพื้นฐานในการพัฒนา ทำให้มีนักวิจัยเน้นความสำคัญกับการสำรวจแนวความคิดทางคณิตศาสตร์ในผ้าทอมือ ทั้งในกระบวนการผลิต (กิตติปกรณ์, 2549) หรือรูปแบบความสมมาตรของลวดลาย (กรรณิการ์, 2554)

การศึกษาครั้งนี้ มีแนวความคิดที่จะสำรวจองค์ความรู้ทางคณิตศาสตร์ที่ทำให้เกิดลวดลายในไหมมัดหมี่แล้วนำมาพัฒนาเป็นโปรแกรมจำลองลวดลายเพื่อตรวจสอบความถูกต้อง ทั้งนี้ผลที่ได้อาจเป็นแนวทางให้นักพัฒนาลวดลายหรือชุมชนทอผ้าได้พัฒนาต่อยอดเป็นลวดลายต่าง ๆ รวมทั้งโปรแกรมจำลองลายผ้ายังสามารถทำนายลวดลายทั้งผืนก่อนที่จะลงมือทอจริงเพื่อประกอบการตัดสินใจ

วิธีดำเนินการศึกษา

การศึกษาการเกิดลวดลายมัดหมี่มีกระบวนการศึกษา ดังนี้ 1) ลงพื้นที่สัมภาษณ์การเรียกชื่อลายบันทึกลงในโปรแกรม Microsoft Excel คัดแยกลวดลายตามประเภทการค้นหมี่ จากแหล่งทอผ้าในจังหวัดบุรีรัมย์จำนวน 6 แหล่ง ประกอบด้วย กลุ่มศูนย์หัตถกรรมพื้นบ้านอำเภอนาโพธิ์ กลุ่มทอผ้าบ้านหนองตาดน้อย อำเภอเมือง กลุ่มสตรีทอผ้าบ้านหัวสะพาน อำเภอพุทไธสง กลุ่มสตรีทอผ้าอำเภอแคนดง กลุ่มสตรีทอผ้าอำเภอสตึก กลุ่มสตรีทอผ้าอำเภอคูเมือง 2) ลงพื้นที่ศึกษาการเกิดรูปของลายมัดหมี่ในแต่ละกระบวนการทั้งหมด 3 พื้นที่ประกอบด้วย กลุ่มทอผ้าบ้านตาลอง อำเภอสตึก กลุ่มทอผ้าบ้านหนองตาดน้อย อำเภอเมือง และกลุ่มศูนย์หัตถกรรมพื้นบ้านอำเภอนาโพธิ์ 3) เรียบเรียงและอธิบายด้วยองค์ความรู้ทางคณิตศาสตร์ในเรื่องการแปลงเมทริกซ์ 4) เขียนอัลกอริธึมที่ได้จากการประยุกต์การแปลงเมทริกซ์ของลายสำหรับจำลองลายผ้าและเปรียบเทียบกับการทอเป็นผืนจริงใน 3 กลุ่มทอผ้า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การบันทึกข้อมูลลวดลาย

การสำรวจลายมัดหมี่จากภูมิปัญญาท้องถิ่นของกลุ่มผู้ผลิตผ้าไหมมัดหมี่ ชาติพันธุ์ไทยลาว ในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ ทำการบันทึกภาพและจัดทำแบบลายบนโปรแกรม Microsoft Excel ด้วยการใส่รหัสตัวเลขและสีของลายมัดหมี่ที่มัดกับเส้นพุ่ง (Figure 1) โดยคำนึงถึงลำดับการย้อมทับ และกำหนดให้ ตัวเลข 1 หมายถึง การมัดเก็บสีของเส้นไหมจะได้สีขาว ตัวเลข 2 หมายถึง สีเหลือง ตัวเลข 3 หมายถึง สีแดง ตัวเลข 4 หมายถึง สีเขียว ตัวเลข 5 หมายถึง สีน้ำเงิน ตัวเลข 6 หมายถึง สีน้ำตาล ตัวเลข 7 หมายถึง สีดำ คัดแยกลวดลายที่สำรวจจำนวน 100 ลายด้วยวิธีการค้นหมี่ พบว่า มี 96 ลายที่ทำการค้นหมี่แบบหมี่ลวด

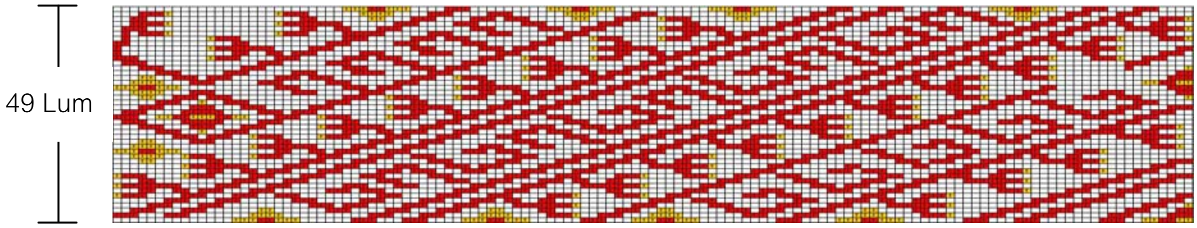


Figure 1 Example motif of coding number which record on Microsoft Excel (Motif size 49 Lum)

แนวคิดทางคณิตศาสตร์ในการเกิดลวดลายสำหรับการค้นหมี่แบบลวด

การทอผ้ามัดหมี่ใช้หลักการเบื้องต้นเหมือนกับการผลิตผ้าทอมือลายขัดพื้นฐาน กล่าวคือ ใช้หลักการขัดกันของเส้นด้าย 2 ทิศทางที่ทำมุมกัน 90 องศา ในทิศทางแรก เรียกว่าเส้นยืน เป็นแนวเส้นด้ายที่ขนานกับแกน y ในระบบพิกัดฉาก ซึ่งพิจารณาจากภูมิปัญญาแล้วเส้นยืนไม่มีผลต่อการเกิดลวดลายของผ้า ทิศทางที่สองเรียกว่าเส้นพุ่ง เป็นแนวเส้นด้ายที่ขนานกับแกน x มีผลต่อการเกิดลวดลายของผ้ามัดหมี่โดยตรง ดังนั้น การเตรียมเส้นพุ่งจึงเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดในการเกิดลายของไหมมัดหมี่แบบมัดหมี่ทางเดียว การเตรียมเส้นพุ่งประกอบด้วย 2 กระบวนการ คือ การค้นหมี่ และการมัดย้อมเส้นด้าย (เส้นไหม เส้นฝ้าย หรือเส้นใยสังเคราะห์) ซึ่งทั้ง 2 กระบวนการมีความสัมพันธ์กัน เครื่องค้นหมี่ (Figure 2A) ถูกออกแบบมาให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีด้านยาวเท่ากับ 102 เซนติเมตรสัมพันธ์กับความกว้างของเครื่องโฮงมัดหมี่สำหรับขึงเส้นใยเพื่อมัดลาย (Figure 2B) และขนาดของฟืมที่ใช้ทอผ้า (Figure 2C) การค้นหมี่แบบหมี่ลวดเริ่มจากนำไหมที่ลอกกาวแล้ว

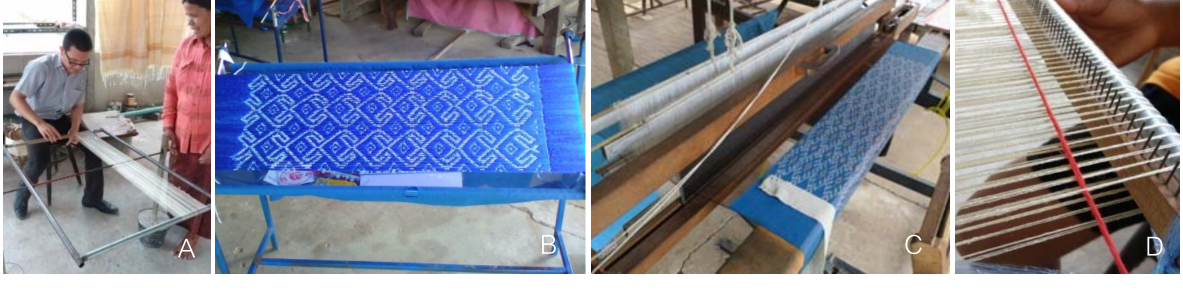


Figure 2 yarn preparation machine (A), weaving machine (B), bundles of yarn (C)

มากำหนดจุดเริ่มต้นไว้เพื่อนับจำนวนรอบของการค้นหมี่ จากนั้นจึงดึงไหมหนึ่งหรือสองเส้นเพื่อเข้าเครื่องค้นหมี่ (อธิบายกรณีดึงไหมหนึ่งเส้น) หมุนเครื่องค้นหมี่ 2 รอบจะทำให้เกิดเส้นพุ่ง 4 เส้น เมื่อหมุนครบ 2 รอบแล้วจึงเลื่อนตำแหน่ง เรียกแต่ละตำแหน่งว่า ลำ (Figure 2D) แต่ละลายจะมีจำนวนลำไม่เท่ากัน เช่น ลายหมี่ฟันเลื่อย (Figure 1) มีจำนวนลำเท่ากับ 49 เมื่อค้นเส้นพุ่งจนถึงลำสุดท้ายคือลำที่ 49 ก็ทำการค้นย้อนกลับมาลำที่ 48 ค้นย้อนเรื่อย ๆ จนมาถึงลำที่ 1 จึงกล่าวได้ว่าค้นครบ 1 รอบ การค้นแบบหมี่ลวดจะทำให้เกิดการสะท้อนด้านบนและด้านล่าง (Figure 3) ส่งผลให้เกิดลายสมมาตรตามแนวแกน x

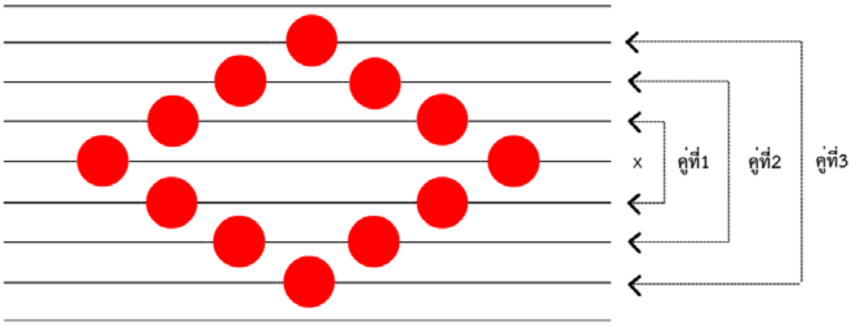


Figure 3 Symmetric pattern on x-axis

สำหรับการจัดเก็บข้อมูลเชิงตัวเลขลงในโปรแกรม Microsoft Excel สามารถเขียนแม่ลายเป็นเมทริกซ์ที่มีสมาชิกเป็นตัวเลขแทนสีต่าง ๆ ใน Figure 4 เป็นตัวอย่างการเขียนเมทริซ์แทนตัวเลขสีในโปรแกรม Microsoft Excel

3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1
1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	2	2	2	2	1	1
3	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1

$$\begin{bmatrix} 3 & 3 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 3 & 3 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2 & 2 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 3 & 3 & 3 & 2 & 1 & 1 & 1 & 1 & 3 & 3 & 3 & 2 & 1 & 1 & 2 & 2 & 2 & 2 & 1 & 1 \\ 3 & 1 & 1 & 3 & 3 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2 & 2 & 2 & 3 & 3 & 2 & 2 & 2 \\ 3 & 3 & 3 & 3 & 3 & 3 & 3 & 2 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 2 & 2 & 2 & 2 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

Figure 4 Example of motif represented by matrix

เมื่อเทียบกับระบบพิกัดฉากจะเห็นได้ว่าต้องมองแถวของเมทริกซ์เป็นเส้นพุ่ง และมองหลักของเมทริกซ์เป็นเส้นยืน ซึ่งเราทราบว่าผลของการเกิดลายนั้นมาจากเส้นพุ่ง จึงพิจารณาเฉพาะแถวของเมทริกซ์ ถ้ากำหนดให้ A เป็นลายต้นแบบใด ๆ ที่มีจำนวนลำเท่ากับ m จะกล่าวว่า A เป็นเมทริกซ์ขนาด $m \times n$ เมื่อ m คือ จำนวนแถวของเมทริกซ์ และ n คือ จำนวนหลักของเมทริกซ์ ดังนั้น

$$A = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{m1} & a_{m2} & \cdots & a_{mn} \end{bmatrix}_{m \times n}$$

การแปลงจากเมทริกซ์ A ไปเป็นเมทริกซ์ B เพื่อเพิ่มจำนวนแถวและอธิบายการเกิดลวดลาย ดังนี้

$$B = \begin{bmatrix} V_i \\ V_x = V_{2m-x} \\ V_y = V_k \end{bmatrix}_{(4m-2)\times n}$$

โดยที่ $1 \le i \le m,\ m+1 \le x \le 2m-1,\ 2m \le y \le 4m-2$ และ $y \equiv k \left(\mathrm{mod}\ 2m-1\right)$ เมื่อ V_i คือ เวกเตอร์ของแต่ละแถวของเมทริกซ์ลายต้นแบบ ถ้ากำหนดให้ตัวอย่างใน Figure 4 เป็นเมทริกซ์ A จะได้เมทริกซ์ B ที่ปรากฏบนโปรแกรมดัง Figure 5

3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1
1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	2	2	2	2	1	1
3	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1
3	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2
1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	2	2	2	2	1	1
3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1
3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1
1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	2	2	2	2	1	1
3	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1
3	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2
1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	1	1	3	3	3	2	1	1	2	2	2	2	1	1
3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1

Figure 5 Example of matrix transformation by “Mee Laud” technique

แนวคิดทางคณิตศาสตร์ในการเกิดลวดลายสำหรับการมัดหมี่

การมัดหมี่นับว่าเป็นกระบวนการที่สำคัญที่สุดที่ทำให้เกิดลวดลายบนเส้นด้ายที่มีการค้นหมี่แบ่งออกเป็นชุด ๆ (ลำ) ตามขนาดของลาย 1 ซ้ำ (Figure 6) เริ่มต้นต้องพิจารณาลายที่ต้องการว่ามีขนาดทั้งหมดกี่ลำ ส่งผลให้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการค้นหมี่ หลังจากนั้นจะวางแผนลำดับย้อมสีทีละสี ๆ กระบวนการทำให้เกิดลายจะพิจารณาที่เมทริกซ์ของลายที่ได้ผลมาจากการค้นหมี่นำมาดำเนินการต่อ

Figure 6 tie-dyeing process

กำหนดให้ A เป็นเมทริกซ์ที่ได้จากการค้นหมี่ โดยที่

$$A = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{m1} & a_{m2} & \cdots & a_{mn} \end{bmatrix}_{m \times n}$$

ต่อไปพิจารณาแต่ละหลักของเมทริกซ์เป็นเวกเตอร์ ดังนี้

$$V_1 = \begin{bmatrix} a_{11} \\ a_{21} \\ \vdots \\ a_{m1} \end{bmatrix}, \quad V_2 = \begin{bmatrix} a_{12} \\ a_{22} \\ \vdots \\ a_{m2} \end{bmatrix}, \quad V_3 = \begin{bmatrix} a_{13} \\ a_{23} \\ \vdots \\ a_{m3} \end{bmatrix}, \quad \ldots, \quad V_n = \begin{bmatrix} a_{1n} \\ a_{2n} \\ \vdots \\ a_{mn} \end{bmatrix}$$

ดังนั้น $A = \begin{bmatrix} V_1 & V_2 & \cdots & V_n \end{bmatrix}$ ต่อไปจะพิจารณาความต้องการว่าต้องการสะท้อนลวดลายให้สมมาตรบนแกน y หรือต้องการเลื่อนลาย ถ้าต้องการเลื่อนลายจะสร้างเมทริกซ์ B จากเมทริกซ์ A ได้ดังนี้

$$B = \begin{bmatrix} V_1 & V_2 & \cdots & V_n & V_x = V_k \end{bmatrix}$$

โดยที่ $x > n$ และ $x \equiv k \pmod{n}$ ถ้ากำหนดให้เมทริกซที่ได้จากการค้นหมี่ใน Figure 5 คือเมทริกซ์ A จะได้เมทริกซ์ B ที่ปรากฏบนโปรแกรมดัง Figure 7

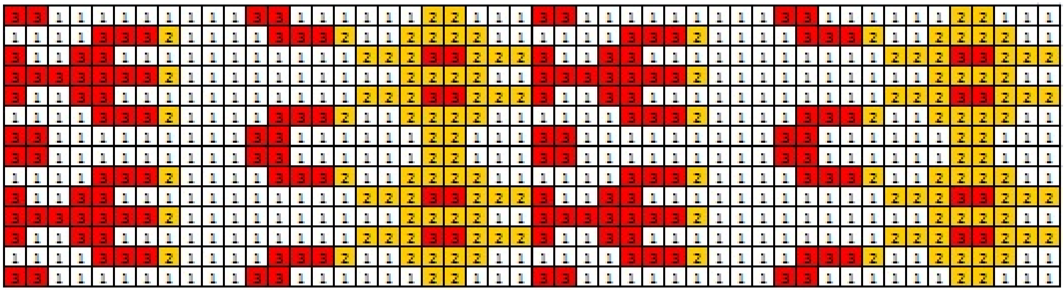


Figure 7 Example of translation of matrix transformation by “tie-dyeing” technique

ถ้าต้องการสะท้อนลวดลายให้สมมาตรบนแกน y จะสร้างเมทริกซ์ B จากเมทริกซ์ A ได้ดังนี้

$$B = \begin{bmatrix} V_1 & V_2 & \cdots & V_n & V_x = V_{2n-x} & V_y = V_k \end{bmatrix}$$

โดยที่ $n+1 \leq x \leq 2n-1$, $y \geq 2n$ และ $y \equiv k \left(\mathrm{mod}\ 2n-1\right)$ ถ้ากำหนดให้เมทริกซ์ที่ได้จากการค้นหมี่ใน Figure 5 คือเมทริกซ์ A จะได้เมทริกซ์ B ที่ปรากฏบนโปรแกรมดัง Figure 8

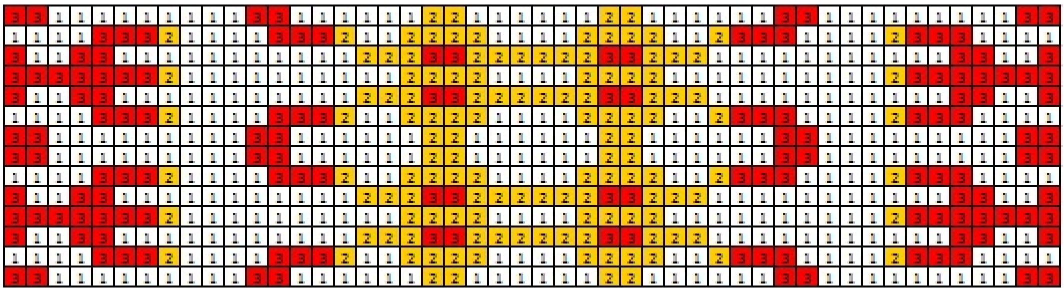


Figure 8 Example of reflection of matrix transformation by “tie-dyeing” technique

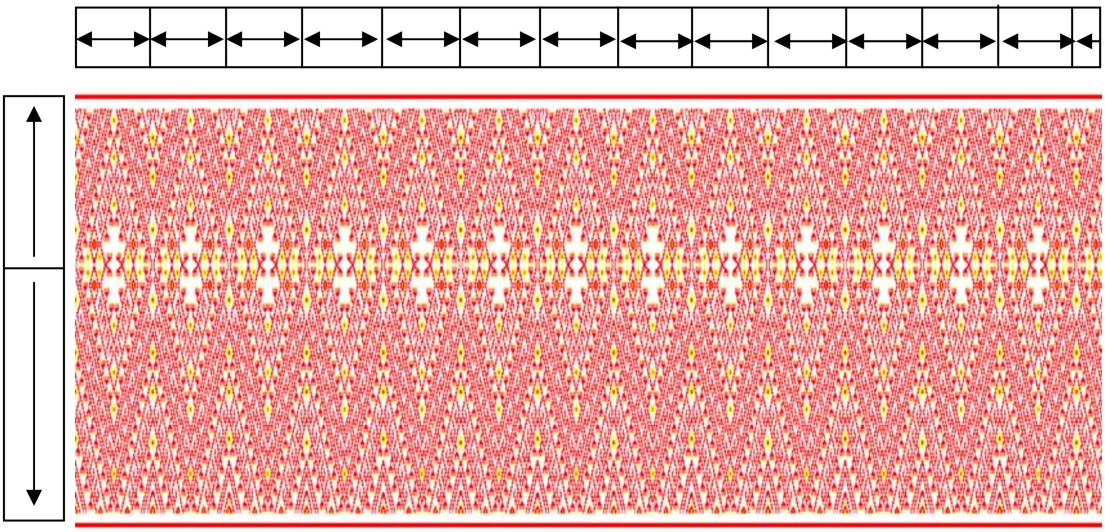
จากนั้นกระบวนการสุดท้ายจึงแปลงเมทริกซ์จากเมทริกซ์ B เพื่อซ้ำเส้น ทั้งหมด 4 เส้น ดังนี้

$$W_i = \begin{bmatrix} V_i \\ V_i \\ V_i \\ V_i \end{bmatrix} \text{ สำหรับทุก } i \text{ จึงได้ผลลัพธ์เป็น } C = \begin{bmatrix} W_1 \\ W_2 \\ \vdots \\ W_n \end{bmatrix}$$

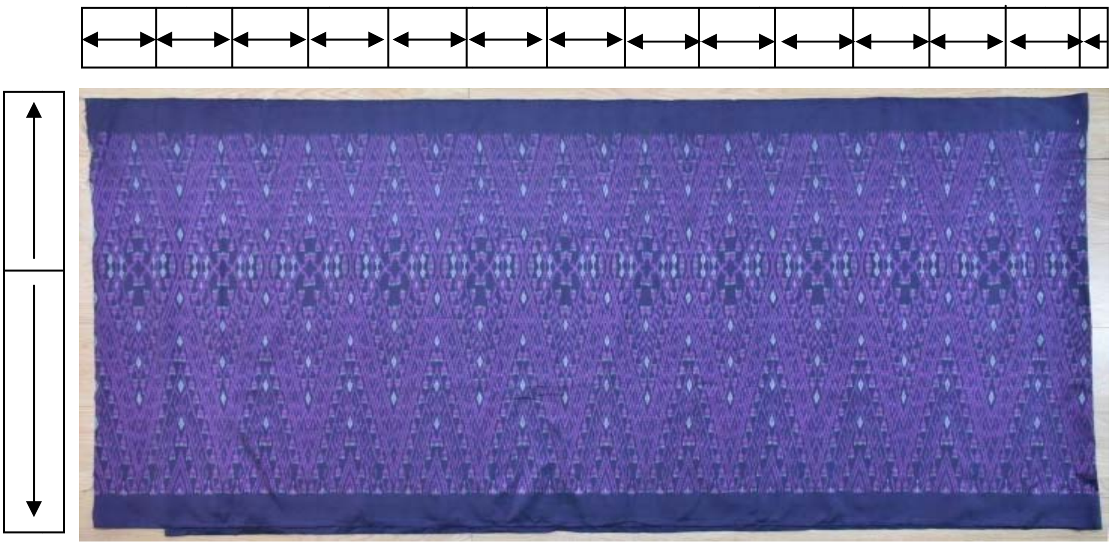
เมื่อพิจารณาการเกิดลายจากทั้งสองกระบวนการ พบว่า ผ้าทอมือจากภูมิปัญญาของบรรพบุรุษล้วนมีความสมมาตรบนลวดลาย สอดคล้องกับลวดลายผ้าทอมือโบราณในแต่ละถิ่นฐานทั่วโลกที่ล้วนมีความสมมาตรบนลวดลายเช่นเดียวกัน (Lila Lekka and Sofia Dascalopoulos, 2008; Priscilla A. Reinhardt and Linda Welter, 1999)

การสร้างโปรแกรมจำลองลายผ้าเพื่อตรวจสอบแนวคิด

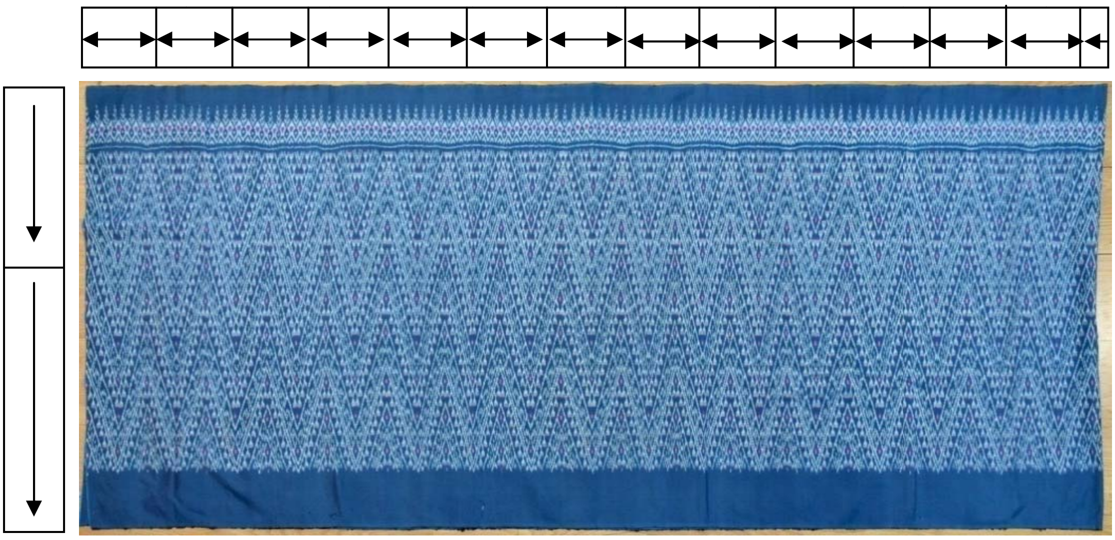
สำหรับการเปรียบเทียบการจำลองลายผ้าบนโปรแกรมคอมพิวเตอร์กับการทอจริงพิจารณาจากทิศทางการซ้ำของแม่ลาย ในส่วนของการทอจริงเพื่อตรวจสอบจะใช้วิธีสุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มศูนย์หัตถกรรมพื้นบ้านอำเภอนาโพธิ์ กลุ่มทอผ้าบ้านหนองตาดน้อย อำเภอเมือง และกลุ่มทอผ้าบ้านตาลอง อำเภอสตึก ผลการเปรียบเทียบ พบว่ากลุ่มแรกใช้วิธีการมัดย้อมแบบสะท้อน (Figure 9B) ซึ่งมีทิศทางการซ้ำของแม่ลายตรงกับโปรแกรมการจำลองลวดลาย (Figure 9 A) สำหรับกลุ่มทอผ้าหนองตาดน้อย และกลุ่มทอผ้าตาลองใช้วิธีการมัดย้อมแบบเลื่อนแกน มีความแตกต่างกับโปรแกรมการจำลองลวดลายในทิศทางจากบนลงล่างอันเป็นผลมาจากวิธีการมัดย้อมที่แตกต่างส่งผลให้ผ้าไหมมัดหมี่ของกลุ่มทอผ้าบ้านหนองตาดน้อย (Figure 9C) และกลุ่มทอผ้าบ้านตาลอง (Figure 9D) แตกต่างกับกลุ่มศูนย์หัตถกรรมพื้นบ้านอำเภอนาโพธิ์ ชี้ให้เห็นภูมิปัญญาการออกแบบสร้างสรรค์ ซึ่งแม้จะถือลายต้นแบบเดียวกัน ยังสามารถแปรเปลี่ยนการออกแบบการซ้ำทำให้เกิดลวดลายที่หลากหลายได้ นอกเหนือจากเทคนิคการนำลวดลายจากผืนหนึ่งมารวมกับอีกผืนหนึ่งเพื่อให้เกิดเป็นลายใหม่ (ธำรงชาติ, 2558)



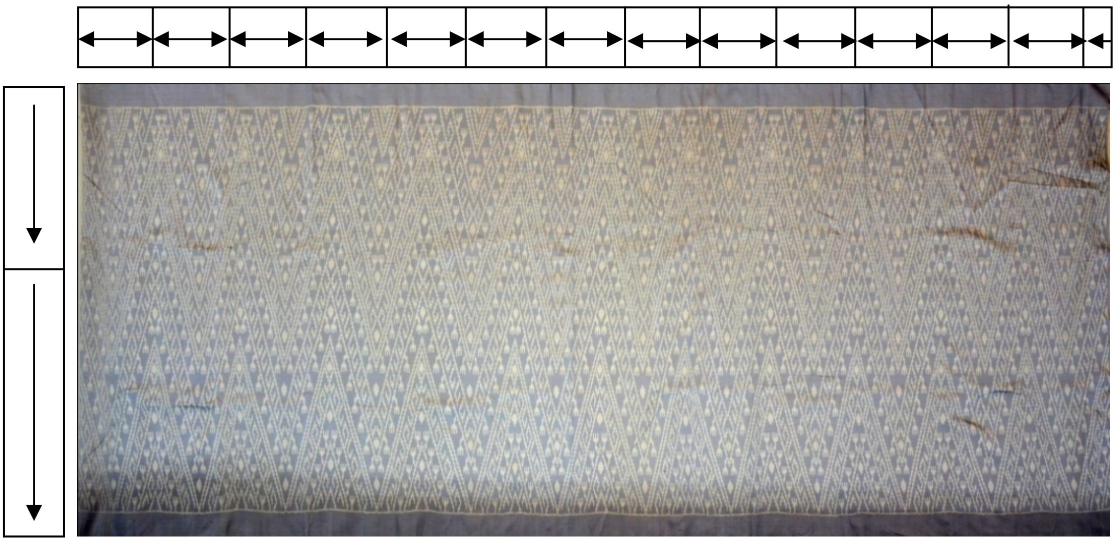
A



B



C



D

Figure 9 Modeling patterns (A) Ikat silk fabric from Amphoe Na Pho (B) Ikat silk fabric from Amphoe Muang (C) Ikat silk fabric from Amphoe Sa Tuk(D)

สรุป

การเกิดลวดลายของผ้ามัดหมี่ที่มีการเตรียมเส้นพุ่งแบบหมี่ลวดนั้นเกิดจาก 2 กระบวนการที่มีความสัมพันธ์กันระหว่างการค้นหมี่ และการมัดหมี่ กระบวนการเกิดลวดลายของผ้ามัดหมี่สามารถอธิบายด้วยองค์ความรู้ทางคณิตศาสตร์ในเรื่องการแปลงเมทริกซ์ สำหรับการค้นหมี่ใช้การแปลงเมทริกซ์เพื่อเพิ่มจำนวนแถว ส่วนการมัดหมี่ใช้การแปลงเมทริกซ์เพื่อเพิ่มจำนวนหลัก ซึ่งการมัดหมี่สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การแปลงเมทริกซ์เพื่อสะท้อนลายและการแปลงเมทริกซ์เพื่อเลื่อนลาย ทำให้เกิดลวดลายที่แตกต่างกัน แม้ว่าจะเกิดจากต้นแบบลายเดียวกัน จึงอาจเป็นแนวทางในการออกแบบลายให้เกิดความหลากหลายได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (HERP) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ที่สนับสนุนทุนวิจัยภายใต้โครงการบูรณาการวิจัยรากฐานภูมิปัญญาท้องถิ่นสู่นวัตกรรมด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Cheinno) ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่อำนวยความสะดวกในการวิจัย และขอขอบคุณกลุ่มศูนย์หัตถกรรมพื้นบ้านอำเภอนาโพธิ์ กลุ่มทอผ้าบ้านหนองตาดน้อย อำเภอเมือง และกลุ่มทอผ้าบ้านตาลอง อำเภอสตึก ที่ให้ข้อมูลการทอผ้าและจัดทำต้นแบบผ้าไหมมัดหมี่

เอกสารอ้างอิง

กิตติปกรณ์ อ้มเถื่อน. 2549. **การศึกษาแนวคิดทางคณิตศาสตร์ในขั้นตอนการผลิตผ้าไหมมัดหมี่จังหวัดขอนแก่น** วิทยานิพนธ์ปริญญาศึกษาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

กรรณิการ์ จินากูล. 2554. **รายงานการวิจัยการวิเคราะห์ความรู้คณิตศาสตร์ชาติพันธุ์เรื่องการแปลงเรขาคณิตจากลายขิดในผ้าทอมือไท-ลาว** มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์, สุรินทร์

เจียรนัย เล็กอุทัย. 2548. **รายงานวิจัยการพัฒนาโปรแกรมออกแบบลายผ้าทอโดยใช้คอมพิวเตอร์.** ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ

ธำรงชาติ วงศ์อารีย์ และคณะ. 2558. ผ้าพื้นเมืองไทยพวน : ลวดลายและเส้นสายอารยธรรมบ้านเชียงจากอดีตสู่ปัจจุบัน. **วารสารการพัฒนาชุมชนและคุณภาพชีวิต** 3(2) : 195 - 202

มาลิณี ฤาชุตกุล. 2549. **ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ผ้าไหมโครงการหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภคในจังหวัดนครราชสีมา.** วิทยาลัยนครราชสีมา, นครราชสีมา

วัฒนะ จูฑะวิภาต. 2555. **รายงานการวิจัยผ้าทอกับชีวิตคนไทย**. มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์, กรุงเทพฯ

สมบัติ ประจญศานต์. 2558. ลวดลายเรขศิลป์ส่วนประดับของปราสาทขอมบนผ้าไหมมัดหมี่ต่อการออกแบบเครื่องแต่งกาย. **วารสารการพัฒนาชุมชนและคุณภาพชีวิต** 3(3): 331-338

อิทธิพล สิงห์คำ. 2552. การวิเคราะห์อัลกอริธึมลายเรขาคณิตในผ้าขิด เพื่อประยุกต์ใช้ในการออกแบบลวดลายใหม่. **วารสารศิลปกรรมบูรพา** : 89 - 100

Lila Lekka and Sofia Dascalopoulos. 2008. Motif and Symmetry Characteristics of the Ornamentation on Traditional Greek Woven Textiles from the Area of the Aegean. **Fibres& Textiles in Eastern Europe**. 16, No.3 (68) : 74-68.

Priscilla A. Reinhardt and Linda Welter. 1999. Symmetry Analysis of Embroideries on Greek Women's Chemises.**Clothing and Textiles Research Journal**.17 : 176-190.

การศึกษาเชิงเปรียบเทียบของวิธีการเชิงตัวเลขสำหรับการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพที่ใช้การแปรผันรวม

A Comparative Study of Numerical Methods for TV-Base Image Denoising

โสภิดา จิวประเสริฐ[1*] นพดล ชุมชอบ[2] และศิริวรรณ จันทร์แก่น[3]

Sopida Jewprasert[1*] Noppadol Chumchob[2] and Siriwan Chankan[3]

บทคัดย่อ

การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพที่ใช้การแปรผันรวมเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้เกี่ยวข้องกับการหาค่าต่ำที่สุดของฟังก์ชันนัลซึ่งถูกเขียนในรูปอินทิกรัลของฟังก์ชันและอนุพันธ์ของฟังก์ชัน จึงทำให้การกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพโดยวิธีการนี้สามารถทำได้โดยการแก้สมการเชิงอนุพันธ์ที่เกี่ยวข้อง ในงานวิจัยนี้ เรานำเสนอการศึกษาเชิงเปรียบเทียบของสามวิธีการเชิงตัวเลข ได้แก่ วิธีการเดินเวลาแบบกึ่งไม่ชัดแจ้ง (TM) วิธีการมัลติกริด (MG) และวิธีการ split Bregman (SB) การทดลองเชิงตัวเลขได้แสดงว่าวิธีการ MG เป็นวิธีการที่รวดเร็วที่สุด

ABSTRACT

Total variation (TV) -based image denoising is a powerful method. However, it deals with minimizing two functionals, which are expressed as integrals involving functions and their derivatives, and thus, it involves solving the associated partial differential equation. In this work, we present a comparative study of these numerical methods such as the semi-implicit time marching (TM), multigrid (MG), and split Bregman (SB) methods. Numerical experiments show that MG method is the fastest way.

Key Words: image denoising, finite difference method, total variation, multigrid method, split Bregman method

*Corresponding author; e-mail address: sopida.jew@hotmail.com

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา พระนครศรีอยุธยา 13000

[1] Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phranakhon Si Ayutthaya, 13000

[2] ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม 73000

[2] Department of Mathematics, Faculty of Science, Silpakorn University,Nakhon pathom, 73000

[3] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี กาญจนบุรี 71000

[3] Faculty of Science and Technology, Kanchanaburi Rajabhat University, Kanchanaburi, 71000

คำนำ

ในการถ่ายภาพเรามักจะพบสัญญาณรบกวนซึ่งสัญญาณรบกวนนั้นอาจจะเกิดจากเครื่องมือการถ่ายภาพในขั้นตอนการรับ-ส่งภาพ หรือการบันทึกสัญญาณภาพ ดังนั้นการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ (image- denoising) หรือการซ่อมแซมภาพ (image restoration) จึงเป็นขั้นตอนที่จำเป็นและสำคัญอย่างมาก เพื่อให้ได้ข้อมูลบนภาพที่มีความคมชัดสูงขึ้นและสามารถนำข้อมูลดังกล่าวไปใช้ในทางปฏิบัติได้อย่างสะดวกและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

ในทางคณิตศาสตร์ เราสามารถสร้างตัวแบบของภาพเชิงสเกลาร์แบบ 2 มิติ โดยพิจารณาภาพเป็นฟังก์ชัน $I:\Omega \subseteq \mathbb{R}^2 \to V \subset [0,\infty)$ ที่ถูกนิยามบนโดเมนภาพ (image domain) Ω ที่มีรูปร่างเป็นรูปสี่เหลี่ยม ในที่นี้การกำหนดให้เรนจ์ของภาพ $R(I) = V \subset [0,\infty)$ เพื่อระบุว่า I เป็นภาพที่มีความเข้มภาพ (Image intensity) อยู่ในอัตราส่วนความเข้มภาพในโทนสีเทา (grayscale) นั่นคือ ภาพ I เกี่ยวข้องกับแต่ละสมาชิก $\boldsymbol{x} = [x_1, x_2]^{\mathrm{T}} \in \Omega$ ด้วยค่าความเข้มโทนสีเทา $I(x) \in V$ เพื่ออำนวยความสะดวกทางคณิตศาสตร์งานวิจัยนี้สมมติว่า $\Omega = [1,n]^2$ และ $V = [0,255]$ ตามลำดับ

กำหนดให้ $u:\Omega \to V$ แทนภาพถ่ายต้นฉบับที่ต้องการค้นหา (ไม่ทราบ) และ $f:\Omega \to V$ แทนภาพที่มีสัญญาณรบกวน (ทราบ) ตามลำดับ ตัวแบบทางคณิตศาสตร์ (mathematical model) สำหรับกำจัดสัญญาณรบกวนจากภาพสามารถเขียนได้ในรูปปัญหาเชิงการแปรผัน (variational problem) ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาตัวแบบหนึ่งที่ถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายในการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพ คือ ตัวแบบที่ใช้เร็กกิวลาร์ไรซ์เซชันแบบการแปรผันรวม (total variation-based model) ที่ถูกคิดค้นโดยคณะวิจัย Rudin Osher และ Fatemi (1992) ต่อไปนี้

$$\min_u \left\{ J_\alpha(u) = \frac{1}{2}\int_\Omega (u-f)^2 \, d\Omega + \alpha \int_\Omega |\nabla u| d\Omega \right\} \tag{1}$$

เมื่อ $\alpha \int_\Omega |\nabla u| d\Omega$ เป็นเทอมเร็กกิวลาร์ไรซ์เซชันแบบการแปรผันรวม (total variation regularization) $\frac{1}{2}\int_\Omega (u-f)^2 d\Omega$ เป็นเทอมวัดความเหมาะสมของข้อมูล (data fitting term) ระหว่างภาพ u และ f และ $\alpha > 0$ เป็นเร็กกิวลาร์ไรซ์เซชันพารามิเตอร์ (regularization parameter) ซึ่งทำหน้าที่ปรับความสมดุลระหว่างเทอมเร็กกิว-ลาร์ไรซ์เซชันแบบการแปรผันรวมกับเทอมวัดความเหมาะสมของข้อมูล

โดยทั่วไปวิธีการเชิงตัวเลขสำหรับแก้ปัญหาการกำจัดสัญญาณรบกวนจากภาพ (1) สามารถแบ่งออกได้อย่างกว้างๆ 2 วิธีการ คือ วิธีการออฟติไมซ์-ดิสครีตไทซ์ (optimize-discretize) และวิธีการดิสครีตไทซ์-ออฟติไมซ์ (discretize-optimize)

วิธีการออฟติไมซ์-ดิสครีตไทซ์เริ่มต้นจากการออฟติไมซ์ J_α ใน (1) โดยการใช้แคลคูลัสของการแปรผัน (calculus of variation) ผลที่ได้จะนำไปสู่สมการออยเลอร์-ลากรางจ์ (Euler-Lagrange equation) ซึ่งเป็นสมการเชิงอนุพันธ์ย่อยไม่เป็นเชิงเส้น (ดูในสมการ (2)) สุดท้ายจึงดิสครีตไทซ์สมการออยเลอร์-ลากรางจ์เพื่อหาคำตอบโดยประมาณ (approximate solution) ด้วยวิธีการเชิงตัวเลข อย่างไรก็ตาม เนื่องจากโดเมนของภาพเป็นรูปสี่เหลี่ยมและค่าความเข้มภาพในระบบดิจิตัลได้ถูกกำหนดค่า ณ ตำแหน่งที่มีระยะห่างเท่าๆ กันบนโดเมนภาพทั้งในทิศทางแนวตั้งหรือทิศทางแนวนอน เพราะฉะนั้นการดิสครีตไทซ์สมการออยเลอร์-ลากรางจ์ด้วยวิธีการไฟไนต์

ดิฟเฟอเรนซ์ (finite difference method) จึงเป็นทางเลือกที่สะดวก และมีความเหมาะสมสูงกว่าวิธีการไฟไนต์เอลิเมนต์ (finite element method) และวิธีการไฟไนต์วอลลูม (finite volume method)

วิธีการดิสครีตไทซ์-ออฟติไมซ์เริ่มต้นจากการดิสครีตไทซ์ J_α ใน (1) โดยใช้วิธีการเชิงตัวเลขสำหรับการคำนวณอินทิกรัลจำกัดเขตแบบหลายชั้นและการประมาณแบบไฟไนต์ดิฟเฟอเรนซ์ ผลที่ได้จะนำปัญหาการหาค่าเหมาะสมที่สุดแบบต่อเนื่อง (continuous optimization problem) ใน (1) ไปสู่ปัญหาการหาค่าเหมาะสมที่สุดแบบดิสครีต (discrete optimization problem) สุดท้ายจึงทำการออฟติไมซ์ปัญหาแบบดิสครีตที่ได้นี้ด้วยวิธีการเชิงตัวเลขพื้นฐานสำหรับการหาค่าเหมาะสมที่สุด

เนื่องจากวิธีการออฟติไมซ์-ดิสครีตไทซ์ให้ผลการคำนวณที่รวดเร็วกว่า งานวิจัยชิ้นนี้จะใช้วิธีการออฟติไมซ์-ดิสครีตไทซ์สำหรับแก้ปัญหาเชิงแปรผันใน (1) จากนั้นจะทำการศึกษาเชิงเปรียบเทียบวิธีการเชิงตัวเลขที่มีประสิทธิภาพ 3 วิธี ได้แก่ วิธีการเดินเวลาแบบกึ่งไม่ชัดแจ้ง (semi–implicit time marching method (TM)) วิธีการ มัลติกริด (multigrid method (MG)) และ วิธีการ Split Bregman (Split Bregman method (SB))

วิธีการออฟติไมซ์โดยแคลคูลัสของการแปรผัน

คณะวิจัย Rudin Osher และ Fatemi (1992) ได้ใช้แคลคูลัสของการแปรผันกับ (1) จะได้สมการออยเลอร์-ลากรางจ์เป็น

$$\begin{cases} \underbrace{-\alpha\kappa(u)+\left(u-f\right)}_{N(u)}=0 & ,x=\Omega \\ \dfrac{\partial u}{\partial \vec{n}}=0 & ,x\in\partial\Omega \end{cases} \tag{2}$$

เมื่อ $\kappa(u)=\nabla\cdot\left(\dfrac{\nabla u}{|\nabla u|_\beta}\right)$, $|\nabla u|_\beta=\sqrt{|\nabla u|^2+\beta},\ \beta>0$ เป็นค่าคงตัวที่มีค่าน้อยๆ สำหรับหลีกเลี่ยงการหารด้วยศูนย์ และ $\vec{n}$ แทนเวกเตอร์หนึ่งหน่วยที่ตั้งฉากกับขอบของภาพในทิศชี้ออก

การดิสครีตไทซ์เซชันแบบไฟไนต์ดิฟเฟอเรนซ์

ในการใช้วิธีการไฟไนต์ดิฟเฟอเรนซ์สำหรับแก้ปัญหาค่าขอบ (boundary value problem) (2) Ω จะถูกดิส-ครีตไทซ์เป็นเมชแบบคงรูป (uniform mesh) ในแต่ละทิศทาง ดังนี้

$$x_i=(2i-1)h/2, i=1,\ldots,n; y_j=(2j-1)h/2, j=1,\ldots,n(h=1) \tag{3}$$

กำหนดให้ $(u)_{i,j}$ แทนคำตอบโดยประมาณของ $u\left(x_i,y_j\right)$ หลังจากใช้การประมาณค่าแบบไฟไนต์ดิฟเฟอเรนซ์เพื่อดิสครีตไทซ์ (2) จะได้สมการออยเลอร์-ลากรางจ์แบบดิสครีตที่จุดกริด $\left(x_i,y_j\right)$ เหนือ

$\Omega_h=\left\{\left(x_i,y_j\right)\middle|1\le i,j\le n\right\}$

เป็น

$$\underbrace{-\alpha\kappa(u)_{i,j}+\left((u)_{i,j}-(f)_{i,j}\right)}_{N(u)_{i,j}}=(g)_{i,j} \tag{4}$$

เมื่อ $(g)_{i,j}=0$ สำหรับทุก $1\le i,j\le n$

วิธีการเชิงตัวเลข

ในงานวิจัยจะทำการศึกษาเชิงเปรียบเทียบวิธีการเชิงตัวเลขที่มีประสิทธิภาพ 3 วิธี ดังต่อไปนี้

วิธีการเดินเวลาแบบกึ่งไม่ชัดแจ้ง

วิธีการเดินเวลาแบบกึ่งไม่ชัดแจ้ง (Rudin Osher และ Fatemi, 1992) เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกในการแก้สมการเชิงอนุพันธ์ย่อยไม่เป็นเชิงเส้นดังเช่น (2) โดยเริ่มต้นจากการแนะนำตัวแปรเวลาสังเคราะห์ (artificial time variable) $t \in [0,\infty)$ จากนั้นคำนวณหาคำตอบของสมการเชิงอนุพันธ์ย่อยไม่เป็นเชิงเส้นที่ขึ้นอยู่กับเวลา

$$\partial_t u(\boldsymbol{x},t_k) = g(\boldsymbol{x}) - N\left(u\left(\boldsymbol{x},t_{k+1}\right)\right), k = 0,1,2,... \tag{5}$$

โดยที่ $u(\boldsymbol{x},t_0) = f(\boldsymbol{x})$

กำหนดให้ $\tau > 0$ แทนขั้นเวลา ดังนั้นการปรับปรุง u ณ รอบเวลาครั้งที่ $k+1$ สามารถถูกกำหนดโดย

$$u\left(\boldsymbol{x},t_{k+1}\right) = u\left(\boldsymbol{x},t_k\right) - \tau N\left(\boldsymbol{x},t_{k+1}\right) \tag{6}$$

เพราะฉะนั้นโดย (4) จะได้การดิสครีตไทซ์เซชันโดยวิธีการไฟไนต์ดิฟเฟอเรนซ์ของ (2) ที่จุดกริด $\left(x_i, y_j\right)$ เป็น

$$\left(u^{[k+1]}\right)_{i,j} = \left(u^{[k]}\right)_{i,j} - \tau N\left(u^{[k+1]}\right)_{i,j} \tag{7}$$

วิธีการมัลติกริด

วิธีการมัลติกริดเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าวิธีการเชิงตัวเลขอื่นๆ สำหรับแก้ระบบสมการไม่เป็นเชิงเส้นที่เกิดจากวิธีการไฟไนต์ดิฟเฟอเรนซ์ดังที่แสดงใน (4) วิธีการนี้จะทำการคำนวณผลเฉลยของ (4) บนกริดหลายระดับ พิจารณาสมการเชิงอนุพันธ์ย่อยไม่เป็นเชิงเส้น (4) บนกริดละเอียด (fine grid)

$$N^h(u^h) = \left(g\right)^h \tag{8}$$

กำหนดให้ v^h เป็นผลเฉลยโดยประมาณ (approximate solution) ที่ได้จากขั้นตอนการปรับเรียบก่อน (pre smoothing step) ด้วยการดำเนินการทำซ้ำโดยสมูทเทอร์ (smoother) เพียงไม่กี่รอบของการทำซ้ำสำหรับปัญหาบนกริดละเอียด Ω_h และ $e^h = u^h - v^h$ แทนความคลาดเคลื่อนของคำตอบบน Ω_h เพราะฉะนั้นสมการส่วนตกค้าง (residual equation) สามารถถูกกำหนดโดย

$$N^h(v^h + e^h) - N^h\left(v^h\right) = \left(g\right)^h - N^h\left(v^h\right) = r^h \tag{9}$$

เมื่อ u^h แทนผลเฉลยแม่นตรง (exact solution)

ในการแก้ไข v^h ให้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้นบน Ω_h เราจำเป็นต้องคำนวณ e^h อย่างไรก็ตาม เราไม่สามารถคำนวณ e^h โดยวิธีการโดยตรง และเนื่องจากความถี่สูงของค่าคลาดเคลื่อนของคำตอบในโหมดฟูเรียร์ (Fourier mode) ได้ถูกกำจัดออกไปโดยสมูทเทอร์ ดังนั้นเราสามารถส่งถ่ายสมการดังกล่าวไปบนกริดหยาบ (coarse grid) Ω_H ได้ดังนี้

$$N^h(v^h + e^h) = r^h + N^h\left(v^h\right) \rightarrow \underbrace{N^H(v^H + e^H)}_{N^H\left(u^H\right)} = \underbrace{r^H + N^H\left(v^H\right)}_{g^H} \tag{10}$$

เมื่อ $H = 2h$ เป็นขนาดของเมชบน Ω_H

หลังจากการแก้สมการส่วนตกค้างไม่เป็นเชิงเส้น (10) บนกริดหยาบโดยวิธีการใดวิธีการหนึ่งเพื่อกำหนดค่า u^H การปรับแก้ $e^H = u^H - v^H$ บนกริดหยาบจะถูกส่งถ่ายค่ากลับไปเป็น e^h บนกริดละเอียด ทำให้เราสามารถปรับปรุงคำตอบโดยประมาณ v^h บนกริดละเอียดด้วยขั้นตอนแก้ไขกริดหยาบ (coarse-grid correction step) นั่นคือ $v^h_{new} = v^h + e^h$ และขั้นตอนสุดท้ายของวิธีการมัลติกริดคือการใช้ขั้นตอนการปรับเรียบ

หลัง (post-smoothing step) ทั้งนี้วิธีการมัลติกริดคือการดำเนินการกระบวนการสองกริดข้างต้นบนกริดหลายระดับแบบเวียนเกิด

งานวิจัยนี้ได้ทำการปรับปรุงวิธีการมัลติกริดของ Savage และ Chen (2006) โดยใช้สมูทเทอร์แบบวิธีการผ่อนคลายเกินสืบเนื่องไม่เป็นเชิงเส้น (nonlinear successive over relaxation) ที่ใช้การทำซ้ำแบบจุดตรึง โดยมีตัวดำเนินการส่งถ่ายจากกริดหยาบไปสู่กริดละเอียดแบบเฉลี่ยและตัวดำเนินการส่งถ่ายจากกริดละเอียดไปสู่กริดหยาบแบบถ่วงน้ำหนัก (full weighting) นอกจากนี้ วิธีการเดินเวลาแบบกึ่งไม่ชัดแจ้งได้ถูกนำมาใช้แก้สมการส่วนตกค้างบนกริดหยาบที่สุด (coarsest grid)

วิธีการ Split Bregman

สำหรับวิธีการ Split Bregman (Goldstein และ Osher, 2009) เริ่มต้นจากการแนะนำตัวแปรเวกเตอร์เสริม $w=(w_1,w_2)^{\mathrm{T}}$ พารามิเตอร์การทำซ้ำ Bregman (Bregman iterative parameter) $b=(b_1,b_2)^{\mathrm{T}}$ และพารามิเตอร์ penalty (penalty parameter) $\theta>0$ เพื่อแปลงปัญหาเชิงการแปรผัน (1) เป็น

$$\min_u\left\{J_\alpha(u,w;b)=\frac{1}{2}\int_\Omega(u-f)^2d\Omega+\alpha\int_\Omega|w|d\Omega+\frac{\theta}{2}\int_\Omega(w-\nabla u-b)^2d\Omega\right\} \quad (11)$$

หลังจากนั้น Goldstein และ Osher (2009) และ Lu และคณะ (2016) ใช้แคลคูลัสของการแปรผันเพื่อแก้ปัญหาค่าต่ำที่สุดจะได้สมการออยเลอร์-ลากรางจ์

$$u-\theta\Delta u=f-\theta\nabla\cdot(w-b) \quad (12)$$

เมื่อทำการดิสครีตไทซ์เซชันโดยวิธีการไฟไนต์ดิฟเฟอเรนซ์ จะได้ว่า

$$(u)_{i,j}-\theta\left(\partial_x^-\partial_x^+(u)_{i,j}+\partial_y^-\partial_y^+(u)_{i,j}\right)=(G)_{i,j} \quad (13)$$

โดยที่ $(G)_{i,j}=(f)_{i,j}-\theta\left(\partial_x^-\left((w)_{1i,j}-(b)_{1i,j}\right)+\partial_y^-\left((w)_{2i,j}-(b)_{2i,j}\right)\right)$,

$\partial_x^\pm(u)_{i,j}=(u)_{i\pm1,j}-(u)_{i,j}$ และ $\partial_y^\pm(u)_{i,j}=(u)_{i,j\pm1}-(u)_{i,j}$

ในที่นี้การคำนวณ $\partial_x^\pm(u)_{i,j}$ และ $\partial_y^\pm(u)_{i,j}$ ในบริเวณขอบของภาพใช้ค่าขอบแบบเป็นคาบ และเมื่อใช้การแปลงฟู-เรียร์แบบดิสครีต (discrete Fourier transform) F กับ (13) จะได้

$$F\left((u)_{i,j}-\theta\left(\partial_x^-\partial_x^+(u)_{i,j}+\partial_y^-\partial_y^+(u)_{i,j}\right)\right)=F\left((G)_{i,j}\right) \quad (14)$$

หรือ

$$\underbrace{\left(1-2\theta\left(\cos\frac{2\pi s}{N}+\cos\frac{2\pi r}{M}-2\right)\right)}_{\xi}F\left((u)_{i,j}\right)=F\left((G)_{i,j}\right) \quad (15)$$

ดังนั้นผลเฉลยของ (12) ถูกกำหนดโดย

$$(u)_{i,j}=\Re\left(F^{-1}\left(\frac{F\left((G)_{i,j}\right)}{\xi}\right)\right) \quad (16)$$

เมื่อ $i\in[1,M]$ และ $j\in[1,N]$ เป็นดัชนีในโดเมนเวลาแบบดิสครีต (discrete time domain) $r\in[0,M)$ และ $s\in[0,N)$ เป็นความถี่ในโดเมนความถี่แบบดิสครีต (discrete frequency domain) ในที่นี้ F^{-1} แทนการแปลงฟูเรียร์ผกผันแบบดิสครีต (discrete inverse Fourier transform) $\Re$ เป็นส่วนจริงของจำนวนเชิงซ้อน

สำหรับการคำนวณเวกเตอร์ w สามารถคำนวณได้จาก (Lu และคณะ, 2016)

$$\alpha \frac{w}{|w|} + \theta\left(w - \nabla u - b\right) = 0 \qquad (17)$$

ซึ่งมีผลเฉลยแม่นตรง (exact solution) คือ $\left(w\right)_{i,j} = \max\left\{\left(\left|\nabla\left(u\right)_{i,j} + b\right| - \frac{\alpha}{\theta}\right)\right\} \frac{\nabla\left(u\right)_{i,j} + b_{i,j}}{\left|\nabla\left(u\right)_{i,j} + b_{i,j}\right|}$

และขั้นตอนสุดท้ายคือการปรับปรุงพารามิเตอร์การทำซ้ำ Bregman โดยกำหนดให้ $b = b + \nabla u - w$

การทดลองเชิงตัวเลข

คณะวิจัยได้ออกแบบการทดลองเชิงตัวเลขเพื่อเปรียบเทียบความแม่นยำและประสิทธิภาพการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพของวิธีการเดินเวลาแบบกึ่งไม่ชัดแจ้ง วิธีการมัลติกริด และวิธีการ Split Bregman โดยการทดสอบความแม่นยำของแต่ละวิธีการจะถูกประเมินด้วยค่า PSNR (peak signal-to-noise ratio) (Chan และShen, 2005) ซึ่งถูกนิยามโดย

$$\mathrm{PSNR} = 10\log\left(\frac{255^2}{\mathrm{MSE}}\right) \text{ (หน่วยเป็น เดซิเบล)}, \quad \mathrm{MSE} = \left(\frac{1}{\mathrm{n}^2}\right)\sum_{\mathrm{i}=1}^{\mathrm{n}}\sum_{\mathrm{j}=1}^{\mathrm{n}}\left(\left(\mathrm{u}^*\right)_{\mathrm{i,j}} - \left(\mathrm{u}\right)_{\mathrm{i,j}}\right)^2$$

เมื่อ MSE แทนค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (mean square error) u แทนเวกเตอร์ของภาพต้นฉบับที่ไม่มีสัญญาณรบกวน และ u^* แทนเวกเตอร์ของภาพที่มีสัญญาณรบกวนหรือภาพที่ได้รับการกำจัดสัญญาณรบกวนแล้ว การทดลองเชิงตัวเลขทั้งหมดใช้ภาพที่มีความคมชัดขนาด 1024×1024 พิกเซล สำหรับการประเมินประสิทธิภาพของแต่ละวิธีการจะใช้เวลาที่เครื่องคอมพิวเตอร์ใช้ในการคำนวณ (CPU time) จนกระทั่งเวกเตอร์ผลเฉลยลู่เข้าด้วยเกณฑ์การหยุดต่อไปนี้

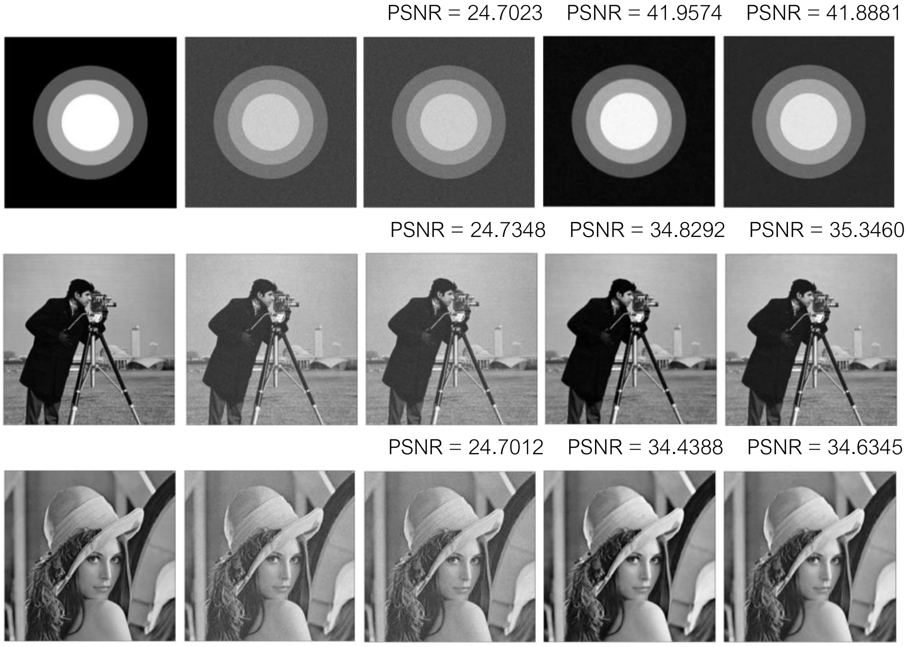
$$\frac{\left\|\mathrm{u}^* - \mathrm{u}\right\|_{l_2}}{\left\|\mathrm{u}\right\|_{l_2}} < 10^{-4}$$

ทุกการทดลองเชิงตัวเลขประมวลผลด้วยโปรแกรม MATLAB R2011a ด้วยระบบปฏิบัติการ OS X Mavericks (64 บิต) บนเครื่องคอมพิวเตอร์แบบพกพา MacBook Pro โดยผลการทดลองเชิงตัวเลขแสดงดัง Table 1

Table 1 Performance test for TM, MG and SB methods; ‘CPU Time’ represents run times (in seconds) used to remove noise.

Noise variance	Problem	TM		MG		SB	
		PSNR	CPU Time	PSNR	CPU Time	PSNR	CPU Time
0.05	Synthetic	34.4509	52.4859s	46.4371	**9.3877s**	**54.4504**	19.5954s
	Camera man	34.4333	52.0553s	35.5429	**14.4393s**	**37.3585**	26.5515s
	Lena	34.4164	51.1888s	35.0093	**13.3332s**	**36.3479**	30.8536s
0.10	Synthetic	28.2747	51.5517s	44.1440	**9.1606s**	**49.8843**	25.6535s
	Camera man	28.3009	50.4915s	35.2734	**13.7355s**	**36.7488**	25.0179s
	Lena	28.2683	51.2979s	34.7969	**13.6863s**	**35.7842**	26.3369s
0.15	Synthetic	24.7023	53.2305s	41.9574	**8.7672s**	**41.8881**	28.9710s
	Camera man	24.7348	50.2614s	34.8292	**13.6016s**	**35.3460**	23.1901s
	Lena	24.7012	50.1410s	34.4388	**13.2701s**	**34.6345**	26.3023s

Figure 1 ผลการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพที่ โดยคอลัมน์ที่ 1 แสดงภาพต้นฉบับ คอลัมน์ที่ 2 แสดงภาพที่มีสัญญาณรบกวน (Noise variance = 0.15) คอลัมน์ที่ 3 แสดงภาพที่ถูกกำจัดสัญญาณรบกวนด้วยวิธีการ TM คอลัมน์ที่ 4 แสดงภาพที่ถูกกำจัดสัญญาณรบกวนด้วยวิธีการ MG และ คอลัมน์ที่ 5 แสดงภาพที่ถูกกำจัดสัญญาณรบกวนด้วยวิธีการ SB



ตาราง Table 1 แสดงให้เห็นว่าวิธีการ SB และวิธีการ MG มีความแม่นยำสูงกว่าและใช้เวลาในการกำจัดสัญญาณรบกวนน้อยกว่าวิธีการ TM อย่างชัดเจน เพื่อเป็นการแสดงให้เห็นประสิทธิภาพระหว่างวิธีการ SB และวิธีการ MG เราจึงนำเสนอผลการวิเคราะห์ของการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพโดยวิธีการทั้งสองนี้เท่านั้น ดังนี้ ในด้านความแม่นยำ เราพบว่าเมื่อระดับของ Noise variance ไม่เกิน 0.10 วิธีการ SB มีความแม่นยำสูงกว่าวิธีการ MG บนภาพสังเคราะห์ (ภาพวงกลม) และภาพจริง (ภาพ Camera man และภาพ Lena) โดยเฉพาะบนภาพสังเคราะห์ วิธีการ SB ให้ค่า PSNR เท่ากับ 54.4504 และ 49.8843 ในขณะที่วิธีการ MG ให้ค่า PSNR เท่ากับ 46.4371 และ 44.1440 อย่างไรก็ตาม เมื่อระดับของ Noise variance สูงกว่า 0.10 วิธีการ MG มีความแม่นยำสูงกว่าวิธีการ SB เพียงเล็กน้อยบนภาพสังเคราะห์ โดยวิธีการ MG ให้ค่า PSNR เท่ากับ 41.9574 และวิธีการ SB ให้ค่า PSNR เท่ากับ 41.8881 สำหรับภาพจริง วิธีการทั้งสองมีความแม่นยำใกล้เคียงกัน โดยวิธีการ SB มีความแม่นยำสูงกว่าวิธีการ MG เพียงเล็กน้อย (ค่า PSNR แตกต่างกันในระดับเลขทศนิยม) นอกจากนี้ ในด้านเวลาที่ใช้ในการประมวลผลภาพ ตาราง Table 1 แสดงให้เห็นว่าวิธีการ MG ใช้เวลาเพื่อกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพรวดเร็วกว่าวิธีการ SB ประมาณ 1.8-3.3 เท่า โดยเฉพาะภาพสังเคราะห์เมื่อระดับของ Noise variance เพิ่มขึ้นจาก 0.05 0.10 จนกระทั่งเท่ากับ 0.15 เห็นได้ชัดว่า วิธีการ MG ใช้เวลาเพื่อกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพน้อยกว่าวิธีการ SB ประมาณ 2.0 2.8 และ 3.3 เท่า ตามลำดับ

สรุป

ผลการศึกษาเชิงเปรียบเทียบจากวิธีการเชิงตัวเลขทั้งสามของวิธีการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพที่ใช้การแปรผันรวมได้ชี้ให้เห็นว่าการแก้ปัญหาเชิงการแปรผันสำหรับการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพโดยวิธีการ SB ซึ่งทำการปรับปรุงฟังก์ชันนัลเป้าหมายใน (1) โดยใช้เวกเตอร์ตัวแปรเสริม (w) พารามิเตอร์

การทำซ้ำ Bregman (b) และพารามิเตอร์ penalty (θ) นำไปสู่การแก้สมการออยเลอร์-ลากรางจ์ที่ง่ายต่อการคำนวณ (เนื่องจากเป็นสมการเชิงอนุพันธ์ย่อยเชิงเส้นที่สามารถแก้ได้โดยเทคนิคการแปลงฟูเรียร์แบบดิสครีต) นอกจากนี้ ผลการศึกษายังชี้ให้เห็นว่าวิธีการ MG และวิธีการ SB ให้ผลการกำจัดสัญญาณรบกวนออกจากภาพที่มีคุณภาพสูงกว่าและใช้เวลาในการประมวลผลภาพน้อยกว่าวิธีการ TM โดยมีวิธีการ MG เป็นวิธีการที่รวดเร็วที่สุด

เอกสารอ้างอิง

J. Savage and K. Chen. 2006. On multigrids for solving a class of improved total variation based staircasing reduction models, **Proceedings of the International Conference on PDE-Based Image Processing and Related Inverse Problems Series: Mathematics and Visualization**, edited by X.- C. Tai, K.-A. Lie, T.F. Chan and S. Osher, Springer Verlag: 69-94.

L. Rudin, S. Osher and E. Fatemi. 1992. Nonlinear total variation based noise removal algorithms. **Physica D** 60: 259-268.

T. Chan and J. Shen. 2004. **Image Processing and Analysis: Variational, PDE, Wavelet, and Stochastic Methods**, Siam Philadelphia.

T. Goldstein and S. Osher. 2009. The split Bregman method for L1 - regularized problems. **SIAM Journal on imaging Sciences** 7: 1907-1936.

W. Lu, J. Duan, Z. Pan., Z. Pan, R. Liu and L. Bai. 2016. Implementation of high-order variational models made easy for image processing. **Mathematical Method in the Applied Sciences** 39: 4208-4233.

การกระจายตัวของขยะพลาสติกในเขตน้ำขึ้นน้ำลงบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี

Distribution of Plastic Marine Debris in Intertidal Zone at Sichang Island, Chonburi Province

ศรุต ข่ายแก้ว[1] สมฤดี (มีประเสริฐ) จิตประไพ[1*] และ เจษฎ์ เกษตระทัต[1]

Sarut Kaikaew[1], Somrudee (Meprasert) Jitpraphai[1*] and Jes Kettratad[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาการกระจายของขยะพลาสติกในเขตน้ำขึ้นน้ำลงบริเวณหาดถ้ำพัง หาดท่าวังของเกาะสีชัง และหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาว จังหวัดชลบุรี โดยสำรวจพื้นที่ศึกษาทั้งหมด 4 ครั้งในเดือนกุมภาพันธ์ เดือนพฤษภาคม เดือนมิถุนายน และเดือนกันยายน พ.ศ. 2559 พบขยะทั้งหมด 5,019 ชิ้น เป็นขยะพลาสติกทั้งหมด 2,197 ชิ้น หรือร้อยละ 43.77 พบความหนาแน่นของขยะพลาสติกคิดเป็น 6.23 ± 3.55 ชิ้น/100 ตร.ม. ขยะพลาสติกเหล่านี้สามารถแบ่งได้เป็น 9 ประเภท ตามคุณสมบัติของพลาสติก โดยพบขยะประเภทถุงพลาสติกและหลอดดูด (LDPE) มากที่สุดคือ 1,510 ชิ้น คิดเป็น 4.01 ± 2.21 ชิ้น/100 ตร.ม. เนื่องจากขยะพลาสติกมีสภาพลอย ปริ่มน้ำหรือกึ่งจมทำให้การกระจายตัวของขยะพลาสติกในทะเลได้รับอิทธิพลจากทิศทางและความเร็วของกระแสลมเป็นหลัก นอกจากนี้ลักษณะเฉพาะของหาดยังมีผลต่อการดักจับขยะพลาสติกให้ติดค้างอยู่บนหาด โดยหาดที่มีความชันต่ำพบการกระจายตัวของขยะค่อนข้างสม่ำเสมอทั่วหาด และหาดหินพบการกระจุกตัวของขยะในบางบริเวณ ผลการศึกษารูปแบบการกระจายตัวของขยะพลาสติกนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพิจารณาผลกระทบของขยะพลาสติกที่มีต่อชายฝั่งทะเลในเขตน้ำขึ้นน้ำลง และการออกแบบการจัดการขยะพลาสติกในทะเลบริเวณเกาะสีชังและเกาะบริวารให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ABSTRACT

Plastic marine debris distribution in the intertidal zone of Tumphang beach, Tawang beach in Sichang Island and the Northern beach of Kang-Kao Island, observed 4 times on February, May, June and September 2016, shows that there were in total of 5,019 pieces of marine debris. 2,197 pieces (43.77%), of them are the plastic marine debris. The intensity is calculated to be approximately 6.23±3.55 pieces/100 m^2. Plastic marine debris can be divided into 9 types following their properties. The most found are the plastic bags (LDPE); 1,510 pieces (4.01±2.21/100 m^2). Plastic marine debris can be floating, semi-floating, and semi-submersible. This leads to the fact that the main factors affecting debris dispersion are the direction and speed of wind. Moreover, the type of the beach also has an effect for plastic marine debris to be trapped on the beach. For the low-slope beach, the dispersion of plastic marine debris is almost normally around the beach but in the rocky beach, plastic marine debris can be found clustering in some part of the beach. This data of plastic marine debris dispersion is expected to be helpful to consider effects of plastic marine debris in the intertidal zone of the coastal area. Moreover, it can be helpful to potentially improve the plastic marine debris management in Sichang Island and in the surrounding islands.

Key words: Marine Debris, Plastic pollution, Debris distribution, Intertidal zone,

*Corresponding author; e-mail address: somdeem@yahoo.com

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[1] Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยถูกจัดเป็นประเทศที่มีขยะเล็ดลอดลงสู่ทะเลในปริมาณที่มาเป็นอันดับที่ 6 ของโลก โดยในจำนวนนั้นมีขยะจำพวกพลาสติกถึงร้อยละ 12 ของปริมาณขยะที่ประเทศไทยทิ้งสู่ทะเลทั้งหมด หรือประมาณ 1.03 ล้านตัน/ปี (Jenna R. Jambeck *et. al*., 2015) ซึ่งขยะพลาสติกปริมาณมหาศาลดังกล่าว เป็นผลมาจากระบบการจัดการขยะบนบกที่ยังขาดประสิทธิภาพและกระบวนการที่รัดกุม ขยะในทะเลเหล่านี้ส่งผลกระทบเป็นบริเวณกว้าง และมีผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสิ่งมีชีวิตในทะเลและต่อมนุษย์เอง โดยผลกระทบนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศทางทะเลเนื่องจากขยะพลาสติกอาจอุดตันระบบทางเดินอาหารของสัตว์ในทะเล เป็นแหล่งสะสมของสารพิษ (Martinez *et. al*., 2009) หรือพันติดกับตัวสิ่งมีชีวิตๆ นั้นจนเป็นเหตุให้สัตว์เหล่านั้นเสียชีวิตได้ และเมื่อพลาสติกเหล่านั้นไปปกคลุมพื้นทะเลยังส่งผลให้บริเวณนั้นเกิดสภาวะที่พร่องออกซิเจนหรือขาดออกซิเจนส่งผลต่อระบบนิเวศโดยรอบ (Derrailk, 2002) ส่วนผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยและความปลอดภัยของมนุษย์นั้นพบว่าขยะพลาสติกจำพวกผ้าอ้อมเด็ก ผ้าอนามัย หรือวัสดุห่ออาหารเป็นที่สะสมของเชื้อโรคหรือแบคทีเรียบางชนิด เช่น *E. Coli* ซึ่งเป็นเหตุก่อโรคได้ (Sheavly and Register, 2007) นอกจากนี้พลาสติกขนาดเล็ก (Microplastics) ทั้งที่ถูกผลิตมาเพื่อวัตถุประสงค์การใช้งานเฉพาะ และที่เกิดจากการย่อยสลายของพลาสติกขนาดใหญ่นั้น พบการกระจายในมวลน้ำทะเล ตะกอนดิน และในสัตว์ทะเลขนาดเล็กที่เป็นส่วนตัวของสายใยอาหารในทะเล (Andrady, 2011) สารพิษที่สะสมอยู่ในพลาสติกขนาดเล็กเหล่านี้จึงถูกส่งต่อให้มนุษย์ที่เป็นผู้บริโภคสูงสุดของห่วงโซ่อาหารอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ (Martinez et. Al., 2009) นอกจากนี้ขยะพลาสติกในทะเลยังส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคม โดยการสะสมตัวของขยะในเส้นทางเดินเรืออาจเพิ่มความเสี่ยง ลดความปลอดภัยของการเดินเรือ เนื่องจากขยะพลาสติกลอยน้ำอาจอุดตันระบบการดูดน้ำเข้าออกของเรือ หรือขยะประเภทอวนและเอ็นอาจพันรัดสมอเรือ นอกจากนี้ขยะยังก่อให้เกิดทัศนะอุจาดในพื้นที่ที่มีกิจกรรมนันทนาการท่องเที่ยวทางทะเล ทำให้หน่วยงานผู้รับผิดชอบในท้องถิ่นสิ้นเปลืองงบประมาณในการบริหารจัดการขยะชายฝั่ง (Sheavly and Register, 2007)

ด้วยธรรมชาติของทะเลที่ปราศจากขอบเขต บวกกับคุณสมบัติความหนาแน่นสัมพัทธ์ของพลาสติกส่วนใหญ่ที่เป็นขยะพลาสติกในทะเลนั้น ทำให้ขยะพลาสติกส่วนใหญ่มีสภาพลอย กึ่งลอย หรือ กึ่งจมของพลาสติก (Barnes et.al. 2009) เมื่อขยะพลาสติกเล็ดลอดลงสู่ทะเลผลกระทบจากขยะเหล่านั้นกว้างไกลไปตามการกระจายตัวของขยะ ซึ่งสามารถเคลื่อนที่กระจายออกไปได้ไกลตามกระแสน้ำ ซึ่งการกระจายของพลาสติกในทะเลจะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมคือทิศทางและความเร็วของกระแสลมเป็นหลัก รองลงมาคือทิศทางและความเร็วของกระแสน้ำ แต่ไม่เพียงเท่านั้น ปัจจัยทางด้านกายภาพอื่นๆ ก็ส่งผลต่อการกระจายตัวของพลาสติกในทะเลได้ เช่น ลักษณะและตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ของพื้นที่ พื้นผิวของชายฝั่ง ความลาดชันของชายฝั่ง และสภาพการใช้ประโยชน์จากบริเวณนั้น (Debrot et. al., 1999) จากปัจจัยเหล่านี้จึงทำให้ในแต่ละบริเวณทั่วโลกมีการพบลักษณะการกระจายของขยะพลาสติกในทะเลที่แตกต่างกัน หรือสามารถพบขยะพลาสติกจากสถานที่หนึ่งเดินทางไกลไปสู่อีกสถานที่หนึ่งได้ (Abu-Hilal and Al-Najjar, 2004)

การศึกษาชนิด และการกระจายของขยะพลาสติกบริเวณชายฝั่งทะเลนั้นมีการทำการศึกษาอย่างกว้างขวางทั่วโลก (Barnes *et.al*., 2009; Jenna R. Jambeck *et.al*., 2015) โดยพบว่าในบริเวณชายฝั่งด้านรับอิทธิพลจากคลื่นลมโดยตรงในช่วงลมและคลื่นมีกำลังแรงมักจะพบปริมาณของขยะพลาสติกสูงในบริเวณด้านบนหาดในทางตรงกันข้ามหากในช่วงลมและคลื่นเบาจะพบปริมาณของขยะพลาสติกบนหาดต่ำ นอกจากนี้ยังมีขยะพลาสติกบางส่วนจะถูกกระแสน้ำที่ไหลย้อนออกจากหาดพัดออกไปแล้วจมตัวลงยังพื้นทะเลภายในเขตน้ำขึ้นน้ำลงของหาดนั้น (Abu-Hilal and Al-Najjar, 2004) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจการกระจายตัวของขยะพลาสติกในบริเวณเขตน้ำขึ้นน้ำลงของหาดถ้ำพังและท่าวังในเกาะสีชัง และหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาว เนื่องจากเกาะสีชังเป็นเกาะที่มีการอยู่อาศัยมาเป็นเวลานาน อีกทั้ง

ยังเป็นสถานที่ท่องเที่ยวที่สำคัญแห่งหนึ่งของจังหวัดชลบุรี จึงทำให้ประชากรบนเกาะสีชังส่วนใหญ่ประกอบอาชีพชาวประมงและในเวลาว่างจะประกอบอาชีพเสริมที่เกี่ยวข้องกับการท่องเที่ยว ดังนั้นหากทราบรูปแบบการกระจายของขยะพลาสติกในบริเวณนี้นอกจากจะสามารถช่วยจัดการปัญหาขยะในทะเลให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นแล้วยังอาจจะสามารถช่วยส่งเสริมเกี่ยวกับกิจกรรมการประมงและการท่องเที่ยวอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

พื้นที่ศึกษา

งานวิจัยนี้ศึกษาการกระจายตัวของขยะพลาสติกในเขตน้ำขึ้นน้ำลงในพื้นที่ศึกษา โดยพื้นที่ศึกษาสองแห่งแรกตั้งอยู่บนเกาะสีชัง คือหาดท่าวัง (TW) ทางทิศตะวันออกของเกาะ และหาดถ้ำพัง (TP) ทางทิศตะวันตกของเกาะ พื้นที่ศึกษาแห่งที่สามตั้งอยู่ที่หาดด้านทิศเหนือ (KK) ของเกาะค้างคาว (Figure 1) พื้นที่ศึกษาทั้งสามได้รับอิทธิพลหลักจากลมมรสุมที่ต่างกัน โดยหาดท่าวังได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ หาดถ้ำพังอยู่ทางด้านทิศตะวันตกของเกาะสีชังจึงได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และหาดด้านทิศเหนือของเกาะค้างคาวเป็นบริเวณที่ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมทั้งสองมรสุมเนื่องจากตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือและเป็นบริเวณแนวที่กระแสน้ำไหลผ่าน

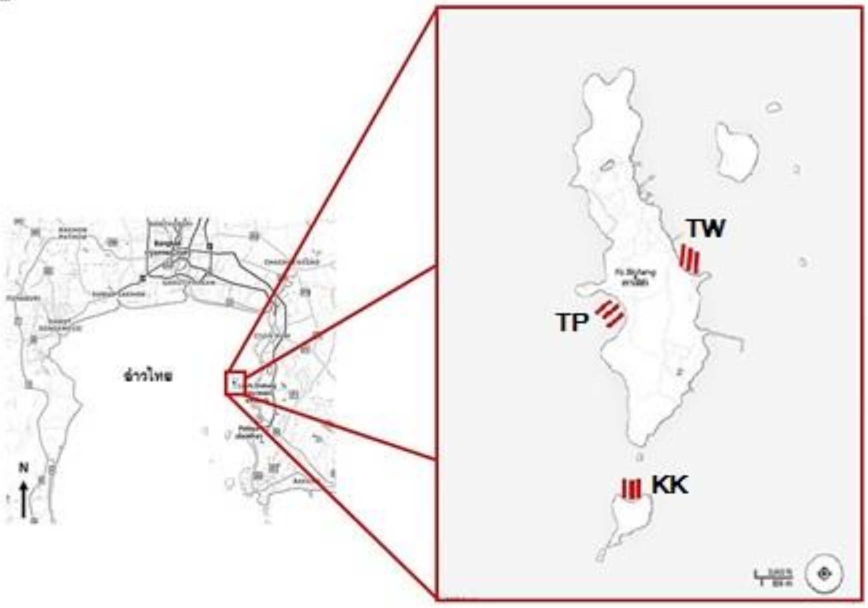


Figure 1 Three study sites of this research, Tha Wang beach (TW), Tam Pang beach (TP) and the northern beach of Kang Kao Island (KK).

เกาะสีชังและเกาะบริวารตั้งอยู่บริเวณอ่าวไทยตอนในทำให้รูปแบบของกระแสลมและฤดูกาลของเกาะสีชังได้รับอิทธิพลจากกระแสลมมรสุมหลัก คือ ลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ และลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ แต่ในช่วงระหว่างเปลี่ยนจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ไปสู่ลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ มีลมที่พัดจากทางทิศใต้ขึ้นมาจึงเรียกว่าลมใต้ (อนุกูล บูรณประทีปรัตน์, 2552) จากอิทธิพลของลมเหล่านี้ทำให้บริเวณเกาะสีชังมีฤดูกาล 3 ฤดู คือ ฤดูหนาว (อิทธิพลจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ) ในช่วงเดือน ต.ค. – ก.พ. ฤดูร้อน ในช่วงเดือน ก.พ. – พ.ค. ฤดูฝน (อิทธิพลลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้) ปลายเดือน พ.ค. – ต.ค. (ปราโมทย์ โศจิศุภร, 2552)

การศึกษาประเภทและปริมาณของขยะพลาสติกในทะเล

ทำการสำรวจโดยใช้วิธีการดำน้ำ (Scuba diving) เพื่อเก็บตัวอย่างบน line transect ที่วางตั้งฉากจากแนวชายฝั่งเริ่มจากแนวน้ำขึ้นสูงสุด โดย line transect มีความยาว 50 เมตร จำนวน 3 line/หาด ประกอบกับทำ belt transect

ขนาบด้านซ้ายและขวาของ line transect ความกว้างด้านละ 10 เมตร (Figure 1) เก็บตัวอย่างขยะ(ตั้งแต่ 0.5 เซนติเมตรขึ้นไป) ที่อยู่ในบริเวณนั้นทั้งหมด นำมาทำการชั่งน้ำหนัก นับจำนวน และจำแนกประเภทของขยะพลาสติกที่พบทั้งหมดตามหลักเกณฑ์ของ Andrady (2011) ซึ่งจำแนกขยะพลาสติกออกเป็น 9 ประเภทคือ ขวดน้ำอัดลม (Polyethylene terephthalate: PET), พลาสติกแข็ง (High-density polyethylene: HDPE), หลอดดูดน้ำและถุงพลาสติก (Low-density polyethylene: LDPE), ท่อน้ำ PVC หรือชาม (Polyvinyl chloride: PVC), ฝาปิดขวด (Polypropylene: PP), เชือกไนลอน (Polyamide: PA), กล่องบรรจุอาหาร หรือเครื่องใช้พลาสติกในครัวเรือน (Polystyrene: PS), ก้นกรองบุหรี่ (Cellulose Acetate: CA) และโฟม (Foamed Polystyrene) โดยทำการสำรวจทั้งหมด 4 ครั้ง ในขณะน้ำขึ้นของช่วงน้ำตายในเดือนกุมภาพันธ์ เดือนพฤษภาคม เดือนมิถุนายน และเดือนกันยายน พ.ศ. 2559 และหาความหนาแน่นของขยะพลาสติกที่พบต่อพื้นที่ (ชิ้น/100 ตรม.)

การหาประเภทของขยะพลาสติกในทะเลที่เป็นกลุ่มเด่นของพื้นที่

ใช้ค่า IRI (Index Relative Importance) ตามวิธีของ Kolding (1989) โดยเปรียบเทียบแต่ละหาดในช่วงเวลาเดียวกัน

$$IRI = (N + V)F$$

โดยที่ N = อัตราร้อยละของจำนวนขยะแต่ละประเภท

V = อัตราร้อยละของน้ำหนักของขยะแต่ละประเภท

F = อัตราร้อยละของความถี่ที่พบขยะแต่ละประเภท

การศึกษาการกระจายตัวของขยะในทะเล

การศึกษาการกระจายตัวของขยะในทะเลใช้การเก็บตัวอย่าง โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 เมตร (ดังรูป 3) ตลอดแนว line transect และนำข้อมูลที่ได้แสดงผลการกระจายตัวของขยะในทะเลบริเวณ line transect โดยแสดงความหนาแน่นของขยะตลอดแนว line transect ทุกระยะ 5 เมตร

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษาประเภทและปริมาณของขยะพลาสติก

จากการสำรวจทั้ง 4 ครั้ง พบขยะทั้งหมด 5,019 ชิ้น เป็นขยะพลาสติก 2,197 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 43.77 ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาบริเวณหาดบางแสนที่พบขยะพลาสติกคิดเป็นร้อยละ 50.05 (นวลพรรณ คณานุรักษ์, 2555) อาจเพราะความแตกต่างของจุดที่ทำการศึกษาบริเวณหาดบางแสนทำการสำรวจขยะบนหาดแต่การศึกษาครั้งนี้ทำการสำรวจในเขตน้ำขึ้นน้ำลงอีกทั้งคุณสมบัติการลอยน้ำของขยะพลาสติกทำให้สามารถพบได้บริเวณบนหาดได้มากกว่า โดยประเภทของขยะพลาสติกที่พบมากที่สุด 3 อันดับแรก คือ ถุงพลาสติกและหลอดดูด (LDPE) โดยพบมากถึง 1,510 ชิ้น รองลงมาคือ เชือกไนลอน (PA) พบ 278 เส้น และพลาสติกแข็งรูปแบบต่างๆ (HDPE) พบ 162 ชิ้น ตามลำดับ (Table 1)

ในเดือนกุมภาพันธ์ บริเวณหาดท่าวัง (TW) และหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาว (KK) พบปริมาณของขยะมากที่สุดมากกว่าการสำรวจในครั้งถัดมา แต่ในขณะเดียวกันพบว่าบริเวณหาดถ้ำพัง (TP) มีประมาณของขยะน้อยกว่าและน้อยที่สุดจากการสำรวจทั้ง 4 ครั้ง ซึ่งเป็นเพราะตำแหน่งของหาดท่าวังและหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาวซึ่งเป็นบริเวณรับคลื่นและลมจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือแต่บริเวณหาดถ้ำพังซึ่งอยู่อีกด้านหนึ่งของเกาะสีชังซึ่งเป็นด้านหลบลมและคลื่นในช่วงฤดูลมมรสุมดังกล่าว (Table 1)

ในเดือนพฤษภาคม บริเวณหาดท่าวัง (TW) และหาดถ้ำพัง (TP) พบพลาสติกในปริมาณที่เท่าๆกัน ส่วนหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาว (KK) กับพบพลาสติกน้อยมากพบเพียง 8 ชิ้น เป็นเพราะลมในฤดูกาลนี้พัดจากทางใต้ขึ้นเหนือทำให้บริเวณหาดท่าวังและหาดถ้ำพังมีโอกาสในการรับขยะในปริมาณที่เท่าๆกัน แต่บริเวณหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาวจะเป็นด้านที่หลบคลื่นและลมเนื่องจากเกาะค้างคาวบังไว้จึงทำให้พบขยะได้น้อยมาก (Table 1)

ในเดือนมิถุนายน พบพลาสติกที่บริเวณหาดถ้ำพัง (TP) มากที่สุด และรองลงมาคือหาดท่าวัง (TW) และหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาว (KK) ตามลำดับ เหตุที่พบปริมาณขยะเป็นเช่นนี้เนื่องจากเริ่มเข้าสู่อิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ จึงทำให้บริเวณหาดถ้ำพังมีปริมาณของขยะพลาสติกมากที่สุด (Table 1)

ในเดือนกันยายน หาดท่าวัง (TW) พบปริมาณของขยะพลาสติกมากที่สุด รองลงมาคือหาดถ้ำพัง (TP) และหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาว (KK) ตามลำดับ ซึ่งการพบปริมาณของขยะพลาสติกในบริเวณหาดท่าวังมากกว่าหาดถ้ำพังที่เป็นด้านรับลมนั้นอาจเกิดจากความเร็วของลมมีความเร็วลดลงบวกกับปริมาณของน้ำท่าที่ไหลออกจากฝั่งทางด้านตะวันออกของเกาะมีปริมาณที่มากจึงอาจจะนำเอาขยะพลาสติกมาจากฝั่งและมาเกยบริเวณหาดท่าวัง (Table 1)

Table 1 Plastic marine debris found in three study sites and classified into 9 types.

Site			PETE	HDPE	LDPE	PVC	PP	PA	PS	CA	Foam	Total
TW	Feb.	piece	18	4	494	1	22	17	1		2	559
		%	3.20	0.71	88.37	0.18	3.91	3.02	0.18		0.36	100
	May	piece		13	138	21						172
		%		7.30	80.23	11.80						100
	Jun.	Piece		59	50	23		2				134
		%		43.07	37.31	16.79		1.46				100
	Sep.	Piece	5	34	143	4		134	5		9	334
		%	1.49	10.15	42.81	1.19		40.00	1.49		2.69	100
TP	Feb.	Piece	1	4	37		50		2			94
		%	1.05	4.21	39.36		52.63		2.11			100
	May	Piece	11	8	132	1		14			1	167
		%	6.04	4.40	79.04	0.55		7.69			0.55	100
	Jun.	Piece	16	31	113			104				264
		%	5.97	11.57	42.80			38.81				100
	Sep.	Piece	2	7	87			5	2		3	106
		%	1.85	6.48	82.08			4.63	1.85		2.78	100
KK	Feb.	Piece	13	1	295		20		10			339
		%	3.75	0.29	87.02		5.76		2.88			100
	May	Piece	1		7							8
		%	12.50		87.50							100
	Jun.	Piece	1	1	7		1					10
		%	9.09	9.09	70.00		9.09					100
	Sep.	Piece	1		7			2				10
		%	10.00		70.00			20.00				100

การศึกษาประเภทของขยะพลาสติกที่เป็นกลุ่มเด่น

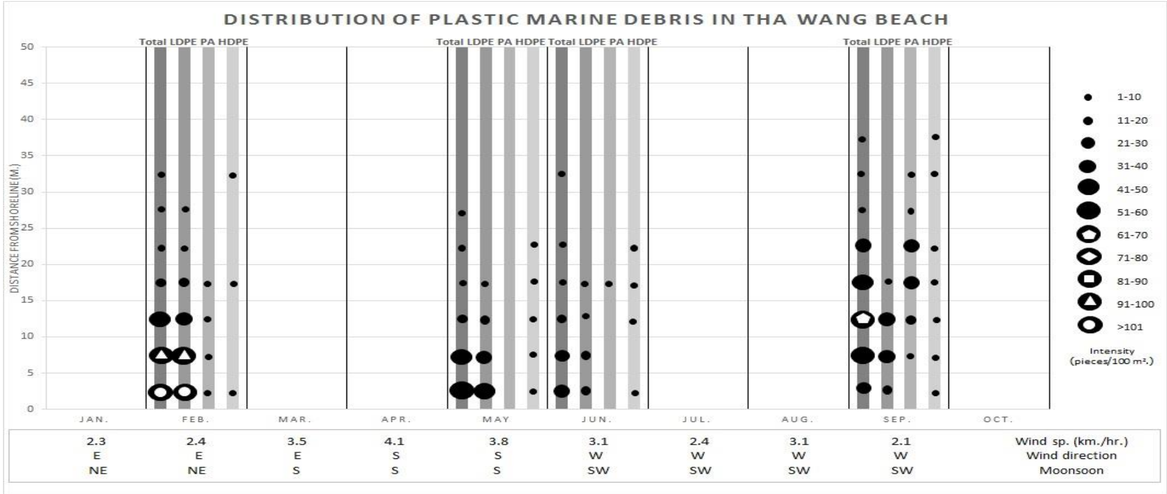
จากการสำรวจทั้ง 4 ครั้ง พบว่าในทุกหาดที่ทำการเก็บข้อมูลขยะพลาสติกจะพบขยะประเภทถุงพลาสติก (LDPE) เป็นกลุ่มเด่นโดยพบว่ามีค่าดัชนี IRI อยู่ระหว่าง 2554.7 – 16328.9 ยกเว้นในการสำรวจครั้งที่ 3 บริเวณหาดถ้ำพังเท่านั้นที่พบขยะประเภทพลาสติกแข็งต่างๆ (HDPE) ที่มีค่าดัชนี IRI สูงกว่าขยะประเภทถุงพลาสติกเท่ากับ 8468.0

การกระจายตัวของขยะในทะเล

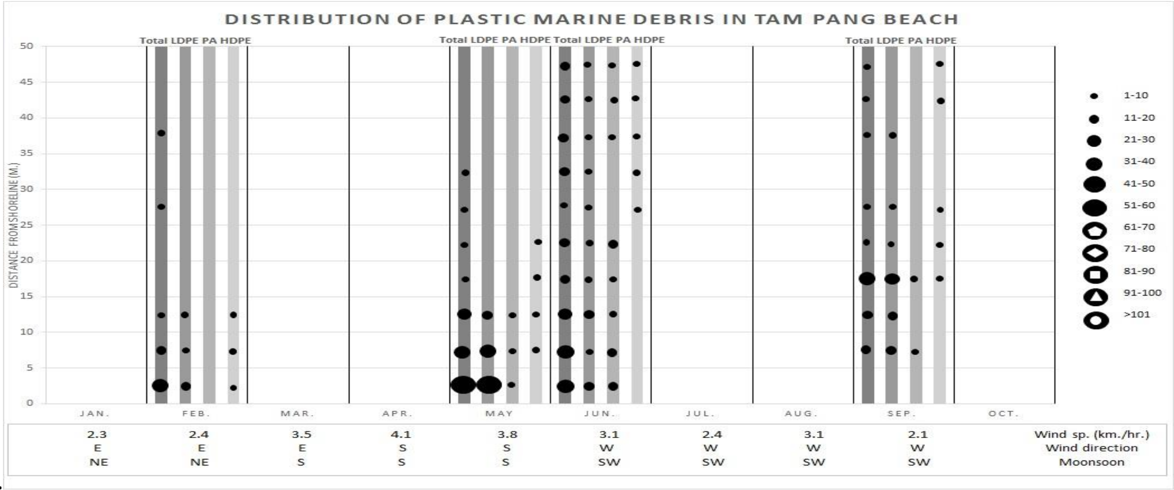
การกระจายตัวของขยะพลาสติกบริเวณหาดท่าวัง มีรูปแบบการกระจายตัวที่คล้ายกัน มีการสะสมของขยะหนาแน่นในบริเวณส่วนต้นของ line transect และค่อยลดลงเรื่อยๆ อาจเป็นเพราะลักษณะของพื้นทะเลบริเวณที่สำรวจเป็นพื้นหินเกือบตลอดแนวของ line transect จึงทำให้เมื่อกระแสน้ำพัดขยะประเภทพลาสติกมาในขณะน้ำขึ้นถูกดักไว้ในขณะที่น้ำลง ในเดือนกุมภาพันธ์นั้นพบปริมาณของขยะพลาสติกกระจายตัวหนาแน่นอาจเป็นผลมาจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือที่พัดนำเอาขยะจากบริเวณด้านเหนือของหาดและชายฝั่งบางส่วนของจังหวัดชลบุรีออกมายังหาดบริเวณนี้ซึ่งเป็นด้านรับลมในช่วงมรสุมดังกล่าวพอดี ในเดือนกันยายนเนื่องจากในช่วงที่ทำการสำรวจเป็นช่วงที่มีงานรำลึก 100 ปี ชาวเกาะสีชัง ในบริเวณด้านบนของหาด จึงทำให้มีการเก็บขยะในบริเวณหาดซึ่งอาจเป็นเหตุให้ปริมาณการสะสมตัวของขยะพลาสติกบริเวณ 0 – 5 เมตร มีปริมาณน้อยลงแตกต่างจากทุกครั้งที่ทำการสำรวจ (Figure 2a.)

บริเวณหาดถ้ำพังมีรูปแบบการกระจายตัวของขยะพลาสติกที่แตกต่างกัน อาจเกิดจากลักษณะของพื้นหาดถ้ำพังในเขตน้ำขึ้นน้ำลงเป็นพื้นทรายเกือบทั้งหมดอีกทั้งยังอยู่ในอ่าวที่มีหัวอ่าวช่วยลดคงวามแรงของกระแสน้ำทำให้กระแสน้ำในบริเวณนี้มีกำลังอ่อนลงบวกกับพื้นที่เป็นทรายจึงทำให้ขยะพลาสติกค่อยๆ จมตัวลงและกระจายไปได้โดยทั่ว (Figure 2b.)

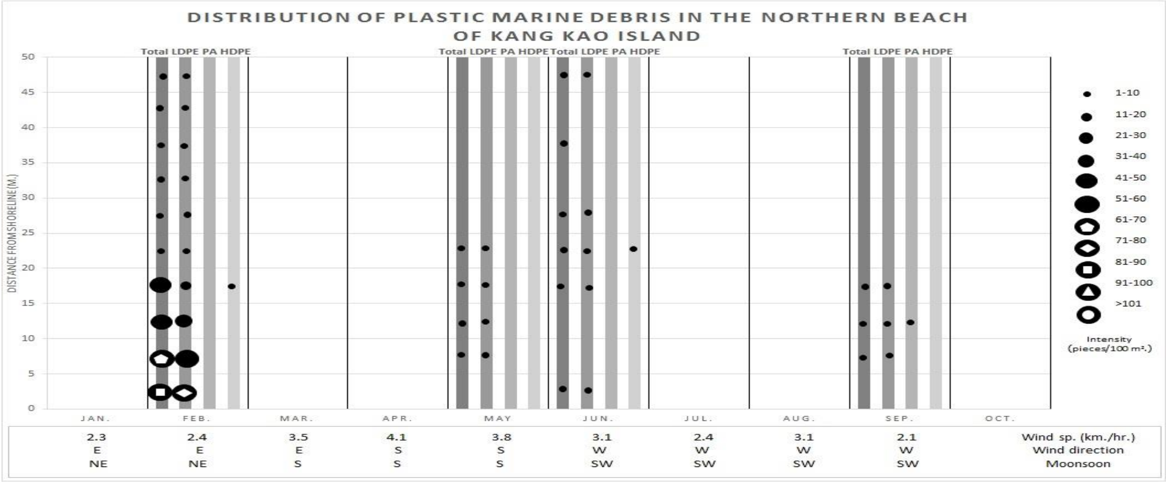
การกระจายตัวของขยะพลาสติกบริเวณหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาว มีรูปแบบการกระจายตัวที่แตกต่างกัน อาจเนื่องจากสภาพของพื้นทะเลเป็นทรายสลับด้วยหินและปะการัง โดยในเดือนกุมภาพันธ์พบการกระจายตัวของขยะพลาสติกตลอดแนวของ line transect อาจเป็นผลมาจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือที่พัดเอาขยะจากบริเวณด้านบนของเกาะค้างคาว ชายฝั่งจังหวัดชลบุรีบางส่วนลงมายังบริเวณดังกล่าวอีกทั้งในช่วงฤดูลมมรสุมดังกล่าวด้านนี้ของเกาะค้างคาวจะได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมโดยตรง ในส่วนของเดือนมิถุนายนนั้นพบการกระจายที่บริเวณปลายของ line transect อาจเกิดจากขยะจากกิจกรรมการท่องเที่ยวเนื่องจากบริเวณหาดด้านนี้ของเกาะค้างคาวเป็นจุดที่มีนักท่องเที่ยวมาดำน้ำดูปะการังก่อนจะเข้าช่วงฤดูมรสุม จึงอาจจะส่งผลให้มีขยะพลาสติกเล็ดลอดจากเรือที่นำเที่ยวลงสู่บริเวณพื้นทะเล ส่วนในอีก 2 ครั้งที่เหลือด้านนี้ของเกาะค้างคาวจะเป็นด้านที่อยู่ด้านหลังเกาะหลบคลื่นและลม ทำให้พบปริมาณและการกระจายตัวขยะพลาสติกในบริเวณนี้แตกต่างไปจากการสำรวจครั้งอื่นๆ (Figure 2c.)



a.



b.



c.

Figure 2 a. Distribution of Plastic Marine Debris on Tha Wang beach. b. Distribution of Plastic Marine Debris on Tum Pang beach. c. Distribution of Plastic Marine Debris on The Northern beach of Kang Kao Island.

นอกจากนี้เมื่อแยกดูตามการกระจายตัวของขยะพลาสติกทั้ง 3 ชนิดที่พบมากยังพบว่าขยะประเภท LDPE และ PA มีการกระจายตัวในส่วนต้องของ line transect ของหาดท่าวัง (Figure 2a.) เนื่องจากมีความเบามากที่สุดจึงลอยเข้ามาใกล้หาดได้มากและเกยหาดได้แต่ด้วยความที่หาดท่าวังเป็นหาดหินถึงดักขยะไว้ในส่วนต้นเมื่อน้ำลง ในส่วนของหาดถ้ำพังและหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาวนั้นพื้นที่ส่วนมากเป็นพื้นทรายจึงทำให้สามารถกระจายตัวตลอด line transect (Figure 2b,2c.) แต่ขยะประเภท HDPE เนื่องจากมีความหนาแน่นมากกว่า (Barnes et.al. 2009) มีน้ำหนักมากกว่าทำให้จมตัวได้ไวจึงพบกระจายตัวอยู่บริเวณปลายของ line transect ดังพบที่หาดถ้ำพัง (Figure 2b.)

สรุป

จากการศึกษาบริเวณหาดท่าวัง หาดถ้ำพัง และหาดด้านเหนือของเกาะค้างคาวนั้นพบว่าการกระจายตัวของขยะพลาสติกในทะเลนั้น ได้รับอิทธิพลมาจากทิศทางและความเร็วของกระแสลมเป็นหลัก นอกจากนี้ลักษณะของหาดยังมีผลต่อการดักจับขยะพลาสติกซึ่งหาดหินจะสามารถดักจับขยะพลาสติกได้ปริมาณที่มากกว่าหาดทรายและทำให้การกระจายตัวของขยะพลาสติกไปสะสมตัวบริเวณส่วนต้นของ line transect ใกล้ฝั่งมากกว่าหาดทราย ส่วนหาดที่มีความชันต่ำจะพบว่าขยะสามารถกระจายตัวได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากพื้นของหาดนั้นเป็นทราย พบว่าขยะพลาสติกกระจายตัวสม่ำเสมอตลอดแนว line transect ผลจากการศึกษารูปแบบการกระจายตัวของขยะพลาสติกนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพิจารณาผลกระทบของขยะพลาสติกในทะเลที่มีต่อชายฝั่งทะเลในเขตน้ำขึ้นน้ำลง และการออกแบบการจัดการขยะพลาสติกในทะเลบริเวณเกาะสีชังและเกาะบริวารให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ปราโมทย์ โศจิศุภร. 2552. **การตรวจวัดทางสมุทรศาสตร์ฟิสิกส์บริเวณเกาะสีชัง**, โครงการตรวจวัดการเคลื่อนตัวของคราบน้ำมันหกด้วยแผ่นโพลีเอธีลีน. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://mrpolicy.trf.or.th.

อนุกูล บูรณประทีปรัตน์. 2552. **การไหลเวียนกระแสน้ำบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรี จากการศึกษาโดยใช้จำลองไฮโดรไดนามิค**. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 14/2. 50-60pp.

นวลพรรณ คณานุรักษ์. 2555. **ประเภทและแหล่งที่มาของขยะทะเลตามฤดูกาลบริเวณหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา) บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Abu-Hilal, A.H. and Al-Najjar, T. 2004. **Litter pollution on the Jordanian shores of the Gulf of Aqaba (Red Sea).** Marine EnvironmentalResearch58: 39-63pp.

Anthony L. Andrady. 2011. **Microplastics in the marine environment**. Marine Pollution Bulletin 62, 1596 – 1605 pp.

Barnes, D.K., Galgani, F., Thompson, R.C. and Barlaz, M. 2009. **Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments.** Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 364(1526), pp.1985-1998.

A.O. Debrot, A.B. Tiel and J.E. Bradshaw. 1999. **Beach debris in Caracao**. Marine Pollution Bulletin, 38, 795–801pp.

Derraik J.G.B. 2002. **The pollution of the marine environment by plastic debris: a review**. Marine Pollution Bulletin 44, 842-852 pp.

Jenna R. Jamback, Roland Geyer, Chris Wilcox, Theodore R. Siegler, Miriam Perryman, Anthony Andrady, Ramani Narayan and Kara L. Law, 2015. **Plastic waste inputs from land into the ocean.** Science 13 Feb 2015, Vol. 347, Issue 6223, 768–771pp.

Kolding, J., 1989. **The fish resources of Lake Turkana and their environment.** Cand. Scient. thesis, University of Bergen, Norway. 262 pp.

Martinez E., Maamaatuaiahutapu K., Taillandier V., 2009. **Floating marine debris surface drift: convergence and accumulation toward the South Pacific subtropical gyre.** Marine Pollution Bulletin 58, 1347–1355.

S. B. Sheavly and K. M. Register. 2007. **Marine Debris & Plastics: Environmental Concerns, Sources, Impacts and Solutions.** J Polym Environ. 15. 301-305pp.

สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม

Subject: Science and Genetic Engineering

ภาคโปสเตอร์

Poster Presentation

ประสิทธิภาพของกระชายดำต่อพฤติกรรมทางเพศของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วย Streptozotocin

Efficiency of Krachai Dum (*Kaempferia parviflora*) on Sexual Behavior in Streptozotocin-induced Diabetic Male Rats

ธีรยุทธ เลิศอมรภัทร[1*] และ วีระศักดิ์ ฟุ้งเฟื่อง[1]

Teerayut Lert-Amornpat[1*] and Wirasak Fungfuang[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกระชายดำต่อพฤติกรรมทางเพศของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวาน โดยทำการศึกษาในหนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศผู้ (*Rattus norvegicus*) อายุ 6 สัปดาห์ จำนวน 30 ตัว แบ่งเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 หนูปกติ, กลุ่มที่ 2 หนูเบาหวานควบคุม, กลุ่มที่ 3 หนูเบาหวานได้รับยา Glibenclamide 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและกลุ่มที่ 4-6 หนูเบาหวานได้รับสารสกัดกระชายดำ 140, 280 และ 420 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ หนูทดลองได้รับการป้อนสารทางปากวันละครั้งเป็นเวลา 45 วันต่อเนื่อง ทำการทดสอบพฤติกรรมทางเพศและระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ผลการศึกษาพบว่าการเสริมกระชายดำให้กับหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานมีผลเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้พบว่าสารสกัดกระชายดำ 420 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานมีผลเพิ่มการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์เป็น 60% จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมกระชายดำให้กับหนูเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานมีผลเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเละการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์ ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นพืชสมุนไพรเพื่อการป้องกันและฟื้นฟูสภาวะเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในผู้ป่วยเบาหวาน

ABSTRACT

This study was performed to investigate the efficiency of Krachai Dum on sexual behavior in induced diabetic male rat. The experiment was carried out on thirty mature male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) age 6 weeks distributed into 6 groups of 5 rats each. Group 1 was kept as normal control, group 2 was diabetic control, group 3 was diabetic given Gilbenclamide 5 mg/kg and group 4-6 were diabetic given Krachai Dum extract 140, 280 and 420 mg/kg respectively. All animals were treated daily for 45 days by oral administration. Sexual behavior and testosterone hormone levels were evaluated. The result shows that supplementing Krachai Dum to induced diabetic male rat was significant increased testosterone hormone levels ($p<0.05$). In addition, Krachai Dum extract dose 420 mg/kg in induced diabetic rat were show mating behavior 60%. Refer to the result, Krachai Dum extract dose 420 mg/kg had increase testosterone hormone levels and improve copulation behavior that will be developed as the health product to prevent or recovery the sexual dysfunction in diabetes patient.

Key words: Diabetic rats, Sexual behavior, *Kaempferia parviflora*, Testosterone, Streptozotocin

[*] Corresponding author; e-mail address: **terytphoto@gmail.com**

[1] ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

โรคเบาหวานเกิดจากภาวะที่ร่างกายมีน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ (hyperglycemia) จากการขาดฮอร์โมนอินซูลินหรือดื้อต่อฤทธิ์ของอินซูลิน ทำให้ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลในเลือดไปใช้ได้ตามปกติ เมื่อมีปริมาณน้ำตาลคั่งอยู่ภายในเลือดและอวัยวะต่างๆมาก จึงเป็นสาเหตุให้เกิด oxidative stress คือ การที่ร่างกายสร้างอนุมูลอิสระ (free radicals) จำนวนมากจนทำให้สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มีไม่เพียงพอ (Khaki *et al*., 2010) เกิดการทำลายไขมันโปรตีนและสารพันธุกรรม ส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคตา โรคไต ระบบประสาท แผลที่เท้า การหย่อนสมรรถภาพทางเพศ (Sexton and Jarow, 1997; Agbaje *et al*., 2007; Hakim *et al*., 2008) ซึ่งการหย่อนสมรรถภาพทางเพศถือเป็นภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานพบมากในผู้ป่วยที่เป็นโรคเรื้อรังและดูแลอาการของโรคไม่ดี ผู้ชายมักมีโอกาสเกิดอาการอวัยวะเพศไม่แข็งตัว มากถึง 50-75% ซึ่งเป็นอาการที่พบบ่อยกว่าอาการอื่นๆ เนื่องจากฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนมีปริมาณลดลงและหลอดเลือดมีปัญหาจนส่งผลต่อเส้นประสาทส่วนปลาย (Traish *et al*., 2007; Alves *et al*., 2012) ด้วยเหตุนี้โรคเบาหวานจึงเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขโลก นอกจากโรคเบาหวานจะส่งผลกระทบทางร่างกายต่อตัวบุคคลแล้วยังส่งผลต่อเศรษฐกิจและสังคม เพราะรัฐบาลต้องใช้งบประมาณจำนวนมากกับยาและเวชภัณฑ์เพื่อรักษาผู้ป่วยที่มีอาการของโรคและอาการแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน ทำให้มีการนำสมุนไพรหลายชนิดมาใช้เป็นยาทางเลือกเพื่อดูแลรักษาและป้องกันโรค

ปัจจุบันพบว่ากระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) เป็นพืชสมุนไพรไทยที่นิยมนำเหง้าหรือหัวมาใช้ในการปรุงยาเพื่อรักษาโรคต่างๆ จัดว่าเป็นยาอายุวัฒนะ จนได้รับการขนานนามในประเทศไทยว่า “โสมไทย” ซึ่งสรรพคุณของเหง้ากระชายดำในการใช้เพื่อรักษาอาการของโรคต่างๆ เช่น ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดไขมันเลือด ต้านสารอนุมูลอิสระ เพิ่มสมรรถภาพทางเพศ บำรุงกำลัง เป็นต้น ส่วนใหญ่นำมาใช้รับประทานเพราะมีความเชื่อว่าสามารถเพิ่มสมรรถภาพทางเพศได้ดีคล้ายยาไวอะกร้า จึงมีการนำเหง้ากระชายดำมาดองเหล้าหรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง (Sudwan *et al*., 2006; Vichitphan *et al*.,2007; Chaturapanich *et al*., 2012) ขณะที่การศึกษาเพื่อสนับสนุนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเกี่ยวกับการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศยังมีน้อยดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกระชายดำต่อพฤติกรรมทางเพศของหนูเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนาพืชสมุนไพรไทยในการป้องกันการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในผู้ป่วยโรคเบาหวานต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดกระชายดำ

สารสกัดกระชายดำด้วยแอลกอฮอล์จากบริษัท คอร์ดี้ไบโอเทค จำกัด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเตรียมตัวอย่างสัตว์ทดลองเพศผู้

หนูขาวสายพันธุ์ Wistar เพศผู้ อายุ 6 สัปดาห์ น้ำหนัก 200 - 250 กรัม จำนวน 30 ตัว จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล นำสัตว์ทดลองมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการสัตว์ทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน ก่อนเริ่มการทดลองเพื่อให้สัตว์ทดลองคุ้นกับสภาพแวดล้อม ควบคุมอุณหภูมิห้องที่ 25±2 องศาเซลเซียส แสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (เปิดไฟ 12 ชั่วโมง: ปิดไฟ 12 ชั่วโมง) ให้อาหารและน้ำสะอาดตลอดเวลา ทำการเหนี่ยวนำหนูทดลองให้เป็นโรคเบาหวานด้วย Streptozotocin ที่ละลายใน Citrate buffer pH 4.5 ขนาด 60 มิลลิกรัมต่อ

กิโลกรัม โดยการฉีดเข้าช่องท้อง (Intraperitoneal injection) หลังจากถูกเหนี่ยวนำเป็นเวลา 3 วัน ทำการตรวจภาวะโรคเบาหวานของหนูทดลอง โดยใช้เครื่องตรวจระดับน้ำตาล Accu-check Active (Roche Diagnostic, Germany) หนูที่มีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ถือว่าเป็นโรคเบาหวานและถูกนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

แบ่งกลุ่มสัตว์ทดลองออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูปกติ ได้รับน้ำกลั่น(Control)

กลุ่มที่ 2 หนูเบาหวานควบคุม ได้รับน้ำกลั่น (DM)

กลุ่มที่ 3 หนูเบาหวานได้รับยา Glibenclamide 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (DM+Gib)

กลุ่มที่ 4 หนูเบาหวานได้รับสารสกัดกระชายดำ 140 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (DM+Extract 140)

กลุ่มที่ 5 หนูเบาหวานได้รับสารสกัดกระชายดำ 280 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (DM+Extract 280)

กลุ่มที่ 6 หนูเบาหวานได้รับสารสกัดกระชายดำ 420 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (DM+Extract 420)

ป้อนสารแก่หนูทดลองทางปากวันละ 1 ครั้ง ระหว่างเวลา 9.00-11.00 น. ทุกวัน เป็นเวลา 45 วันต่อเนื่อง

การเตรียมตัวอย่างสัตว์ทดลองเพศเมียเพื่อทดสอบพฤติกรรมทางเพศ

หนูขาวสายพันธุ์ Wistar เพศเมียอายุ 6 สัปดาห์ น้ำหนัก 150 - 200 กรัม จำนวน 12 ตัว จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล นำสัตว์ทดลองมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการสัตว์ทดลองอย่างน้อย 7 วัน ให้อาหารและน้ำสะอาดตลอดเวลา ทำการสลบสัตว์ทดลองด้วย Pentobarbitone sodium 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการฉีดเข้าช่องท้อง ผ่าตัดเพื่อทำหมันหนูเพศเมียโดยการผ่าตัดรังไข่ทั้ง 2 ข้างออก จากนั้นพักฟื้นหนูทดลองอย่างน้อย 7 วัน หนูเพศเมียถูกเหนี่ยวนำให้เข้าสู่วงรอบการเป็นสัดโดยการฉีด Estradiol benzoate ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Sigma - Aldrich, USA) เข้าชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous injection) และ Progesterone ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Sigma - Aldrich, USA) เข้าชั้นใต้ผิวหนัง เป็นระยะเวลา 48 และ 24 ชั่วโมงก่อนการทดสอบพฤติกรรมทางเพศ ตามลำดับ

การศึกษาพฤติกรรมทางเพศ

การศึกษาพฤติกรรมทางเพศดัดแปลงจากวิธีของ Chaturapanich *et al.* (2008) โดยหนูเพศผู้ทุกตัวจะถูกนำมาทดสอบพฤติกรรมการผสมพันธุ์ โดยนำหนูเพศผู้ครั้งละ 1 ตัวใส่ในกล่องพลาสติกสำหรับการทดสอบพฤติกรรมเป็นเวลา 10 นาทีเพื่อให้สัตว์ทดลองปรับตัวกับสภาพแวดล้อม จากนั้นนำหนูเพศเมียที่ได้รับการกระตุ้นให้เข้าสู่วงรอบการเป็นสัดมาใส่ในกล่องพลาสติกร่วมกับหนูเพศผู้ สังเกตพฤติกรรมการผสมพันธุ์เป็นเวลา 30 นาทีตั้งแต่นำหนูเพศเมียมาใส่กล่อง โดยมีการบันทึกภาพเคลื่อนไหวและจดบันทึกพฤติกรรมการผสมพันธุ์ดังต่อไปนี้

1. ระยะเวลาในการขึ้นคร่อม (mount latency, ML) คือ ระยะเวลาตั้งแต่หนูเพศเมียเข้ามาในกรงจนกระทั่งถึงถูกขึ้นคร่อม 2. ระยะเวลาในการหลั่งน้ำอสุจิ (ejaculation latency, EL) คือ ระยะเวลาตั้งแต่หนูเพศเมียเข้ามาในกรงถึงการหลั่งน้ำอสุจิ 3. ระยะเวลาในการหลั่งน้ำอสุจิครั้งถัดไป (post-ejaculation latency, PEL) คือ ระยะเวลาตั้งแต่การหลั่งน้ำอสุจิไปจนถึงการขึ้นคร่อมครั้งถัดไป 4. จำนวนครั้งในการหลั่งน้ำอสุจิ (ejaculation frequency, EF) คือ จำนวนครั้งที่หนูเพศผู้มีการหลั่งน้ำอสุจิภายในระยะเวลา 30 นาที และ 5. จำนวนครั้งที่ขึ้นคร่อมทั้งหมด (total mount frequency, MF_T) คือ จำนวนครั้งที่มีการขึ้นคร่อมทั้งหมดภายในระยะเวลา 30 นาที

การการตรวจระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

เมื่อสิ้นสุดการทดสอบพฤติกรรมการผสมพันธุ์ หนูทุกตัวถูกการุณฆาตด้วย Pentobarbitone sodium ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการฉีดเข้าช่องท้อง จากนั้นเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำ Posterior vena cava แล้วปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกซีรั่มด้วยความเร็ว 2,200 xg เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเก็บรักษาซีรั่มที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจวัดระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป (Testosterone ELISA kit, Abcam, UK).

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลองนำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.) และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 เพื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) เมื่อพบว่ามีความแตกต่างภายในกลุ่มการทดลองจึงเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนระหว่างกลุ่มการทดลองด้วย *post hoc* Turkey's test และความแตกต่างของพฤติกรรมทางเพศระหว่างกลุ่มการทดลองด้วย Kruskal-Wallis H test โดยกำหนดค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ p-value<0.05

ผลการทดลอง

ผลของของสารสกัดกระชายดำต่อพฤติกรรมทางเพศ พบว่า กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกระชายดำ 140, 280 และ 420 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์ 20-60% และกลุ่มหนูเบาหวานได้รับยา Glibenclamide มีการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์ 20% ซึ่งมีการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์มากกว่ากลุ่มหนูเบาหวานควบคุมที่ไม่แสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์ ดังแสดงใน Figure 1

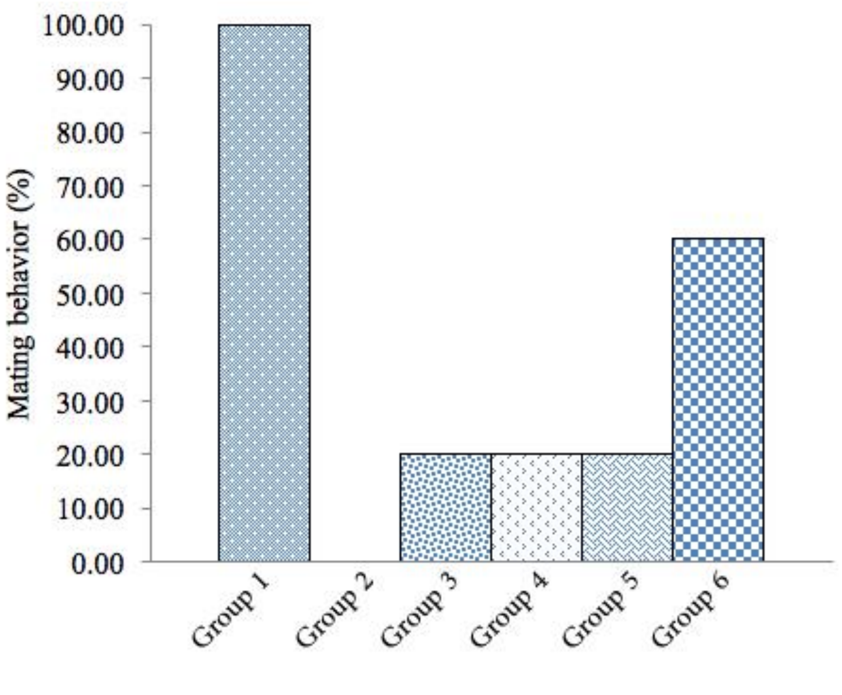


Figure 1 Percentage of Mating behavior

ผลพารามิเตอร์พฤติกรรมทางเพศ พบว่า กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกระชายดำ 420 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีระยะเวลาในการขึ้นคร่อมลดลง, มีระยะเวลาในการหลั่งน้ำอสุจิลดลง, มีระยะเวลาในการหลั่งน้ำอสุจิครั้งถัดไปลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูเบาหวานกลุ่มอื่น (Table 1)

Table 1 Sexual behavior

Group	Parameter				
	ML (min)	EL (min)	PEL (min)	EF (times/30min)	MF_T (times/30min)
Group 1 (5)	5.15 ±0.88	6.40±1.24	23.75±0.76	52.50±1.19	62.75±1.84
Group 2 (0)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Group 3 (1)	6.95±0.00	7.53±0.00	22.30±0.00	43.00±0.00	58.00±0.00
Group 4 (1)	13.69±0.00	15.00±0.00	14.57±0.00	44.00±0.00	65.00±0.00
Group 5 (1)	5.50±0.00	6.55±0.00	23.38±0.00	68.00±0.00	80.00±0.00
Group 6 (3)	5.00±0.88	5.75±0.67	24.78±6.12	34.67±5.70	46.00±6.10

The results are expressed as the mean ± S.E.M.

The number of animals that presented the behavior is indicated in parentheses. ($p>0.05$)

กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกระชายดำทุกขนาดมีค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนมากกว่ากลุ่มหนูเบาหวานควบคุมกับกลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับยา Glibenclamide อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มหนูปกติ (Table 2)

Table 2 Serum testosterone levels

Group	Serum testosterone levels (ng/ml)
Group 1	$9.55±0.65^a$
Group 2	$1.27±0.13^b$
Group 3	$2.46±0.49^b$
Group 4	$6.97±1.15^a$
Group 5	$7.64±1.12^a$
Group 6	$7.75±0.92^a$

The results are expressed as the mean ± S.E.M.

[a,b] The mean differences are significant at the 0.05 level

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานมีการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์และมีระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนลดลงทั้งนี้เนื่องจากโรคเบาหวานส่งผลทำให้ระบบระบบต่อมไร้ท่อ ระบบประสาท ระบบหมุนเวียนโลหิตทำงานผิดปกติและทำให้เกิดภาวะ oxidative stress ทำให้เกิดการเสื่อม

สลายของเนื้อเยื่อในระบบสืบพันธุ์ ส่งผลให้สมรรถภาพทางเพศลดลง อาทิ อวัยวะเพศไม่แข็งตัว ความผิดปกติในการหลั่งน้ำอสุจิ ความต้องการทางเพศลดลงรวมถึงทำให้การแสดงออกทางเพศลดลง (Sexton and Jarow, 1997: Scarano *et al*., 2006: Alves *et al*., 2012: La Vignera *et al*., 2012: Ghlissi *et al*., 2013) ส่วนการเสริมกระชายดำในหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานมีผลเพิ่มการแสดงพฤติกรรมผสมพันธุ์และระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Chaturapanich *et al*. (2008) พบว่า การเสริมกระชายดำ 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในหนูแรทปกติมีผลลดระยะเวลาในการขึ้นคร่อมและระยะเวลาในการหลั่งน้ำอสุจิ นอกจากนี้การเสริมสารสกัดกระชายดำกับการออกกำลังกายมีผลลดระยะเวลาในการหลั่งน้ำอสุจิครั้งถัดไป (Chaturapanich *et al*., 2012) จากการศึกษาของ Wattanathorn *et al*. (2012) พบว่า การเสริมกระชายดำ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูแรทปกติมีผลเพิ่มจำนวนครั้งในการขึ้นคร่อม จำนวนครั้งในการสอดใส่อวัยวะเพศ จำนวนครั้งในการหลั่งน้ำอสุจิและการเสริมกระชายดำ 240 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในหนูแรทปกติมีผลลดพฤติกรรมการเกี้ยวพาราสีในช่วง 10 นาทีแรก (Sudwan *et al*., 2006) ทั้งนี้เนื่องจากกระชายดำมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งจัดอยู่ในพวกสารประกอบโพลีฟีนอลมี ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อคนและสัตว์ (Sutthanut *et al*., 2007) อาทิ 7-methoxyflavone ในกระชายดำมีฤทธิ์ยับยั้ง Phosphodiesterase5 (PDE5) และ Phosphodiesterase6 (PED6) ซึ่งมีผลต่อการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์ (Temkitthawon *et al*., 2011) และสาร 3, 5, 7, 3', 4'-pentamethoxyflavone มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อ cavernosum คลายตัว (Jansakul *et al*., 2012) มีฤทธิ์เพิ่มปริมาณการไหลเวียนของเลือดไปยังอัณฑะ (Chaturapanich *et al*., 2008) มีฤทธิ์ลดการเกิด superoxide anion ทำให้สามารถคงสภาพการสร้าง nitric oxide และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสร้าง nitric oxide จากเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดและบริเวณ medial pre-optic area (Malakul *et al*., 2011: Chaturapanich *et al*., 2012: Wattanapitayakul *et al*., 2012) นอกจากนี้สารสกัดกระชายดำมีผลต่อการตอบสนองของ Dopamine receptor ในสมองส่วน Hypothalamus และทำให้ความหนาแน่นของ D1 positive immunoreactiveted nurons เพิ่มขึ้น ส่งผลให้การแสดงออกของพฤติกรรมทางเพศเพิ่มขึ้น (Wattanathorn *et al*., 2012)

จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนมีผลต่อความสนใจในกิจกรรมทางเพศ การแสดงออกทางเพศและมีบทบาทต่อการพัฒนาอวัยวะในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ (Scarano *et al*., 2006: Traish *et al*., 2007: Chaturapanich *et al*., 2012) จากการศึกษาของ Trisomboon *et al*. (2007) พบว่าการเสริมกระชายดำในหนูแรทเพศผู้ที่ถูกทำหมันก่อนวัยสมบูรณ์พันธุ์ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีผลเพิ่มปริมาณระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและไม่มีผลต่อน้ำหนักของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ ส่วนการเสริมกระชายดำในหนูแรทปกติเพศผู้วัยสมบูรณ์พันธุ์ พบว่า ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและน้ำหนักอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ (Trisomboon *et al*., 2008) ทั้งนี้เนื่องจากกระชายดำมีผลต่อการเพิ่มกระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในต่อมหมวกไต มีผลต่อการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนหรือ Testosterone metabolism (Trisomboon *et al*., 2007: Trisomboon *et al*.,2008) นอกจากนี้สารสกัดกระชายดำยังมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยลดอนุมูลอิสระ ทำให้การเสื่อมสลายของเนื้อเยื่อภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ลดลง ส่งผลเพิ่มการสังเคราะห์หรือหลั่งฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน เพิ่มความต้องการทางและการแสดงออกทางเพศ (Vichitphan *et al*.,2007: Chaturapanich *et al*., 2012: Wattanathorn *et al*., 2012: Ghlissi *et al*., 2013)

สรุปผล

สารสกัดกระชายดำมีผลต่อการเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและการแสดงพฤติกรรมการผสมพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย Streptozotocin ดังนั้นการเสริมสารสกัดกระชายดำสามารถใช้เป็นทางเลือกในการป้องกันและฟื้นฟูสภาวะเสื่อมสมรรถภาพทางเพศในผู้ป่วยเบาหวาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รศ. ดร. มณจันทร์ เมฆธนและบริษัท คอร์ดี้ไบโอเทค จำกัด ที่สนับสนุนทุนการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Agbaje I.M., D.A. Rogers, C.M. McVicar, N. McClure, A.B. Atkinson, C. Mallidis and S.E.M. Lewis. 2007. Insulin dependant diabetes mellitus: implications for male reproductive function. **Hum Reprod.** 22: 1871-1877.

Alves M. G., P. F. Oliveira, S. Socorro and P. Moreira. 2012. Impact of Diabetis in Blood-Testis and Blood-Brain Barrier: Resemblances and Differences. **Curr Diabetes Rev.** 8: 1-12.

Chaturapanich G., S. Chaiyakul, V. Verawatnapakul and C. Pholpramool.2008. Effects of *Kaempferia parviflora* extracts on reproductive parameters and spermatic blood flow in male rats. **Reproduction.** 136: 515-522.

_______, S. Chaiyakul, V. Verawatnapakul, T. Yimlamaiand C. Pholpramool. 2012. Enhancement of aphrodisiac activity in male rats by ethanol extract of *Kaempferia parviflora* and exercise training. **Andrologia.** 44: 323-328.

Ghlissi Z., R., Atheymen, M. A. Boujbuha, Z. Sahnoun, F. M. Ayedi, K. Zeghal, A. E. Feki and A. Hakim. 2013. Antioxidant and androgenic effects of dietary ginger on reproductive function of male diabetic rats. **Int J Food Sci Nutr.** 64: 974-978.

Hakim P., H.A. Sani and M.M. Noor. 2008. Effects of Gynuraprocumbens extract and Glibenclamide on Sperm Quality and Specific Activity of Testicular Lactate Dehydrogenase in Streptozotocin-induced Diabetes Rats. **Malays J Biochem Mol Biol.** 16: 10-14.

Jansakul C., K. Tachanaparuksa, M. J. Mulvany, Y. Sudpondma. 2012. Relaxant mechanisms of 3,5, 7,3’,4’-pentamethoxyflavone on isolated human cavernosum. **Eur J Pharmacol.** 691: 235-244

Khaki A., F. Fathiazad, M. Nouri, A.A Khaki, N.A. Maleki, H.J. Khamnei and P. Ahmadi. 2010. Beneficial Effects of Quercetin on Sperm Parameters in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. **Phytother Res.** 24: 1285-1291

La Vignera S., R. Condorelli, E. Vicari, R. D’Agata and A. E. Calogero. 2012. Diabetes Mellitus and Sperm parameters. **J Androl.** 33: 145-153.

Malakul W., S. Thirawarapan, K. Ingkaninan and P. Sawasdee. 2011. Effects of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker on endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **J Ethnopharmacol.** 133: 371-377.

Scarano, W.R., A.G. Messias, S.U. Oliva, G.R. Klinefelter and W.G. Kempinas. 2006. Sexual bihaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rat. **Int J Androl.** 29: 482-488.

Sexton W. and J.P. Jarow. 1997. Effect of Diabetes Mellitus Upon Male Reproductive Function. **UROLOGY.** 49: 508-513.

Sudwan P., K. Saenphet, S. Saenphet and S. Suwansirikul. 2006. Effect of *Kaempferia parviflora* Wall.Ex Baker on sexual activity of male rats and toxicity. **Southeast Asian J Trop Med Public Healt.** 3: 210-215.

Sutthanut K., B. Sripanidkulchai, C. Yenjaiand M. Jay. 2007. Simultaneous identification and quantitation of 11 flavonoid constituents in *Kaempferia parviflora* by gas chromatography. **J Chromatogr A.** 11: 227-233.

Temkitthawon P., T. R. Hinds, J. A. Beavo, J. Viyoch, K. Suwanborirux, W. Pongamornkul, P. Sawasdee and K. Ingkaninan. 2011. *Kaempferia parviflora*, a plant used in traditional medicine to enhance sexual performance contains large amounts of low affinity PDE5 inhibitor. **J Ethnopharmacol.** 137: 1437-1441.

Traish A. M., I. Goldstein and N. N. Kim. 2007. Testosterone and Erectile Function: From Basic Research to a New Clinical Paradigm for Managing Men with Androgen insufficiency and Erectile Dysfunction. **Eur Urol.** 52: 54-70.

Trisomboon H., A. Tohei, S. Malaivijitnond, G. Watanabe and K. Taya. 2008. Oral Administration of *Kaempferia parviflora* did not Disturb Male Reproduction in Rats. **J Reprod Dev.** 54:375-380.

_______, G. Watanabe, P. Wetchasit and K. Taya. 2007. Effect of Daily Treatment with Thai Herb, *Kaempferia parviflora*, in Hershberger Assay Using Castrated Immature Rats. **J Reprod Dev.** 53: 351-356.

Vichitphan S., K. Vichitphan and P. Sirikhansaeng. 2007. Flavonoid content and antioxidant acivity of Krachai-Dum (*Kaempferia parviflora*) wine. **KMITL Sci Tech J.** 7: 97-105

Wattanapitayakul S., M. Suwatronnakorn, L. Chularojmontri, A Herunsalee, S. Niumsakul, S. Charuchongkolwongse and A. Nawinprasert. 2007. *Kaempferia parviflora* ethanolic extract promoted nitric oxide production in human umbilical vein endothelial cells. **J Ethnopharmacol.** 110: 89-92.

Wattanathorn J., P. Pangphukiew, S. Muchimapura, K. Sripanidkulchai and B. Sripanidkulchai. 2012. Aphrodisic Activity of *Kaempferia parviflora*. **Am J Agr Biol Sci.** 7: 114-120.

ผลของการปรุงต่อปริมาณและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในขลู่ กะเพรา และโหระพา

Effect of Cooking on Antioxidant Contents and Activities in Khlu, Holy basil and Sweet Basil

แวรุสนานี อาแว[1] และ **ปิยะวรรณ์ บุญญานุพงศ์**[1*]

Waerusnani awae[1] and Piyawan Boonyanuphong[1*]

บทคัดย่อ

ขลู่ กะเพราและโหระพา เป็นพืชสมุนไพรที่นิยมรับประทานใบเป็นหลักและสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบประกอบอาหารได้หลายชนิด อย่างไรก็ตามวิธีการประกอบอาหารแต่ละวิธี มีผลต่อปริมาณสารสำคัญในใบพืช ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาผลของกรรมวิธีการปรุงแบบต่างๆต่อปริมาณสารพฤกษเคมีและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา โดยกรรมวิธีการปรุงประกอบด้วย 4 วิธี ได้แก่ การต้ม การลวก การนึ่ง และการอบ หลังการปรุง นำมาสกัดด้วยเมทานอล และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์และไฮดรอกซิล ผลการทดลองพบว่า วิธีการลวกและการนึ่ง ทำให้ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเทียบกับใบสด ในขณะที่การต้มและการอบส่งผลให้ปริมาณ ฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ลดลงเมื่อเทียบกับใบสด ดังนั้นการลวกหรือการนึ่งเป็นวิธีการปรุงอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระให้สูงขึ้น เมื่อเทียบกับการปรุงแบบต้ม อบหรือใบสด

ABSTRACT

Khlu *(Pluchea indica L.)*, holy basil *(Ocimum sanctum L.)* and sweet basil *(Ocimum basilicum L.)* herbs are mainly consumed the leaves and can be used as raw materials for a variety of cooking. However, the cooking method can effect on the amount of active substances in the plants. The aim of this study is to investigate the effect of cooking methods on antioxidant contents and activities of khlu, holy basil and sweet basil leaves. The cooking methods consist of boiling, blanching, steaming and baking. After cooked, plant leaves were extracted with methanol. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of superoxide and hydroxyl radicals were analyzed. The results showed that the total phenolic and flavonoid contents as well as antioxidant activities were significantly increased (p<0.05) with blanching and steaming method compared to their fresh leaves. While boiling, and baking reduce the contents of phenolic and their antioxidant activities of superoxide compared to their fresh leaves. Therefore, among four cooking methods blanching or steaming is a cooking method that can enhance the amounts and activities of antioxidants compared to boiling, baking or fresh leaves.

Keyword: Khlu, holy basil, sweet basil, free radical, boiling, blanching, steaming, baking.

* Corresponding author; e-mail address: piyawan.si@psu.ac.th

[1]ภ.วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี 94000

[1]Department of food science and nutrition, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University Pattani 94000

คำนำ

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล โดยอนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งจากภายในและภายนอกร่างกาย อนุมูลอิสระเหล่านี้จะไปทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของสารชีวโมเลกุลต่างๆในรางกาย เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีนและไขมัน ก่อให้เกิดความผิดปกติต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ ผนังหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) รวมถึงการกลายพันธุ์ของเซลล์ซึ่งอาจพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระในร่างกายเป็นสาเหตุให้เกิดความไม่สมดุลระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นกับระบบการต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในร่างกาย อย่างไรก็ตาม อาหารโดยเฉพาะผักและผลไม้เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินเอ ซี อี หรือ เบต้าแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ที่จะช่วยปกป้องเซลล์จากความเสียหายที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระได้ การกำจัดและการรบกวนการก่อตัวของอนุมูลอิสระโดยการจับกับไอออนของเหล็ก เป็นสองกลไกที่เกิดขึ้นโดยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในผักและผลไม้ (Melidou *et al.*,2005) ปัจจุบันคนหันมาสนใจการดูแลสุขภาพกันมากขึ้น โดยเฉพาะการเลือกบริโภคผัก ผลไม้ และพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคมากขึ้น สำหรับในประเทศไทยมีพืชพรรณจำนวนมากที่เป็นพืชพื้นเมือง ซึ่งได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารและยา เช่น กะเพรา โหระพา ขลู่ เป็นต้น

ขลู่ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pluchea indica L.* เป็นพืชในวงศ์ COMPOSITAE พบได้ทั่วไปในประเทศเขตร้อน เช่น ไทย อินโดนีเซีย มาเลเซีย อินเดีย เป็นต้น ปัจจุบันมีการปลูกต้นขลู่เชิงเศรษฐกิจเพื่อจำหน่ายใบขลู่เป็นผักสมุนไพรเพื่อการบริโภค ใช้ผลิตชาขลู่และนำใบขลู่สดมารับประทานกับน้ำพริกหรือนำมาเป็นส่วนหนึ่งของวัตถุดิบในการทำอาหาร กะเพรามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum sanctum L.* โหระพามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ocimum basilicum L.* ทั้งสองชนิดเป็นพืชในวงศ์ LABIATAE โดยทั่วไปพืชทั้งสามชนิดนิยมนำมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของวัตถุดิบในการประกอบอาหารและนอกจากนี้ยังเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย และมีบทบาทในด้านการแพทย์ทางเลือก จากรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบขลู่ ใบกะเพราและใบโหระพามีสารสำคัญในกลุ่ม phenolic และ flavonoid ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Andarwulan *et al.*, 2010) นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Andarwulan *et al.*, (2010) ซึ่งทำการศึกษาสารสกัดจากพืช 11 ชนิดในประเทศอินโดนีเซีย พบว่า สารสกัดจากใบขลู่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพืชอื่นที่ทดลอง ซึ่งวัดโดยวิธี FRAP และDPPH อย่างไรก็ตามจากรายงาน พบว่า กรรมวิธีในการประกอบอาหารโดยใช้ความร้อน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของพฤกษเคมี รวมไปถึงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและส่วนประกอบทางเคมีของพืชได้ทั้งเพิ่มขึ้นและลดลง (Palermo *et al.*, 2014) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อหาปริมาณพฤกษเคมีและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น อนุมูลไฮดรอกซิล และอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา หลังจากผ่านกระบวนการปรุงโดยวิธี ต้ม ลวก นึ่ง และอบโดยเปรียบเทียบกับใบสด เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์สำหรับวิธีการปรุงเพื่อคงไว้ของสารสำคัญ

อุปกรณ์และวิธีการ

<u>1. การเตรียมตัวอย่างใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา</u>

นำยอดใบขลู่ ใบกะเพรา ใบโหระพามาล้างด้วยน้ำให้สะอาด จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนัก แยกเป็น 5 ส่วน โดยแต่ละส่วนชั่งน้ำหนักให้ได้ 1.0 กรัม นำแต่ละส่วนมาผ่านกรรมวิธีดังนี้ 1. สด (ไม่ผ่านการให้ความร้อน) 2. ต้ม (ต้มในน้ำ

เดือดนาน 15 นาที) 3. ลวก (แช่ในน้ำเดือดนาน 3 นาที) 4. นึ่ง (นึ่งด้วยหม้อนึ่งนาน 15 นาที) 5. อบ (อบให้แห้งด้วยเครื่องตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่) นำใบขลู่ ใบกะเพราและใบโหระพาที่ผ่านกระบวนการปรุงด้วยกรรมวิธีต่างๆมาเติมเมทานอล 10 มิลลิลิตร จากนั้นปั่นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที เมื่อครบเวลา แช่ใบพืชในเมทานอลเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงที่ 5,000 g นาน 10 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองและเก็บสารสกัดที่ได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป ก่อนวิเคราะห์ นำตัวอย่างไปเจือจางที่ 1:10

2. วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา

วิเคราะห์โดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ดัดแปลงวิธีการจาก Aguilar –Garcai *et al*., 2007 นำสารละลาย Folin-ciocalteu ที่ทำการเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน (1:9 v/v) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร มาเติมสารสกัดจากใบพืช ปริมาตร 60 ไมโครลิตร นำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเติม 7.5%โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบเท่ากับปริมาณกรดแกลลิกของสารละลายมาตรฐาน (gallic acid equivalent- GAE) ต่อน้ำหนักสดของใบพืช 1 กรัม

3. วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

โดยวิธี Aluminium chloride colorimetric method ดัดแปลงวิธีการจาก Jai *et al*., 1998 นำสารสกัดจากใบพืช ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และเติม 5% โซเดียม ไนเตรท ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติม 10% Aluminium chloride ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที และเติม1M NaOH ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 510 นาโนเมตร ผลจะแสดงเทียบเท่ากับปริมาณ quercetin ของสารละลายมาตรฐาน ต่อน้ำหนักสดของใบพืช 1 กรัม

4. วิเคราะห์หาปริมาณและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide,$O_2^{\cdot -}$)

ดัดแปลงวิธีการจาก Wang *et al*., 2008 ปิเปตสารละลาย 50 mM Tris-HCl pH 8.2 ปริมาตร 5.6 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารสกัดจากใบพืช ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เติม 0.95mM Pyrogallol ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร คำนวณหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละของการยับยั้งของตัวอย่างเทียบกับหลอดควบคุม (หลอดที่เติมทุกอย่างยกเว้นตัวอย่าง)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล(Hydroxyl radical,$OH^{\cdot}$)

วิเคราะห์โดยวิธีของ Ilavarasan *et al*., 2005 ปิเปตสารละลาย 2.8 mM 2-deoxy-D-ribose ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามด้วย 2.8 mM H_2O_2 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติม 25 mM Iron (III) chloride ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติม 100 mM EDTA ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมสารสกัดจากใบพืช ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นทำให้เกิดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลาย 100 µM Ascorbic acid ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เกิดสีโดยการเติมสารละลาย 1% Thiobarbituric acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย 2.8% ice-cold trichloroacetic acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร คำนวณหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละของการยับยั้งของตัวอย่างเทียบกับหลอดควบคุม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของกรรมวิธีการปรุงต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา

จากการศึกษาผลของวิธีการปรุงต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา พบว่า การลวกและการนึ่ง ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ(p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับใบสด โดยเฉพาะในใบกะเพราและใบโหระพา ในขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบขลู่ ส่วนการต้มและการอบมีผลทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกับใบสด โดยวิธีการต้ม ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเป็น 42.23% 33.96% และ 35.78% ในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพาตามลำดับ ดังแสดงใน Figure 1 การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยการลวกและการนึ่ง อาจเกิดขึ้นเนื่องจากการปรุงโดยวิธีนี้เป็นการใช้ความร้อนโดยปราศจากการแช่อยู่ในน้ำ โดยความร้อนจะช่วยส่งเสริมทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่เกาะอยู่บริเวณ เยื่อหุ้มเซลล์หลุดออกเป็นอิสระ และละลายอยู่ในของเหลวภายในเซลล์ นอกจากนี้ความร้อนยังทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความอ่อนนุ่มขึ้น จึงทำให้สามารถสกัดสารออกมาได้มากขึ้น (Palermo *et al.*,2014) ในขณะที่การต้ม ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง เนื่องจากความร้อนมีผลให้สารประกอบฟีนอลิก ออกมาอยู่บริเวณชั้นนอกสุดของเยื่อหุ้มเซลล์ จึงทำให้ละลายออกมาอยู่ในน้ำได้ง่าย (Jimenez-Monreal *et al.*, 2009) ซึ่งสอดคล้องกับ Jimenez-Monreal *et al.*,(2009) ได้ศึกษาผลของการปรุงต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากผัก 20 ชนิด พบว่าการต้มและการปรุงแบบใช้ความดันเป็นวิธีที่ทำให้มีการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด นอกจากนี้การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างการอบแห้งอาจมีสาเหตุเนื่องมาจากเกิดการจับกันระหว่างสารโพลีฟีนอลกับสารอื่นๆเช่นโปรตีน หรือมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารซึ่งทำให้ไม่สามารถสกัดออกมาได้โดยวิธีที่ใช้กันอยู่ทั่วไปได้ (Mrad *et al.*, 2012) เช่นเดียวกับการทดลองของ Youssef *et al.*, (2014) ศึกษาผลของการทำแห้งของผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea*) ต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าการทำแห้งมีผลต่อการลดลงของพฤกษเคมีอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับใบสด

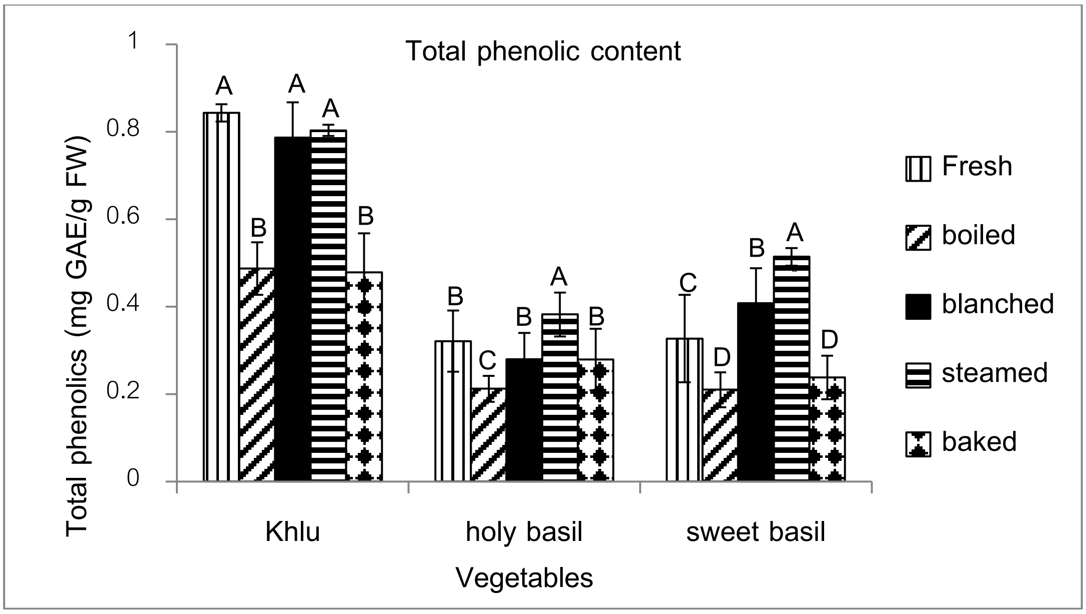


Figure 1 Total phenolic content of fresh (Khlu, holy basil, sweet basil leaves) and after various cooking (boiled, blanched, steamed, baked). [A-D] significant difference in comparison to each cooking method within the same plant leaves (p<0.05)

2. ผลของกรรมวิธีการปรุงต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา

จากการศึกษาผลของการปรุงต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา พบว่าการลวกและนึ่ง ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับใบสด ในทุกๆใบพืชที่นำมาทดลอง ในขณะที่การปรุงโดยวิธีการต้มมีผลให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพาลดลงเท่ากับ 13.65% 30.97% และ 1.14% ตามลำดับ ส่วนการอบทำให้ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงเฉพาะในใบขลู่ ดังแสดงใน Figure 2 เปอร์เซนต์การลดลงของปริมาณฟลาโวนอยด์เมื่อต้มหรืออบนั้นน้อยกว่าเมื่อเทียบกับสารฟีนอลิก ทั้งนี้เนื่องจากแม้ว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารที่สามารถละลายในน้ำได้ อย่างไรก็ตามโครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่ เป็นสารโพลีฟีนอลที่เป็นโมเลกุลใหญ่ ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพเรน (phenylbenzopyrones) และมีโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) 1 วง ดังนั้น จากโครงสร้างดังกล่าวทำให้การละลายออกมาในน้ำระหว่างการต้มจึงเป็นไปได้ยากกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างพื้นฐาน คือ สารฟีนอล ที่ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และ หมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ นอกจากนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์จากหอมใหญ่ที่ต้มจะสูญเสียไปในน้ำที่ต้มเพียง 30% ขณะที่ยังอยู่ที่หอมใหญ่อีกประมาณ 70% (Loku *et al.*, 2001) ส่วนการอบส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ ฟลาโวนอยด์ในใบกะเพราและโหระพาเมื่อเทียบกับใบสด อย่างไรก็ตามเป็นไปได้ว่ากระบวนการให้ความร้อนในการอบส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของฟลาโวนอยด์จากที่จับอยู่กับน้ำตาลเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ aglycone ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่า (Xu and Chang, 2008)

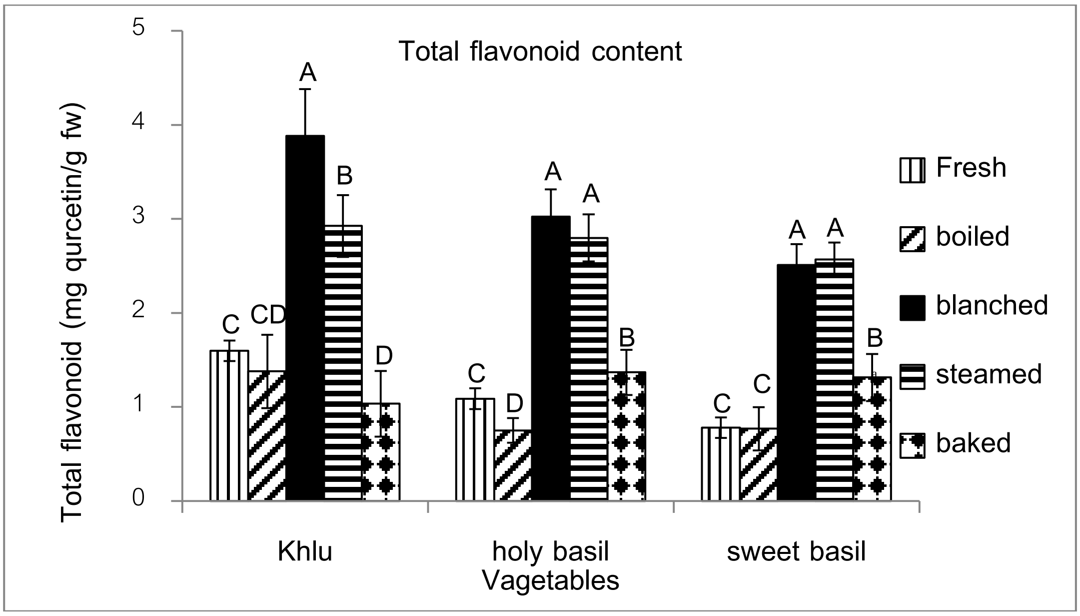


Figure 2 Total flavonoid content of fresh (Khlu, holy basil, sweet basil leaves) and after various cooking (boiled, blanched, steamed, baked). [A-D] significant difference in comparison to each cooking method within the same plant leaves (p<0.05)

3. ผลของกรรมวิธีการปรุงต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide,$O_2^{\cdot -}$)**และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล** (Hydroxyl radical,OH^-) **ในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา**

จากการศึกษาผลของกรรมวิธีการปรุงต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา พบว่า วิธีการลวกและการนึ่งส่งผลให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p< 0.05) เมื่อเทียบกับใบสด ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากกรรมวิธีในการปรุงทั้งสองวิธีช่วยส่งเสริมการปลดปล่อยของสารต้านอนุมูลอิสระออกมา ซึ่งสอดคล้องการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก หรือสารประกอบฟลาโวนอยด์หลังการลวกและนึ่ง โดยเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระกับสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ พบว่า มีความสัมพันธ์เชิงบวก โดยเฉพาะปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกับกิจกรรมการต้านอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ ดังTable 1 ในขณะที่การต้มและอบส่งผลทำให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลลดลง สอดคล้องกับกอบเกียรติและคณะ (2553) ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในเปลือกและเนื้อผลของมะเขือ ซึ่งให้ความร้อนโดยการนึ่งผลมะเขือที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที ผลการทดลองพบว่าความร้อนสามารถเพิ่มกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในเนื้อผลแต่ลดกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในเปลือกผลมะเขือ ซึ่งกิจกรรมการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการให้ความร้อนที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่กรรมวิธีการต้มและอบ ทำให้สูญเสียความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับ การต้มทำให้ขึ้นฉ่ายสูญเสียความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระถึง 14 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจาก อุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนล้วนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (Loannou *et al*., 2012) เช่นเดียวกับ Jimenez-Monreal *et al*., (2009) พบว่า แครอท กะหล่ำดอก ถั่ว และแตงกวาญี่ปุ่น ที่ผ่านกรรมวิธีการอบทำให้สูญเสียความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงถึง 30-50 เปอร์เซ็นต์

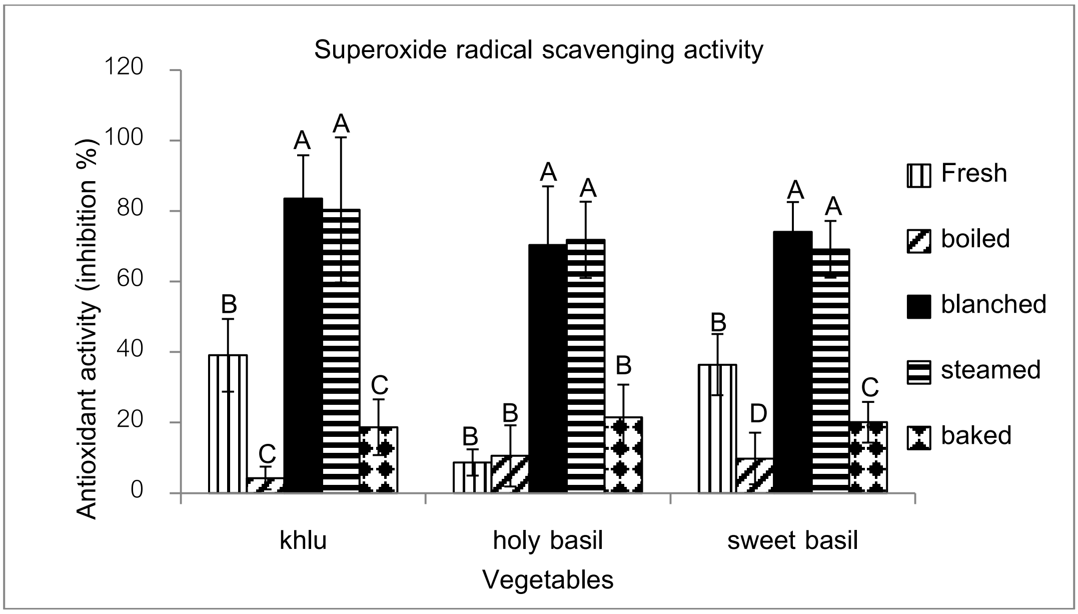


Figure 3 Superoxide radical scavenging activity of fresh (Khlu, holy basil, sweet basil leaves) and after various cooking (boiled, blanched, steamed, baked). [A-D] significant difference in comparison to each cooking method within the same plant leaves (p<0.05)

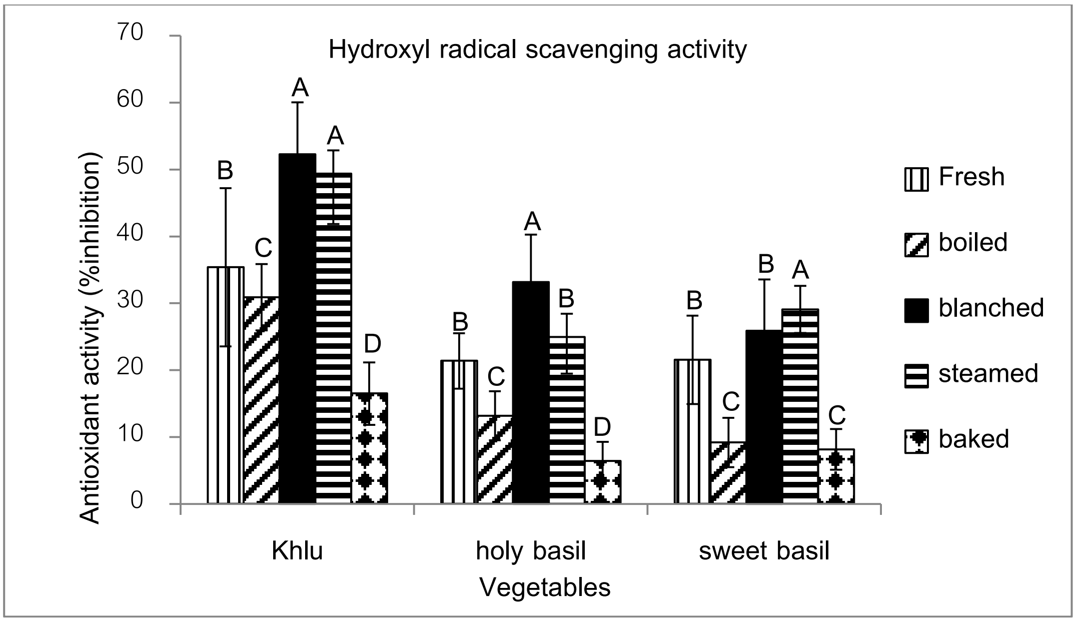


Figure 4 Hydroxyl radical scavenging activity of fresh (Khlu, holy basil, sweet basil leaves) and after various cooking (boiled, blanched, steamed, baked). [A-D] significant difference in comparison to each cooking method within the same plant leaves (p<0.05)

Table 1 Spearman's correlation between antioxidant capacity and antioxidant contents

Antioxidant	%scavenging activity of $O_2^{\bullet-}$ r (p-value)	%scavenging activity of $OH^{\bullet}$ r (p-value)
Total phenolic content	0.4856 (p<0.0001)	0.7668 (p<0.0001)
Total flavonoid content	0.8466 (p<0.0001)	0.7135 (p<0.0001)

สรุป

การปรุงโดยวิธีต่างๆมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา เมื่อเปรียบเทียบกับใบสด การลวกและนึ่งสามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล และอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ให้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่การต้มและอบส่งผลปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลง ยกเว้นในใบกระเพราและโหระพาที่ผ่านการปรุงโดยการอบส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ดังนั้นการลวกและการนึ่ง อาจเป็นทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคใบขลู่ ใบกะเพรา และใบโหระพา ได้เลือกวิธีการประกอบอาหารที่จะช่วยส่งเสริมการเพิ่มขึ้นของปริมาณพฤกษเคมีและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัย นักศึกษาปริญญาตรี ประจำปีงบประมาณ 2559 จากศูนย์วิทยาศาสตร์อาหารฮาลาล ภาควิชาวิทยาศาสตร์อาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ แสนิล. 2553. **กิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในผลมะเขือ** รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หน้า110.

Aguilar-Garcia,C., Gavino, G., Baragano-Mosqueda, M., Hevia, P. and Gavino, V.C. 2007. Correlation of tocopherol, tocotrienol, gamma-oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. **Food Chemistry** 102:1228-1232.

Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D., Bolling, B. and Wijaya, H. 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. **Food Chemistry** 121: 1231–1235.

Ilavarasan, R,. Mallika, M, and Venkataraman S. 2005. Anti-inflammation and antioxidant activities of *Cassia fistula* Linn. bark extracts. **Afr J Trad Compl Altern Med** 2: 70-85.

Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. 1998. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxides radicals. **Food Chemistry** 64: 555-559.

Jimenez-Monreal, A., Garcia-Diz, L., Martinez-Tome, M., Mariscal, M. and Murcia, M. 2009. Influence of cooking methods on antioxidant. **J.food Sci** 74: 97-103.

Loannou, I., Hafsa, S., Hamdi, C. and Ghoul, M. 2012. Review of the effects of food processing and formation on flavonol and anthocyanin behavior. **J.Food Eng** 111: 208-217.

Loku, O., Aoyama. Y., Tokuno, A., Tera, J., Nakatani. N and Takeil. Y. 2001. Various Cooking Methods and the Flavonoid Content in OnionKana. **J Nutr Sci Vitaminol** 47: 78-83.

Melidou, M., Riganakos, K. and Galaris, D. 2005. Protection against nuclear DNA damage offered by flavonoids in cells exposed to hydrogen peroxide: The role of iron chelation. **Free Radic Biol Med** 39: 1591-1600.

Mrad, ND., Boudhrioua, N., Kechaou, N.,Courtois, F. and Bonazzi, C.2012. Influence of air drying temperature on kinetics, physicochemical properties, total phenolic content and ascorbic acid of pears. **Food Bioprod Proc** 90: 433-441.

Palermo, M.,Pellegrini, N. and Fogliano, V. 2014. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. **J Sci Food Agri** 94: 1057-1070.

Wang, B.S., Li, B.S., Zeng, Q.X., Liu, H.X. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activities of pigments extracted from molasses alcohol wastewater. **Food Chemistry** 107: 1198-1204.

Xu, B and Chang, S.K.C. 2008. Effect of soaking, boiling and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. **Food chemistry** 110: 1-13.

Youssef, K.M. and Mokhtar, S.M. 2014. Effect of Drying Methods on the Antioxidant Capacity, Color and Phytochemicals of *Portulaca oleracea* L. Leaves. **J Nutr Food Sci** 4: 322. doi: 10.4172/2155-9600.1000322.

การตรวจสอบคุณสมบัติของโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *Escherichia coli* O157:H7

Characterization of Monoclonal Antibodies Specific to *Escherichia coli* O157:H7

นันทพร ทองวิจิตร[1*] ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์[2] ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์[1] และ ชัยวัฒน์ กิตติกูล[1]

Nanthaporn Thongwichit[1*], Pravate Tuitemwong[2], Kooranee Tuitemwong[1] and Chaivat Kittigul[1]

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติโมโนโคลนอลแอนติบอดี (mAb) ที่มีความจำเพาะต่อ *E.coli* O157:H7 ทดสอบโดยใช้เทคนิค Indirect ELISA โดยพบว่า mAb รหัส 3E5 และ 6E7 มีความจำเพาะสูงต่อเชื้อ *E.coli* O157:H7 โดยไม่ทำปฏิกิริยาต่อเชื้อแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยเทคนิค Dot ELISA และผลการทดสอบความจำเพาะด้วยเทคนิคอิมมูโนวิทยา แสดงให้เห็นว่า mAb ทั้ง 2 รหัส สามารถจับกับโปรตีนของ *E.coli* O157:H7 ได้ โดยที่ไม่ทำปฏิกิริยากับเชื้อแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบเช่นกัน ซึ่ง mAb 6E7 สามารถจับกับโปรตีนของ *E.coli* O157:H7 ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 22, 25, 27, 33, 35, 36, 43 และ 50 กิโลดาลตัน ส่วน mAb 3E5 สามารถจับกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 22, 27, 50 กิโลดาลตัน และจากการทดสอบด้วยเทคนิค immunofluorescence พบว่า mAb 6E7 มีความจำเพาะและย้อมติดเชื้อได้ดีกว่า mAb 3E5 สังเกตได้จากการติดสีสารเรืองแสงของแบคทีเรีย ดังนั้นโมโนโคลนอลแอนติบอดี 6E7 น่าจะมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นชุดทดสอบอย่างรวดเร็วสำหรับตรวจหาเชื้อ *E.coli* O157:H7 ต่อไป

ABSTRACT

Characterization of two monoclonal antibodies (mAb) 3E5 and 6E7 specific to *E.coli* O157:H7 were determined by indirect ELISA, Dot ELISA, Western blot (WB) and immunofluorescence test. MAb 3E5 and 6E7 are highly spicific to *E.coli* O157:H7 and without cross reaction to 7 other bacteria strains. In WB test, 6E7 mAb bind to protein of *E.coli* O157:H7 which have molecular weight (M.W.) of 22, 25, 27, 33, 35, 36, 43 and 50 kilodalton (kDa) while 3E5 mAb bind to protein which have M.W. of 22, 27 and 50 kilodalton. Immunofluorescence test of bacteria with mAb 6E7 showed more clear florescent staining on *E.coli* O157:H7 bacteria cell than mAb 3E5. MAb 6E7 may be suitable for use in development of rapid test kit for detection of *E.coli* O157:H7.

Key Word: *Escherichia coli* O157: H7, Immunofluorescence, Indirect ELISA, Monoclonal antibody, Western blot

*Corresponding author; e-mail address: nanthaphorn.th@gmail.com

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140

[2]Department of Microbiology, Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

คำนำ

เชื้อ *E.coli* O157: H7 เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารพิษซึ่งทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร เชื้อสายพันธุ์นี้มีความสามารถในการผลิตสารพิษ Shiga Toxins (Stx) ซึ่งเป็นสารพิษที่ความรุนแรง ผู้ติดเชื้อจะมีอาการมีไข้ อาเจียน ปวดท้องรุนแรง ถ่ายเหลว และอาจพบถ่ายเป็นเลือด ผู้ป่วยที่เป็นเด็กเล็กและผู้สูงอายุอาจจะมีกลุ่มอาการของเม็ดเลือดแดงแตกและไตวายเฉียบพลัน (Hemolytic Uremic Syndrome) ร่วมด้วย ซึ่งทำให้เสียชีวิตได้ วิธีการตรวจสอบเพื่อยืนยันการติดเชื้อ *E.coli* O157: H7 มีหลายขั้นตอนและใช้ระยะเวลาการตรวจนาน

การทดลองในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติ ความจำเพาะของโมโนโคนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *E.coli* O157:H7 เพื่อใช้งานในการทดสอบและการตรวจหาเชื้อ *E.coli* O157:H7 และสำหรับการนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นชุดทดสอบอย่างรวดเร็วต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การตวจหาความจำเพาะและความไวของ mAb **ด้วยวิธี** Indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect ELISA)

เคลือบเชื้อแบคทีเรียลงใน 96 well plate โดยใช้เชื้อทั้งหมด 8 สายพันธุ์ดังนี้ *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa* ในปริมาณโปรตีน 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน Coating buffer pH 9.6 โดยจะใช้เคลือบ 100 ไมโครลิตรต่อหลุม (ดัดแปลงจาก Yongsheng *et al*., 1996) โดยในการตรวจหาความไว (sensitivity) ทำโดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2.02×10^7 CFU/ml และทำการเจือจาง 2-fold dilution ก่อนนำมาตรวจด้วยวิธี Indirect ELISA

การตรวจหาความจำเพาะและความไวของ mAb **ด้วยวิธี** Dot enzyme-linked immunosorbent assay (Dot-ELISA)

หยดเชื้อเป็นจุดลงบนกระดาษไนโตรเซลลูโลส ในปริมาณโปรตีน 20 ไมโครลิตร หยด 2 ไมโครลิตรต่อจุด ตรวจผลด้วยการเติม TMB blotting solution 1-3 นาที สามารถสังเกตด้วยตาเปล่าได้ คือถ้าผลเป็นบวกจะมีสีเกิดขึ้นบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน (ดัดแปลงจาก Yongsheng *et al*., 1996)

การวิเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียด้วยเทคนิค Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) **และตรวจหาความจำเพาะของ** mAb **ด้วยวิธี** Western blot

แยกโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE โดยใช้ 12 % Polyacrylamide separating gel ตามวิธีของ Laemmili (1970) เตรียมเชื้อแบคทีเรียนำมาผสมกับ SDS sample buffer โดยใช้ความเข้มข้นโปรตีน 20 ไมโครกรัมต่อหลุม ย้อมด้วยสี Coomassie blue ในการทำ Western blot หลังจากทำ SDS-PAGE แล้ว ย้ายโปรตีนไปยังกระดาษไนโตรเซลลูโลส ตามวิธีของ Burnette (1981) ตรวจผลด้วยการเติม TMB blotting solution 1-3 นาที สามารถสังเกตด้วยตาเปล่าได้ คือถ้าผลเป็นบวกจะมีสีเกิดขึ้นบนกระดาษไนโตรเซลลูโลส (ดัดแปลงจาก Yongsheng *et al*., 1996)

การทดสอบความจำเพาะของ mAb ด้วยวิธี Indirect immunofluorescence

ทำการสเมียร์เชื้อแบคทีเรีย 8 ชนิดลงบนสไลด์ ปล่อยให้แห้งที่อุณภูมิห้อง นำสไลด์ไปตรึง (fix) ในอะซิโตน หยด mAb ลงบนสไลด์ บ่ม ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างด้วย PBS-T 3 ครั้ง หยด Fluorescein (FITC)-conjugated AffiniPure Goat Anti-Mouse IgG(H+L) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วย PBS-T 3 ครั้ง หยด mounting medium ปิดทับด้วย cover glass นำไปส่องใต้กล้อง fluorescence (ดัดแปลงจาก McCarthy *et al*., 2011)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความจำเพาะและความไวของ mAb ด้วยวิธี Indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect ELISA)

ผลการทดสอบความจำเพาะของ mAb 3E5 และ 6E7 ต่อเชื้อแบคทีเรีย 8 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยทำการทดลอง 4 ซ้ำ แสดงผลในภาพที่ 1

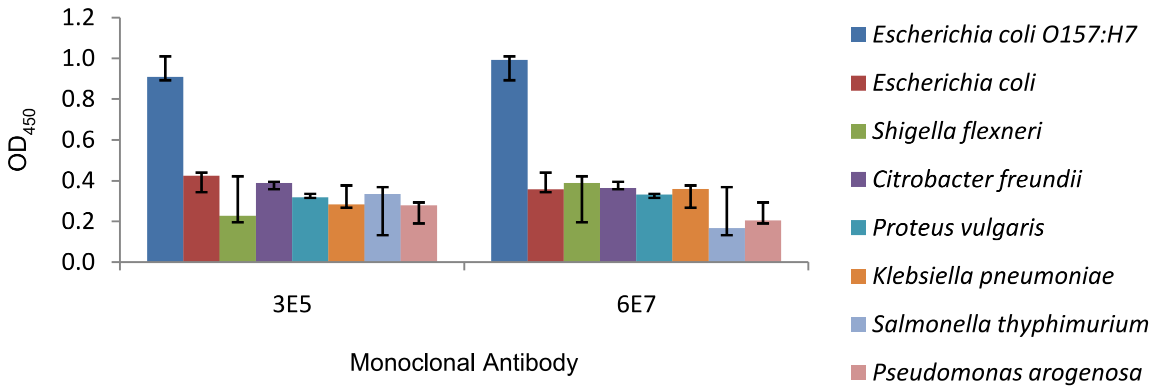


Figure 1 Indirect ELISA test result for specificsity of mAb 3E5 and 6E7.

จากภาพที่ 1 ผลความจำเพาะของ mAb 3E5 และ 6E7 มีความจำเพาะสูง ต่อ *E.coli* O157:H7 โดย mAb 3E5 วัดค่า OD_{450} ได้ 0.9094 และ mAb 6E7 วัดค่า OD_{450} ได้ 0.9922 ในขณะที่ค่า OD_{450} ต่อเชื้ออื่นอีก 7 สายพันธุ์มีค่าต่ำกว่ามาก

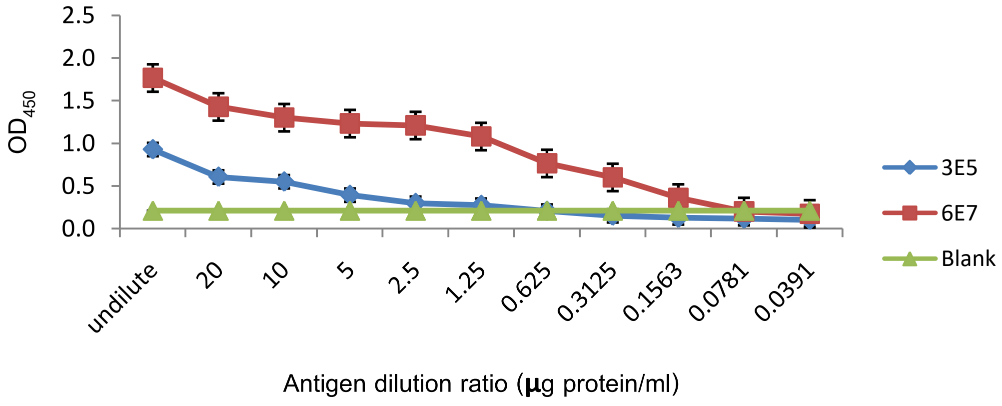
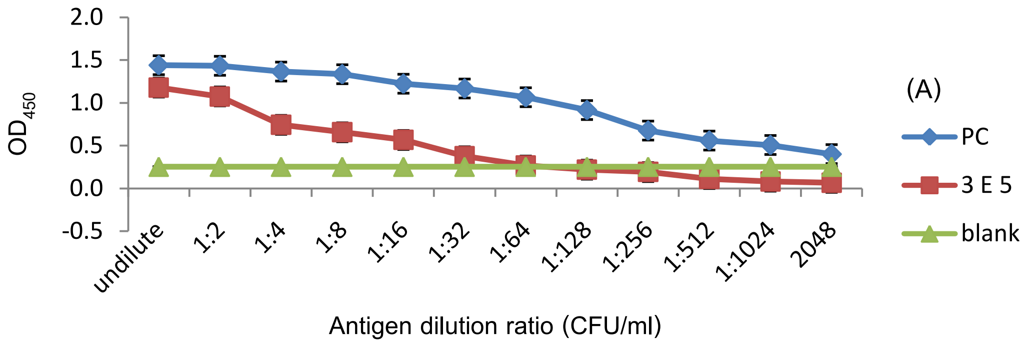


Figure 2 Indirect ELISA test result for sensitivity of mAb 3E5 and 6E7 (µg protein/ml).



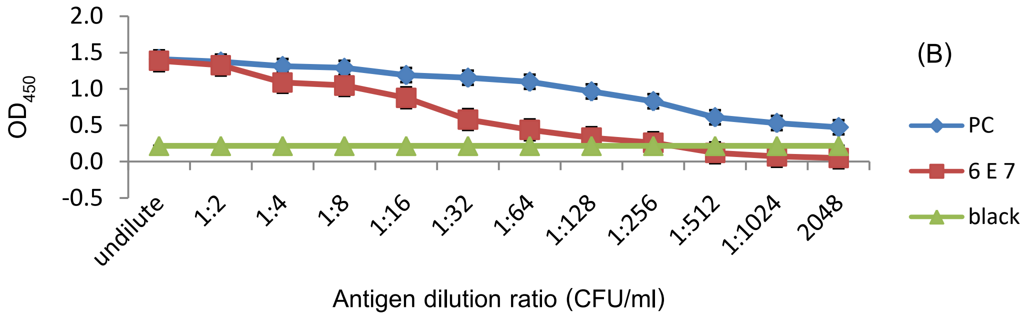
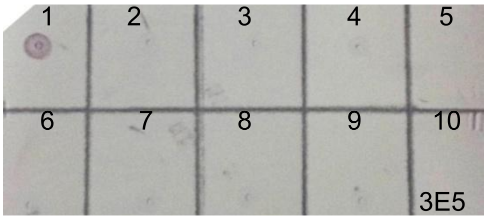


Figure 3 Indirect ELISA test result for sensitivity test of mAb 3E5 (A), 6E7(B) and positive control (1:3000 polyclonal antibody dilution) with 2-fold dilution of *E.coli* O157:H7 (2.02 x 10^7 CFU/ml)

ผลความไวของ mAb 3E5 และ 6E7 ต่อเชื้อ *E.coli* O157:H7 โดยเจือจางแอนติเจน 2-fold dilution โดยเริ่มจาก โปรตีนเริ่มต้น 20 µg protein/ml จากภาพที่ 2 และปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2.02 x 10^7 CFU/ml จากภาพที่ 3 โดยพบว่า mAb 3E5 ตรวจจับโปรตีนได้ต่ำสุดที่ 1.25 µg protein/ml หรือ ที่ปริมาณเชื้อต่ำสุด 3.125 x 10^5 CFU/ml ส่วน mAb 6E7 ตรวจจับโปรตีนได้ต่ำสุดที่ 0.1563 µg protein/ml หรือ ที่ปริมาณเชื้อต่ำสุด 7.813 x 10^4 CFU/ml

ความจำเพาะและความไวของ mAb ตรวจด้วยวิธี Dot enzyme-linked immunosorbent assay (Dot-ELISA)

ผลการตรวจหาความจำเพาะของ mAb 3E5 และ 6E7 ต่อเชื้อแบคทีเรีย 8 สายพันธุ์ และมี Negative control เรียงลำดับตามภาพที่ 4 ดังนี้ 1. *E. coli* O157:H7, 2. *C. freundii*, 3. *K. pneumonia*, 4. *P. aeruginosa*, 5. Negative control, 6. *E. coli*, 7. *S. flexneri*, 8. *P. vulgaris*, 9. *S. typhimurium* และ 10. Negative control



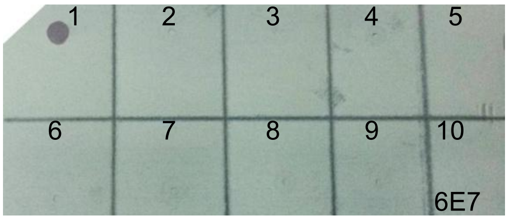


Figure 4 Dot ELISA test result for specificity of mAb 3E5 and 6E7 with various types of antigens.

จากภาพที่ 4 จะเห็นว่า mAb 3E5 และ 6E7 มีปฏิกิริยากับเชื้อ *E.coli* O157:H7 คือมีจุดสีม่วงเกิดขึ้นบริเวณตำแหน่งที่ 1 ในขณะที่ตำแหน่ง ที่ 2-9 ซึ่งเป็นเชื้อสายพันธุ์อื่นไม่เกิดสี แสดงว่า mAb 3E5 และ 6E7 มีความจำเพาะต่อเชื้อ *E.coli* O157:H7

ผลการตรวจหาความไวของ mAb 3E5 และ 6E7 ต่อ *E.coli* O157:H7 ซึ่งทดสอบด้วยวิธี Dot ELISA โดยเริ่มจากโปรตีน 20 µg protein/ml และทำเจือจางแบบ 2-fold dilution

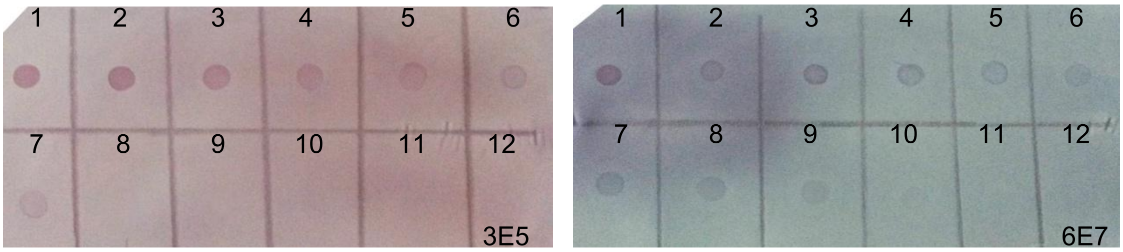


Figure 5 Dot ELISA test result for sensitivity of mAb 3E5 and 6E7 with serially dilution antigen.

จากภาพที่ 5 mAb 3E5 สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อ *E.coli* O157:H7 ซึ่งสามารถเห็นด้วยตาเปล่า ที่ระดับโปรตีน 0.3125 ug/ml (ตำแหน่งที่ 7) ส่วน mAb 6E7 สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อ *E.coli* O157:H7 ซึ่งสามารถเห็นด้วยตาเปล่า ที่ระดับโปรตีน 0.078 ug/ml (ตำแหน่งที่ 9)

ความจำเพาะของ mAb 3E5 และ 6E7 ตรวจด้วยเทคนิค SDS-PAGE และ Western blot

ผลการทดสอบด้วยเทคนิค SDS-PAGE แสดงในภาพที่ 6 และ Western blot แสดงผลในภาพที่ 7

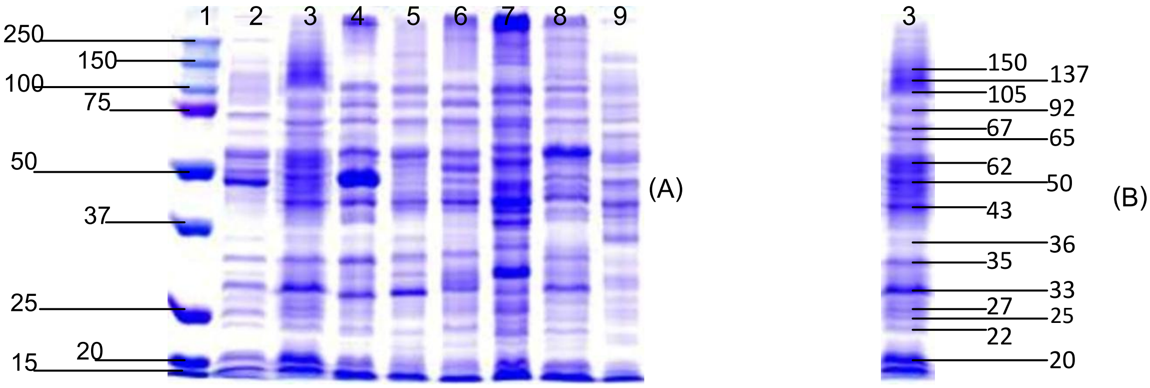


Figure 6 (A) SDS-PAGE protein pattern result of 8 bacteria. Number 1. Maker, 2. *E.coli*, 3. *E.coli* O157:H7, 4. *S. flexneri*, 5. *C. freundii*, 6. *S. typhimurium*, 7. *P. vulgaris*, 8. *K. pneumonia* และ 9. *P. aeruginosa*. (B) SDS-PAGE protein pattern of *E.coli* O157:H7

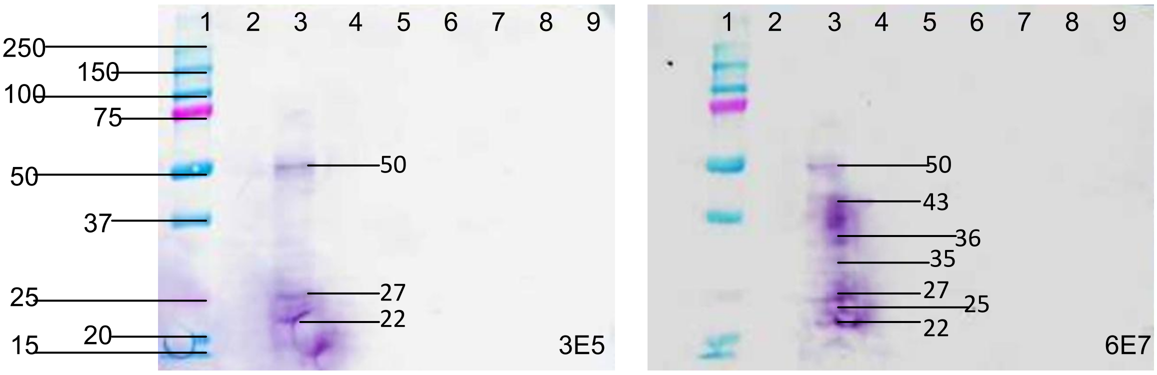


Figure 7 Western blot result of mAb 3E5 and 6E7

ผลการตรวจหาความจำเพาะโดยวิธี Western blot จากภาพที่ 7 ใช้เชื้อ 8 สายพันธุ์ ในการทดสอบ โดยเรียงตามลำดับตามแถวในภาพ ดังนี้ 1. Maker, 2. *E.coli*, 3. *E.coli* O157:H7, 4. *S. flexneri*, 5. *C. freundii*, 6. *S. typhimurium*, 7. *P. vulgaris*, 8. *K. pneumonia* และ 9. *P. Aeruginosa* จากการทดสอบความจำเพาะของ mAb 3E5 และ 6E7 พบว่ามีความจำเพาะต่อเชื้อ *E.coli* O157:H7 สังเกตจากมีสีม่วงปรากฏขึ้นเฉพาะในแถวที่ 3 ส่วนแถวอื่นๆไม่ปรากฏสี โดย mAb 3E5 สามารถจับกับโปรตีนของ *E.coli* O157:H7 ที่น้ำหนักโมเลกุล 22, 27 และ 50 kDa ส่วน mAb 6E7 สามารถจับกับโปรตีนของ *E.coli* O157:H7 ที่น้ำหนักโมเลกุล 22 , 25, 27, 33, 35, 36, 43 และ 50 kDa ที่หนักโมเลกุล 50 kDa คาดว่าเป็นบริเวณของโปรตีน *FliC* ของแฟลกเจลล่า (H-antigen) (Toth *et al*., 2003) น้ำหนักโมเลกุล 20-45 kDa คาดว่าเป็นบริเวณของ outer membrane proteins (O-antigen) และที่น้ำหนักโมเลกุล 43 kDa คาดว่าเป็นตำแหน่งที่สำคัญของ O-antigen (Westerman *et al*., 1997)

การทดสอบความจำเพาะของ mAb ด้วยวิธี Indirect immunofluorescence

ความจำเพาะของ mAb 3E5 และ 6E7 มีความจำเพาะสูงต่อเชื้อ *E.coli* O157:H7 โดยไม่ทำปฏิกิริยาต่อเชื้อแบคทีเรียอื่นที่ใช้ทดสอบ โดยพบว่าสไลด์ที่สเมียร์ด้วยเชื้อ *E.coli* O157:H7 และย้อมด้วย mAb 6E7 มีการย้อมติดเชื้อได้ดีกว่า mAb 3E5 แสดงผลในภาพที่ 8

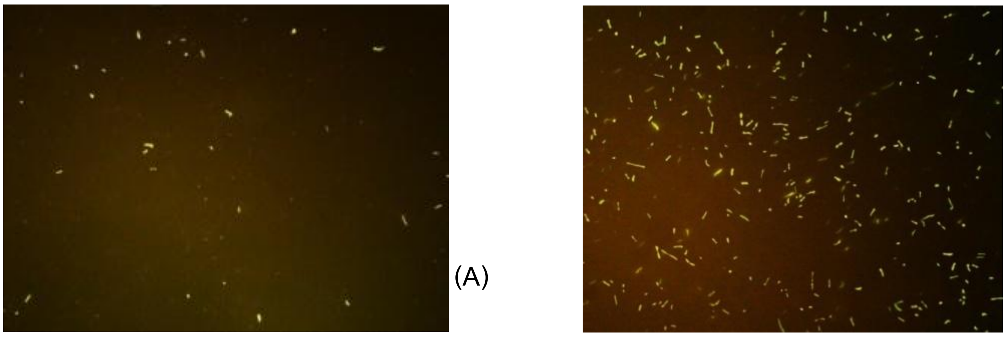

(A) (B)

Figure 8 Indirect immunofluorescence test of *E.coli* O157:H7. (A) stained with mAb 3E5, (B) stained with mAb 6E7.

สรุป

ผลการทดสอบความจำเพาะด้วยวิธี Indirect ELISA, Dot ELISA, Western blot และ Indirect immunofluorescence พบว่าโมโนโคลนอลแอนติบอดี 3E5 และ 6E7 มีความจำเพาะต่อเชื้อ *E.coli* O157:H7 โดย mAb 6E7 มีความจำเพาะสูงและเห็นปฏิกิริยาได้ชัดเจนกว่า mAb 3E5 และจากการทดสอบความไวด้วยวิธี Indirect ELISA, Dot ELISA พบว่า mAb 6E7 มีความไวในการตรวจหาเชื้อ *E.coli* O157:H7 ที่ปริมาณเชื้อต่ำสุด 7.813×10^4 CFU/ml ในณะที่ mAb 3E5 มีความไวในการตรวจหาเชื้อ *E.coli* O157:H7 ที่ปริมาณเชื้อต่ำสุด 3.125×10^5 CFU/ml ดังนั้น mAb 6E7 จึงน่าจะมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นชุดทดสอบอย่างรวดเร็วสำหรับตรวจหาเชื้อ *E.coli* O157:H7 ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในเรื่องวัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง และขอขอบคุณคณะอาจารย์ที่ปรึกษา ที่ช่วยดูแลและให้คำปรึกษาตลอดการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Burntte, W.N. 1981. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. **Journal of Biochemistry & Analytical Biochemistry** 112: 195-203.

Feng, P. 1995. *Escherichia coli* serotype O157:H7 novel vehicles of infection and emergence of phenotypic variants. **Emerging Infectious Diseases** 2: 47.

Griffin, P.M and R.V. Tauxe. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, Other Enterohemorragic *E.coli*, and the associated Hemolytic Uremic Syndrome. **Epidemiologic Reviews** 13: 60-98.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Journal of Nature** 227: 680-685.

Ludger, J and W. Romer. 2010. Shiga toxins-from cell biology to biomedical applications. **Nature Reviews Microbiology** 8:105-116.

McCrthy, M., C.C. Sarah. 2011. Optimization of Two Immunofluorescent Antibodies for the Detection of *Escherichia coli* Using Immunofluorescent Microscopy and Flow Cytometry. **Current Microbiology** 62: 402-408.

Riley, L.W., R.S. Remis and S.D. Helgerson. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. **New England Journal of Medicine** 308: 681-685.

Suh, J.K., C.J. Hovde and J.D. Robertus. 1998. Shiga toxins attacks bacterial ribosomes as effectively as eucarryotic ribosome. **Biochemistry** 37: 9394-9398.

Toth, I., C. Marta and L. Emody. 2003. Spontaneous Antibiotic Resistance Mutation Associated Pleiotropic Changes in *Escherichia coli* O157:H7. **Acta Veterinaria Hungarica** 51: 29–44.

Westerman, B.R., H.E. Yongsheng, J.E. Keen, E.T. Littledike and J.KWANG. Production and Characterization of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. **Journal Of Clinical Microbiology** 35: 679–684.

Yongsheng, H.E., E.K. James. B.W. Ralph. E.L. Travis and K. Jimmy. 1996. Monoclonal Antibodies for Detection of the H7 Antigen of *Escherichia coli.* **Applied and Environmental Microbiology** 62: 3325-3332.

ผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวผลมะกรูดและมะนาวต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans*

Effect of Essential Oils from Leaves and Peels of Kaffir lime(*Citrus hystrix* DC.) and Lime (*Citrus aurantifolia*) on Growth and Biofilm Formation of *Streptococcus mutans*

ลินจง สุขลำภู[1*] จุฑาพร พลนอก[1] ณัฏฐา จึงเจริญพาณิชย์[1] และ ณัฐวิภา เอการัมย์[1]

Linchong Suklampoo[1], Jutaporn Polnork, Nuttha Chuengcharoenphanich[1] and Natthawipa Ekaram[1]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์การศึกษาครั้งนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวผลมะกรูดและมะนาวต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Streptococcus mutans* จากการนำน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวผลมะกรูดและมะนาวมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ด้วยวิธี agar disc diffusion method และ agar dilution method พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ดีที่สุด (MIC = 0.5 mg/ml) เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมาศึกษาการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *S. mutans* พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยตั้งแต่ 2-6 เท่าของ MIC สามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อดังกล่าวได้ จากนั้นทดลองนำน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมาผสมในกัมมีเยลลี่ที่ความเข้มข้นเป็น 0.5 และ 1 เท่าของ MIC และนำกัมมีเยลลี่ที่ได้ไปประเมินการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มและความชอบทางด้านประสาทสัมผัส ผลการศึกษาพบว่ากัมมีเยลลี่ที่ผสมน้ำมันหอมระเหย 0.5 เท่าของค่า MIC สามารถลดการสร้างไบโอฟิล์มได้และผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังได้รับการยอมรับโดยรวมจากผู้บริโภค

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the efficiency of essential oils from leaves and peels of kaffir lime and lime on growth and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. The inhibitory effect of the essential oils from leaves and peels of kaffir lime and lime on *S. mutans* was studied by agar disc diffusion method and agar dilution method. The results showed that the essential oil from kaffir lime leaves exhibited the most inhibitory effect against *S. mutans* (MIC = 0.5 mg/ml). The kaffir lime leaves essential oil therefore, was further selected to investigate the inhibitory effect on bioflim formation. The results indicated that the essential oil at the concentration ranging from 2-6 xMIC inhibited the growth and biofilm formation of *S. mutans*. Then, the essential oil from kaffir lime leaves was added into gummy jelly at the concentration of 0.5x and one time of the obtained MIC and the biofilm inhibitory effect and the sensorial quality of the essential oil-gummy jelly were evaluated. It was found that the gummy jelly with 0.5xMIC essential oil could reduce biofilm formation, and exerted high overall acceptability from the panelist.

Key Words: Gummy jelly, biofilm formation, essential oil, *Streptococcus mutans*

*Corresponding author; e-mail address: linchong.su@kmitl.ac.th

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Biology, Faculty of science, King Mongkuts Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

คำนำ

โรคฟันผุเป็นโรคที่เกิดจากปัจจัยหลายอย่างได้แก่ ฟัน น้ำลาย แผ่นคราบน้ำลาย อาหารที่เป็นคาร์โบไฮเดรตจำพวกน้ำตาลเช่น ซูโครส กลูโครส และฟรุกโตส เป็นต้นรวมทั้งคราบจุลินทรีย์(Microbial bioflim) (ชุติมา,2554) จุลินทรีย์ที่พบในคราบจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคฟันผุได้แก่ *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบในช่องปากของมนุษย์โดยเฉพาะที่ผิวฟัน เชื้อนี้สามารถสร้าง extracellular polysaccharide (EPS) จากการใช้น้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นสาเหตุหลักในการเกิดคราบจุลินทรีย์หรือไบโอฟิล์ม (Biofilm) นอกจากนี้ *S. mutan* สามารถย่อยสลายอาหารประเภทน้ำตาลทำให้เกิดกรดแลคติกที่มีฤทธิ์ทำลายแร่ธาตุเคลือบฟันและเนื้อฟันส่วนที่โผล่ขึ้นมาในช่องปาก ทำให้เคลือบฟัน ตัวฟัน และรากฟันที่โผล่พ้นออกมาจากเหงือกถูกทำลายจนเกิดเป็นโพรงหรือเป็นรูตามฟันได้โดยง่ายเป็นผลทำให้เกิดฟันผุ (กรณิศ และชัชวาล, 2549) มีการศึกษาใช้พืชสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคฟันผุ (จันทร์จีราและคณะ, 2557; ปานตาและคณะ, 2555) เนื่องจากเป็นวิธีการที่ปลอดภัยแทนการใช้สารที่สังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการทางเคมี มะกรูด (*Citrus hystrix* DC.) และมะนาว (*Citrus aurantifolia*) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านของไทย ซึ่งมีรายงานว่าสารสกัดจากผิวมะกรูดด้วยเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Listeria monocytogenes* (Chanthaphon *et al.*, 2008) นอกจากนี้ ธิราภาและคณะ (2536) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากผิวพืชตระกูลส้มพบว่าสารสกัดจากผิวมะนาวด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

การศึกษาครั้งนี้จึงมีความสนใจที่จะนำใบและผิวผลมะกรูดเปรี้ยวพันธุ์พื้นเมือง ใบและผิวผลมะนาวพันธุ์แป้นรำไพมาสกัดน้ำมันหอมระเหยและนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์ม (คราบพลัก) ของเชื้อ *S. mutans* และหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ในการผลิตกัมมีเยลลี่เพื่อเป็นแนวทางในการใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุในผลิตภัณฑ์ลูกอม

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร

นำใบและผลมะกรูดเปรี้ยวพันธุ์พื้นเมือง ใบและผลมะนาวสายพันธุ์แป้นรำไพมาล้างด้วยน้ำสะอาด ใบมะกรูดและมะนาว หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ส่วนผลนำมา ปอกเปลือก หั่นเปลือกให้เป็นชิ้นเล็กๆ และสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยชุดเครื่องกลั่นไอน้ำ เก็บน้ำมันหอมระเหยที่ได้ในขวดสีชา เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป (ณิชากร และคณะ, 2547)

การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้ง *Streptococcus mutans* ATCC 25175

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้ง *Streptococcus mutans* ด้วยวิธี agar disc diffusion ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Diwan and Gadhikar (2014) โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเป็น 1,000 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียเท่ากับ McFarland No. 0.5 และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชุดควบคุมเชิงบวกจะใช้ยาปฏิชีวนะ Erythromycin ความเข้มข้น 15

ไมโครกรัมต่อแผ่น และใช้ DMSO ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุมเชิงลบ วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) โดยวัดเป็นหน่วยมิลลิเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S.mutans* ATCC 25175 (Minimal inhibitory concentration, MIC)

ทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. mutans* ด้วยวิธี agar dilution method ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sahin (2004) โดยผสมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในอาหาร Brain Heart Infusion (BHI) agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยสุดท้ายตั้งแต่ 0.031-8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเอียงหลอดทดสอบ เพื่อทำให้ผิวหน้าอาหารเอียง จากนั้นใช้ลูปแตะสารละลายเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No. 0.5 ลากลงบนอาหารแข็ง BHI ผิวเอียงที่เตรียมไว้ นำไปบ่มในสภาวะที่ไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของน้ำมันหอมระเหย ที่สามารถยับยั้ง *S. mutans* โดยพิจารณาความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ *S. mutans*

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม (Biofilm formation) ของเชื้อ *S. mutans*

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *S. mutans* โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Figueiredo *et al.* (2014) ดังนี้ ปิเปตซัสเพนชันของเชื้อ *S. mutans* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No. 0.5 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดอาหารที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion Sucrose (BHI-S) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดที่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เท่าของค่า MIC นำไปบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชุดควบคุมได้แก่หลอดอาหารที่ไม่เติมน้ำมันหอมระเหย และหลอดอาหารที่ผสม DMSO ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์แทนน้ำมันหอมระเหย ตรวจสอบผลโดยสังเกตความขุ่นของอาหารและสังเกตไบโอฟิล์มที่สร้างขึ้นบริเวณก้นในหลอดทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ประสิทธิภาพของของกัมมีเยลลี่ที่ผสมน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดต่อการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม

ทำการผลิตกัมมีเยลลีตามสูตรและวิธีการของ วิลาสินี (2552) โดยผสมน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.5 และ 1 เท่าของค่า MIC จากนั้นนำผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ที่ได้ไปทดสอบการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม โดยปิเปตซัสเพนชันของเชื้อ *S. mutans* ที่มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^8 cfu/ml ลงในอาหาร BHI-S ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ใส่ตัวอย่างกัมมีเยลลี่ที่ทำให้เป็นชิ้นเล็กๆ 0.5 กรัม ลงในอาหาร BHI-S ที่มีเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะไร้อากาศ ตรวจผลการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของกัมมีเยลลี่ที่ผสมน้ำมันหอมระเหยโดยการสังเกตไบโอฟิล์มที่สร้างขึ้นบริเวณก้นและด้านข้างของหลอดทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุมทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของกัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด

นำตัวอย่างกัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยเท่ากับ 0.5 เท่า และ 1 เท่าของค่า MIC มาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคด้านประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 – point hedonic scale และใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คน ทดสอบคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส กลิ่นก่อนและหลังชิม รสชาติ และความชอบโดยรวม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี agar disc diffusion method

ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรในขั้นต้นด้วยวิธี agar disc diffusion method ซึ่งผลการทดสอบพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมีค่าเฉลี่ยของบริเวณยับยั้งมากที่สุด ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากใบมะนาว ผิวผลมะกรูดและผิวผลมะนาว พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยมีบริเวณยับยั้งที่ความเข้มข้น 2000 มก./มล. อยู่ในช่วง 15.37-16.04 มม. (Table 1) มีรายงานการวิจัยถึงสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวมะกรูดได้แก่ l-limonene, Aterpineol, 2-beta-pinene,Terpinene-4-ol, alpha-terpinene และ alpha–terpinolene ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (Atti-Santos *et al*., 2005 ;Evbuomwan and Njoku, 2014) ส่วนสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวมะนาวได้แก่d-limonene , alpha-berpineol , bergamotene ผสมกับ terpinen-4-ol, alpha-pinene, geraniol, linalool, terpineol, camphene, bergapten (furanocoumarin) (http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=105) และเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมีองค์ประกอบและปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์หรือ ส่วนของพืชที่นำมาสกัด แหล่งเพาะปลูก วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น (Oualtara *et al*., 1997)

Table 1 Inhibition zone (mm) of essential oils on *S. mutans* by agar disc diffusion method

Essential oils	Concentration (mg/ml)		
	1,000	1,500	2,000
Kaffir lime peel	$8.72^{b} \pm 0.81$[1]	12.68^{b}[2] ± 1.75	$15.37^{b} \pm 2.50$
Kaffir lime leaf	$15.20^{a} \pm 0.32$	$18.56^{a} \pm 1.24$	$21.35^{a} \pm 2.21$
lime peel	$8.26^{b} \pm 0.51$	$11.46^{c} \pm 0.31$	$15.87^{b} \pm 1.55$
lime leaf	$9.16^{b} \pm 0.21$	$13.08^{b} \pm 1.32$	$16.04^{b} \pm 1.56$

[1] The diameter of paper disc (6 mm.) is included.

[2] a-c different letters in column are significantly different ($p<0.05$).

ผลการทดสอบการหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC)

ผลการทดสอบหาค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยจากใบและผิวผลมะกรูด ใบและผิวผลมะนาว ในยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* แสดงใน Table 2 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. mutans* ต่ำกว่าน้ำมันหอมระเหยของผิวผลมะกรูด ใบและผิวผลมะนาว ซึ่งหมายความว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า MIC ในยับยั้งการเจริญของเชื้อของน้ำมันหอมระเหยจากผิวผลมะกรูด ใบและผิวผลมะนาวมีค่า MIC เท่ากันคือ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่าในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบต้องใช้ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยสูงกว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดจึงจะยับยั้งการเจริญได้

เมื่อพิจารณาค่า MIC ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ของน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดและมะนาวพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. mutans* ได้ดีที่สุด จากการที่มีค่า MIC ที่ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงเลือกน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมาทำการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มจากเชื้อ *S. mutans* และนำมาพัฒนาเป็นส่วนผสมในกัมมีเยลลี่ต่อไป

Table 2 The minimal inhibitory concentration (MIC) of essential oils against *S. mutans*

Essential oils	Minimal inhibitory concentration, MIC) (mg/ml)
Kaffir lime leaf	0.5
Kaffir lime peel	3.0
lime leaf	3.0
lime peel	3.0

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม

จากศึกษาการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *S. mutans* โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร BHI-S ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดที่ปรับความเข้มข้นสุดท้ายของน้ำมันหอมระเหยเป็น 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เท่าของค่า MIC จากนั้นบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจผลในการยับยั้งไบโอฟิล์มที่สร้างโดยเชื้อ *S. mutans* ของน้ำมันหอมระเหยโดยการสังเกตความขุ่นของอาหารในหลอดทดลองและสังเกตไบโอฟิล์มที่สร้างขึ้นบริเวณก้นและด้านข้างของหลอด เมื่อทำการคว่ำหลอดทดสอบ

หลอดชุดควบคุม 2 หลอดได้แก่ หลอดที่ 1 ไม่ใส่น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด และหลอดที่ 2 ใช้ตัวทำละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 50 แทนน้ำมันหอมระเหย พบการเจริญของเชื้อ *S. mutans* โดยสังเกตจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดที่ความเข้มข้นเป็น 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เท่าของค่า MIC ตามลำดับ พบว่าการเติมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2 เท่าของ MIC ขึ้นไปไม่พบการเจริญของเชื้อนั่นคืออาหารยังคงมีลักษณะ

ใสหลังการบ่ม 48 ชั่วโมง และเมื่อพิจารณาผลการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม พบว่าในหลอดชุดควบคุมพบเชื้อ *S. mutans* มีการเจริญและสร้างไบโอฟิล์มได้ที่ก้นและด้านข้างหลอดทดสอบ โดยสังเกตได้จากคราบสีขาวขุ่นที่ปรากฏ หลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนหลอดที่ผสมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นเป็น 1 เท่าของค่า MIC ถึงแม้จะพบการเจริญของเชื้อ *S. mutans* แต่ไม่พบคราบสีขาวขุ่นบริเวณก้นหลอดเมื่อเปรียบเทียบกับหลอดชุดควบคุม ส่วนการเติมน้ำมันหอมระเหยเป็น 2, 3, 4, 5 และ 6 เท่าของค่า MIC ไม่พบการสร้างไบโอฟิล์มขึ้นในหลอดทดสอบ ซึ่งผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของ *S. mutans* อาจเป็นผลมาจากสารประกอบจำพวกเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) ที่พบอยู่ในน้ำมันหอมระเหยมีคุณสมบัติเป็นสารประกอบพวกไม่ชอบน้ำซึ่งจะสามารถเชื่อมเกาะเข้ากับส่วนที่ไม่ชอบน้ำบนพื้นผิวสัมผัส ดังนั้นจึงทำให้เกิดการขัดขวางการจับกันของไบโอฟิล์มที่สร้างขึ้นจากแบคทีเรียกับบริเวณพื้นผิวสัมผัส ซึ่งเป็นสาเหตุให้แบคทีเรียนั้นไม่สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้แม้ว่าจะมีการเจริญแล้วก็ตาม นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการยับยั้งเอนไซม์กลูโคลซิลทรานส์เฟอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่มีบทบาทในการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแบคทีเรีย (Figueiredo *et al.*, 2014)

ประสิทธิภาพการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของกัมมีเยลลี่ที่ผสมน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูด

ในการทดสอบเบื้องต้น ได้ทำการผลิตกัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของนำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดเท่ากับ 1 และ 2 เท่าของค่า MIC จากนั้นนำไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ ซึ่งผลการทดสอบพบว่ากัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดเป็น 1 เท่าของค่า MIC ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในกลิ่นและรสชาติของกัมมีเยลลี่อยู่ในระดับปานกลาง (5.35-6.25 คะแนน) ส่วนที่ความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของค่า MIC ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบเล็กน้อย (3.15-4.25 คะแนน) เนื่องจากกัมมีเยลลี่ที่ได้มีรสขมและมีกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมากจนเกินไป ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการทดลองลดความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเป็น 0.5 และ 1 เท่าของค่า MIC และนำกัมมีเยลลี่ที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม ซึ่งผลการทดลองพบว่ากัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดความเข้มข้นเป็น 0.5 และ 1 เท่าของค่า MIC สามารถลดการสร้างไบโอฟิล์มได้เมื่อเปรียบเทียบกับกัมมีเยลลี่ที่ไม่ผสมน้ำมันหอมระเหย (ชุดควบคุม) โดยกัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นเป็น 0.5 เท่าของค่า MIC สามารถลดการสร้างไบโอฟิล์มได้ไม่แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ 1 เท่าของค่า MIC โดยสังเกตลักษณะไบโอฟิล์มที่สร้างบริเวณด้านข้างหลอดทดสอบของชุดควบคุมเป็นสีขาวขุ่นหนาเห็นชัดเจนส่วนไบโอฟิล์มที่สร้างจากหลอดที่มีส่วนผสมของกัมมีเยลลี่ที่ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยเป็น 0.5 และ 1 เท่าของค่า MIC จะมีลักษณะที่บางกว่า และไม่ติดกันเป็นแผ่นหนา ดัง Figure 1

การทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดความเข้มข้น 0.5 เท่าและ 1 เท่าของค่า MIC

จากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดที่ความเข้มข้นเป็น 0.5 (สูตรที่ 1) และ 1 เท่า (สูตรที่ 2) ของค่า MIC โดยให้ผู้ทดสอบประเมินความชอบในด้านต่างๆ ได้แก่ กลิ่นมะกรูดก่อนและหลังชิม รสชาติ และความชอบโดยรวม ใช้การทดสอบแบบ 9 – point hedonic scale และใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คน ผลการทดสอบพบว่าผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่สูตรที่ 1 ที่

มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย 0.5 เท่าของค่า MIC มีคะแนนความชอบคุณลักษณะทางด้านกลิ่นมะกรูดก่อนและหลังชิม รสชาติ และความชอบโดยรวมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงใน Table 3

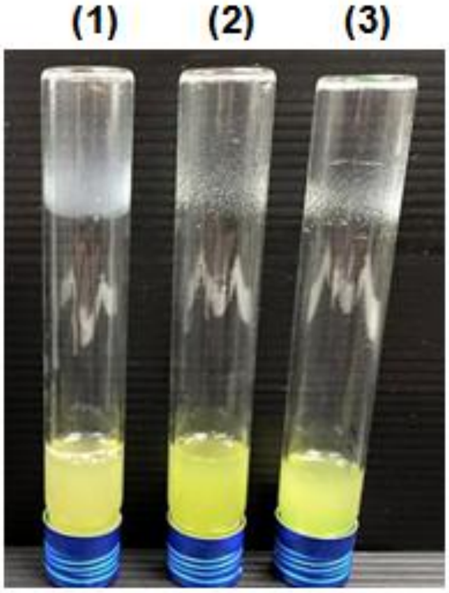


Figure 1 Anti-biofilm activity of gummy jelly with essential oil at concentrations of 0x (1), 0.5x (2) and 1.0x (3) MIC

Table 3 Sensory characteristics of gummy jelly with essential oil

Gummy jelly formulate	Sensory attributes			
	Kaffir lime odor before testing	Kaffir lime odor after testing	Flavor	Overall acceptability
1 [1]	5.35^{a3}±0.99	6.25^{a}±0.97	6.25^{a}±0.85	5.95^{a}±0.69
2 [2]	3.60^{b}±0.94	3.15^{b}±0.81	4.25^{b}± 0.72	3.80^{b}±0.41

[1] 1 = formulation with 0.5xMIC essential oil

[2] 2 = formulation with 1xMIC essential oil

[3] a-b different letters in column are significantly different ($p<0.05$)

สรุป

น้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. mutans* ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และน้ำมันหอมระเหยจากใบมะกรูดที่ความเข้มข้นในช่วง 2-6 เท่าของค่า MIC ไม่พบการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *S. mutans* เมื่อทดลองผสมน้ำมันหอมระเหยลงในกัมมีเยลลี่ที่ความเข้มข้นเป็น 0.5 และ 1 เท่าของค่า MIC พบว่ากัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นเป็น 0.5 เท่าของ MIC สามารถลดการสร้างไบโอฟิล์มได้ไม่แตกต่างจากการใช้น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นเป็น 1 เท่าของ MIC แต่จากการทดสอบความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่นั้น ผู้บริโภคให้

คะแนนความชอบโดยรวมต่อผลิตภัณฑ์กัมมีเยลลี่ที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย 0.5 เท่าของค่า MIC สูงสุดทุกคุณลักษณะที่ทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับกัมมีเยลลี่ที่ผสมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นเป็น 1 เท่าของ MIC

เอกสารอ้างอิง

กรณิศ วิรานุวัตร และชัชวาล ฐานมโนวงศ์. 2549. **น้ำยาบ้วนปากชนิดแกรนูลฟู่ของสารสกัดชาเขียวที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อในช่องปาก.** โครงการพิเศษ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

จันทร์จิรา บุญมา, นันทิยา จ้อยชะรัด และสุรศักดิ์ ลิ้มสุวรรณ. 2557. **เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านเชื้อ *Streptococcus mutans* ของชะเอมไทย.** การประชุมใหญ่และนำเสนอผลงานวิชาการระดับชาติ เรื่อง สหวิทยาการ ความหลากหลายของวัฒนธรรมสู่ประชาคมอาเซียน 17-18 กรกฎาคม 2557. โรงแรมธรรมรินทร์ธนา จังหวัดตรัง.

ชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์. 2554. **ทันตกรรมป้องกันในเด็กและวัยรุ่น.** ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 2. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ.

ธิราภา แสนเสนา นภดล กิตติวราฤทธิ์ มาลิน จุลศิริ และรุ่งระวี เติมศิริฤกษ์กุล. 2536. **ฤทธิ์ต้านเชื้อและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากผิวผลพืชตระกลูส้ม**. โครงการพิเศษ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ปานตา ตรีสุวรรณ, จอมใจ พีรพัฒนา, นาฎศจี นวลแก้ว, สุภาภรณ์ ฉัตรชัยวิวัฒนา, อาภา จันทร์เทวี และ อาริยา รัตนทองคำ. 2555. **ผลของสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มิวแทนส์ในห้องปฏิบัติการ.** การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานระดับชาติ The 4 th Annual Northest Pharmacy Research Conference of 2012. 11-12 กุทภาพันธ์ 2555. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ณิชากร เจริญกุล, ประภัสสร รักถาวร, สิริพร ศิริวรรณ, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2547. **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพลูและน้ำมันพลูในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังบางชนิด**. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. 3-6 กุมภาพันธ์ 2547. กรุงเทพฯ.

วิลาสินี ดีปัญญา. 2552. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์กัมมี่เยลลี่มะขาม.** ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณบำรุงการศึกษา, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

Atti-Santos, A.C., A Cassel, P. Moyna, M. Rossato and L.A. Serafini. 2005. Extraction of essential oils from lime (*Citrus Latifolia* Tanaka) by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide. Brazilian Archives of Biology and Technology 48(1): 155-160.

Chanthaphon, S., S. Chanthachum and T. Hongpaltarakere. 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* spp. against food-related microorganisms. Songklanakarin Journal of Science and Technology 30 (Supp1.1): 125-131.

Diwan, P. and Y.A. Gadhikar. 2014. Phytochemical composition and inhibition of oral pathogens by *Figus Benghalensis* (Linn) root extracts. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 6(3) : 975-1491.

Evbuomwan, B.O. and V.I. Njoku. 2014. Analysis and comparative study of essential oil extracted from nigerian orange, lemon and lime peels. **Greener Journal of Chemical Science and Technology** 1(1): 6-14.

Figueiredo, N.L., P.L. Falé, P.J. Amorim Madeira, M.H. Amorim Madeira and M.L.M. Serralheiro. 2014. Phytochemical analysis of *Plectranthus* sp. extracts and application in inhibition of dental bacteria, *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans.* **European Journal of Medicinal Plants** 4(7) :794-809.

Oualtara, B., R.E Simard, R.A.Holley, GJ Piette and A. Begin. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acid and essential oils againt six meat spoilage organism. **International Journal of Food Microbiology** 37(2-3): 155-162.

Sahin, F. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum Vulgare* spp. *Vulgare* in the Eastern Anatolia Region of Turkey. **Food Control** 15(7): 549-557.

[online] : http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=105 เข้าถึงวันที่ 15 ตค. 2559

ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบทุเรียนเทศ

Mutagenic activities of *Annona muricata* Linn. leaf extract

พราว ศุภจริยาวัตร[1*] และ สุจริต อุ่นกาศ[1]

Praw Suppajariyawat[1*] and Sutjarit aunkat[1]

บทคัดย่อ

ทุเรียนเทศ (*Annona muricata* Linn.) เป็นพืชที่ได้รับความสนใจจากประชาชนทั่วไปและนักวิจัยเป็นอย่างมาก โดยอ้างถึงสรรพคุณในการป้องกันและรักษาโรค โดยเฉพาะฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ แต่ข้อมูลด้านพิษวิทยามีอยู่น้อย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบทุเรียนเทศ 3 รูปแบบ ได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำจากใบสด (Anm-1) สารสกัดร้อนด้วยน้ำจากใบสด (Anm-2) และสารสกัดร้อนด้วยน้ำจากใบแห้ง (Anm-3) โดยใช้วิธีทดสอบเอมส์ (Ames test) ที่ขนาดทดสอบ 5 ระดับ (750, 1,500, 3,000, 6,000 และ 12,000 µg/plate) ในระบบที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้นการออกฤทธิ์ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบทุเรียนเทศทั้ง 3 รูปแบบ ทุกความเข้มข้นไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ และ Background lawn ปกติ จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นในเบื้องต้นว่า สารสกัดใบทุเรียนเทศอาจจะมีความปลอดภัยในการบริโภค ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเรื่องความปลอดภัยและเตือนภัยการบริโภคใบทุเรียนเทศแก่ประชาชน

ABSTRACT

Annona muricata Linn. is a medicinal plant that has been extremely interested from researchers and people regarding the properties for prevention and treatment of diseases especially killing tumor cells. However, the toxicological data is still limited. This study aimed to investigate the mutagenicity of the three forms of aqueous leaf extracts including; fresh leaf-blended extract (Anm-1), fresh leaf-refluxed extract (Anm-2) and dried leaf-refluxed extract (Anm-3). The Ames test was used to evaluate the toxicity at five different doses (750, 1,500, 3,000, 6,000 and 12,000 µg/plate) without metabolic activation. The results showed that the three forms and all treated levels did not cause mutagenicity activities with normal background lawn. This preliminary study indicated that *A. muricata* Leaf extract may be safe for consumption. The results of this research can be used as preliminary safety data for consuming the plant.

Key Words: *Annona muricata* Linn., mutagenic activities, leaf extract

* Corresponding author; e-mail address: **Praw.s@dmsc.mail.go.th**

[1]ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

[1]Toxicology Laboratory, Medicinal Plant Research Institute Department of Medical Sciences Nonthaburi 11000

คำนำ

ทุเรียนเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Annona muricata* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Annonaceae เป็นพืชที่ได้รับความสนใจจากประชาชนทั่วไปและนักวิจัยเป็นอย่างมากในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมา โดยอ้างถึงสรรพคุณในการป้องกันและรักษาโรค โดยเฉพาะฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ มะเร็งตับอ่อน มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น และประโยชน์ในด้านอื่น เช่น คุณค่าทางอาหาร บำรุงร่างกาย ฆ่าพยาธิ ฆ่าแมลงศัตรูพืช ต้านเชื้อแบคทีเรียหรือไวรัส เป็นต้น ทำให้มีการใช้หรือจำหน่ายผลิตภัณฑ์ทุเรียนเทศอย่างกว้างขวาง ในรูปแบบของ ชาชง ผงยาบรรจุแคปซูล หรือน้ำคั้นสด (Hamizah *et al*., 2012; Kim *et al*., 1998; Minari and Okeke, 2014; Moghadamtousi, 2014; Torres *et al*., 2012; Wu *et al*.,1995; Zeng *et al*., 1995)

ประเทศไทยนับเป็นแหล่งสำคัญในการเพาะปลูกทุเรียนเทศและประชาชนมีการบริโภคทุเรียนเทศและผลิตภัณฑ์อย่างมาก รวมถึงมีรายงานวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย ทุเรียนเทศจึงเป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพที่จะมีการศึกษาวิจัยใช้เป็นยารักษาโรคที่เป็นปัญหาด้านการแพทย์และสาธารณสุข ช่วยยกระดับหรือเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรและสนับสนุนการใช้สมุนไพรท้องถิ่น และเพื่อเป็นการผลักดันทุเรียนเทศเข้าสู่การเป็นสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทราบข้อมูลการศึกษาทางพิษวิทยาที่แน่นอนเพื่อประเมินความปลอดภัย เป็นการคุ้มครองผู้บริโภค ทำให้เกิดความปลอดภัยในการบริโภคหรือการพัฒนาเป็นยาเพื่อใช้ในทดสอบประสิทธิภาพการรักษาโรคในมนุษย์

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบทุเรียนเทศทั้ง 3รูปแบบได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำจากใบสด (Anm-1) สารสกัดร้อนด้วยน้ำจากใบสด (Anm-2) และสารสกัดร้อนด้วยน้ำจากใบแห้ง (Anm-3) โดยใช้วิธีทดสอบเอมส์ (Ames test) เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเรื่องความปลอดภัยและเตือนภัยการบริโภคใบทุเรียนเทศแก่ประชาชน

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ

ใบทุเรียนเทศเก็บจากจังหวัดพัทลุง ตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ตามหลักอนุกรมวิธานโดยนักพฤกษศาสตร์ ตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงในงานวิจัย หมายเลข DMSC 5187 เก็บในพิพิธภัณฑ์พืช สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ขั้นตอนการสกัด

สกัดแยก 3 แบบ ได้แก่ Anm-1 Anm-2 และ Anm-3 โดย Anm-1 และ Anm-2 ได้จากใบทุเรียนเทศสดล้างน้ำและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ Anm-1 นำไปปั่นละเอียดกับน้ำกลั่นด้วยเครื่องปั่นผสมสมุนไพร Anm-2 สกัดโดยการต้มในน้ำกลั่นด้วยวิธีรีฟลักซ์นาน 1 ชั่วโมง (3ซ้ำ) ส่วน Anm-3 ได้จากใบสดอบแห้งในตู้อบแห้งสมุนไพรที่อุณหภูมิ 45–50 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง บดเป็นผงหยาบด้วยเครื่องบดสมุนไพรสกัดโดยการต้มในน้ำกลั่นด้วยวิธีรีฟลักซ์นาน 1 ชั่วโมง (3ซ้ำ) กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง ระเหยสารสกัดให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Lyophilizer) เก็บผงแห้งสารสกัดสมุนไพรในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนการทดสอบคุณสมบัติเชื้อ

1. **ความต้องการกรดอะมิโนฮิสทิดีน**

เตรียม glucose agar plate เคลือบผิววุ้นด้วย 0.1 M L-Histidine และ 1 mM D-Biotin ดังนี้ เพลทที่ 1 ไม่เคลือบผิววุ้น เพลทที่ 2 เคลือบผิววุ้นด้วย 1 mM D-Biotin ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เพลทที่ 3 เคลือบผิววุ้นด้วย 0.1 M L-Histidine ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เพลทที่ 4 เคลือบผิววุ้นด้วย 0.1 M L-Histidine ปริมาณ 100 ไมโครลิตร รอให้แห้ง แล้วเคลือบ 1 mM D-Biotin ปริมาณ 100 ไมโครลิตร นำ Single colony ที่เลี้ยงไว้ 1 คืน ไปขีดลงบนวุ้น นำเพลทบ่มที่ตู้ Incubator ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียที่มีการเจริญมากที่สุดคือ เพลทที่ 4 ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการทดลองเพื่อทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ได้

2. **การตรวจ rfa mutation และ R-factor**

เตรียม glucose agar plate ที่ไม่ได้เคลือบผิววุ้น ผสม 0.1 M L-Histidine ปริมาณ 100 ไมโครลิตร กับ bacterial culture ปริมาณ 300 ไมโครลิตร เติม Top agar ที่มีส่วนผสมของ 0.5 mM Histidine+0.5 mM Biotin ปริมาณ 2000 ไมโครลิตร แล้วเทส่วนผสมลงบน glucose agar plate จุ่ม Blank paper disc ที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงใน 0.1% crystal violet วางลงบนเพลทไว้ด้านใดด้านหนึ่ง แล้วจุ่ม Blank paper disc ใน ampicillin วางไว้อีกด้านหนึ่งของเพลท นำเพลทบ่มที่ตู้ Incubator ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูผลการทดสอบโดยสังเกตรอบๆ Blank paper disc ที่จุ่ม 0.1% crystal violet ถ้าเป็นเชื้อที่มี rfa จะเห็นวงกลมใส (Clear zone) คือไม่มีแบคทีเรียเจริญอยู่ โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ประมาณ 12-14 มิลลิลิตร ส่วนผลการทดสอบ R-factor สังเกตเห็นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรอบๆ Blank paper disc ที่จุ่ม ampicillin เพราะมีR-factor ซึ่งทำให้แบคทีเรียต้านทาน ampicillin ได้

3. **การตรวจ Uvr B mutation**

เตรียม glucose agar plate ที่เคลือบผิววุ้นด้วย 0.1 M L-Histidine และ 1 mM D-Biotin ใช้ Loop แตะ Overnight culture ของแบคทีเรีย แล้วขีดลงบนวุ้น 2 รอยขนานกัน นำอะลูมิเนียมฟอยล์ปิดเพลทไว้ด้านใดด้านหนึ่ง จากนั้นนำเพลทวางใต้หลอดกำเนิดแสง UV ทำการเปิด UV นาน 8 วินาที ปิดหลอด UV และนำเพลทบ่มที่ตู้ Incubator ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็น uvr B mutation จะไม่เจริญเมื่อถูกแสง UV แต่ด้านที่ไม่ถูกแสงจะเจริญเป็นโคโลนีให้เห็น

ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้วิธีเอมส์ (อ้างอิงวิธีจาก OECD,1997)

ในการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ใช้วิธี preincubation method โดยนำสารสกัดใบทุเรียนเทศทั้ง 3 รูปแบบ ที่ระดับ 5 ความเข้มข้น 750, 1,500, 3,000, 6,000 และ 12,000 µg/plate ผสมกับเชื้อที่ใช้ทดสอบ 0.1 มิลลิลิตร (เชื้อที่ใช้คือ *Salmonella typhimurium* TA98 และ TA100 ที่เลี้ยงไว้ 16-18 ชั่วโมง ให้ค่า OD 620 เท่ากับ 0.3-0.4) ในการทดลองอยู่ในระบบไม่มีเอนไซม์กระตุ้น ทำการเติม 0.1M $NaPO_4$-KCL buffer ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ความเข้มข้นลงในแต่ละหลอด จากนั้นบ่มพร้อมเขย่า ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 นาที แล้วนำมาเติม top agar และเทลง minimal glucose agar plate และ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำเพลทมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Inverted Microscope ว่าเกิด killing effect บน background lawn หรือไม่ จากนั้นทำเพลทมานับจำนวน revertant colony การแปลผลคือ ถ้าสารที่สดสอบมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์จะพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสมุนไพรที่ทดสอบกับจำนวน His^+ revertant colony เพิ่มขึ้นด้วย และพบว่ามีอย่างน้อย 2 ความเข้มข้นที่ให้จำนวนแบคทีเรียกลายพันธุ์มี

จำนวนมากกว่าจำนวนที่กลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (Negative control) ในขณะเดียวกันต้องมีอย่างน้อยที่ความเข้มข้นจุดหนึ่ง สามารถทำให้จำนวนแบคทีเรียกลายพันธุ์สูงเกิน 2 เท่า ของการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ จึงนับว่าสารที่นำมาสอบนี้เป็นสารก่อกลายพันธุ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

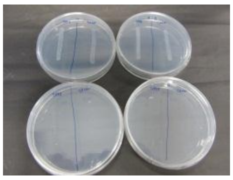
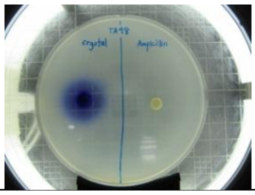
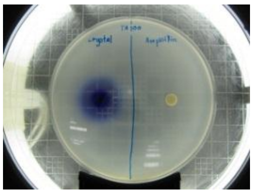
ผลการสกัด Anm-1 Anm-2 **และ** Anm-3

ผลการวิเคราะห์สมุนไพรเบื้องต้นผลผลิตที่ได้คิดเป็นร้อยละ (% Yield) ผงแห้งสารสกัด Anm-1 Anm-2 และ Anm-3 เท่ากับ 9.97, 9.70 และ 26.19 ตามลำดับ

ผลขั้นตอนการทดสอบคุณสมบัติเชื้อ 3 **ลักษณะ**

ผลการตรวจคุณสมบัติเชื้อก่อนทำการทดสอบเอมส์พบว่า เชื้อ *S. typhimurium* ทั้ง 2 สายพันธุ์ มีคุณสมบัติครบทั้ง 3 การทดสอบคือ ความต้องการกรดอะมิโนฮิสทิดีน rfa mutation R-factor และ Uvr B mutation (Table 1)

Table 1 Properties of *S. typhimurium* TA98 and TA100

Test strain	Properties of *S.typhimurium*							
	Histidine requirement					rfa mutation and R-factor	Uvr B mutation	
	Neg	His	Bi	His+bi			UV.	No UV.
TA98	-	++	-	+++			-	+++
TA100	-	++	+	+++			-	+++

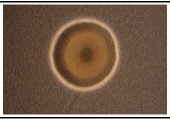
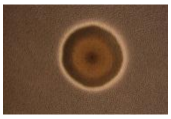
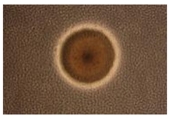
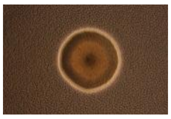
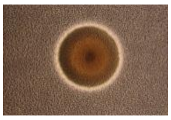
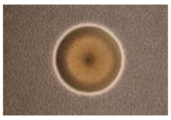
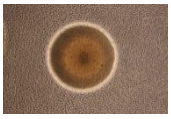
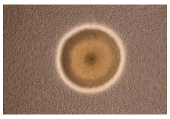
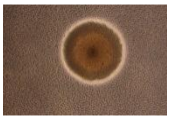
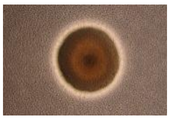
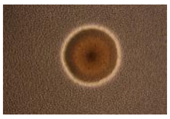
หมายเหตุ: เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ
เครื่องหมาย ++ หมายถึง เชื้อมีการเจริญแต่ไม่เท่ากับ +++
เครื่องหมาย +++ หมายถึง เชื้อมีการเจริญมากที่สุด

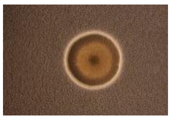
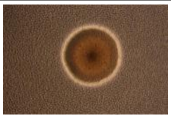
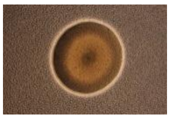
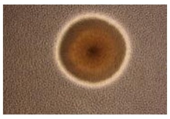
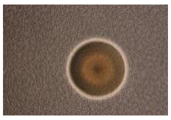
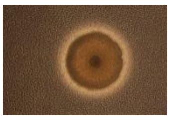
ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยใช้วิธีเอมส์

การศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดใบทุเรียนเทศที่มีการสกัดแบ่งเป็น 3 รูปแบบ คือ ANM-1, ANM-2 และ ANM-3 โดยใช้แบคทีเรีย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA 100 ในระบบไม่มีเอนไซม์กระตุ้น แบ่งความเข้มข้นออกเป็น 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 750, 1,500, 3,000, 6,000 และ 12,000 µg/plate ผลการทดลองพบว่า สารสกัดใบทุเรียนเทศทุกความเข้มข้นไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ การศึกษานี้พบว่า สารสกัดทั้ง

3 รูปแบบ ไม่ทำให้มี revertant colony สูงกว่าค่า Negative control และเมื่อทำการส่องเพลทภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดู background lawn ไม่พบความผิดปกติของเชื้อ เมื่อเทียบกับ negative control (Table 2)

Table 2 Mutagenicity of plant water extract on *S.typhimurium* TA98 and TA100

Type of medicinal plants	Dose (μg/plate)	Background lawn		Revertant Colonies	
		TA98	TA100	TA98	TA100
ANM-1	Negatve			28.33 ± 1.53	110.33 ± 1.02
	750			41.53 ± 3.06	133.67 ± 5.03
	1,500			38.49 ± 1.13	120.00 ± 9.58
	3,000			31.12 ± 6.63	112.33 ± 9.07
	6,000			29.33 ± 5.69	117.00 ± 6.52
	12,000			21.33 ± 4.93	99.00 ± 5.59
ANM-2	Negative			27.00 ± 3.00	111.00 ± 4.80
	750			33.67 ± 9.02	125.33 ± 2.59
	1,500			30.33 ± 2.01	120.00 ± 1.58
	3,000			35.00 ± 5.56	112.33 ± 9.05
	6,000			34.67 ± 9.50	125.33 ± 2.59

Type of medicinal plants	Dose (µg/plate)	Background lawn		Revertant Colonies	
		TA98	TA100	TA98	TA100
	12,000			27.33 ± 4.16	119.00 ± 5.52
ANM-3	Negative			22.67 ± 3.06	123.00 ± 9.90
	750			27.33 ± 5.69	112.50 ± 4.95
	1,500			29.50 ± 6.36	120.50 ± 4.92
	3,000			30.50 ± 2.51	132.50 ± 9.19
	6,000			38.00 ± 6.90	122.00 ± 7.07
	12,000			37.00 ± 2.94	120.00 ± 5.56

สรุป

การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สารสกัดใบทุเรียนเทศที่มีการสกัดแตกต่างกันทั้ง 3 รูปแบบ น่าจะมีความปลอดภัยที่จะบริโภค เนื่องจากให้ผลลบต่อการทดสอบโดยวิธีเอมส์ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่กำหนดให้ใช้ทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีหรือผลิตภัณฑ์สำหรับการบริโภค และการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อชี้ให้เห็นถึงข้อมูลเบื้องต้นทางพิษวิทยาของสารสกัดสมุนไพร สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเรื่องความปลอดภัยและเตือนภัยการบริโภคใบทุเรียนเทศแก่ประชาชน ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจในการนำสารสกัดน้ำใบทุเรียนเทศไปทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินงบประมาณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการพิพิธภัณฑ์พืชในการจัดหาและระบุตัวอย่างใบทุเรียนเทศ และศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร จัดเตรียมสารสกัดสมุนไพรใบทุเรียนเทศ

เอกสารอ้างอิง

Hamizah, S., A.H. Roslida, O. Fezah, K.L. Tan , Y.S. Tor and C.I.Tan. 2012. Chemopreventive potential of *Annona Muricata* L leaves on chemically-induced skin papillomagenesis in mice. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention** 13: 2533-2539.

Kim, G.S., .L. Zeng, F. Alali, L.L. Rogers, F.E Wu, J.L. Mclaughlin and S. Sastrodihardjo. 1998. Two new mono-tetrahydrofuran ring Acetogenins, Annomuricin E and Muricapentocin, from the leaves of *Annona muricata*. **Journal of Natural Products** 61: 432-436.

Minari, J.B. and U. Okeke. 2014. Chemopreventive effect of *Annona muricata* on DMBA-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice. **Egyptian Journal of Medical Human Genetics** 15: 327-324.

Moghadamtousi, S.Z., H. Karimian., E. Rouhollahi., M. Paydar., M. Fadaeinasab., H.K. Abdul. 2014. *Annona muricata* leaves induce G1 cell cycle arrest and apoptosis through mitochondria-mediatedpathwayinhuman. **Journal of Ethnopharmacology** 156: 277-289.

OECD, 1997. Guideline for testing of chemical: Bacterial reverse mutation test(471).OECD, Paris, France.11 pages.

Torres, M.P., S. Rachagani, V. Purohit, *et al*. 2012. Graviola: a novel promising natural-derived drug that inhibits tumorigenicity and metastasis of pancreatic cancer cells *in vitro* and *in vivo* through altering cell metabolism. **Cancer Letters** 323: 29–40.

Wu, F.E., G.X. Zhoa., L. Zeng, *et al*. 1995. Additional bioactive Acetogenins, Annomutacin from the leaves of *Annona muricata* and (2,4-trans and cis) 10R- Annonacin-A-ones. **Journal of Natural Products** 58(9): 1430-1437.

Wu, F.E., L. Feng, Z.H.Gu., *et al*. 1995. New bioactive monotetrahydrofuran annonaceous Acetogenins, Annomuricin C and Muricatocin C, from the leaves of *Annona muricata*. **Journal of Natural Products** 58(6): 909-915.

Zeng,L., F.E. Wu, N.H. Oberlies, *et al*. 1996. Five New Monotetrahydrofuran Ring Acetogenins from the Leaves of *Annona muricata*. **Journal of Natural Products** 59: 1035-1042.

การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบบัวหลวง

Acute toxicity study of *Nelumbo nucifera* Gaertn. leaf extract

พรชัย สินเจริญโภไคย[1*]

Pornchai Sincharoenpokai[1*]

บทคัดย่อ

บัวหลวงเป็นพืชที่ใช้เป็นยาพื้นบ้านมาแต่โบราณจนถึงปัจจุบัน และมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ลดปริมาณไขมันในเลือด ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง และฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชัน เป็นต้น บัวหลวงจึงเป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพสูงที่ควรมีการศึกษาทางพิษวิทยาเพื่อเป็นข้อมูลคุ้มครองผู้บริโภคและส่งเสริมการใช้บัวหลวงได้อย่างมั่นใจ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบบัวหลวงด้วย 95%เอธานอล (NN-1) โดยดำเนินการศึกษาตาม OECD Guideline (TG423) ผลการทดลองพบว่าหนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัดในขนาด 5,000 มก./กก. ไม่แสดงอาการผิดปกติภายหลังได้รับตัวอย่าง หนูทุกตัวมีชีวิตรอดจนครบกำหนด ผลการผ่าซากชันสูตรไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในทางมหพยาธิวิทยาของหนูกลุ่มทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ผลการตรวจหาความผิดปกติของอวัยวะภายในทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ดังนั้น สารสกัด NN-1 ไม่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลัน ขนาดของตัวอย่างที่ทำให้หนูถีบจักรตายร้อยละ 50 (LD_{50}) ควรมีค่ามากกว่า 5,000 มก./กก. ระดับความเป็นพิษของตัวอย่างนี้จัดอยู่ใน Category 5

ABSTRACT

Nelumbo nucifera Gaertn. has been used as a folk medicine since ancient times. Pharmacological studies showed hypolipidermic, anti-cancer and anti-oxidation activities. *N. nucifera* is a high potential herb needed to be studied toxicity which will provide safety information and help promote the herb's usage more confidently. This study aimed at investigating the acute toxicity of the 95% ethanolic leaf extract (NN-1). Acute toxicity study complied with OECD Guideline (TG423). The results revealed that mice receiving extract at the dose of 5,000 mg/kg had no abnormal signs after receiving the sample. All experimental mice survived till the end of the experiment. Necropsy revealed no gross lesions in the visceral organs when compared with the control group. The incidence of histopathological lesions in some organs was not different form the control group. Therefore, NN-1 did not produce any acute toxicity and the LD_{50} of the sample should be more than 5,000 mg/kg body weight. The toxicity category of the sample was classified as Category 5.

Key Words: *Nelumbo nucifera* Gaertn., leaf extract, acute toxicity

* Corresponding author; e-mail address: pornchai.s@dmsc.mail.go.th

[1]ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

[1]Toxicology Laboratory, Medicinal Plant Research Institute Department of Medical Sciences Nonthaburi 11000

คำนำ

บัวหลวงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Nelumbo nucifera* Gaertn. วงศ์ Nelumbonaceae มีชื่อท้องถิ่นเรียกแตกต่างกัน ได้แก่ บัว สัตตบงกช สัตตบุษย์ อุบล เป็นต้น ส่วนที่ใช้ประกอบในเครื่องยาไทยคือเกสรตัวผู้ของดอกบัวหลวง เก็บเมื่อดอกบานเต็มที่ ดอกแห้งจะเป็นเส้นมีสีเหลือง กลิ่นหอม รสฝาด เกสรมีลักษณะเป็นเส้นบางๆ สีเหลืองอ่อน หรือสีน้ำตาลเหลือง ส่วนก้านชูเกสรตัวผู้ สีม่วงอ่อนมีกลิ่นหอมเฉพาะ รสฝาด สรรพคุณใช้บำรุงหัวใจ ทำให้ชุ่มชื่น บำรุงปอด บำรุงตับ บำรุงกำลัง คุมธาตุ แก้ล้ม แก้ไข้ (สุดารัตน์, 2556) สารสำคัญในบัวหลวงพบว่าประกอบด้วยสารหลักคือ Nuciferine, pronuciferine, roemerine, asimilobine, lirinidine, nornuciferine, *O*-nornuciferine และ *N*- nornuciferine ส่วนเมล็ดประกอบด้วย liensinine และ lotusine ส่วนของฝักประกอบด้วย Nuciferine, *N*-nornuciferine, oxoushinunine และ *N*-norarmepavine (อัญชลี, 2546) และส่วนของใบประกอบด้วย norsesquiterpenes, luteolin, quercetin 3-O-β-D-glucuronide, quercetin 3-O-β-D-glucoside, isorhamnetin 3-O-rutinoside และ triterpenes (Kim *et al*., 2009) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง เช่นสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของผงดอกมีฤทธิ์ลดปริมาณไขมันในเลือดของกระต่ายปกติและมีฤทธิ์เทียบเท่ากับ 50% ของยามาตรฐาน Tolbutamide ขนาด 150 g/kg (อัญชลี, 2546) สารสกัดด้วยเมทานอล 80% ส่วนใบของบัวหลวงซึ่งแยกได้สาร Luteolin, Alphitolic acid, Maslinic acid และ N-Methylasimilobine ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง A549, SK-OV-3, SK-MEL-2 และ HCT15 ด้วยวิธี SRB assay พบฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้ง 4 ชนิด ให้ค่า IC_{50} ระหว่าง 2.8-16.5 µM เมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Doxorubicin ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์ทั้ง 4 ชนิด ให้ค่า 0.007, 0.056, 0.117 และ 0.164 µM ตามลำดับ (Kim *et al*., 2009) สารสกัดฟลาโวนอยด์จากส่วนของใบด้วยเมทานอลทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical assay ยังพบฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันและชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL (Lin *et al*., 2009) สารอัลคาลอยด์หลายชนิดจากส่วนของใบบัวหลวงพบฤทธิ์ต้านการทำงานของ pancreatic lipase และพบฤทธิ์ต้านการเปลี่ยนแปลง (differentiation) ของเซลล์ไขมัน (adipocyte) (Ahn *et al*., 2013) นอกจากนี้ยังมีงานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์โดยใช้สารสกัดเอทานอลจากสมุนไพรใบบัวหลวง(Nn-Ec) ซึ่งเป็นสารประกอบ PVP และมีปริมาณสารสกัด 20% มีฤทธิ์ยับยังเอนไซม์ pancreatic lipase ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 398.3 µg/ml เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Oristat และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG CoA reductase 40.22% ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 398.3 µg/ml เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน prevastatin และให้ค่ายับยั้งเอนไซม์สูงขึ้นเมื่อแยกสกัดสารให้มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น (สมจิตร์ และคณะ, 2553)

จากข้อมูลข้อมูลดังที่กล่าวมาในข้างต้นจะเห็นได้ว่าใบบัวหลวงเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลายเหมาะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพป้องกันโรคต่าง ๆ ส่งเสริมให้ประชาชนมีสุขภาพที่ดีลดภาระค่าใช้จ่ายในการรักษาสุขภาพ และสนับสนุนการใช้สมุนไพรภายในประเทศไทยทดแทนการใช้ยาแผนปัจจุบัน แต่การพัฒนาสมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพนั้นไม่ได้เป็นไปตามองค์ความรู้การใช้รักษามาแต่โบราณและไม่มีข้อมูลการใช้มาก่อน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรชนิดนั้น ๆ ก่อนส่งเสริมให้ประชาชนบริโภค โครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบบัวหลวงเพื่อให้ได้ข้อมูลความปลอดภัยเบื้องต้นของสารสกัดใบบัวหลวงเพื่อใช้แจ้งเตือนภัยและคุ้มครองผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดสารสกัดใบบัวหลวง

นำใบบัวหลวงมาสกัดด้วย 95% เอธานอล ด้วยวิธี soxhlet extraction จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง ระเหยสารสกัดให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) และทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Lyophilizer) เก็บผงแห้งสารสกัดใบบัวหลวง (NN-1) ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 ^{o}C (สมจิตร์ และคณะ, 2553)

วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธีกราวิเมตริกและปริมาณซาโปนินรวม

นำถ้วยอบตัวอย่างพร้อมฝาปิดอบในตู้ที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกใส่โถดูดความชื้นและทิ้งให้เย็น นำมาชั่งบันทึกน้ำหนัก จากนั้นชั่งตัวอย่างสารสกัดใบบัวหลวงใส่ลงในถ้วยอบบันทึกน้ำหนัก ปิดฝาถ้วย นำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ แล้วจึงนำค่าน้ำหนักที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้น (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย, 2536) และวิเคราะห์ปริมาณซาโปนินรวมตามวิธีของภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (2534)

สัตว์ทดลอง

หนูถีบจักรสายพันธุ์ไอซีอาร์เพศเมีย น้ำหนักตัวระหว่าง 20 ถึง 25 กรัม จำนวน 6 ตัว จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองระดับ strict conventional hygienic ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 22±3 ^{o}C ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50-60 ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูป 082 CP® feed ของบริษัท Perfect Companion Group ประเทศไทย จำกัด และน้ำกรองที่สะอาดไม่จำกัดปริมาณ ก่อนดำเนินการทดสอบพิษเฉียบพลันทำการเลี้ยงหนูถีบจักรเพื่อให้คุ้นชินกับสภาวะแวดล้อมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอดอาหารหนูถีบจักรก่อนดำเนินการทดสอบเป็นเวลา 2 ชั่วโมง การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากใบบัวหลวงได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เอกสารควบคุมโครงการหมายเลข 59-010

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน

ดำเนินการทดสอบตาม OECD Guideline, 2001 (TG 423) โดยแบ่งหนูถีบจักรเพศเมียออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ตัว กลุ่มแรกควบคุมได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่สองเป็นกลุ่มได้รับสารสกัดใบบัวหลวงทางปากในขนาด 5,000 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม สังเกตอาการและการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ได้แก่ การทรงตัวผิดปกติ (abnormal posture) รอยเปียกปัสสาวะ (urine stain) รอยเปรอะเปื้อนรอบทวารหนัก (perianal soiling) หนังสีเขียวเนื่องจากอยู่ในภาวะขาดออกซิเจน (cyanosis) มีบาดแผล (wound) ขนร่วง (alopecia) ขนฟู (ruffled fur) สารคัดหลั่งไหลจากตา (discharge) น้ำมูกไหล (nasal discharge) หายใจลำบาก (dyspnea) หายใจเร็ว (tachypnea) สีของปัสสาวะ ลักษณะอุจจาระ และการเคลื่อนที่ อย่างใกล้ชิดใน 6 ชั่วโมงแรกและต่อไปทุกวัน พร้อมบันทึกจำนวนหนูตาย เมื่อครบกำหนด 14 วัน ทำการุณยฆาต (euthanasia) สัตว์ทดลอง โดยใช้เครื่องดมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และผ่าซากชันสูตรตรวจหาความผิดปกติของอวัยวะสมอง ปอด หัวใจ ตับ ตับอ่อน กระเพาะอาหาร และไต ทางมหพยาธิวิทยา (gross lesions) และเก็บตัวอย่างอวัยวะดังกล่าวแช่น้ำยาบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10 แล้วนำไปผ่านกระบวนการเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อทางจุลกายวิภาคศาสตร์ (histology) เพื่อตรวจหาความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาใช้ Fisher exact test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการสกัดสารสกัดใบบัวหลวง

นำสารสกัด NN-1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธีกราวิเมตริก มีปริมาณความชื้น เท่ากับ 17.69% โดยน้ำหนัก และมีปริมาณซาโปนินรวม เท่ากับ 34.18% โดยน้ำหนัก

ผลการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน

บริหารสารสกัด NN-1 ในขนาด 5,000 มก./กก. ให้หนูถีบจักรจากนั้นสังเกตอาการพิษเฉียบพลันจนครับระยะเวลา 14 วัน และผ่าซากชันสูตร หนูในกลุ่มทดลองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรมและไม่ความผิดปกติทางมหพยาธิวิทยาจากการผ่าซากชันสูตรเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อตรวจความผิดปกติของอวัยวะภายในทางจุลพยาธิวิทยาหนูถีบจักรที่ได้รับสารสกัด NN-1 พบรอยโรคของการเสื่อมของไขมันในตับ (Fatty degeneration) บริเวณรอบ portal area เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม (Table 1 และ Figure 1)

Table 1 Histopathological results of acute toxicity receiving NN-1

Organs	Microscopic findings	Female	
		Control	Dose of NN-1 (mg/kg)
		DW	5000
Brain		-	-
Lung		NRL	NRL
Heart		-	-
Liver	Fatty degeneration	2/3	2/3
Pancreas		-	-
Stomach		-	-
Kidney		-	-

Data shown were number of mice with histopathological lesions/total number of rats in each group
(DW: Distilled water, - = No lesion in section, NRL = No remarkable lesion)

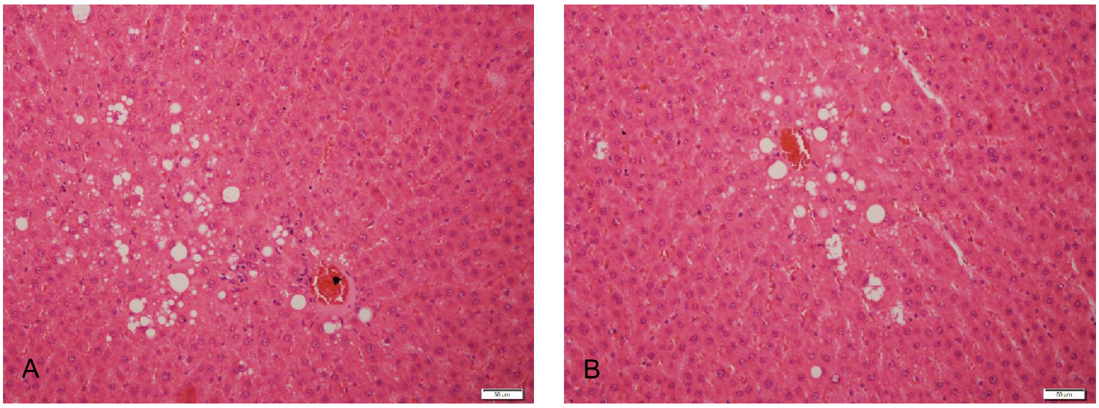


Figure 1 Pathology of the liver; (A) Control group, (B) Experimental group

สรุป

สารสกัดใบบัวหลวงด้วย 95%เอธานอล ไม่ก่อให้เกิดอาการพิษเฉียบพลันในหนูถีบจักร ถึงแม้ว่าจะมีรายงานการตรวจพบรอยโรคของการเสื่อมของไขมันในตับ (Fatty degeneration) บริเวณรอบ portal area ในกลุ่มที่ได้รับการบริหารสารสกัดใบบัวหลวง แต่ในกลุ่มควบควบก็พบรอยโรคเช่นเดียวกับกลุ่มทดสอบ เมื่อทดสอบข้อมูลโดยใช้ Fisher exact test ไม่พบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) แสดงให้เห็นว่ารอยโรคที่เกิดขึ้นไม่ใช่ผลที่เกิดจากการได้รับสารสกัดแต่อย่างใด ดังนั้น จากข้อมูลการทดสอบพิษเฉียบพลันสารสกัดใบบัวหลวงดังที่กล่าวมาในข้างต้น สารสกัดใบบัวหลวงมีความปลอดภัยและไม่ก่อให้เกิดอาการพิษเฉียบพลัน ค่า LD_{50} ควรมีค่ามากกว่า 5,000 มก./กก.จัดระดับความเป็นอันตรายของสารสกัดที่ (Category) 5 อย่างไรก็ตามการจะนำสารสกัดใบบัวหลวงไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพควรมีการศึกษาข้อมูลความเป็นพิษระยะยาวในสัตว์ทดลองเพิ่มเติม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินงบประมาณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอขอบพระคุณห้องปฏิบัติการพิพิธภัณฑ์พืชในการจัดหาตัวอย่างใบบัวหลวง ศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร จัดเตรียมสารสกัดและวิเคราะห์ข้อมูลทางเคมีของสมุนไพรใบบัวหลวง และ ศ.น.สพ.ดร. ทวีศักดิ์ ส่งเสริม คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ่านผลสไลด์ทางจุลพยาธิวิทยา

เอกสารอ้างอิง

ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2536. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. Text & Journal Corporation Co.,Ltd.

ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2534. ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. Text & Journal Corporation Co.,Ltd.

สุดารัตน์ หอมหวล. 2556. **ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาวิทยาลัยอุบลราชธานี.** http://www.thaicrudedrug.com. 10 June 2013.

สมจิตร์ เนียมสกุล, ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก, นันทิทิพ ลิ้มเพียรชอบ, กรกนก อิงคนินันท์ และ ประไพ วงศ์สินคงมั่น.

2553. ผลของสารสกัดสมุนไพรต่อเอนไซม์ pancreatic lipase และ HMG CoA reductase. **วารสารแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก**. 8: 161-169.

อัญชลี จูฑะพุทธิ. 2546. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของบัวหลวง. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก**. 1(1): 61-63.

Ahn, J.H., A.S. Kim, C. Lee, S. Kim, S.H. Cho, B.Y. Hwang and M.K. Lee. 2013. Chemical constituents from *Nelumbo nucifera* leaves and their anti-obesity effects. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 23(12): 3604–3608.

Kim K.H., S.W. Chan, S.Y. Ryu, S.U. Choi and K.R. Lee. 2009. Phytochemical Constituents of *Nelumbo nucifera*. Natural Product Sciences. 15(2): 90-95.

Lin H.Y., Y.H. Kuo, Y.L. Lin and W. Chiang. 2009. Antioxidative Effect and Active Components from Leaves of Lotus (*Nelumbo nucifera*). Agric. Food Chem. 57(15): 6623–6629.

OECD/OECD. 2001. Guideline for testing of chemical: Acute oral toxicity-Acute toxic class method. Series on Testing and Assessment no. 423. OECD, Paris, France. 14 pages.

Association of PCSK9 polymorphisms and lipid-lowering response to statin therapy in Thai hypercholesterolemic patients

Smith Wanmasae[1], Wisant Sirintronsophon[2], Sureerut Porntadavity[3] and Nutjaree Jeenduang[1*]

ABSTRACT

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) plays a key role in the regulation of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) by promoting the degradation of low-density lipoprotein receptors (LDLR). PCSK9 I474V, and E670G polymorphisms have been reported to associated with serum lipid levels. The objective of this study was to investigate the association between PCSK9 I474V, and E670G polymorphisms and statin responses in Thai hypercholesterolemic patients. One hundred and fifty three hypercholesterolemic patients in Thailand were enrolled and treated with simvastatin 20, or 40 mg per day for 3 months. Serum lipids were measured before and after the therapy. PCSK9 I474V, and E670G polymorphisms were analyzed using PCR-RFLP. At baseline, PCSK9 474V carriers had significantly higher total cholesterol (TC) ($p=0.044$) and LDL-C ($p=0.022$) levels than 474I carriers. However, after 3 months follow up, 474V carriers had a significant LDL-C reduction compared with 474I carriers ($p = 0.027$). No association analysis was performed for E670G variant because of its very low frequency. PCSK9 I474V polymorphism increased LDL-C lowering response to statin therapy in Thai hypercholesterolemic patients. This polymorphism may be used as genetic marker to predict the lipid-lowering response to statin therapy in these patients.

Key words: Lipid-lowering effect, PCSK9, Polymorphisms, Simvastatin,

* Corresponding author; e-mail address:nutjaree.je@wu.ac.th

[1]Human Genetics Research Unit, Walailak University, 222 Thaiburi, Thasala, Nakhon Si Thammarat, Thailand

[2]Department of Medicine, Hatyai Hospital, Songkhla, Thailand

[3]Department of Clinical Chemistry, Faculty of Medical Technology, Mahidol University, Bangkok, Thailand

INTRODUCTION

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a serine protease synthesized mainly by the liver and secreted into plasma (Benjannet *et al*., 2004). PCSK9 consists of 692 amino acids. It contains a signal sequence (amino acids 1-30), pro-domain (amino acids 31-152), catalytic domain (amino acids 153-454), and C-terminal domain (amino acids 455-692) (Mousavi *et al*., 2009). PCSK9 plays a key role as a regulator of serum low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels. Its catalytic domain binds to the EGF-A domain of low-density lipoprotein receptors (LDLR) and subsequently targets it for lysosomal destruction within the hepatocyte (Horton *et al*., 2009 and Poirier *et al*., 2009). This process resulted in reduced LDL receptor (LDLR) density, decreased clearance of LDL-C, and, consequently, accumulation of LDL-C in the circulation. PCSK9 mutations are associated with either a hypocholesterolemic or hypercholesterolemic phenotype. Gain-of-function (GOF) mutations in PCSK9 cause an autosomal dominant form of severe hypercholesterolemia and premature coronary heart disease (CHD) (Abifadel *et al*., 2003), whereas loss-of-function (LOF) mutations are associated with reduced plasma levels of LDL-C and protection from CHD (Cohen *et al*., 2005 and Cohen *et al*., 2006). Moreover, genetic variation at PCSK9 has also been reported to significantly affect LDL-C levels in the plasma, LDL-C lowering response to statins, and risk for premature CHD (Chen *et al*., 2005, Evans *et al*., 2006, Kotowski *et al*., 2006, and Berge *et al*., 2006).

In Thailand, the association of PCSK9 polymorphisms with lipid levels has been reported in general population (Jeenduang *et al*., 2015). However, the effect of PCSK9 polymorphisms on lipid-lowering response to statin therapy in Thai population has not been investigated.

MATERIALS AND METHODS

1. Subjects

A total of 153 non-related hypercholesterolemic patients, treated with simvastatin 20 or 40 mg/day for three months, were recruited from the Hatyai Hospital, Songkhla, Thailand. These subjects with hepatic disease, kidney disease, endocrinological disorders, malignant disease, and, familial hypercholesterolemia (FH) were not included in this study. All the participants voluntarily signed an informed consent. The study protocol was approved by the ethics committee of Walailak University (Protocol No. 14/022) and the ethics Committee of Hatyai Hospital (Protocol No. 050/2014).

2. Biochemical analysis

Blood samples were collected from the subjects after a 12 h fast. Serum was separated by centrifugation at 3,000 rpm for 10 min and was later used for the analysis of biochemical parameters. Blood was collected in EDTA for DNA extraction. Lipid profiles were measured using enzymatic kits (SIEMENS, Ltd., USA). High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was determined after the

precipitation of the apolipoprotein B containing lipoproteins by phosphotungstate/magnesiumchloride. Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was calculated using the Friedewald formula. All measurement was performed on Advia 1800, SIEMENS automatic chemistry at Laboratory unit of Hatyai hospital.

3. DNA analysis

Genomic DNA was extracted from the buffy coat using a GeneAid kit (GeneAid Biotech Ltd., Taiwan). Genotyping of PCSK9 polymorphisms was performed using polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR–RFLP). Primers, cycling conditions, and restriction enzymes were described in a previous study (Jeenduang *et al.*, 2015).

4. Statistical analysis

Continuous variables were expressed as the mean ± standard deviation. Categorical variables were presented as percentages. The observed genotype frequencies were compared with the expected frequencies and checked for Hardy–Weinberg equilibrium. Data normality was determined by the one-sample Kolmogorov-Smirnov test. Mean differences between genders and genotypes were assessed by the two-tailed unpaired Student's t test for normally distributed parameters and the Mann–Whitney U test for nonparametric. A p-value < 0.05 was considered statistically significant. The analyses were performed using SPSS version 16 (SPSS, Evanston, IL, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Subjects' Characteristics, Genotypic and Allelic Distributions

A total of 153 patients from the outpatient lipid clinic from Hatyai hospital were recruited in this study. Demographic and clinical characteristics of the treated patients are shown in Table 1. The genotypic and allelic frequencies of PCSK9 I474V, and E670G polymorphisms in the study subjects are shown in Table 2. The genotype frequencies of these polymorphisms observed showed no statistically significant differences compared to those expected under Hardy–Weinberg equilibrium.

The minor allele frequency of the PCSK9 I474V polymorphism (474V 2.94%) was likely similar to the previous report in Thailand (474V 2.77%) (Jeenduang *et al.*, 2015). In contrast, the minor allele frequency of the PCSK9 E670G polymorphism (0.65%) in these subjects was lower than the previous report in Thai population (670G 1.95%) (Jeenduang *et al.*, 2015). This may be due to the low number of sample size and the different population in the study.

2. Effects of PCSK9 I474V polymorphism on the lipid-lowering effects of simvastatin

Because of the low frequency of PCSK9 E670G polymorphism, the association between this polymorphism and lipid-lowering response to statin therapy was not analyzed. For PCSK9 I474V polymorphism analysis, the subjects were divided into 2 groups, carriers of I allele (II), and carriers of V allele (IV). At baseline, 474V carriers had significantly higher TC and LDL-C levels than 474I carriers. However, after the treatment, 474V carriers showed a greater reduction on LDL-C levels compared to 474I carriers (Table 3).

It has been previously described that I474V was associated with lower LDL-C and PCSK9 levels in Caucasian, African Canadian (Mayne *et al.*, 2013), and Japanese (Shioji *et al.*, 2004) populations, but the association of 474V carriers with lipid levels was not observed in healthy UK men (Scartezini *et al.*, 2007), Brazilian subjects (Anderson *et al.*, 2014), or in the PLIC study (Norata *et al.*, 2010). Moreover, 474V carriers in rural female in Thai subjects had significantly lower HDL-C levels than non-carriers (Jeenduang *et al.*, 2015). In contrast to our study, we found that 474V carriers had significantly higher TC and LDL-C level than non-carriers at baseline. This suggests that differences in study population characteristics, study design, and the frequency of the 474V allele may explain the inconsistent results. Furthermore, E670G has been reported to associate with increased LDL-C in men in Germany (Evans *et al.*, 2006), increased TC and LDL-C in urban female in Thai population (Jeenduang *et al.*, 2015), increased risk of cardiovascular disease (CVD) in Brazilian (Anderson *et al.*, 2016), and, Tunisian populations (Slimani *et al.*, 2014), as well as, in the Belgium stroke study (Abboud *et al.*, 2007), the PLIC study (Norata *et al.*, 2010), and the LCAS (Chen *et al.*, 2005). In contrast, there were no association of E670G with any significant effects on lipid levels or CVD risk in healthy UK men (Scartezini *et al.*, 2007) and the PROSPER study group (Polisecki *et al.*, 2008). In our study, the association study of E670G polymorphism and lipid-lowering response to statin therapy was not analyzed because of the low frequently. After statin therapy, however, we found that I474V was associated with increased LDL-C lowering response to statin therapy. Our results were inconsistent with the study in Brazilian subjects which I474V did not influence the response to atorvastatin at 10 mg/d (4 week) of hypercholesterolemia subjects (Anderson *et al.*, 2014). The discrepancy results may be caused by several factors including doses of drug, duration of treatment, type of statin, sample size, allele frequency, and ethnicity. This study had a limitation in a small sample size. Further study in a large sample size should be needed to confirm our findings.

Table 1 Baseline characteristics of the treated group

Parameter	Total
Number (n)	153
Age (years)	51.40 ± 6.63
Sex (% male)	85 (55.56%)
Body mass index (kg/m^2)	23.95 ± 2.75
Systolic blood pressure (mmHg)	133.30 ± 11.39
Diastolic blood pressure (mmHg)	87.08 ± 13.52
Total cholesterol (mg/dl)	234.48 ± 53.87
Triglyceride (mg/dl)	164.45 ± 72.21
HDL-C (mg/dl)	50.87 ± 12.69
LDL-C (mg/dl)	151.56 ± 51.22

Table 2 Genotype and allele frequencies of the PCSK9 polymorphisms in Thai hypercholesterolemic patients

Polymorphism	All subject (n, %)	p-value*
PCSK9 I474V genotype		
II	144 (94.12%)	0.708
IV	9 (5.88%)	
VV	0 (0%)	
PCSK9 I474V allele		
I	297 (97.06%)	
V	9 (2.94%)	
PCSK9 E670G genotype		
EE	151 (98.69%)	0.935
EG	2 (1.31%)	
GG	0 (0%)	
PCSK9 E670G allele		
E	304 (99.35%)	
G	2 (0.65%)	

*Exact p-value for Hardy-Weinberg equlibrium

Table 3 Influence of PCSK9 I474V polymorphism on lipid profiles in patients treated with simvastatin therapy.

Parameters	*PCSK9* I474V (n=153)		p-value*
	II (n = 144)	IV (n = 9)	
Total cholesterol (mg/dl)			
Baseline	232.20 ± 53.25	269.22 ± 54.31	0.044
Treatment	172.18 ± 47.11	169.12 ± 28.76	0.866
Change, %	-26.67 ± 20.90	-34.01 ± 5.65	0.182
Triglyceride (mg/dl)			
Baseline	166.07 ± 72.69	139.56 ± 62.67	0.353
Treatment	141.43 ± 65.73	126.44 ± 48.38	0.566
Change, %	-13.16 ± 43.39	2.10 ± 43.71	0.456
HDL-C (mg/dl)			
Baseline	50.46 ± 12.67	57.10 ± 12.07	0.108
Treatment	48.19 ± 13.53	58.58 ± 21.12	0.141
Change, %	-5.79 ± 20.29	1.62 ± 15.10	0.313
LDL-C (mg/dl)			
Baseline	149.52 ± 51.05	184.21 ± 44.49	0.022
Treatment	95.74 ± 40.03	88.33 ± 27.08	0.585
Change, %	-38.05 ± 35.57	-52.08 ± 10.17	0.027

*p-value obtained in the Student's t test or Mann–Whitney U test for the comparison between genotypes

CONCLUSION

In conclusion, PCSK9 I474V polymorphism was associated with increased response in reduction of LDL-C levels after simvastatin therapy in Thai hypercholesterolemic patients. PCSK9 I474V polymorphism may be used as genetic marker to predict the lipid-lowering response to statin therapy in Thai hypercholesterolemic patients.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank to all the patients who participated in this study and the staffs of Outpatient Department, and Clinical Pathology Laboratory, Hatyai hospital who helped in the specimen collection and laboratory procedures. This work was supported by Walailak University fund; the Institute of Research and Development (No. WU57211), and the Human Genetics Research unit (No.WU59520).

REFERENCES

Abboud, S., Karhunen, P.J., Lütjohann, D., Goebeler, S., Luoto, T., Friedrichs, S., et al. 2007. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) gene is a risk factor of large-vessel atherosclerosis stroke. **PLoS One.**2; e1043.

Abifadel, M., Varret, M., Rabe`s, J.P., Allard, D., Ouguerram, K., Devillers, M., et al. 2003. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. **Nature Genetics.** 34: 154–156.

Anderson, J.M., Cerda, A., Hirata, M.H., Rodrigues, A.C., Dorea, E.L., Bernik, M.M., et al. 2014. Influence of PCSK9 polymorphisms on plasma lipids and response to atorvastatin treatment in Brazilian subjects. **Journal of Clinical Lipidology**. 8; 256–264.

Benjannet, S., Rhainds, D., Essalmani, R., Mayne, J., Wickham, L., Jin, W., et al. 2004. NARC-1/PCSK9 and Its natural mutants: Zymogen cleavage and effects on the low density lipoprotein (LDL) receptor and LDL cholesterol. **Journal of Biological Chemistry.** 279: 48865–48875.

Berge, K.E., Ose, L., Leren, T.P. 2006. Missense mutations in the PCSK9 gene are associated with hypocholesterolemia and possibly increased response to statin therapy. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology.** 26: 1094–1100.

Chen, S.N., Ballantyne, C.M., Gotto, A.M. Jr, Tan, Y.,Willerson, J.T., Marian, A.J. 2005. A common PCSK9 haplotype, encompassing the E670G coding single nucleotide polymorphism, is a novel genetic marker for plasma low-density lipoprotein cholesterol levels and severity of coronary atherosclerosis. **Journal of the American College of Cardiology.**10: 1611–1619.

Cohen, J., Pertsemlidis, A., Kotowski, I.K.,Graham, R., Garcia, C.K., Hobbs, H.H. 2005. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. **Nature Genetics.** 37: 161–165.

Cohen, J.C., Boerwinkle, E., Mosley Jr, T.H., Hobbs, H.H. 2006. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. **New England Journal of Medicine.**354: 1264–1272.

Evans, D., Beil, F.U. 2006. The E670G SNP in the PCSK9 gene is associated with polygenic hypercoholesterolemia in men but not in women. **BMC Medical Genetics.**7: 66–70.

Horton, J.D., Cohen, J.C., Hobbs, H.H. 2009. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. **Journal of Lipid Research.** 50: S172-177.

Jeenduang, N., Porntadavity, S., Wanmasae, S. 2015. Combined PCSK9 and APOE polymorphisms are genetic risk factors associated with elevated plasma lipid levels in a Thai population. **Lipids.** 50: 543-553.

Kotowski, I.K., Pertsemlidis, A., Luke, A., Cooper, R.S., Vega, G.L., Cohen, J.C., et al. 2006. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol. **Journal of Human Genetics.** 78: 410–422.

Mayne, J., Ooi, T.C., Raymond, A., Cousins, M., Bernier, L., Dewpura, T., et al. 2013. Differential effects of PCSK9 loss of function variants on serum lipid and PCSK9 levels in Caucasian and African Canadian populations**. Lipids in Health and Disease.**10: 70.

Mousavi, S.A., Berge, K.E., Leren, T.P. 2009.The unique role of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 in cholesterol homeostasis. **Journal of Internal Medicine.**266: 507-519.

Norata, G.D., Garlaschelli, K., Grigore, L., Raselli, S., Tramontana, S., Meneghetti, F., et al. 2010. Effects of PCSK9 variants on common carotid artery intima media thickness and relation to ApoE alleles. **Atherosclerosis.** 208: 177–182.

Poirier, S., Mayer, G., Poupon, V., McPherson, P.S., Desjardins, R., Ly, K., et al. 2009. Dissection of the endogenous cellular pathways of PCSK9-induced low density lipoprotein receptor degradation.Evidence for an intracellular route. **Journal of Biological Chemistry.** 384: 28856-28864.

Polisecki, E., Peter, I., Robertson, M., McMahon, A.D., Ford, I., Packard, C., et al. 2008. PROSPER Study Group. Genetic variation at the PCSK9 locus moderately lowers low-density lipoprotein cholesterol levels, but does not significantly lower vascular disease risk in an elderly population. **Atherosclerosis.** 200: 95–101.

Scartezini, M., Hubbart, C., Whittall, R.A., Cooper, J.A., Neil, A.H., Humphries, S.E. 2007. The PCSK9 gene R46L variant is associated with lower plasma lipid levels and cardiovascular risk in healthy UK men. **Clinical Science.**113: 435–441.

Shioji, K., Mannami, T., Kokubo, Y., Inamoto, N., Takagi, S., Goto, Y., et al. 2004. Genetic variants in PCSK9 affect the cholesterol level in Japanese. **Journal of Human Genetics.**49: 109–114.

Slimani, A., Harira, Y., Trabelsi, I., Jomaa, W., Maatouk, F., Hamda, K.B., et al. 2014.Effect of E670G polymorphism in PCSK9 gene on the risk and severity of coronary heart disease and ischemic stroke in a Tunisian cohort. **Journal of Molecular Neuroscience.** 53: 150–157.

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสจากน้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีน ด้วย *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะเขย่า

Optimization of Bacterial Cellulose from Wastewater of Noodle Process by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 in Shaking Culture

<u>ดวงใจ โอชัยกุล</u>[1*] วรัญญา บินอานัด[1] และ พรภัสสร มูลสูงเนิน[1]

<u>Duangjai Ochaikul</u>[1*], Waranya Binarnat[1] and Pronpatsorn Moonsongnoen[1]

บทคัดย่อ

เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ผลิตจาก *Acetobacter xylinum* มีความแข็งแรงเชิงกล มีความบริสุทธิ์และความสามารถในการดูดซับสูง งานวิจัยนี้ใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสภาวะเขย่า โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้น้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีนเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *G. xylinus* TISTR 976 สามารถผลิตเซลลูโลส 1.30 ± 0.17 กรัมต่อลิตร และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดในวันที่ 12 ของการหมักโดยมีผลผลิต 2.30 และ 2.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) is a type of biopolymer produced by *Acetobacter xylinum* in good mechanical strength, high purity and high water holding capacity. In this research, noodle wastewater is used as the carbon sources for the synthesis of bacterial cellulose. The objective of this study is to investigate on optimization of culture conditions for BC production by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 in shaking culture. The results showed the optimized noodle wastewater-based medium was composed of 5 % (w/v) sucrose, 0.1 % (w/v) yeast extract, 0.5 % (v/v) ethanol and incubated at 200 rpm, 30 °C for 7 days. Under these conditions, BC yield was 1.30 ± 0.17 g/L and 1.56 ± 0.33 g/L, respectively. BC yield was fermented by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *G. xylinus* TISTR 976 were the highest of 2.30 g/L and 2.86 g/L, respectively. After 12 days of cultivation.

Key words: bacterial cellulose, Waste Water of Noodles, *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976, *Komagataeibacter* sp. PAP1

*Corresponding author ; e-mail address: daungjai.oc@kmitl.ac.th

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

คำนำ

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย หรือวุ้นมะพร้าว หรือเห็ดรัสเซีย เป็นวัสดุที่มีโครงสร้างระดับนาโนผลิตโดยแบคทีเรียอะซิติกสายพันธุ์ต่างๆ เซลลูโลสจากแบคทีเรียก่อตัวขึ้นจากเส้นใยไมโครไฟบิล ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-4 นาโนเมตร รวมตัวเป็นเส้นใยขนาดประมาณน้อยกว่า 100 นาโนเมตร (Cavka *et al.*, 2013) โดยจุลินทรีย์จะสร้างออกมาภายนอกเซลล์ (Nazeri, 2012) มีลักษณะสีขาวคล้ายหนัง ก่อตัวเป็นฝ้าที่ผิวหน้าอาหาร เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกับเซลลูโลสจากพืชแต่เซลลูโลสจากพืชเป็นเซลลูโลสที่มีความบริสุทธิ์ต่ำ อีกทั้งยังมีลิกนินและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบด้วย (Nazeri, 2012) เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีคุณสมบัติที่เด่น คือ มีความแข็งแรงเชิงกล ความพรุน ความบริสุทธิ์ และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าเซลลูโลสจากพืช จากคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นวัตถุดิบที่สำคัญที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ เช่น แผ่นฟิล์มคาร์บอนที่นำไฟฟ้าได้ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังเทียมและการรักษาเนื้อเยื่อ แผ่นกรอง อาหารปราศจากแคลอรี่ (Jeong *et al.*, 2010) นำไปใช้ในการเสริมเนื้อกระดาษเพื่อให้คุณภาพสูง ไดอะเฟรมสำหรับอุปกรณ์แปลงเสียง สารเติมแต่งสี สารเคลือบ เป็นตัวเสริมในแผ่นฟิล์มโปร่งแสงและเยื่อหุ้มเหนี่ยวนำโปรตอนของเซลล์พลังงาน เป็นต้น (Cavka *et al.*, 2013) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิดในการผลิตเซลลูโลส (Faria-Tischer *et al.*, 2008) ความพยายามหาวัสดุทางเลือกที่มีต้นทุนต่ำและไม่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษานี้

กระบวนการผลิตขนมจีนมีการใช้น้ำเป็นจำนวนมาก ทำให้มีปริมาณน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตมากตามไปด้วย ซึ่งน้ำทิ้งมีองค์ประกอบต่างๆ มากมาย ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ เช่น คาร์โบไฮเดรต จำพวกแป้งและน้ำตาล รวมทั้งโปรตีนและธาตุอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส น้ำเสียจะมีสภาพเป็นกรด ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแข็งที่ละลายน้ำได้และคอลลอยด์ และมีของแข็งแขวนลอยอยู่ไม่มากนัก จึงทำให้มีสารอินทรีย์ในรูปบีโอดี และซีโอดีปริมาณมาก หากปล่อยลงสู่แหล่งน้ำหรือสิ่งแวดล้อมโดยไม่มีการบำบัดคุณภาพน้ำ จะส่งผลต่อคุณภาพแหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อม (พิพัฒน์, 2555)

งานวิจัยนี้ได้สนใจนำน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมาผลิตเซลลูโลสในสภาวะเขย่าโดยใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากมะละกอที่เน่าเสียในประเทศไทย (Suwanposri *et al.*, 2013) เปรียบเทียบกับ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูโลสสูง

อุปกรณ์และสารเคมี

1. การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

Komagataeibacter sp. PAP1 ซึ่งแยกได้จากมะละกอในประเทศไทย (Suwanposri *et al.*, 2013) และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นำมาขีด(Streak)บนอาหารแข็งสูตร HS medium (ประกอบด้วย กลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 สารสกัดยีสต์ร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมฟอสเฟตร้อยละ 0.27 กรดซิตริกร้อยละ 0.12 และผงวุ้นร้อยละ 1.5) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ 2 ลูปลงในอาหารเหลว HS medium บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2. การเตรียมอาหารหมักและหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

น้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีน ได้มาจากส่วนของน้ำต้มเส้นขนมจีน ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานทำขนมจีนที่นิคมอุตสาหกรรมขนมจีน จ.ฉะเชิงเทรา นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อกำจัดเศษตะกอนแป้งออก จากนั้นนำมาเตรียมอาหารหมัก ดังนี้ น้ำต้มเส้นขนมจีนที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับพีเอชเป็น 6.0 โดยแบ่งอาหารหมัก 90 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ(autoclave)ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 10 มิลลิลิตรลงในอาหารหมัก บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส พีเอช และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก สำหรับการหมักเซลลูโลสด้วยหัวเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ทำด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976

3.1 ความเร็วรอบในการเขย่า

เตรียมอาหารหมักโดยนำน้ำต้มขนมจีนผสมส่วนประกอบดังสูตรข้างต้น ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ(autoclave)ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เติมหัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักที่ความเร็วรอบ 100 120 และ 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้อที่ 2 คัดเลือกความเร็วรอบในการเขย่าที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 แหล่งคาร์บอน

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีส่วนประกอบดังข้างต้น โดยแปรผันแหล่งคาร์บอนมีดังนี้ น้ำตาลกลูโคส แมนนิทอล น้ำตาลซูโครส(น้ำตาลทราย) ฟรุคโตส และกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อและเติมหัวเชื้อ บ่มที่ความเร็วรอบที่เหมาะสม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 แหล่งไนโตรเจน

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีส่วนประกอบดังข้างต้น โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม แปรผันแหล่งไนโตรเจนที่ศึกษามีดังนี้ ยีสต์สกัด (yeast extract) น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) สารสกัดเนื้อ (beef extract) และแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อและเติมหัวเชื้อ บ่มที่ในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 ความเข้มข้นเอทานอล

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีส่วนประกอบดังข้างต้น โดยใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเติมหัวเชื้อและเติมเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยปริมาตร บ่มในสภาวะความเร็วรอบที่เหมาะสม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

4. ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อทั้งสองในสภาวะที่เหมาะสม

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ความเข้มข้นเอทานอล ที่เหมาะสม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อและเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มที่ความเร็วรอบที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน เพื่อวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต โดยวิธีการ spread plate technique

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาความเร็วรอบในการเขย่า

เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 0.94 ± 0.08 และ 1.00 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตเซลลูโลสมีความแตกต่างจากการใช้สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 และ 120 รอบต่อนาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 1) Mukataka *et al.* (1983) รายงานว่า เมื่อใช้ความเร็วรอบในช่วง 100-200 รอบต่อนาที อัตราการย่อยสับสเตรทเร็วและเปลี่ยนไปเป็นเซลลูโลสได้สูง แต่เมื่อเพิ่มความเร็วรอบมากกว่า 200 รอบต่อนาที พบว่าให้ผลผลิตเซลลูโลสลดลง

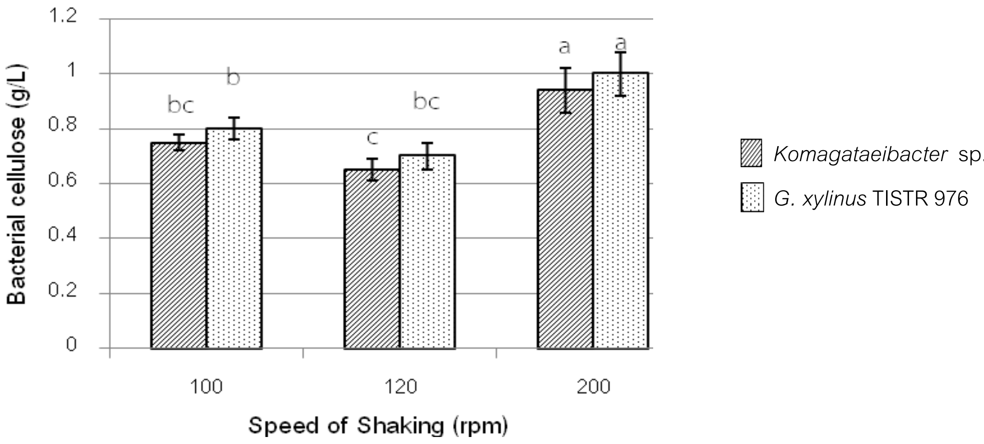


Figure 1 Effect of speed of shaking on bacterial cellulose production

ผลการศึกษาแหล่งคาร์บอน

การใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตสูงที่สุด 1.05 ± 0.04 และ 1.11 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีความแตกต่างกันกับน้ำตาลชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Pourramezan *et al.* (2009) ซึ่งได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 ได้นำน้ำตาลหลายๆ ชนิดได้แก่ กลูโคส ซูโครส ไซโลส และแลกโตส มาใช้แทนแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหาร HS พบว่าซูโครสให้ผลผลิตสูงสุด ตามด้วยกลูโคส ไซโลส และแลกโตส

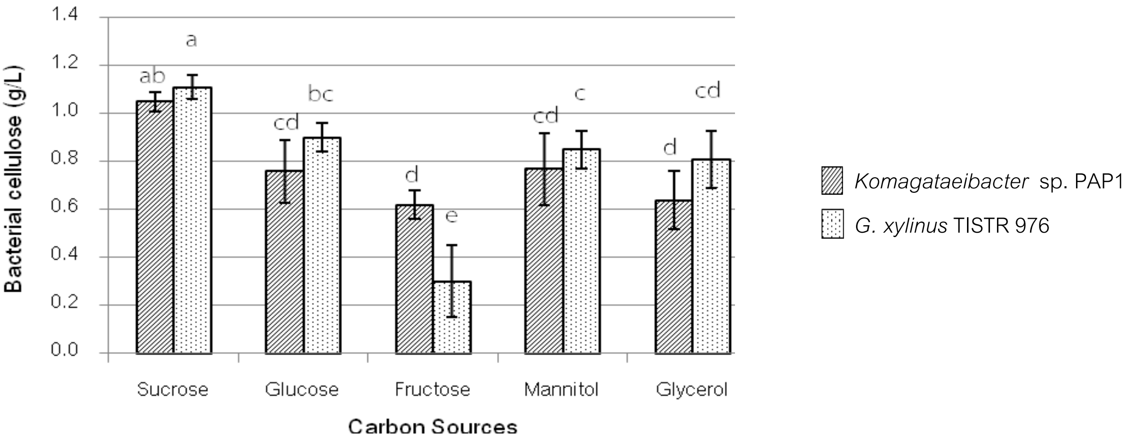


Figure 2 Effect of different carbon sources on bacterial cellulose production

ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจน

การใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักด้วยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ทำให้ได้ผลผลิตสูงสุด 1.10 ± 0.08 และ 1.15 ± 0.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่นที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 3) อาจเนื่องมาจากยีสต์สกัดมีกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อทั้งสอง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของกล่องเพชร และคณะ (2547) ได้เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำทิ้งจากการผลิตเต้าหู้แผ่น โดยศึกษาแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด ในสภาวะเขย่า ได้แก่ เปปโตน ยีสต์สกัด น้ำแช่ข้าวโพด และแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่ายีสต์สกัดให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด

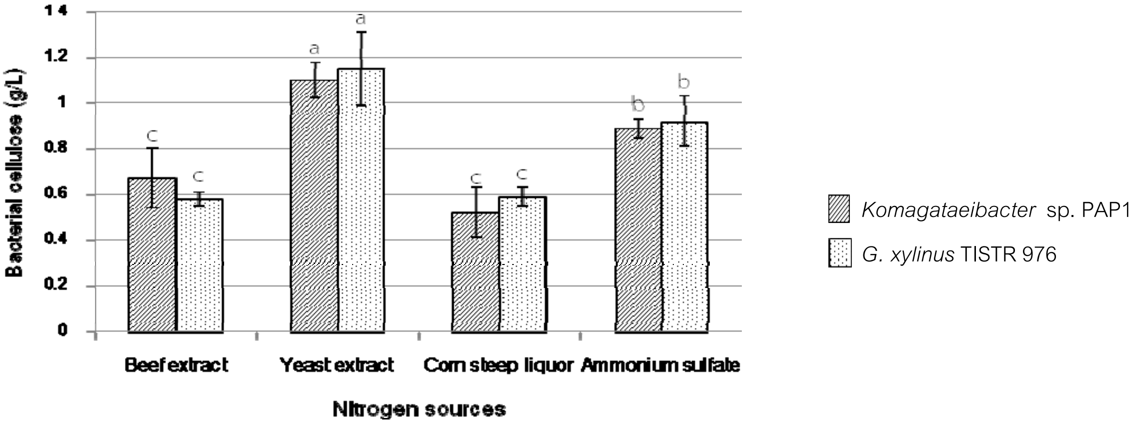


Figure 3 Effect of different nitrogen sources on bacterial cellulose production

ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอทานอล

อาหารสูตรน้ำต้มขนมจีนที่มีการเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร หมักด้วยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.30 ± 0.17 และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้สูงกว่าการเติมเอทานอลที่ความ

เข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 4) ทั้งนี้เนื่องจากเอทานอลมีผลไปกระตุ้นการผลิตเซลลูโลสให้เพิ่มขึ้น (Heo and Son, 2002) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Zeng *et al.* (2011) ได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากน้ำเชื่อมเมเปิ้ลโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* BPR 2001 ซึ่งพบว่าปริมาณเอทานอลที่เหมาะสมใช้ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร การเติมเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มากเกินไปจะส่งผลให้มีปริมาณอะซิเตรทในอาหารเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณเซลล์ในระยะ Stationary phase ลดลง ส่งผลให้การผลิตเซลลูโลสลดลงด้วย (Naritomi *et al.*, 1998)

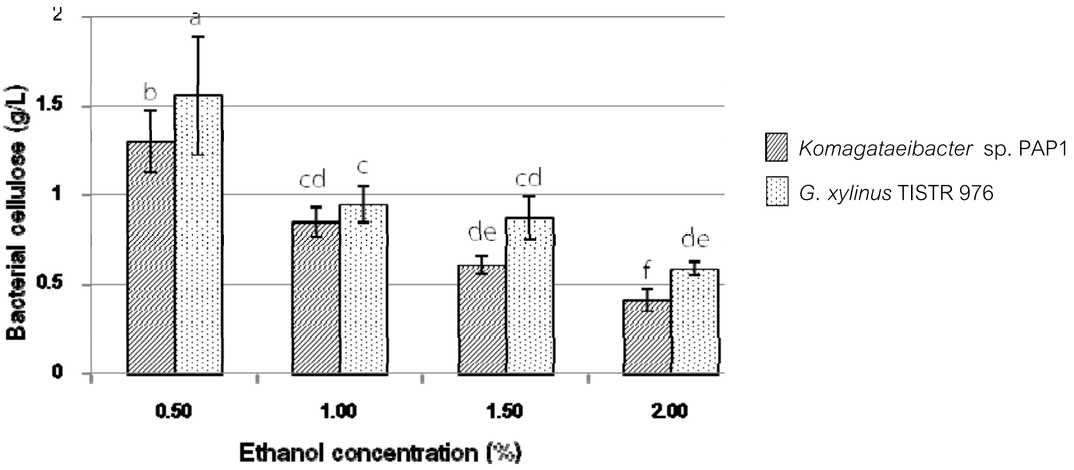


Figure 4 Effect of ethanol concentration on bacterial cellulose production

ผลการเจริญและการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 **และ** *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 **ในสภาวะที่เหมาะสม**

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีน พบว่า ใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนในส่วนของน้ำต้มขนมจีน เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 จากการทดลองพบว่า *Komagataeibacter* sp. PAP1 ผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6-8 วันของการหมัก สำหรับเชื้อ *G. xylinus* TISTR 976 ผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6-12 วัน โดยวันสุดท้ายของการหมักให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 2.30 และ 2.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าในช่วงแรกปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2-8 วันแรก หลังจากนั้นปริมาณเซลล์ค่อนข้างคงที่ โดยมีปริมาณเซลล์สูงสุด 6.27×10^7 และ 6.43×10^7 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 5) สอดคล้องกับการทดลองของ Suwanposri *et al.* (2013) ที่ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร HS จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและผลผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นค่อนข้างช้าใน 2 วันแรก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วระหว่างวันที่ 3-7 หลังจาก 7 วัน เชื้อเริ่มเข้าสู่ Stationary phase และผลผลิตเซลลูโลสจะคงที่

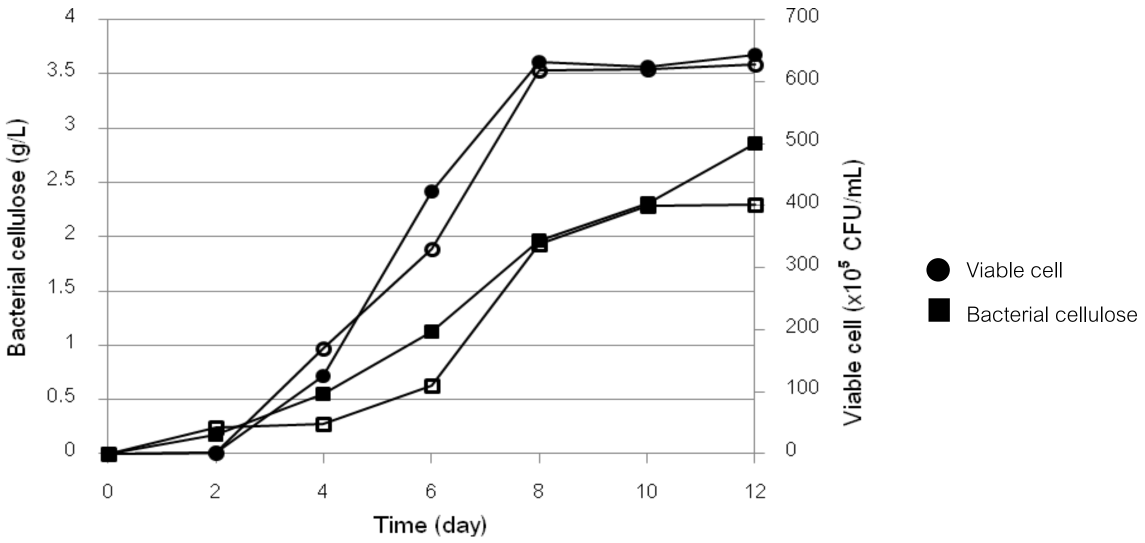


Figure 5 Growth and bacterial cellulose production of *Komagataeibacter* sp. PAP1 (white dot)and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 (black dot) in optimized medium based on noodle wastewater.

สรุป

น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมีศักยภาพในการนำมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากมะละกอที่เน่าเสียในประเทศไทยมีความสามารถในการผลิตเซลลูโลสได้ใกล้เคียงกับเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำไปใช้ในการผลิตเซลลูโลส สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษา คือ ใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนในส่วนของน้ำต้มขนมจีนเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ให้ผลิตเซลลูโลส 1.30 ± 0.17 กรัมต่อลิตร และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียสัมพันธ์กับการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนและเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการศึกษาพัฒนาเพื่อให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงและเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กล่องเพชร เลาวนากิจกุล วลัยลักษณ์ จันทร์สกุลทิพย์ และเอกจิต ร่วมพฤกษ์. 2547. **การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสจากน้ำทิ้งจากการผลิตเต้าหู้แผ่น โดยใช้** *Acetobacter xylinum* TISTR 976 **ในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า**. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พิพัฒน์ พรหมโลก. 2555. **การศึกษาระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งขนมจีน: กรณีศึกษาในเขตอำเภอวังหิน จังหวัดศรีสะเกษ**. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

Cavka, A., X. Gao, F. Hong, L.J. Jonsson, S.J. Tang and S. Winestrand. 2013. Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. **Biotechnol Biofuels** 6: 1-10.

Faria-Tischera, P.C.S., F.D.E. Goelzera, J.C. Vitorinoa, M.R. Sierakowskib and C.A.Tischer. 2008. Production and characterization of nanospheres of bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* from processed rice bark. **Materials science and engineering** 29: 546–551.

Heo, M.S. and H.J. Son. 2002. Development of an optimized, simple chemically defined medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. A9 in shaking cultures. **Biotechnology and Applied Biochemistry** 36: 41-45.

Jeong. J.H., H.I. Jung, K.K. Kim, Y.G. Kim, O.M. Lee, S.M. Lee, G.T. Park, H.C. Park and H.J. Son. 2010. Influence of glycerol on production and structural–physical properties of cellulose from *Acetobacter* sp. V6 cultured in shake flasks. **Bioresource Technology** 101: 3602–3608

Mukataka, S., M. Tada and J. Takahashi. 1983. Effects of agitation on enzymatic hydrolysis of cellulose in a stirred tank reactor. **Journal of Fermentation Technology** 61: 615–621.

Naritomi, T., T. Kouda, H. Yano and F. Yoshinaka. 1998. Effect of ethanol on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. **Journal of Fermentation and Bioengineering** 85: 598-603.

Nazeri, M. A. and J. Zakaria. 2012. Optimization of bacterial cellulose production from pineapple waste: Effect of temperature, pH and concentration. **In: 5th Engineering Conference.**

Pourramezan, G.Z., A.M. Roayaei and Q.R. Qezelbash. 2009. Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. 4B-2. **Biotechnology** 8: 150-154.

Suwanposri, A., P. Yukphan, Y. Yamada and D. Ochaikul. 2013. Identification and biocellulose production of *Gluconacetobacter* strains isolated from tropical fruits in Thailand. **Maejo International journal of science and technology** 7: 70-82.

Zeng, X., D.P. Small and W. Wan. 2011. Statistical optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* BPR 2001 from maple syrup. **Carbohydrate Polymers** 85: 506-513.

การคัดแยกราละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตจากดินสวนผลไม้ในจังหวัดสมุทรสงคราม

Screening of Inorganic Phosphate Solubilizing Molds from Orchard Soils in Samutsongkhram Province

อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์[1*] ศิริพร ทิพย์สิงห์[1] และ วีรญา ทัศน์สุวรรณ[1]

Arun Chanchaichaovivat[1*], Siriporn Tipsing[1] and Weeraya Tassuwan[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกราที่มีประสิทธิภาพละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตจากดินบริเวณสวนผลไม้ในจังหวัดสมุทรสงคราม โดยใช้อาหาร Pikovskaya's agar ที่มีส่วนผสมไทรแคลเซียมฟอสเฟต $(Ca_3PO_4)_2$ จากผลการวิจัยพบว่ามีราที่สามารถเจริญบนอาหาร PVK agar และมีโคโลนีแตกต่างกันจำนวน 23 ไอโลเลท คือ SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, SS6, SS7, SS8, SS9, SS10, SS11, SS12, SS13, SS14, SS15, SS16, SS17, SS18, SS19, SS20, SS21, SS22 และ SS23 เมื่อสังเกตวงใสรอบโคโลนีราบนอาหารทดสอบ PVK agar ซึ่งเกิดจากการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารพบว่าเกิดขึ้นชัดเจนในรา SS8, SS18 และ SS19 จากนั้นนำราทั้ง 3 ไอโซเลทนี้ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร PVK broth แล้วนำมาตรวจวัดค่าความเป็นกรด-เบสและวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตอิสระที่ปลดปล่อยออกมาเป็นเวลา 10 วัน ด้วยวิธีโมลิบดินัมบลู (molybdenumblue method) และสเปกโตรโฟโทเมทรี (spectrophotometry) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 820 นาโนเมตร พบว่าราไอโซเลท SS8, SS18,และ SS19 สามารถละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตได้สูงสุดในวันที่ 10 คือ 67.43, 85.48 และ 117.19 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าความเป็นกรด-เบส ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ณ วันที่ 10 เท่ากับ 6.1, 5.8 และ 5.4 ตามลำดับ

ABSTRACT

This research aimed to screen inorganic phosphate solubilizing molds from orchard soils at Samutsongkhram province by culturing on Pikovskaya's agar consisted of tricalcium phosphate $(Ca_3PO_4)_2$. The results showed that 23 mold isolates can grow on PVK agar included SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, SS6, SS7, SS8, SS9, SS10, SS11, SS12, SS13, SS14, SS15, SS16, SS17, SS18, SS19, SS20, SS21, SS22, and SS23. Clear zones around mold colonies were observed obviously at 3 isolates; SS8, SS18 and SS19. After that, these 3 isolates were grown on PVK broth for pH measurement and free phosphate analysis by molybdenum blue and spectrophotometry method. At tenth day of culturing, phosphate solubility of SS8, SS18 and SS19 were 67.43, 85.48 and 117.19 mg/L with pH values of 6.1, 5.8 and 5.4, respectively.

Key Words: phosphate solubilizing mold, Pikovskaya's medium, molybdenum blue method

* Corresponding author; e-mail address: **arunchan_57@hotmail.com**

[1]สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพฯ 10600

[1]Program Study Microbiology, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok 10600

คำนำ

ธาตุฟอสฟอรัส (P) เป็นสารอาหารหลักซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช จึงเป็นปัจจัยในดินที่จำกัดผลผลิตทางการเกษตรชนิดหนึ่ง โดยทั่วไปธาตุนี้มีมากในดินแต่อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ฟอสเฟตที่พืชสามารถนำเข้าสู่รากได้น้อยมาก เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้ไม่ละลายน้ำ (insoluble phosphate) อนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พบทั่วไปในดิน เช่น ไทรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) อะลูมิเนียมฟอสเฟต ($AlPO_4$) และไอรอนฟอสเฟต ($FePO_4$) (Gupta *et al*., 2007) นอกจากนี้ในดินส่วนใหญ่พบฟอสฟอรัสอิสระที่พืชใช้ได้ในปริมาณน้อยมาก ไม่เกิน 10 ไมโครโมลาร์ (µM) (Hamdali *et al*., 2012) ดังนั้นพื้นดินที่เป็นแหล่งเพาะปลูกพืชหลายแห่งจึงมีการเติมปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสที่มีราคาแพงปริมาณมากในดิน ส่งผลให้ดินเสื่อมคุณภาพและเกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมตามมา นอกจากนี้มีการเติมแหล่งฟอสฟอรัสโดยใช้หินฟอสเฟต (rock phosphate) เติมลงไปในดินที่เป็นกรดซึ่งสามารถละลายฟอสฟอรัสออกมาได้บ้างแต่ก็ต้องเสียค่าใช้จ่ายและวิธีนี้ใช้ไม่ได้ผลกับดินที่มีค่าความเป็นกรด-เบส มากกว่า 5.5-6.5 อย่างไรก็ตามจากข้อมูลการค้นคว้าวิจัยในหลายประเทศพบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดในดินรอบรากพืชที่สามารถละลายฟอสฟอรัสออกจากสารประกอบในรูปของฟอสเฟตอิออน (PO_4^{2-}) ที่สามารถละลายน้ำและเคลื่อนย้ายให้กับพืชดูดซึมไปใช้ได้ง่ายขึ้น (Tallapragada and Seshachala, 2012) และเรียกจุลินทรีย์พวกนี้ว่า จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing microorganisms, PSMs) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาพัฒนานำจุลินทรีย์เหล่านี้มาใช้เป็นส่วนประกอบของปุ๋ยอินทรีย์เสริมฟอสฟอรัสในราคาถูก ทั้งนี้เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการส่งเสริมวิถีการเกษตรอย่างยั่งยืนและสามารถลดค่าใช้จ่ายได้มาก จุลินทรีย์ PSMs ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ รา และแอคติโนมัยซิส (Xiao *et al*., 2009; Panhwar *et al*., 2012; Hamdali *et al*., 2012) โดยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตพวกราสามารถนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพในรูปของสปอร์ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมกดดันต่างๆ ได้ดี จึงสามารถนำไปใช้ได้ในภูมิประเทศที่แตกต่างกันได้มาก ชนิดของราที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ดี เช่น *Aspergillus awamori*, *Penicillium digitatum* และ *Aspergillus niger* (Achal *et al*., 2007; Pandey *et al*., 2008) สำหรับกลไกการละลายฟอสเฟตโดยจุลินทรีย์ ได้แก่ การปลดปล่อยเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาละลายฟอสเฟต การปล่อยกรดอินทรีย์ การเกิดปฏิกิริยาคีเลชัน (chelation) และปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนโปรตอนหรืออิออนของสาร (Yi *et al*., 2008; Gyaneshwar *et al*., 2006)

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการคัดแยกราที่มีประสิทธิภาพละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตเพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดใช้เป็นส่วนประกอบของปุ๋ยชีวภาพเพิ่มแหล่งฟอสฟอรัสในรูปที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ และใช้เป็นทางเลือกในการทดแทนปุ๋ยเคมีที่ใช้ในการเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

การคัดแยกราจากดินสวนผลไม้

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชในสวนผลไม้จำนวน 3 แห่งที่อยู่ในจังหวัดสมุทรสงคราม โดยขุดดินลึกลงไปประมาณ 5-10 เซนติเมตร นำดินใส่ภาชนะที่ฆ่าเชื้อและปิดผนึก แล้วนำมาแยกเชื้อด้วยเทคนิคการเจือจางตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1}-10^{-6} โดยกระจายดิน 10 กรัม ด้วยสารละลายเกลือ (saline solution) ที่ประกอบด้วย NaCl 8.5 มิลลิกรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่างดินในแต่ละระดับความเจือจาง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยลงในจานเพาะเชื้อ (spread plate) ที่มีอาหาร PDA (potato dextrose agar) นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดแยกเฉพาะโคโลนีรา

ที่มีลักษณะแตกต่างกัน จากนั้นทำการคัดแยกราให้บริสุทธิ์ (pure culture) บนอาหาร PDA แล้วทำการสังเกตลักษณะโคโลนีที่เจริญ รวมทั้งศึกษาลักษณะเส้นใย สปอร์ และโครงสร้างอื่นๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เก็บรักษาราไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การทดสอบประสิทธิภาพการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตในเบื้องต้นด้วยอาหาร Pikovskaya's agar

นำราที่ผ่านการคัดแยกจากดินรอบรากพืชมาเลี้ยงบนอาหาร Pikovskaya's agar ประกอบด้วย กลูโคส 10 กรัม, $Ca_3(PO_4)_2$ 5 กรัม, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5 กรัม, KCl 0.2 กรัม, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 กรัม, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.0002 กรัม, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0002 กรัม, วุ้น 15 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยเขี่ยเส้นใยรามาเพาะบนอาหาร Pikovskaya's agar ด้วยเทคนิค point inoculation นำจานไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำจานเพาะเชื้อมาสังเกตบริเวณใสรอบโคโลนีรา พร้อมกับวัดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสและเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา (เซนติเมตร) นำค่าที่ได้มาหาประสิทธิภาพในการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟต ตามสูตร $E = [(R1-R2) / R2] \times 100$ โดยที่ E คือ ร้อยละของประสิทธิภาพการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟต, R1 คือ เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา+วงใส (halo zone) และ R2 คือ เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีรา (Panhwar *et al.*, 2012)

การทดสอบประสิทธิภาพการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร Pikovskaya's broth

นำราที่มีประสิทธิภาพละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตมาเพาะเลี้ยงในอาหาร Pikovskaya's broth (สูตรอาหารเช่นเดียวกับ Pikovskaya's agar แต่ไม่เติมวุ้น และปรับวัดค่าความเป็นกรด-เบส ของอาหาร เท่ากับ 7.0) การเพาะเลี้ยงเริ่มจากการกระจายสปอร์ราด้วยสารละลาย tween-80 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากหลอดเชื้อให้ได้ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสปอร์ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีอาหาร Pikovskaya's broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที (rpm) บนเครื่องเขย่า (shaker) เก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตอิสระที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 วัน ด้วยวิธีโมลิบดินัมบลู (Chen *et al.*, 1956) โดยนำราที่เลี้ยงในฟลาสก์ซึ่งมีอาหาร Pikovskaya's broth มาวัดค่าความเป็นกรด-เบส จากนั้นกรองแยกส่วนของเหลวมา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปจนมีปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมรีเอเจนท์ผสม (mixed reagents) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโทมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ 820 นาโนเมตร ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ตัวอย่างควบคุม (control) คือ อาหาร Pikovskaya's broth ที่ไม่ได้เพาะเลี้ยงรา โดยรีเอเจนท์ผสมคือ สารละลายระหว่างรีเอเจนท์ A ประกอบด้วยแอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate) 12 กรัม แอนติโมนิลโพแทสเซียมทาร์เทรต (antimonyl potassium tartrate) 0.2908 กรัม H_2SO_4 ความเข้มข้น 5 N ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร และรีเอเจนท์ B ประกอบด้วยกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 1.056 กรัม ใส่ในขวดแก้วและเก็บไว้ในที่มืด การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตอิสระให้ใช้สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งประกอบด้วย KH_2PO_4 0.2195 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร และสร้างกราฟมาตรฐาน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) ของค่าเฉลี่ยร้อยละประสิทธิภาพละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตและค่าเฉลี่ยปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของดันแคน (Duncan's multiple range test, DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการคัดแยกราไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตและระบุชนิดของรา

จากการคัดแยกราจากดินรอบรากพืชของสวนผลไม้ในจังหวัดสมุทรสงคราม สามารถแยกได้เป็นเชื้อบริสุทธิ์จำนวน 23 ไอโซเลท ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน ได้แก่ SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, SS6, SS7, SS8, SS9, SS10, SS11, SS12, SS13, SS14, SS15, SS16, SS17, SS18, SS19, SS20, SS21, SS22, และ SS23 (Figure 1)

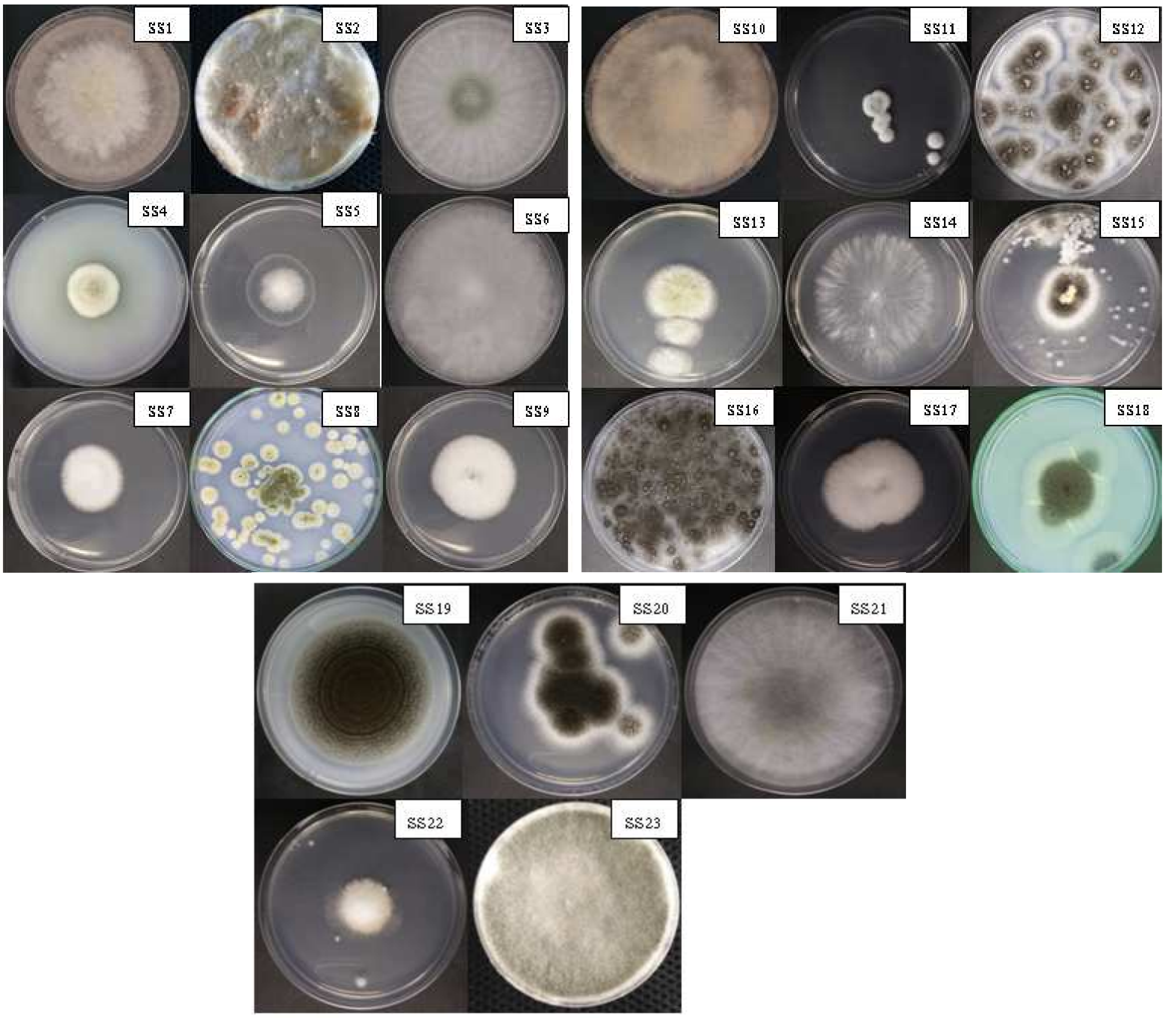


Figure 1 Colony characteristics of 23 mold isolates from orchard soils at Samudsakorn province grown on PDA for 7 days at 30 °C

เมื่อนำรามาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Pikovskaya's agar เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตในเบื้องต้นโดยสังเกตวงใสรอบโคโลนีราที่เกิดจากการย่อยสลายไทรแคลเซียมฟอสเฟตและปลดปล่อยหมู่ฟอสเฟตอิสระออกมา พบว่าราทั้ง 23 ไอโซเลทสามารถเจริญบนอาหารทดสอบได้ และจากการสังเกตวงใสรอบโคโลนีรา 23 ไอโซเลท พบว่าราที่ปรากฏวงใสชัดเจน ได้แก่ SS8, SS18 และ SS19 จากนั้นได้นำราทั้ง 3 ไอโซเลทมาศึกษาลักษณะเส้นใยและโครงสร้างสปอร์ประกอบกับข้อมูลลักษณะของโคโลนี พบว่า ราไอโซเลท SS8 คือ *Penicillium* sp. ราไอโซเลท SS18 และ SS19 คือ *Aspergillus* spp.ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gupta *et al.* (2007) และ Pandey *et al.* (2008) ที่พบว่าราสามารถละลายฟอสเฟตส่วนใหญ่ คือ *Penicillium* spp. และ *Aspergillus* spp. (Figure 2)

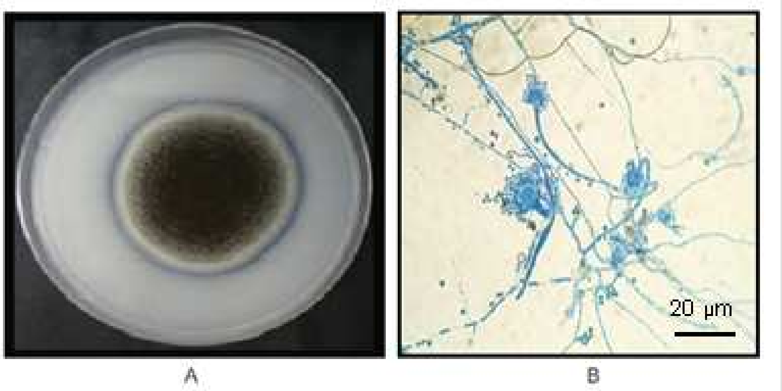


Figure 2 Halo zone around the colony of SS19 (A) hypae and conidia structures with magnifying power of 400X (B)

ประสิทธิภาพการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตด้วยอาหาร Pikovskaya's agar

จากการตรวจวัดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสที่เกิดจากการละลายไทรแคลเซียมฟอสเฟตบนอาหารแข็ง Pikovskaya's agar ของราไอโซเลท SS8, SS18 และ SS19 และเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีราที่เพาะเลี้ยงไว้เป็นเวลา 7 วัน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าร้อยละของประสิทธิภาพในการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟต พบว่า ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปในราทั้ง 3 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) และรา SS19 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุดในวันที่ 7 (33.62%) และมากกว่าไอโซเลท SS8 และ SS18 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ค่าในอาหารแข็งมีข้อจำกัดสำหรับจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอยู่บ้างเนื่องจากอยู่ในสภาพที่มีน้ำน้อย ดังนั้นสารที่ปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ เช่น กรดอินทรีย์ หรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารประกอบฟอสเฟตจะมีการแพร่ได้ช้าลง ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตอิสระที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากการย่อยสลายของราในอาหารเหลว Pikovskaya's broth ต่อไป

Table 1 Efficacies of inorganic phosphate solubilization of SS8, SS18 and SS19 grown on Pikovskaya's agar for 7 days

days	Efficacies of inorganic phosphate solubilization of molds (%)*		
	SS8	SS18	SS19
3	10.40 ± 0.35[a]	18.70 ± 0.29[b]	20.33 ± 0.25[c]
5	15.06 ± 0.50[a]	24.90 ± 0.80[b]	29.35 ± 0.89[c]
7	19.30 ± 0.29[a]	28.20 ± 0.46[b]	33.62 ± 0.59[c]

*Data values are means ± SD of triplicates. Means in each row followed by different letters are significantly different at $P < 0.05$ by DMRT.

ประสิทธิภาพการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร Pikovskaya's broth

ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของราไอโซเลท SS8, SS18 และ SS19 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Pikovskaya's broth เป็นเวลา 10 วัน โดยการตรวจวัดปริมาณฟอสเฟตอิสระที่ละลายน้ำด้วยวิธีโมลิบดินัมบลู (molybdenumblue method) และสเปกโตรโฟโทเมทรี (spectrophotometry) ที่ค่าดูดกลืนแสง 820 นาโนเมตร พบว่า ราไอโซเลท SS8 ให้ค่าการละลายฟอสเฟตในช่วง 10.88-67.43 มิลลิกรัมต่อลิตร ราไอโซเลท SS18 มีค่า 17.63-85.48 มิลลิกรัมต่อลิตร และราไอโซเลท SS19 มีค่า 20.51-117.19 มิลลิกรัมต่อลิตร และราไอโซเลท SS19 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตสูงสุด (117.19 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในวันที่ 10 ของการเพาะเลี้ยง (Table 2) นอกจากนี้พบว่าค่าความเป็นกรด-เบสของอาหารเลี้ยงเชื้อ SS8, SS18 และ SS19 ลดลงต่ำสุดในวันที่ 10 โดยมีค่าเท่ากับ 6.1, 5.8 และ 5.4 ตามลำดับ

จากผลการทดลองแสดงว่าราไอโซเลท SS19 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตออกจากสารประกอบไทรแคลเซียมฟอสเฟตได้มากกว่า SS8 และ SS18 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (Table 2) ราไอโซเลท SS19 จัดอยู่ในสกุล *Aspergillus* ซึ่งสามารถพบได้ในดินทั่วไป สร้างคอนิเดีย (conidia) จำนวนมาก และเพาะเลี้ยงได้ง่าย นอกจากนี้อาจมีการสร้างกรดอินทรีย์ในระหว่างการเจริญในราทั้ง 3 ไอโซเลท ซึ่งสังเกตจากค่าความเป็นกรด-เบสของอาหารทดสอบมีค่าลดลง โดยรา SS19 ให้ค่าความเป็นกรดมากกว่าไอโซเลท SS8 และ SS18 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gupta *et al.* (2007) และ Yasser *et al.* (2014) ที่พบว่าราสามารถละลายฟอสเฟต คือ *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. มีการสร้างกรดออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อจากการตรวจวัดค่าความเป็นกรด-เบสของอาหาร Pikovskaya's broth ก่อนและหลังการเพาะเลี้ยง ดังนั้นการผลิตกรดอินทรีย์อาจเป็นปัจจัยส่วนหนึ่งที่ใช้ในการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตของรากลุ่มนี้

Table 2 Concentrations of soluble phosphate released from tricalcium phosphate in the supernatant of Pikovskaya's broth by 3 mold isolates grown for 10 days

Isolates	Soluble phosphate (mg/L)*				
	Day 2	Day 4	Day 6	Day 8	Day 10
SS8	10.88 ± 0.46[a]	21.85 ± 0.39[a]	39.85 ± 0.46[a]	56.79 ± 0.93[a]	67.43 ± 0.76[a]
SS18	17.63 ± 0.79[b]	37.57 ± 0.63[b]	51.57 ± 0.52[b]	73.51 ± 1.52[b]	85.48 ± 1.31[b]
SS19	20.51 ± 0.86[c]	46.72 ± 0.91[c]	67.36 ± 1.06[c]	97.36 ± 1.79[c]	117.19 ± 0.93[c]

*Data values are means ± SD of triplicates. Means in each column with different letters are significant at $P<0.05$.

สรุป

จากการคัดแยกราที่มีประสิทธิภาพละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตจากดินสวนผลไม้ในจังหวัดสมุทรสงคราม โดยใช้อาหารแข็งและอาหารเหลวสูตรของ Pikovskaya ที่มีส่วนประกอบของไทรแคลเซียมฟอสเฟต พบว่ารา 3 ชนิดมีความสามารถละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตได้ คือ *Aspergillus* sp. SS19, *Aspergillus* sp. SS18 และ *Penicillium* sp. SS8 โดย *Aspergillus* sp. SS19 มีประสิทธิภาพการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตมากกว่า *Aspergillus* sp. SS18 และ *Penicillium* sp. SS8 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าราทั้ง 3 ชนิดมีการสร้างกรดในระหว่างการเจริญทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรด-เบสลดลง จากผลการวิจัยครั้งนี้จะนำไปศึกษาแนวโน้มการนำ *Aspergillus* sp. SS19 ไปใช้เป็นส่วนผสมของปุ๋ยชีวภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Achal, V., V.V. Savant and M.S. Reddy. 2007. Phosphate solubilization by a wild type strain and UV-induced mutants of *Aspergillus tubingensis*. **Soil Biology and Biochemistry** 39:695–699.

Chen, P.S., T.Y. Toribara and H. Warner. 1956. Microdetermination of phosphorous, **Analytical Chemistry** 28: 1756-1758.

Gupta, N., J. Sabat, R. Parida, and D. Kerkatta. 2007. Solubilization of tricalcium phosphate and rock phosphate by microbes isolated from chromite, iron and manganese mines. **Acta botanica Croatica** 66(2): 197-204.

Gyaneshwar, P., G.N. Kumar, L.J. Parekh and L.J. Poole. 2006. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant Soil** 245: 83-93.

Hamdali, H., K. Moursalou, G. Tchangbedji, Y. Ouhdouch and H. Hafidi. 2012. Isolation and characterization of rock phosphate solubilizing actinobacteria from a Togolese phosphate mine. **African Journal of Biotechnology** 11(2): 312-320.

Pandey, A., N. Das, B. Kumar, K. Rinu and P. Trivedi. 2008. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. isolated from soil samples of Indian Himalayan region. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 24:97-102.

Panhwar, Q.A., R. Othman, Z.A. Rahman, S. Meon and M.R. Ismail. 2012. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from aerobic rice. **African Journal of Biotechnology** 11(11): 2711-2719.

Tallapragada, P. and U. Seshachala. 2012. Phosphate-solubilizing microbes and their occurrence in the rhizospheres of *Piper betel* in Karnataka, India. **Turk Journal of Biology** 36: 25-35.

Xiao, C.Q., R.A. Chi, H. He, G.Z. Qiu, D.Z. Wang and X.W. Zhang. 2009. Isolation of phosphate-solubilizing fungi from phosphate mines and their effect on wheat seedling growth. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 159: 330–342.

Yasser, M.M., A.S.M. Mousa, O.N. Massoud and S.H. Nasr. 2014. Solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing fungi isolated from Egyptian soils. **Journal of Biology and Earth Sciences** 4(1): B83-B90.

Yi, Y.M., W.Y. Huang and Y. Ge. 2008. Exopolysaccharide: a novel important factor in the microbial dissolution of tricalcium phosphate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 24:1059-1065.

Study on Preparation Conditions of Poly(hydroxamic acid) from Poly(acrylamide)-grafted-polyethylene Film

Thirawan Nipithakul[1*] and Kulsinee Sintasanai[2]

ABSTRACT

This study investigates the optimal conditions for preparation of poly(hydroxamic acid) from poly(acrylamide)-grafted-polyethylene film. Acrylamide was successfully grafted onto the surface of polyethylene by chemical pretreatment and subsequent ceric (IV) ion-induced graft polymerization. Conversion of the amide groups into the hydroxamic acid was carried out by treatment with hydroxylamine in an alkaline solution under three different conditions. Characterizations of modified surfaces were conducted through Fourier transforms infrared spectroscopy in the attenuated total reflectance mode (ATR-FTIR). Dye staining with vanadium was used to examine the presence of poly(hydroxamic acid) onto PE surfaces. The hydroxamic content of the products from various preparation conditions was compared using UV-visible spectroscopy. The mechanical properties of the modified film were also investigated. The infrared spectra and color test confirmed the surface modification of PE film. The hydroxamic content of functionalized film was affected by the reaction temperature. No significant differences were found in the mechanical properties of modified-PE compared to pristine PE. The chelating properties towards some metal ions suggest that such membrane can be accepted for cleaning of wastewater.

Key words: polyethylene, acrylamide, hydroxamic acid

* Corresponding author; e-mail address: thirawan@tu.ac.th

[1]College of Interdisciplinary Studies, Thammasat University (Lampang), Lampang 52190

[2]Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400

INTRODUCTION

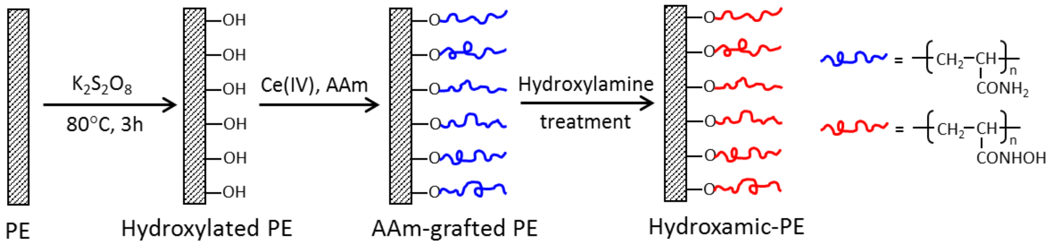
Hydroxamic acids have been known for their chelation ability with heavy metals (Petric *et al.*, 1965; Vernon, 1982). Generally, the hydroxamic binds to metal ion through the two oxygen atoms and, thus, the complex is formed in a five-membered ring structure which could be in both keto and enol forms (Yale, 1943). The existence of such a resonance structure brings about the complex with very high stability. Number of chelating polymers, containing hydroxamic acid group, have been synthesized from various starting materials using different methods and for various purposes. Polymeric chelating resins bearing hydroxamic acid group have been used for extraction and separation of metal ions such as V^{5+}, Fe^{3+}, Zn^{2+}, Pb^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, Cr^{3+} and UO^{2+}_2. Also a preliminary study has investigated the application of polyacrylhydroxamic acid resin for recovering Pu^{4+} from carbonate based waste solutions in Plutonium-Uranium reduction extraction (Pathak *et al.*, 2012).

Polymeric ion exchange materials are available in various morphologies related to the polymer framework carrying the functional groups. This includes beads, membranes and fibers. Such variation in the physical forms brings about wide differences in chemical and physical properties of these ion exchangers. To achieve the optimal mechanical and metal-binding properties, chelate-forming functional groups can be introduced to desired materials by simple chemical reaction.

There is much interest in transforming amide groups in a polymer into hydroxamic acid groups through the treatment of hydroxylamine. Many researchers have prepared poly(hydroxamic acid) hydrogels from crosslinked polyacrylamide hydrogels at room temperature (Domb *et al.*, 1988; Isikver *et al.*, 2001). While hydroxamic acid-containing resins should be prepared at high temperature: 70°C for 6 h (Pal *et al.*, 2006; Satpati *et al.*, 2014), 75-80°C for 3 days (Khodadadi *et al.*, 1995). Bergmann (1952) reported that the rate of reaction between amides and hydroxylamine increases with temperature, but a competitive reaction, the hydrolysis of amide becomes more and more preponderant, thus depressing the yield of hydroxamic acid. The optimal period required for maximum yield is considerately shortened at elevated temperature.

In this work, a novel adsorbent, hydroxamic acid-containing polyethylene membrane was prepared under different conditions and tested for the purpose of metal ion adsorption. Polyethylene is used as starting material because of its low cost and high chemical resistance properties. The PE film surface was firstly grafted with acrylamide using the 2-stage process (Nipithakul and Sintasanai, 2016). This process changes in a thin surface layer without affecting the bulk properties of the film. Based on the above literatures, three preparation conditions are undertaken to study functionalization of acrylamide-grafted PE film, in hope to find an optimal condition for maximum yield of hydroxamic acid.

The changes on the film surface can be sketched in Scheme 1. The chemical structure of sample surfaces was characterized by FTIR spectroscopy. The presence of hydroxamic groups and their content on the membrane was investigated by UV-visible spectroscopy. The chelating properties of hydroxamic acid-containing PE towards some metal ions were also examined.



Scheme 1 Chemical changes on the film surface after each step of modification.

MATERIALS AND METHODS

1. Surface grafting of acrylamide onto PE film

PE film was washed with acetone before use to remove any additives adsorbed on the surface and dried at room temperature. The PE surface was initially hydroxylated by thermal decomposition of $K_2S_2O_8$ (KPS, Fluka) at 80°C for 3 h. After hydroxylation, samples were submitted to grafting reaction. The solution consists of $3x10^{-3}$ M ceric ammonium nitrate $[(NH_4)_2Ce(NO_3)_6]$ (Fluka), 7% w/v of acrylamide (AAm) monomer (Fluka) in 0.05 M HNO_3. Nitrogen gas was slowly bubbled through the reaction vessel for 1 min. The reaction mixture was stirred at 50°C for 7 h. Then, the grafted PE film was washed thoroughly with hot water and dried at room temperature.

2. Preparation of hydroxamic acid-containing PE

17.25 g of hydroxylamine hydrochloride was dissolved in a 250 ml methanolic solution (methanol : water; 5:1). After neutralized by 3 M NaOH in methanolic solution, NaCl precipitate obtained was removed by filtration. The pH of the reaction solution was adjusted to 11 by addition of NaOH solution, while the reaction medium was maintained at a methanol to water ratio of 5:1. Afterwards, the grafted film was stirred in the hydroxylamine solution under different conditions: 25°C for 24 h, 45°C for 24 h and 72°C for 2 h. After completion of the reaction, the samples were washed several times with methanolic solution (methanol : water; 4:1), and then treated with methanolic HCl (0.2 M) at least 5 min. Finally, the samples were washed repeatedly with the methanolic solution and dried at 50°C.

3. Surface characterization of functionalized PE film

Changes in chemical structure of PE surface were followed by Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR). The measurements were performed on a Brüker Equinox 55 Infrared Fourier Transform Spectrometer with 16 scans at a resolution of 4 cm^{-1} over range of 4000 to 600 cm^{-1}.

The visual color reaction is a well-known test for characterization of hydroxamic acid groups. The hydroxamic acid-containing PE was immersed in 0.1 M NH_4VO_3 dissolved in 3 M H_2SO_4 for 24 h. The samples were then washed with water and dried. A dark purple color of complex on the surfaces was observed. The change of color intensity was quantified by using UV-VIS spectrophotometer (Perkin-Elmer Lambda 800 UV/VIS).

4. Mechanical property analysis

The tensile strength of sample films was measured using Instron 4301 tensile testing machine. A crosshead speed of 50 mm/min with load cell of 100 N was employed. An extensometer was used to determine elongation of the samples. For each sample, three measurements were performed and the average data were recorded.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Optimal conditions for preparation of poly(hydroxamic acid) film

Chemical functional groups on a surface region could be detected and identified by ATR-FTIR. Figure 1 shows representative ATR spectra for AAm-grafted PE before and after reacted with hydroxylamine under various conditions. The grafted film demonstrated two bands centered at 3200 and 3342 cm^{-1} and two peaks at around 1618 and 1656 cm^{-1} which corresponded to NH_2 stretching (amide II) and C=O stretching (amide I) of amide group , respectively (Nipithakul and Sintasanai, 2016).

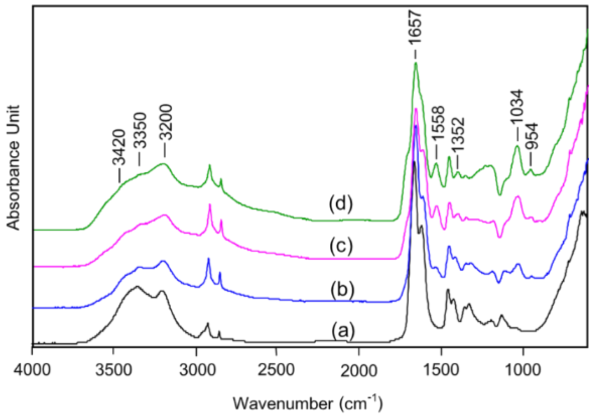


Figure 1 ATR-FTIR spectra of AAm-grafted PE (a) before and after treatment with $NH_2OH.HCl$ under (b) 25^{o}C, 24 h (c) 45^{o}C, 24 h (d) 72^{o}C, 2 h.

After hydroxylamine treatment, all samples present the similar shape of spectra. Broad absorption bands around 3600-3200 cm^{-1} is attributed to O-H stretching and N-H stretching. The two bands appeared at 1558 and 1657 cm^{-1} which corresponded to N-H amide and C=O stretching of hydroxamic acid group, respectively (Lutfor *et al.*, 2001). Since the carbonyl band of amide group and hydroxamic acid group appeared at the same position, the investigation has not yet concluded that all amide groups are changed to hydroxamic acid groups under these conditions. The Hydroxamic-PE

may have residual acrylamide on the surface. Furthermore, the result for high temperature (45°C and 72°C) showed the carboxylic acid band at 1710 cm^{-1}. This observation might be justified by the hydrolysis of amide groups in alkaline condition (Isikver *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2005). Many researchers reported that the final product was composed of hydroxamic acid groups, carboxylic acid groups and unreacted amide groups (Domb *et al.*, 1988; Isikver *et al.*, 2001). However, this result manifested the successful introduction of large amount of hydroxamic acid groups on the surfaces.

The presence of hydroxamic acid groups on the product was also confirmed by a qualitative test based on the ability of the groups to form a colored complex with vanadium (V) in an acidic solution. Vanadium ion gives a dark purple complex on reaction with hydroxamic acid groups. This colored complex can easily be observed since the sample is colorless. The purple color was not observed when AAm-grafted PE was reacted under similar conditions. The formation of a dark purple complex between polymeric hydroxamic acids and vanadium(V) has been reported in earlier publications (Petric *et al.*, 1965; Haron *et al.*, 1994; Lutfor *et al.*, 2001).

In this work, FT-IR spectroscopy was used to characterize chemically modified film and to judge the efficiency of different conditions. The extent of hydroxamic acid on the surface was determined by the ratio of peak intensity of hydroxamic acid group (1558 cm^{-1}) and CH_2 bending of PE (1460 cm^{-1}), as seen in Figure 2. For the same reaction time (24h), the conversion of amide groups into hydroxamic acid groups increased significantly with the treatment temperature. At higher temperature, the product has a higher yield of hydroxamic acid. Thus, this hydroxylamine reaction is favored by high temperature. It is seen clearly that the intensity ratio of Hydroxamic-PE increased with an increase in reaction temperature and maximized when the reaction was carried out at 72°C for 2 h. This was reported to be the result of increasing the reactivity of amide groups with reaction temperature (Bergmann, 1952).

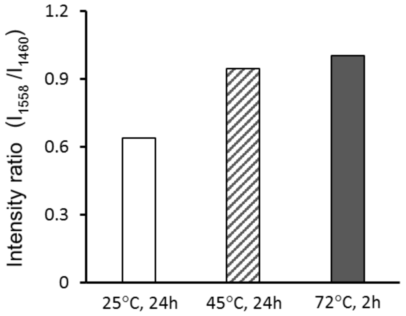


Figure 2 Effect of preparation conditions on the amount of hydroxamic groups on the surface.

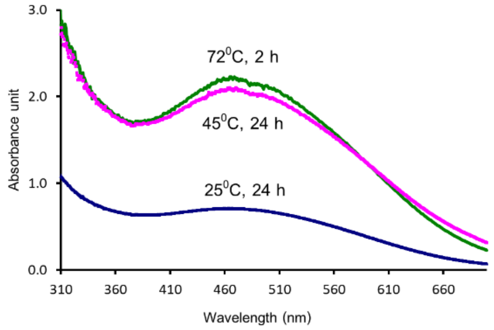


Figure 3 UV-VIS spectra of purple complex of Hydroxamic-PE samples chelating with vanadium ion.

After treatment with vanadium solution, it was found that all samples of Hydroxamic-PE turned dark purple color in which offered the maximum absorption at 470 nm as shown in Figure 3. This result

cannot be observed in the AAm-grafted PE films. The absorbance unit of modified film was found to increase with increasing the reaction temperature. The greater reactivity of AAm to hydroxylamine at high temperature was correlated with the result determined by FTIR analysis. As the results, it can be concluded that the optimum condition for preparing Hydroxamic-PE film was at 72°C for 2 h.

Figure 4 shows that there is no significant change in tensile strength and the elongation at break of functionalized PE compared to original PE. This might be explained that both reactions preferably performed on the surface thus they did not affect to the bulk properties of base polymer.

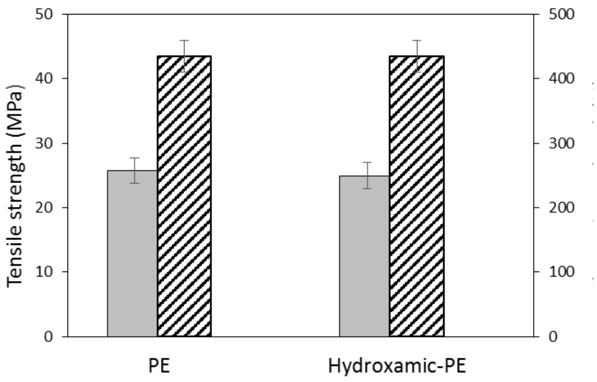


Figure 4 Effect of grafting and hydroxylamine treatment on the tensile strength and elongation at break of PE film.

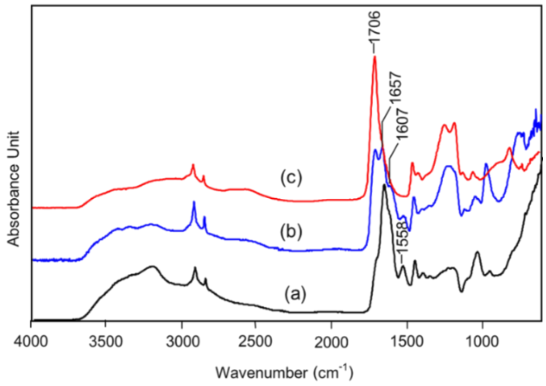


Figure 5 ATR-FTIR spectra of Hydroxamic-PE (a) before and after chelating with vanadium ion for (b) 24h (c) 2 days.

2. Metal binding studies on poly(hydroxamic acid) film

To further investigate the relation between the color change and the chemical composition of membranes after chelating with vanadium, the membranes were characterized with ATR-FTIR. The results are displayed in Figure 5. A new absorption peak, which was attributed to the complex formation of hydroxamate groups with vanadium was observed at 1607 cm^{-1} (Lee and Hong, 1995). Nevertheless, both peaks at 1558 and 1657 cm^{-1} assigning to the residual free hydroxamic acid which did not chelate with metal ion were still found in the spectrum. Furthermore, a strong peak at 1706 cm^{-1}, corresponding to C=O stretching of carboxylic acid, was also noticed. This was ascribed to be the result of the acid hydrolysis of residual acrylamide groups and some hydroxamic acid groups on hydroxamic-PE (Berndt and Ward, 1976; Vernon, 1982; Berndt *et al*., 1984).

To verify that the carboxylic acid peak appeared resulted from the hydrolysis of acrylamide and hydroxamic groups, the purple membrane of Hydroxamic-PE was further immersed in vanadium solution until 2 days. At the end of the reaction, the membrane was found to become colorless. This observation correlated with the presence of carboxylic acid peak at 1706 cm^{-1} and the disappearance of peak at 1607 cm^{-1} corresponding to vanadium-hydroxamate complex. In addition, the disappearance of both absorption peaks at 1558 and 1657cm^{-1} could confirm the hydrolysis reaction of amide and

hydroxamic groups. These results showed that during the chelating with vanadium of membrane, the acid hydrolysis of acrylamide and hydroxamic acid groups was accompanied as a side reaction.

The development of color is another important evidence to confirm the metal-complex formation (Petric *et al*., 1965; Lutfor *et al*., 2001). Hydroxamic-PE samples were soaked in an aqueous solution containing metal ions at room temperature with continuous stirring for 24 h. The color change was then observed clearly, as summarized in Table 1. It was found that colorless film of Hydroxamic-PE turned color after chelating with metal ions. Its color depended on the type of metal ions used, i.e., Fe(III) chelating provided the deep brown sample whilst Cu(II) binding produced the blue-green color sample. This behavior cannot be observed in untreated PE and AAm-grafted PE.

Table 1 Different colors obtained for Hydroxamic-PE with metal solutions

Metal ions	pH	Solvent or Buffer	Color change
V(V)		H_2SO_4	Dark purple
Fe(III)	2-3	CH_3COONa/CH_3COOH	Deep brown
Cu(II)	5	CH_3COONa/CH_3COOH	Blue-green

CONCLUSION

Adsorbent containing hydroxamic acid groups was successfully prepared by 2-stage graft polymerization of acrylamide onto polyethylene film, followed by treatment with hydroxylamine. The IR spectral evidences and the formation of a dark-purple complex with vanadium ions were used to confirm the presence of hydroxamic acid groups onto modified polymeric surface. The reaction temperature has a great effect on the conversion of amide groups into hydroxamic acids. The optimum condition for preparing Hydroxamic-PE film was 72^{o}C for 2 h. It was also observed that deep brown and blue-green complexes were produced when the polymeric hydroxamic acid was reacted with iron(III) and copper(II) ions, respectively. The ability of the modified PE to bind various metal ions showed the possibility of its uses in cleaning wastewater which is one of the most important environmental problems.

REFERENCES

Bergmann, F. 1952. Colorimetric determination of amides as hydroxamic acids. **Analytical Chemistry.** 24: 1367-1369.

Berndt, D.C. and I.E. Ward. 1976. Kinetics and mechanism of acidic and alkaline hydrolysis of hindered N-methylacrylhydroxamic acids. **Journal of Organic Chemistry.** 41: 3297-3299.

Berndt, D.C., N. Utrapiromsuk and D.E. Conran. 1984. Substituent effects and mechanism in the micellar hydrolysis of hydroxamic acids. **Journal of Organic Chemistry.** 49: 106-109.

Domb, A.J., E.G. Cravalho and R. Langer. 1988. The synthesis of poly(hydroxamic acid) from poly(acrylamide). **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry.** 26: 2623-2630.

Haron, M.J., W.M.Z. Wan Yunus, M.Z. Desa and A. Kassim. 1994. Synthesis and properties of poly(hydroxamic acid) from crosslinked poly(methacrylate). **Talanta.** 41: 805-807.

Isikver, Y., D. Saraydin and N. Sahiner. 2001. Poly(hydroxamic acid) hydrogels from poly(acrylamide): preparation and characterization. **Polymer Bulletin**. 47: 71-79.

Khodadadi, R., S.A. Fakhri and A.A. Entezami. 1995. Poly(hydroxamic acid) chelating resins: the synthesis and uses. **Iranian Journal of Polymer Science and Technology.** 4: 248-255.

Lee, T.S. and S.I. Hong. 1995. Synthesis and metal binding behavior of hydroxamic acid resins from poly(ethyl acrylate) crosslinked with divinyl benzene and hydrophilic crosslinking agent. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry.** 33: 203-210.

Lutfor, M.R., S. Sidik, W.M.Z. Wan Yunus, M.Z.A. Rahman, A. Mansor and M.J. Haron. 2001. Synthesis and characterization of poly(hydroxamic acid) chelating resin from poly(methyl acrylate)-grafted sago starch. **Journal of Applied Polymer Science.** 79: 1256-1264.

Nipithakul, T. and K. Sintasanai. 2016. Surface analysis of polyethylene film modified via ceric ion-induced grafting of acrylamide, pp.167-174. In **Proceedings of the 54th Kasetsart University Annual Conference**. 2-5 February 2016. Kasetsart University, Bangkok, Thailand.

Pal, S., V. Ramachandhran, S. Prabhakar, P.K. Tewari and M. Sudersanan. 2006. Polyhydroxamic acid sorbents for uranium recovery. **Journal of Macromolecular Science. Part A: Pure and Applied Chemistry.** 43: 735-747.

Pathak, S.S., I.C. Pius, S.K. Mukerjee, S. Pal and P.K. Tewari. 2012. Studies on sorption of plutonium from carbonate medium on polyacrylhydroxamic acid resin. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.** 293: 483-488.

Petric, G., D. Locke and C.E. Meloan. 1965. Hydroxamic acid chelate ion exchange resin. **Analytical Chemistry.** 37: 919-920.

Satpati, S.K., S. Pal, S.B. Roy and P.K. Tewari. 2014. Removal of uranium (VI) from dilute aqueous solutions using novel sequestering sorbent poly-acryl hydroxamic acid. **Journal of Environmental Chemical Engineering.** 2: 1343-1351.

Vernon, F. 1982. Chelating ion exchangers-The synthesis and uses of poly(hydroxamic acid) resin. **Pure and Applied Chemistry.** 54: 2151-2158.

Yale, H.L. 1943. The hydroxamic acid. **Chemical Reviews.** 33: 209-256.

Zhang, H., Y. He, S. Li and X. Liu. 2005. Synthesis and hydrolytic degradation of aliphatic polyesteramides branched by glycerol. **Polymer Degradation and Stability.** 88: 309-316.

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ ของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดนางรม และเห็ดนางรมหลวง

Antioxidant activity, total phenolic content and total polysaccharide of crude polysaccharide from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*

<u>เกษรา คงกล้า</u>[1] พรชัย หลายพสุ[2] และ สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม[1*]

<u>Katesara kongkla</u>[1], Pornchai Laipasu[2] and Supattra poeaim[1*]

บทคัดย่อ

เห็ดสกุลนางรมเป็นเห็ดที่นิยมรับประทาน และสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ โดยสกัดสารโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดนางรมหลวง (*Pleurotus eryngii*) ด้วยสารละลายด่าง ตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบค่า 50% effective concentration (EC_{50}) เท่ากับ 2.49±0.22 และ 2.55±0.01 mg/ml ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ทดสอบด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ในเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวงมีค่าเท่ากับ 9.67±0.09 และ 5.49±0.08 mg GAE/g extract ตามลำดับ และปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดที่ทดสอบด้วยวิธี phenol sulfuric acid ในเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวงมีค่าเท่ากับ 356.57±0.35 และ 292.82±0.29 mg glucose/g extract ตามลำดับ รวมทั้งยืนยันหมู่ฟังก์ชันของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ด้วยเทคนิค FT-IR ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ของเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวงมีฤทธิ์ทางชีวภาพ สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเครื่องสำอางได้ในอนาคต

ABSTRACT

Pleurotus spp. is a popular edible mushroom and easily artificially cultivated. This research was studied the antioxidant activity, total phenolic content and total polysaccharide of crude polysaccharides from alkali extraction of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*. The crude polysaccharides of *P. ostreatus* and *P. eryngii* extract showed an effective antioxidant activity against ABTS with the 50% effective concentration (EC_{50}) of 2.49±0.22 and 2.55±0.01 mg/ml, respectively. The total phenolic content was determined by Folin–Ciocalteu method in the curde *P. ostreatus* and *P. eryngii* extract were 9.67±0.09 and 5.49±0.08 mg GAE/ g extract, respectively. The total polysaccharides were measured by phenol-sulfuric acid colorimetric method. The *P. ostreatus* and *P. eryngii* extract exhibited the total polysaccharide with 356.57±0.35 and 292.82±0.29 mg glucose/g extract, respectively. Functional groups of crude polysaccharide were confirmed by FT-IR spectroscopy. These results suggest that the polysaccharide extracts from *P. ostreatus* and *P. eryngii* have a potential to be used as ingredients in dietary supplements and cosmetic products in the future.

Key word: polysaccharide, antioxidant, *Pleurotus ostreatus, Pleurotus eryngii*

* Corresponding author; e-mail address: poeaim@hotmail.com

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Biology, Faculty of Science, KMITL, Bangkok 10520

[2]ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[2]Department of Statistics, Faculty of Science, KMITL, Bangkok 10520

คำนำ

ปัจจุบันชีวิตประจำวันของมนุษย์ต้องเผชิญกับปัญหาสุขภาพที่เกิดจากมลพิษทางสิ่งแวดล้อม เมื่อร่างกายรับมลพิษจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกาย มีผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคภัยต่าง เช่น โรคหัวใจ มะเร็ง เส้นเลือดในสมองตีบ เบาหวาน และอัลไซเมอร์ เป็นต้น ร่างกายจึงจำเป็นต้องสร้างหรือได้รับสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่ได้ทั้งจากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ทางเคมี โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์จำเป็นต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นความต้องการสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ (natural antioxidant) จึงมีเพิ่มมากขึ้น (Brewer, 2011)

เห็ดสกุลนางรม (Division Basidiomycota, Order Agaricales) เป็นเห็ดที่นิยมรับประทาน เนื่องจากมีรสชาติอร่อย และสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย ได้รับการยอมรับว่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และมีสรรพคุณในการรักษาโรค รวมทั้งประยุกต์ใช้ทางด้านสิ่งแวดล้อม (Knop และคณะ, 2015) โดยกรมวิชาการเกษตรได้แบ่งเห็ดสกุลนางรมเป็น 2 กลุ่ม ตามอุณหภูมิของแหล่งเพาะปลูก คือ เห็ดเขตร้อน และเห็ดเขตหนาว ซึ่งเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) หรือ Oyster mushroom จัดอยู่ในกลุ่มของเห็ดเขตร้อน เนื่องจากสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส แต่สำหรับเห็ดนางรมหลวง (*Pleurotus eryngii)* หรือ King oyster mushroom จัดอยู่ในกลุ่มของเห็ดเขตหนาว ที่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 23-25 องศาเซลเซียส โดยเห็ดสกุลนางรมมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น โพลีแซคคาไรด์ เปปไทด์ ไกลโคโปรตีน ฟีนอลิก และไขมัน ที่พบได้ทั้งจากเส้นใยและดอกเห็ด สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่มีส่วนช่วยชะลอความชราและป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Croan, 2004; Kashangura และคณะ, 2006) มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ และมีประโยชน์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Inacio และคณะ, 2015) โดยในผนังเซลล์ของเห็ดจะพบสารโพลีแซคคาไรด์อยู่ถึง 50-90% และองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นเบต้ากลูแคน (ß-glucan) นอกจากนั้นอาจเป็นไกลโคเจน (Glycogen) ไคทิน (Chitin) ไซแลน (Xylan) และเซลลูโลส (Cellulose) (Synytsya และคณะ, 2009) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยสารละลายด่างจากเห็ดนางรม และเห็ดนางรมหลวง รวมทั้งวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์

อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดสารโพลีแซคคาไรด์

สกัดสารโพลีแซคคาไรด์ด้วยสารละลายด่างตามวิธีของ Anita และคณะ (2011) โดยนำส่วนดอกเห็ดของเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวงมาอบแห้งและบดละเอียด ผสมกับ 1 M NaOH ในอัตราส่วน 1: 10 สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมากรอง แล้วนำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปตกตะกอนด้วยเอทานอล 95% ทิ้งไว้ข้ามคืน ล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70% แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

การทดสอบปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมด

ทดสอบปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดด้วยวิธี phenol-sulfuric acid ตามวิธีของ Dubios และคณะ (1956) โดยนำตัวอย่างสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 250 µg/ml ปริมาตร 1 ml เติมสารละลาย 5% phenol ปริมาตร 1 ml และ sulfuric acid ปริมาตร 5 ml จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร และวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm นำค่าที่ได้มาคำนวณเทียบกับค่ามาตรฐานของสารละลายกลูโคส ซึ่งมีช่วงความเข้มข้นระหว่าง 10 – 100 µg/ml รายงานปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดเป็นมิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด (mg glucose / g extract)

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวอย่าง

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวอย่างด้วยวิธี FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy) โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ด้วยเครื่อง FT-IR spectrophotometer ชนิด ATR (Attenuated Reflection Infrared Spectroscopy) รุ่น NICOLET 6700 (Thermo scientific, Germany) วิเคราะห์ที่ช่วงความยาวคลื่น 3500 – 500 cm^{-1}

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin- Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965) โดยนำ 10% Folin ปริมาตร 2.5 ml ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารสกัดจากเห็ดปริมาตร 0.5 ml ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 7.5% Na_2CO_2 ปริมาตร 2 ml ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในที่มืดเป็นระยะเวลา 90 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE / g extract)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) ตามวิธีของ Re และคณะ (1999) เตรียมสาร $ABTS^+$ โดยผสมระหว่าง 7 mM ABTS และ 2.45 mM $K_2S_2O_8$ ในอัตราส่วน 1: 1 ผสมทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงในที่มืด จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น (มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm เป็น 0.700±0.02) เตรียมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 0.625-10 mg/ml ปริมาตร 0.1 ml ต่อสาร $ABTS^+$ ปริมาตร 1 ml แล้วตั้งทิ้งไว้ 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ inhibition ดังสูตร % ABTS inhibition = $[(A_0 – A_1)/A_0] \times 100$

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดด้วยวิธี phenol-sulfuric acid

สารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ที่ได้มีลักษณะหนืด สีน้ำตาล โดยเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวง คิดเป็นผลผลิตได้ 10% ซึ่งปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดของเห็ดนางรมและนางรมหลวง เท่ากับ 356.57±0.35 และ 292.82±0.29 mg glucose / g extract ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chatchai และคณะ (2011) ที่สกัดสารโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดหอม (*Lentinus Polychrous* Lev.) โดยให้ผลผลิตของสารสกัดเท่ากับ 5.7% และมีปริมาณโพลีแซคคาไรด์เท่ากับ 420±2.91 mg glucose / g extract รวมทั้ง

รายงานการวิจัยของ Anita และคณะ (2011) ที่เปรียบเทียบวิธีการสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) ด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน และสกัดด้วยสารละลายด่าง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส พบว่าการสกัดด้วยสารละลายด่างให้ผลผลิตมากกว่าการสกัดด้วยน้ำร้อน

ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวอย่างด้วยวิธี FT-IR

การวิเคราะห์ด้วยวิธี FT-IR นั้นเป็นการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารตัวอย่าง มีจุดประสงค์เพื่อยืนยันสารโพลีแซคคาไรด์ที่อยู่ในสารสกัด ผลการตรวจสอบ พบว่าตัวอย่างสารโพลีแซคคาไรด์ดูดกลืนแสงได้หลายตำแหน่ง (Figure 1 and 2) และจากการรายงานของ Aida และคณะ (2012) ระบุว่าสารโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของไผ่ (*Gigantochloa Levis*) มีตำแหน่งที่ช่วงความยาวคลื่น 950-1200 cm^{-1} เช่นเดียวกับรายงานของ Synnytsya และคณะ (2009) ระบุว่าช่วงความยาวคลื่น 1150-1160 cm^{-1} เป็นตำแหน่งของ C-O-C stretching ของพันธะไกลโคซิดิก และการดูดกลืนแสงของ ß-glucan มักพบในตำแหน่งความยาวคลื่น 1376, 1317, 1162, 1100, 1080, 1040 และ 990 cm^{-1} ดังนั้นสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ของเห็ดทั้งนางรมและนางรมหลวงอาจมี ß-glucan เป็นองค์ประกอบ โดย Figure 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ ß-glucan ที่ตำแหน่ง 1009.86 cm^{-1} ในเห็ดนางรม และ Figure 2 ที่ตำแหน่ง 1010.75 cm^{-1} ในเห็ดนางรมหลวง

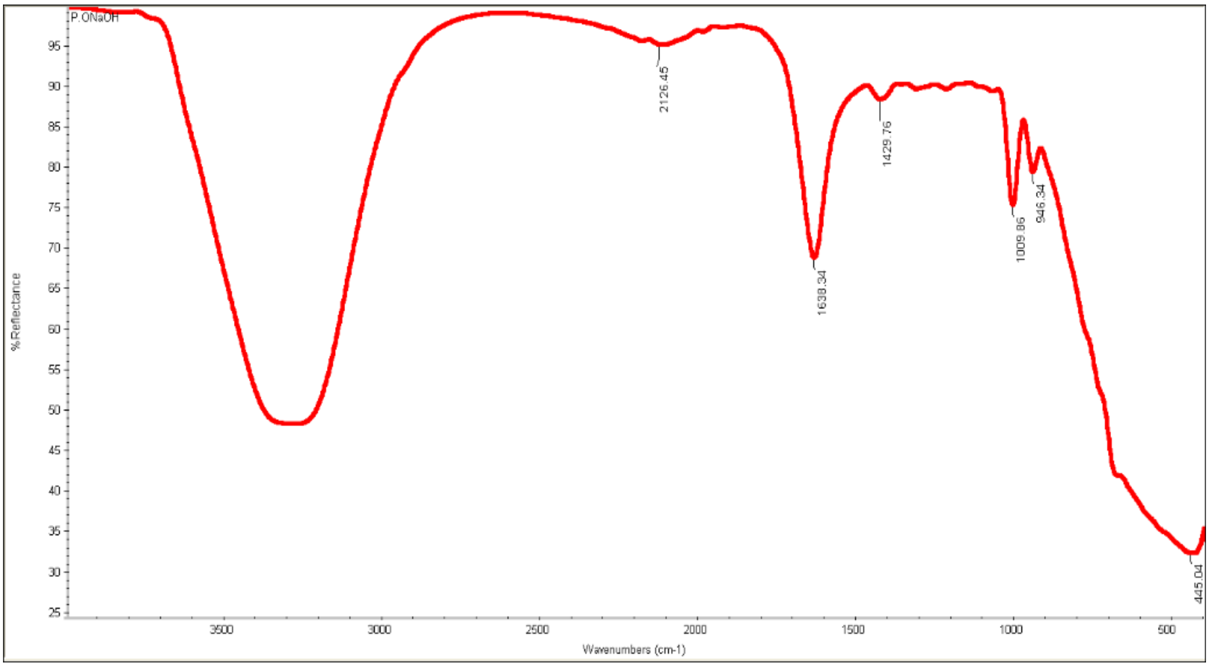


Figure 1 FT-IR spectra of *Pleurotus ostreatus* in the range of 500-3500 cm^{-1}

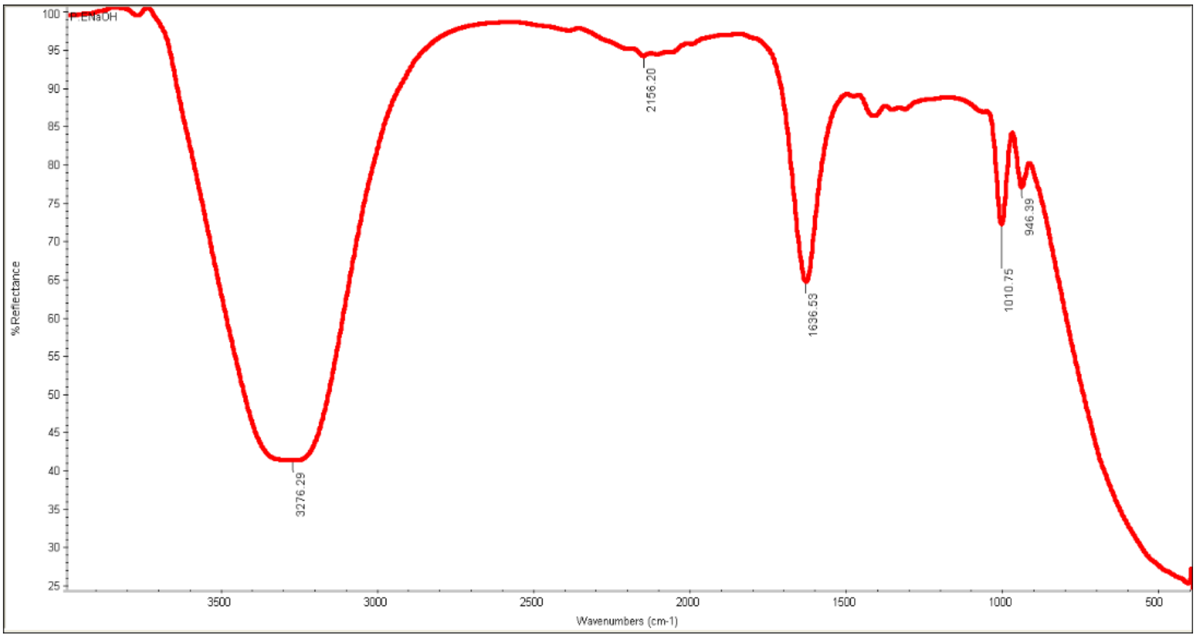


Figure 2 FT-IR spectra of *Pleurotus eryngii* in the range of 500-3500 cm^{-1}

ผลการทดสอบสารประกอบฟีนอลิก

จากการทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ของเห็ดนางรม และเห็ดนางรมหลวง โดยพิจารณาจากการเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ได้สมการ ดังนี้ Y = 11.657X , (R^2= 0.9961) พบว่าสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ของเห็ดนางรมมีสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าเห็ดนางรมหลวง โดยเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวงมีสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 9.67±0.09 และ 5.49±0.08 mg GAE / g extract ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเห็ดกินได้ 3 ชนิด คือเห็ดปะการังเหลือง (*Ramaria flava*) เห็ดลูกฝุ่น (*Rhizopogon roseolus*) และเห็ดไคลหลังขาว (*Russula delica*) ที่พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 2.09-10.50 mg GAE / g extract (Gursoy และคณะ, 2010) รวมทั้งเห็ดป่ากินได้ 6 ชนิด คือ *Pleurotus porrigens*, *Hygrocybe conica*, *Xerula furfuracea*, *Schizophyllum commune*, *Polyporus tenuiculus* และ *Pleurotus florida* ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในช่วง 0.83-42.2 mg GAE / g extract (Wong and Chye, 2009) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันนั้น ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของตัวอย่าง วิธีการที่ใช้ในการทดลอง และสารมาตรฐานที่ใช้ เป็นต้น (Huda และคณะ, 2009)

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS เป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของแอนติออกซิแดนซ์โดยรวม (total antioxidant activity) Figure 3 แสดงการยับยั้งการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ โดยพบว่าเห็ดนางรมมีค่า 50% effective concentration (EC_{50}) เท่ากับ 2.49± 0.22 mg/ml ส่วนเห็ดนางรมหลวงมีค่า EC_{50} เท่ากับ 2.55±0.01 mg/ml (Table 1) เห็ดนางรมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเห็ดนางรมหลวงเพียงเล็กน้อย แต่เห็ดทั้ง 2 ชนิด แสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่าสารมาตรฐาน Trolox โดยสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดแครง (*S. commune*) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี ABTS พบว่า มีค่า EC_{50}= 8.9±0.1 mg/ml (Anita และคณะ, 2011) และจากการทดสอบกราฟสารมาตรฐาน Trolox แสดงสมการ คือ Y= 0.2726X, (R^2= 0.9991) มีค่า EC_{50}= 192±0.23 µg/ml เมื่อคำนวณเป็นปริมาณ

เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Trolox หรือ Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay (TEAC) พบว่าเห็ดนางรมและเห็ดนางรมหลวง มีค่าเท่ากับ 77.10 และ 75.29 mg Trolox / g extract ตามลำดับ

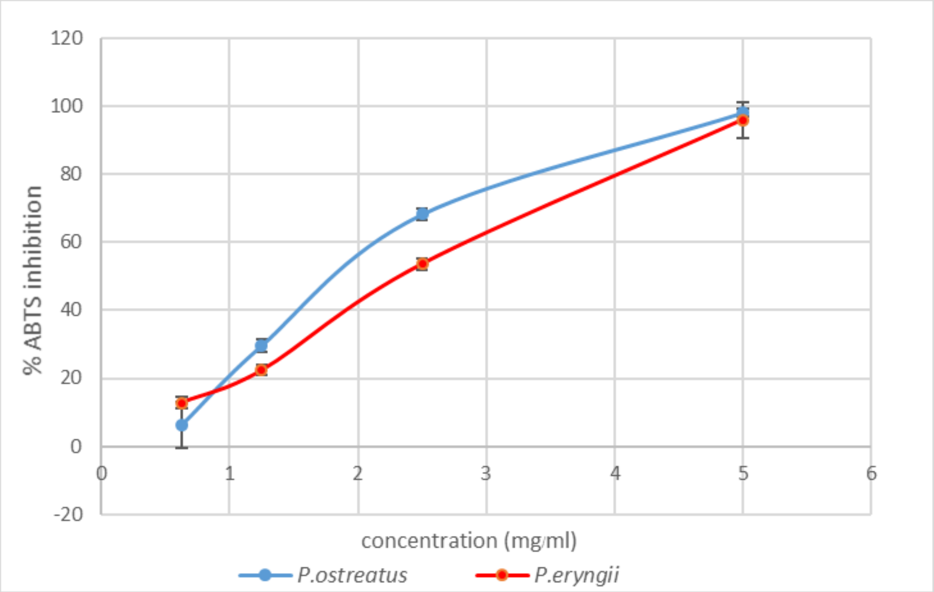


Figure 3 ABTS radical scavenging activity of the crude polysaccharide extracts of *P. ostreatus* and *P. eryngii*

Table 1 Total phenolics content, 50% effective concentration values and total polysaccharide

Mushroom	Total phenolics content (mg GAE/g extract)	ABTS assay EC_{50} (mg/ml)	Total polysaccharide (mg glucose/g extract)
P. ostreatus	9.67±0.09	2.49±0.22	356.57±0.35
P. eryngii	5.49±0.08	2.55±0.01	292.82±0.29

EC_{50} (mg/ml) = 50% effective concentration

mg GAE / g extract = milligram of gallic acid equivalents (GAE) per gram extract

mg glucose / g extract = milligram of glucose per gram extract

สรุปผลการทดลอง

ผลจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์จากเห็ดสกุลนางรม 2 ชนิด คือเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดนางรมหลวง (*Pleurotus eryngii*) มีปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดเท่ากับ 356.57±0.35 และ 292.82±0.29 mg glucose / g extract เมื่อยืนยันผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยวิธี FT-IR พบว่ามีหมู่ฟังก์ชันที่เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ และเมื่อทดสอบสารประกอบฟีนอลิก พบว่าเห็ดนางรมมีสารประกอบฟีนอลิก (9.67±0.09 mg GAE/ g extract) มากกว่าเห็ดนางรมหลวง (5.49±0.08 mg GAE/ g extract) รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกจะสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แต่อย่างไรก็ตามเห็ดนางรมแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเห็ดนางรมหลวงเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้เป็นเพียงสารสกัดหยาบโพลีแซคคาไรด์ อาจต้องแยกสารโพลีแซคคาไรด์ที่บริสุทธิ์ของเห็ดทั้ง 2 ชนิด นำมาเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งหาชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของสารโพลีแซคคาไรด์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับเงินสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเภทเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2560

เอกสารอ้างอิง

Aida, F. M., A. Nurul, M. Shuhaimi, H. M. Dzulkifly and M. A. Yazid. 2012. Prebiotic activity of polysaccharides extracted from *Gigantochloa levis* (Buluh beting) shoots. **Journal of Molecules** 17: 1635-1651.

Anita, K., K. Maja, N. Miomir, J. Dragica, T. Nina and D. L. J. Leo. 2011. Antioxidant activities and chemical characterization of polysaccharide extracted from the basidiomycete *Schizophyllum commune*. **Food Science and Technology** 44: 2005-2011.

Brewer, M. S. 2011. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 10: 221-247.

Chatchai, T., K. Saranyu, C. Khajeclek, S. Chantragan and S. Rakrudee. 2011. Antioxidant properties and cytotoxicity of crude polysaccharides from *Lentinus polychrous* Lév. **Food Chemistry** 128: 634-639.

Croan, S. C. 2004. Conversion of conifer wastes into edible and medicinal mushrooms. **Forest Products** 54: 68-76.

Dubois, M., A. K. Gilles, K. J. Hamilton, A. P. Rebers. and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry** 28: 350-356.

Gursoy, N., C. Sarikurkcu, B. Tepe. and H. Solak. 2010. Evaluation of antioxidant activities of 3 edible mushrooms:*Ramaria flava* (Schaef.: Fr.) Quél., *Rhizopogon roseolus* (Corda) T.M.Fries., and *Russula delica* Fr. **Food Science and Biotechnology** 19: 691–696.

Kashangura, C., J. E. Hallsworth and Y. A. Mswaka. 2006. Phenotypic diversity amongst strains of *Pleurotus sajor-caju*: implication in arid environment. **Mycological Research** 110: 312-317.

Knop, D., O. Yarden and Y. Hadar. 2015. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential application. **Applied Microbiology and Biotechnology** 99: 1025-1038.

Huda, F.N., A. Nrihoam, S. A. Norrakiah and S. A. Babji. 2009. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. **Journal of Biotechnology** 8: 484-489.

Inacio, F. D., O. R. Ferreira, V. A. C. Araujo, M. R. Peralta and M. G. C. Souza. 2015. Product of enzyme and biotransformation of rage waste by oyster mushroom, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) quel. **Advance in Microbiology** 5: 1-8.

Manzi, P. and L. Pizzoferrato. 2000. Beta-glucans in edible mushroom. **Food Chemistry** 68: 315-318.

Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, M. Yang and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine** 26: 1231-1237.

Singleton, L. and A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture** 16: 144-158.

Synytsya, A., K. Mickova, I. Jablonsky, J. Spevacek, V. Erban, E. Kovarikova and J. Copikova. 2009. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* : Structure and potential prebiotic activity. **Carbohydrate Polymers** 76: 548-556.

Wong, Y. and Y. Chye. 2009. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. **Food Composition and Analysis** 22: 269-277.

Identification and Characterization of Mannose Binding Protein in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*

Nopparat Phumkumarn[1] and Ratree Wongpanya[1*]

ABSTRACT

Mannose binding protein (MBP), a Ca^{2+} dependent carbohydrate-recognition protein, plays an important role in the innate immunity of invertebrates. This protein is calcium-dependent lectins (C-type) containing a carbohydrate recognition domain (CRD) on its surface, which can bind to bacteria and viruses. In this study, we are interested in identification and characterization of mannose binding protein (MBP), named *Pm*MBP in *Penaeus monodon*. Rapid amplification of cDNA ends (RACE) technique was carried out to identify the gene. The results showed that a partial sequence from 5'RACE shared 34%-53% amino acid similarity with other invertebrate MBPs. A phylogenetic tree showed that *Pm*MBP was clustered with the MBP from *Procambarus clarkii* and *Pacifastacus leniusculus*. The expression level of *Pm*MBP in lymphoid organ in *Vibrio harveyi* challenged shrimp was up-regulated and reached the maximum level at 6 and 24 h post-injection. Information from this research could provide a basic knowledge for better understanding of shrimp immune system.

Key words: *Penaeus monodon*, mannose binding protein, innate immunity

* Corresponding author; e-mail address: ratree.w@ku.ac.th

[1] Department of Biochemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, 10900

INTRODUCTION

Black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) is one of the most commercial cultured penaeid shrimps in Thailand, as well as worldwide. During the last decade, there were many serious viral infections such as White Spot Syndrome Baculovirus (WSSV), Yellow head virus (YHV, Hepatopancreatic parvo-like virus (HPV), and Monodon baculovirus (MBV). Besides, for bacterial pathogens, vibriosis was a main disease that caused by *V. harveyi* and *V. parahaemolyticus* which led to secondary infection (Adams, 1991; van de Braak *et al.,* 2002; Tonganunt *et al.,* 2009). Studying on the shrimp innate immune system in order to prevent these losses is more important than treatment. Previous studies showed that invertebrates recognize invading microorganisms with pattern-recognition proteins (PRPs) recognizing and binding to pathogen-associated molecule patterns (PAMPs) (Zhong *et al*., 2006). The initial response to foreign pathogen invasion in crustaceans involves many PRRs including lectins. C-type lectins such as mannose binding protein (MBP), ficolin, which contain a characteristic carbohydrate recognition domain (CRD) on their surfaces, can bind to bacteria and viruses leading to activation of proPO and other immune response systems (Yu & Kanost, 2003). Recently, MBP have been reported in several organisms. Salmon serum lectin was the first fish lectin characterized both for structure and immune function. This lecin exhibited antibacterial activity and enhanced macrophage activity (Ewart *et al*., 1999; Ottinger *et al*., 1999). MBP recognizes repetitive sugar groups on the surface of infectious agents leading to activation of the immune system. MBP recognizes either glycosidic linkages or sugar moieties such as mannose, glucose, fucose, *N*-acetyl-D-galactosamine that are presented in bacteria cell wall (Kondo *et al*., 1998).

Furthermore, studying on the molecular mechanisms of shrimp's immunity may be conductive to the development of better aquaculture management strategies in shrimp farming. Previous studies have shown that the yellow head virus (YHV) infects cells of both ectodermal, gill and lymphoid organ, which are primary targets for YHV replication (Assavalapsakul *et al*., 2006). For another research also showed that Hsps, as molecular chaperons induced by environmental stress, were found in lymphoid organ during distribution analysis (Shi *et al*., 2016). In order to understand the shrimp immune system, the objective of this study was to identify MBP gene from the lymphoid of the black tiger shrimp using rapid amplification of cDNA ends (RACE) technique. Moreover, we also investigated expression levels of *Pm*MBP during *V. harveyi* infection. Therefore, knowledge from this research may hopefully provide useful information for immune system of shrimp.

MATERIALS AND METHODS

1. Experimental animals

The black tiger shrimp *P. monodon* was collected from a commercial farm in Thailand. Individuals with a weight 9 – 15 g were cultured in seawater at 25 ºC for 24 hours before experimental processing.

2. Bacterial challenge and sample collection

For the immune challenge test, 30 shrimps were kept individuals in each tank. $2x10^6$ CFU of live *V. harveyi* resuspended in 10% PBS (100 μl) were injected into the abdominal segment of each

shrimp, control shrimps were injected with 100 μl 10% PBS. The inoculated shrimps were randomly sampled from each group at the time point of 0 3 6 24 and 48 h post-injection. Subsequently, the lymphoid organ was collected and immediately processed for RNA extraction.

3. RNA extraction and cDNA synthesis

The total RNA was isolated from the lymphoid organs of shrimp using TRIzol Reagent. The RNA was reverse transcribed into complementary DNA (cDNA) using ImProm-II Reverse Transcription system Kit (Promega, USA) according to the manufacturer's directions. Reactions were incubated at 70 °C for 5 min and chilled on ice for 5 min. The sample was added with 1 μl of ImProm-II Reverse Transcriptase, 4 μl of 5X Reaction Buffer, 4.75 mM $MgCl_2$, 500 μM dNTP and 0.5 μl of RNase Inhibitor. Total volume was adjusted to be 20 μl with nuclease-free water. The reverse transcription reactions were incubated at 25 °C for 5 min, and transferred to incubate at 42 °C for 60 min. Finally, the reactions were heat inactivated at 70 °C for 15 min and the cDNA products were stored at -20 °C until used.

4. Semi-quantitative reverse transcription PCR (RT-PCR)

The *Pm*MBP expression upon *V. harveyi* challenge was examined by semi-quantitative RT-PCR with the specific primers. The PCR amplification program was as follows: 95 °C for 5 min followed by 29 cycles of 95 °C for 1 min, 55 °C for 1 min, 72 °C for 1 min and final extension step at 72 °C for 5 min. EF1α was used as internal control with primer EF1α F (5'- CAG GCT GAT TTG TGC TGT CCT -3') and EF1α R (5'- TCA AGT AGC AAA ATC ACG GCG CTT -3'). The PCR products were separated in 1.2% agarose gel electrophoresis, and stained with ethidium bromide.

5. Full-length analysis

The specific primers were designed based on a previous EST data to clone the full-length *Pm*MBP cDNA by using rapid amplification of 5' and 3' ends (RACE) (SMART RACE 5'/3' kit, Clontech Laboratories, USA). The reactions were carried out according to the manufacturer's instruction. The 5' RACE PCR amplification was performed with Universal Primer A Mix (UPM). The 3' RACE PCR was performed using Oligo-dT adaptor primer. Both RACE reactions were amplified using each gene specific primer (GSP). The PCR products were gel-purified with Agarose Gel DNA Extraction Kit (Favorgen, USA). Polyadenyl addition was performed before cloning into pGEM-T vector (Promega, USA) and the fragment containing plasmids were selected for sequencing using Macrogen service (Korea).

6. Sequence analysis

Amino acid similarity of MBP was obtained from the NCBI databases using BLAST program. All sequences were aligned using ClustalW Multiple Alignment program. A phylogenetic tree was constructed by the neighbor-joining method (NJ) using MEGA6 program based on the multiple sequence alignment by ClustalW.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Cloning and sequence analysis of *Pm*MBP

After construction of cDNA RACE libraries and amplification using specific primers, the result showed approximately 500 bp from 5'RACE while there was no PCR product from 3'RACE library. Therefore, the 500 bp fragment was cut out from the agarose gel, purified and cloned into pGEM-T vector. Subsequently, the resulting plasmids were selected and sequenced. The result showed that partial sequence of *Pm*MBP was obtained. A BLAST analysis revealed that the deduced amino acid sequence of *Pm*MBP shared 43% identity with MBP *Pacifastacus leniusculus* and 53% similarity with MBP from *Procambarus clarkia*. And the sequence shared about 34-45% identity to C-type lectin from *Fenneropenaeus chinensis*, *Marsupenaeus japonicas* and *Panulirus homarus*. The multiple alignments using ClustalW is shown in Fig. 1. The conserved cysteine residue is shown as red box expecting for disulfide bridge formation.

```
PmMBP           MGTHLPDTMKALLVLLTAAAAAAK---------AQYGGSVGAASFS-------------- 37
PhCTL           -------MIRNILIFAVLSATYGDFVN--------Y---------R-------------- 22
PcMBP           --------MKGVLAVL--SVVVGVS-----QCQLPY------GSYGGGGGFPQR-----H 34
PlMBP           --------MKCVLLVL--SVVVAVA-----QSQVPY------GSFGGGGGFP-------- 31
FcCTL           -------MAKIVITLL--LLCIGNLCNGAVKVTLLRNQNSNTQVFLVGQNNDQTDQRTSS 51
MjCTL           -------MVKIVIAFL--LVCVSNLSHGVVRVTLIRNQNAEINVLLVGQNDNQIIRQTSG 51
                         : :: .       .

PmMBP           ----------------SATAGGF---------GSSAGVGFGRPVSVGAFGSSSGVGGSAV 72
PhCTL           ----IHQGPVILQRPQTQPVFNIPAPQPI-FNIPAPQPVFTIPSPQPVFAQTNP------ 71
PcMBP           NNFPGRPG-IFPGRPGG---GGVGGGGPIKFPSSVAGSVHGKPGGVGGFGNAGGIG---- 86
PlMBP           ----GRPG-IHPGRHGG--------GGQIQFPGSRP-GLHGKPGGISGFGGAGGVGGFGG 77
FcCTL           NNINRNDGRVSSNRQQSNNNANVQPTQPNLI----------RPS-----QNVNR------ 90
MjCTL           SNINNNNNNVQRTRNQDA--GAVQPTG----------------N-----QNADV------ 82
                                                                    .

PmMBP           AASY-GSGGFGSGGPIIFPSNSRPAINLPVRPGGRPAGRPVGRPAGPFPVRPAPELTSQY 131
PhCTL           --------------------------------------RSFPASISRPSATTPIPQPIC 92
PcMBP           -----------GAG-IIG---------------------GFGGAVGGGQVQERPLSTQFC 113
PlMBP           AGGVGGAGGFGGAG-GVG---------------------GLVGTGGGGQAQEQPLSTKFY 115
FcCTL           -----------GQA-ITV---------------------NSRGNQGDQPRQQQ-----S- 111
MjCTL           -----------IQP-ITD---------------------NSRRTQGNPQVQQQ-----F- 103

PmMBP           PICSPGVVDHQALGSRYHFSWCHDGFQNYTQDRAVAYCSALGPGWHGVSIETSQEDQLIS 191
PhCTL           DPINKPLVDEIHNGRAYHFSWCRNYGQRYTWHDAVHYCNSLGNGFQAVSIEDKPEDDFIK 152
PcMBP           PAYISPLVHVSVSGSNYHFSWCADGGQKYVWEQAKNYCKKLGPGWSSVSIETPTENQFIS 173
PlMBP           PAYISPQVHVSLGGSNYHFSWCVDGGQKYVWQQANSYCKQLGPGWGAVSIESPTENQFIS 175
FcCTL           --AGTSFIHDTTSGSNYHFSWRRDRDRKFSHTDAVNYCRNLGDRWNAISIETNEESDYIN 169
MjCTL           --QGSSDVHATTLGSDYHFSWRRDRNGKYRHGDAVNYCRNLGSRWNAISIETREESDYIN 161
                       :.    *  *****  :   .:    *  **  **  : .:***   *.: *.
```

Figure 1 Multiple sequence alignment of the black tiger shrimp MBP with selected MBP and C-type lectin from different species: MBP from *P. leniusculus* (AAX55747.1) and *P. clarkia* (ACR20475.1), CTL from *P. homarus* (AAO74670.1), *F. chinensis* (ACJ06430.1) and *M. japonicas* (AHA83582.1). Gaps introduced into sequence to optimize alignment are represented by (-). The star symbols (*) mark the conserved residues; the codon symbols (:) indicate conservation between groups of strongly similar properties; the period symbols (.) indicate conservation between groups of weakly similarities. The red box represents the conserved cysteine residue.

2. Phylogenetic analysis

Phylogenetic tree of the partial *Pm*MBP sequence was constructed using Neighbor-joining (NJ). The result showed in Fig.2. The tree identified two clear groups. Shrimp mannose binding proteins were grouped in the same cluster and another group was C-type lectins. However, MBP are closely clustered with C-type lectin from other crustaceans; *M. japonicus*, *F. chinensis* and *G. morsitans*. This apparently showed that MBP are structurally closest to the MBP ancestor. Such a high

similarity was indicative of a close evolution relationship. The phylogenic tree of the examined proteins indicated that *Pm*MBP was group with MBP from *P. clarkii* and *P. leniusculus.*

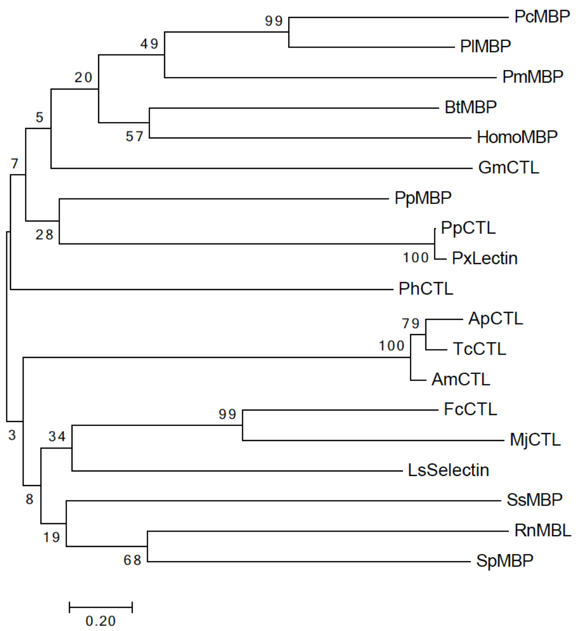


Figure 2 Molecular phylogenetic tree constructed from the amino acid sequences of MBP genes. The phylogeny was constructed using Neighbot-Joining (NJ) algorithm of MEGA6. C-type lectin from *M. japonicas* (AHA83582.1), *P. homarus* (ANV21369.1), C-type lectin from *F. chinensis* (ACJ06430.1), C-type lectin from *A. mellifera* (NP_001229926.1), C-type lectin from *T. castaneum* (NP_001164139.1), C-type lectin from *P. polytes* (BAM18937.1), C-type lectin from *A. pisum* (NP_001155798.1), C-type lectin from *G. morsitans* (ABD60991.1), MBP from *P. clarkii* (ACR20475.1), *P. pelagicus* (ABM65756.1), *S. paramamosain* (ADF27340.1), *Homo sapiens* (CAA34079.1), *Salmo salar* (NP_001134969.1), *Bos taurus* (BAA18935.1), Lectin C from *P. xuthus* (BAG30713.1), MBL from *R. norvegicus* (NP_742040.1) and E-selectin from *L. salmonis* (ACO11766.1).

3. Expression pattern of *Pm*MBP in lymphoid organ of *V. harveyi* challenged shrimp

Time-course expression of *Pm*MBP in lymphoid tissue was investigated in *V. harveyi* challenged shrimp using RT-PCR. EF1α expression was used as an internal control. The result showed in Fig. 3. After the 3 – 24 h post-challenge, the expression of *Pm*MBP was dramatically up-regulated. However, at 48 h post-challenge, the expression of *Pm*MBP transcript was dropped to the original level that may be reason from the subsequent translation of the *Pm*MBP product to recognize and facilitate the bacterial elimination. The result suggested that the *Pm*MBP could be markedly induced by *V. harveyi* stimulation. This implicates that *Pm*MBP may play an important role during viral infection process.

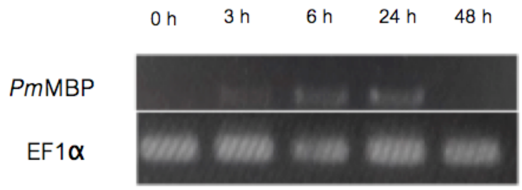


Figure 3 The *Pm*MBP transcripts in lymphoid organ of *V. harveyi* injected shrimp. Elongation factor-1 alpha was observed as an internal control.

CONCLUSION

In this study, mannose binding protein cDNA was isolated from the black tiger shrimp *P. monodon.* The partial cDNA sequence of *Pm*MBP was cloned from the black tiger shrimp by RACE technique. The BLASTx result indicated that although *Pm*MBP that contained cysteine residues, it showed moderate homology with MBP in other shrimps and C-type lectin. Blast analysis revealed that *Pm*MBP shared high similarity with various mannose binding proteins, especially the MBP from *P. clarkii*. In the phylogenic tree, *Pm*MBP kept a close evolutionary relationship with the MBP in crustaceans. However, in the black tiger shrimp injected with *V. harveyi*, the *Pm*MBP levels were higher than unchallenged black tiger shrimp after 3 – 24 h post challenge. This study highlights the presence of a mannose binding protein in the black tiger shrimp. This work could provide a clue for better understanding of shrimp immune system.

REFERENCES

Adams, A. 1991. Response of penaeid shrimp to exposure to Vibrio species. **Fish & Shellfish Immunology.** 1(1): 59-70.

Assavalapsakul, W., Smith, D.R. & Panyim, S. 2006. Identification and characterization of a *Penaeus monodon* lymphoid cell-expressed receptor for the yellow head virus. **J Virol.** 80(1): 262-269.

Ewart, K.V., Johnson, S.C. & Ross, N.W. 1999. Identification of a pathogen-binding lectin in salmon serum. **Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.** 123(1): 9-15.

Kondo, M., Itami, T. & Takahashi, Y. 1998. Preliminary Characterization of Lectins in the Hemolymph of Kuruma Prawn. **Fish Pathology.** 33(4): 429-435.

Ottinger, C.A., Johnson, S.C., Ewart, K.V., Brown, L.L. & Ross, N.W. 1999. Enhancement of anti-Aeromonas salmonicida activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophages by a mannose-binding lectin. **Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.** 123(1): 53-59.

Shi, J., Fu, M., Zhao, C., Zhou, F., Yang, Q. & Qiu, L. 2016. Characterization and function analysis of Hsp60 and Hsp10 under different acute stresses in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Cell Stress Chaperones.** 21(2): 295-312.

Tonganunt, M., Saelee, N., Chotigeat, W. & Phongdara, A. 2009. Identification of a receptor for activated protein kinase C1 (*Pm*-RACK1), a cellular gene product from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) interacts with a protein, VP9 from the white spot syndrome virus. **Fish Shellfish Immunol.** 26(3): 509-514.

van de Braak, C.B., Botterblom, M.H., Taverne, N., van Muiswinkel, W.B., Rombout, J.H. & van der Knaap, W.P. 2002. The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected Vibrio bacteria in Penaeus monodon shrimp. **Fish Shellfish Immunol**. 13(4): 293-309.

Yu, X.Q. & Kanost, M.R. 2003. Manduca sexta lipopolysaccharide-specific immulectin-2 protects larvae from bacterial infection. **Dev Comp Immunol**. 27(3): 189-196.

Zhong, B., Tien, P. & Shu, H.-B. 2006. Innate immune responses: Crosstalk of signaling and regulation of gene transcription. **Virology**. 352(1): 14-21.

การเปลี่ยนแปลงดีเอนเอเมทิลเลชันในเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ

DNA Methylation Changes in White Blood Cells from Head and Neck Cancer Patient

อารียา อารยะทวีกุล[1,2*] นครินทร์ กิตกำธร[3] และ อภิวัฒน์ มุทิรางกูร[1,2]

Areeya Arayataweegool [1,2*], Nakarin Kitkumthorn[3] and Apiwat Mutirangura[1,2]

บทคัดย่อ

มะเร็งศีรษะและลำคอ เป็นสาเหตุหนึ่งของการเสียชีวิตในประเทศไทย และมักจะตรวจพบได้ในระยะท้ายของโรคแล้ว อีกทั้งวิธีการตรวจในปัจจุบันยังไม่เพียงพอที่จะใช้ตรวจการเป็นมะเร็งในระยะแรกได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะสร้าง และพัฒนาวิธีการตรวจกรองมะเร็งศีรษะและลำคอ วิธีใหม่ โดยการตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่เซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งพบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวของคนปกติมีระดับของเมทิลเลชันที่ไลน์วันลดลงเมื่อเลี้ยงร่วมกับเซลล์มะเร็ง ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วย จากนั้นทำการศึกษาระดับของเมทิลเลชันที่ไลน์วันในแต่ละยีนโดยใช้ฐานข้อมูลชีวสารสนเทศในเลือดผู้ป่วยพบ 94 ยีนที่มีระดับเมทิลเลชันลดลง โดยยีนเหล่านี้สามารถนำมาพัฒนาเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อกรองการเป็นมะเร็งได้

ABSTRACT

Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC) is an aggressive tumor and cancer screening is not sufficient at present. This study aims to develop a new method of screening for HNSCC by observing molecular change in Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC) by cancer paracrine action. The PBMC was proved lower methylation level after co-cultured with all HNSCC cell lines similar to results from blood of HNSCC patients. Moreover, CU-DREAM-X analysis showed 94 down-regulated genes containing LINE-1. We expect to use these finding to develop novel biomarkers for early detection and other applications.

Key Words: Head and Neck squamous cell carcinoma (HNSCC), LINE-1, Co-culture, PBMC

*Corresponding author; E-mail address: milk_draco@hotmail.com

[1] ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[1] Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

[2] ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางอณูพันธุศาสตร์มะเร็งและโรคของมนุษย์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[2] Center of Excellence in Molecular Genetics of Cancer and Human Disease, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330,

[3] ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

[3] Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Mahidol University, Bangkok 10400,

คำนำ

มะเร็งศีรษะและลำคอ (head and neck cancer) เป็นสาเหตุหนึ่งของการเสียชีวิตในประเทศไทย จากทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ.2557 ของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุขพบว่ามีผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ รายใหม่เพิ่มขึ้นทั้งเพศหญิง และเพศชาย คิดเป็น 1.41% และ 1.71% ตามลำดับ ในปัจจุบันวิธีการตรวจมะเร็งศีรษะและลำคอ สามารถทำได้หลายวิธีแต่ทุกวิธีจะตรวจต่อเมื่อเกิดอาการของโรคขึ้นแล้ว (Bhalang *et al*., 2008) ซึ่งอาการของโรคนั้นมักจะแสดงออกในระยะท้ายของการเป็นมะเร็ง อีกทั้งวิธีการตรวจในปัจจุบันยังมีความไว และความจำเพาะไม่เพียงพอที่จะใช้ตรวจการเป็นมะเร็งในระยะแรกได้ และจากงานวิจัยก่อนหน้า (Puttipanyalears *et al*., 2016) คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วัน (LINE-1) ในต่อมน้ำเหลืองของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม พบว่า ในต่อมน้ำเหลืองที่เกิดการแพร่กระจายมะเร็งแต่ไม่สามารถตรวจพบด้วยตาเปล่านั้นมีระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วัน สูงขึ้นเมื่อเทียบกับคนปกติ แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยมะเร็งมีระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วันแตกต่างจากคนปกติ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะสร้างและพัฒนาวิธีการตรวจกรองมะเร็งศีรษะและลำคอ วิธีใหม่ โดยการตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่เซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ โดยมีสมมติฐานว่า เซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอจะหลั่งสารละลายน้ำออกมาสู่เซลล์ข้างเคียง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของเซลล์ข้างเคียงได้ ดังนั้นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เดินทางมายังบริเวณมะเร็งนั้นน่าจะได้รับสัญญาณ และเกิดการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้เช่นกัน โดยการตรวจโมเลกุลที่เปลี่ยนไปในเซลล์เม็ดเลือดขาวสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ที่มีความไวความจำเพาะสูง และมีความจำเพาะต่อโรคมะเร็งศีรษะและลำคอได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัด PBMC จากเลือดคนปกติ และเลือดผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ

ตัวอย่างที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ ตัวอย่างเม็ดเลือดขาวจากคนปกติ (N = 7) เพื่อนำมาทำ co-culture เทคนิค และ ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ (N = 5) เพื่อนำมาทดสอบระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วัน โดยเลือดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้ผ่านการขอจริยธรรมจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เลขที่ 239/59 แล้ว ส่วนการสกัด PBMC จากเลือดนั้นจะใช้วิธีปั่นกับ Ficoll-Hypaque แล้วแยกเฉพาะ PBMC มาทำงานวิจัย

การเลี้ยงเซลล์แบบ Co-culture

ในงานวิจัยครั้งนี้เลือกใช้เซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอ 4 ชนิด ได้แก่ HN4, HN17, HN30 และ HN31 โดยทำการเลี้ยงเซลล์มะเร็งใน plate 24 หลุม ทำการนับจำนวนเซลล์ 50,000 เซลล์ต่อหลุม เลี้ยงในอาหารที่ประกอบไปด้วย Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) และ Fetal bovine serum (FBS) 10% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร โดยบ่มเซลล์ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีอุณหภูมิ 37°C ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และใช้เวลาเลี้ยงเซลล์มะเร็ง 1 วันก่อนการทำ co-culture เพื่อให้เซลล์มะเร็งเกาะ plate ได้ดี ประกอบ transwell (Transwell® Permeable Support, 6.5mm insert, 24 well plate, 0.4 µm Polycarbonate เมมเบรน, Tissue culture treated, Polystyrene, Corning Incorporated) ลงในแต่ละหลุม นับจำนวนเซลล์ของ PBMC ประมาณ 100,000 เซลล์ ใส่ลงใน transwell จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ใน transwell ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลุมด้านล่างที่เลี้ยงเซลล์มะเร็งอีก 200 ไมโครลิตร เพื่อให้ระดับของอาหารเลี้ยงเซลล์ในหลุมที่เลี้ยงเซลล์มะเร็งเท่ากับอาหารเลี้ยงเซลล์ใน transwell (Figure 1) โดยทำการเลี้ยงเซลล์ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และการทดลองทั้งหมดทำ 3 ซ้ำ

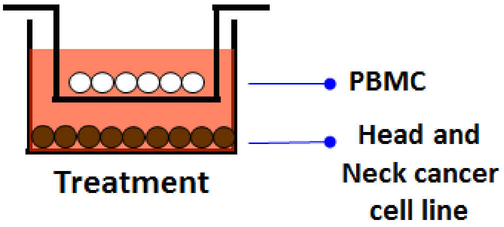


Figure1 Co-culture technique

การสกัดดีเอนเอ และการทำไบซัลไฟต์ทรีเมนท์

เก็บเซลล์ PBMC จากชั้นบนเมมเบรนมา ปั่นเหวี่ยง 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปสกัด DNA โดยใช้ Lysis buffer II 500 ไมโครลิตร, Proteinase K 50 ไมโครลิตร และ SDS 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาสกัดดีเอนเอด้วยวิธีฟีนอลคลอโรฟอร์ม จากนั้นดีเอนเอที่ได้จะนำไปทำ ไบซัลไฟต์ทรีเมนท์โดยใช้ EZ DNA Methylation ของบริษัท Zymo research เพื่อเปลี่ยนเบสไซโตซีนที่ไม่มีหมู่เมทิลให้กลายเป็นเบสยูราซิล วิธีนี้จะทำให้สามารถแยกเบสไซโตซีนที่มีเมทิลเลชันและไม่มีเมทิลเลชันได้

การตรวจวัดระดับเมทิลเลชันที่ไลน์วัน

ผู้วิจัยจะทำการวัดระดับของเมทิลเลชันที่ไลน์วันเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงเฉพาะ PBMC บน transwell โดยปราศจากเซลล์มะเร็ง และกลุ่มทดลองที่เลี้ยง PBMC ร่วมกับเซลล์มะเร็ง โดย PBMC ทั้งสองกลุ่มจะใช้คนๆเดียวกันเพื่อลดปัจจัยภายนอกเช่น พื้นฐานด้านสภาวะเหนือพันธุกรรมในแต่ละบุคคล โดยจะใช้วิธีการตรวจวัดระดับเมทิลเลชันที่ไลน์วันของ Kitkumthorn *et al.* (2012)

การวัดระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วันใน PBMC ของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ

โดยการนำ PBMC ของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ มาสกัดดีเอนเอด้วยวิธีฟีนอลคลอโรฟอร์ม และทำไบซัลไฟต์ทรีเมนท์ดังวิธีข้างต้น จากนั้นจะทำการวัดระดับของเมทิลเลชันโดยจะใช้วิธีของ Kitkumthorn *et al.* (2012) เช่นเดียวกัน

การหายีนที่มีระดับของหมู่เมทิลที่แตกต่างกันในเลือดระหว่างผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอกับเลือดจากคนปกติ

เริ่มจากการสืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) จากนั้นทำการคัดเลือก GEO dataset ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งศีรษะและลำคอ โดยในงานนี้เลือกใช้ GPL8490 Illumina HumanMethylation27 BeadChip (HumanMethylation27_270596_v.1.2) และ GSE30229 (Peripheral blood DNA methylation profiles are predictive of head and neck squamous cell carcinoma) ซึ่งประกอบไปด้วย กลุ่มควบคุมที่เป็น PBMC จากคนปกติ จำนวน 92 ตัวอย่าง และกลุ่มทดลองทีเป็น PBMC จากเลือดผู้ป่วย จำนวน 92 ตัวอย่าง รวมเป็น 184 ตัวอย่าง โดยนำข้อมูลจาก GSE นี้มาวิเคราะห์หากลุ่มยีนที่มี promoter hyper-, hypo-methylation โดยการใช้ Connection Up- and Down- Regulation Expression Analysis of Microarray extension (CU-DREAM-X) program ตามวิธีของ Wanichnopparat *et al.* (2013) โดยโปรแกรมนี้สามารถนำค่าการเรืองแสงในแต่ละตำแหน่งที่อยู่บน BeadChip มาเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มตัวอย่างที่ใช้เป็นกลุ่มทดสอบเพื่อทดสอบหายีนที่มีค่าการแสดงออกตามที่ต้องการได้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของการวัดระดับของเมทิลเลชันที่ไลน์วันเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงเฉพาะ PBMC บน transwell โดยปราศจากเซลล์มะเร็ง กับกลุ่มทดลองที่เลี้ยง PBMC ร่วมกับเซลล์มะเร็ง

จากการทดสอบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลที่เซลล์เม็ดเลือดขาวเมื่อได้รับสัญญาณจากเซลล์มะเร็งโดยมุ่งเน้นที่จะศึกษาระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วัน เปรียบเทียบระหว่าง PBMC ที่เลี้ยงโดยปราศจากเซลล์มะเร็ง และ PBMC ที่ co-culture กับเซลล์มะเร็งศีรษะและลำคอชนิดต่างๆ โดยกลุ่มตัวอย่างที่เลี้ยงร่วมกับ HN17 ในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 42.27 ± 1.23 ในกลุ่มทดสอบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 39.85 ± 0.95 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 (Figure 2A) กลุ่มตัวอย่างที่เลี้ยงร่วมกับ HN31 ในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 42.28 ± 1.22 ในกลุ่มทดสอบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 40.31 ± 0.70 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 (Figure 2B) กลุ่มตัวอย่างที่เลี้ยงร่วมกับ HN30 ในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 43.42 ± 1.55 ในกลุ่มทดสอบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 40.22 ± 1.94 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 (Figure 2C) และกลุ่ม

ตัวอย่างที่เลี้ยงร่วมกับ HN4 ในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 40.72 ± 2.07 ในกลุ่มทดสอบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 38.14 ± 1.27 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 (Figure 2D) พบว่าระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วันของ PBMC ที่ co-culture กับเซลล์มะเร็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยการใช้สถิติวิเคราะห์แบบ Paired t-test (Figure 2) แสดงว่าเมื่อเซลล์เม็ดเลือดขาวได้รับสัญญาณจากเซลล์มะเร็งภายในระยะเวลาเพียงสี่ชั่วโมงสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลที่เซลล์เม็ดเลือดขาวได้

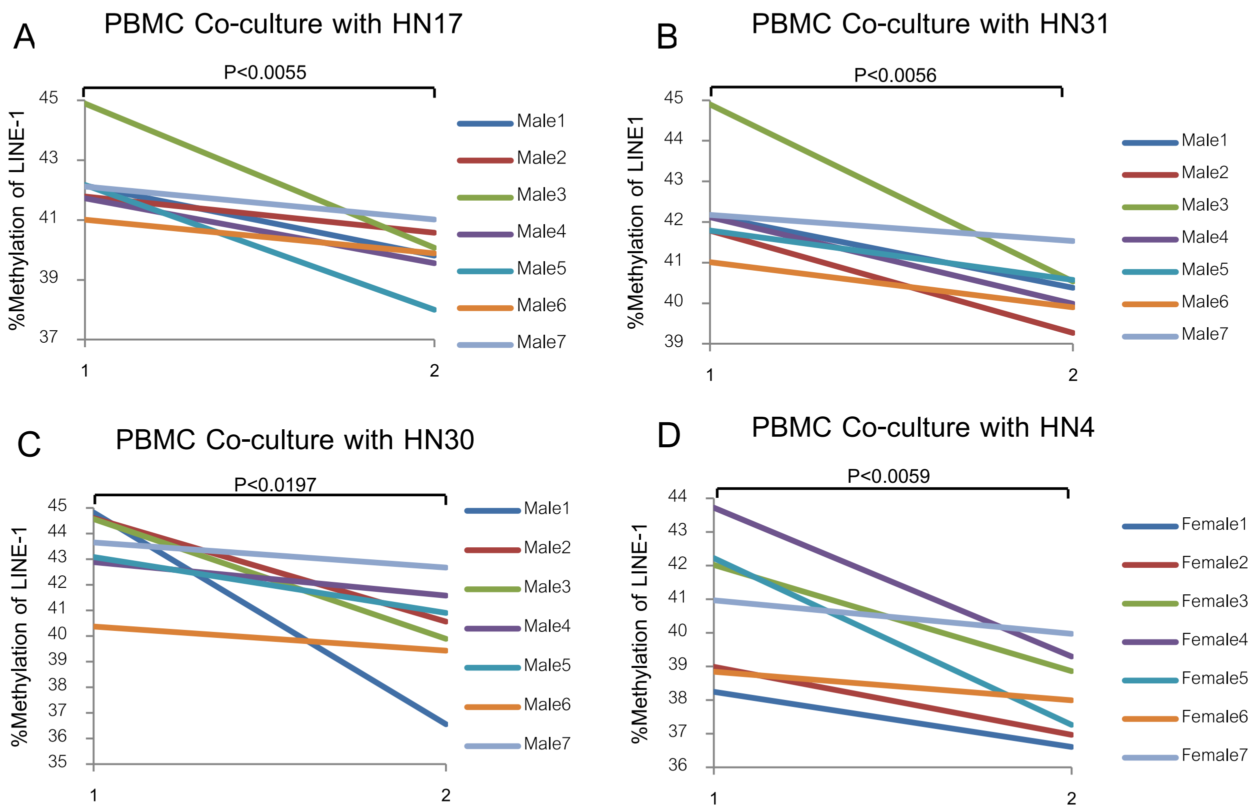


Figure 2 Percentage of LINE-1 Methylation in PBMC co-culture with different HNSCC cell line. Comparison between (1) Control PBMC and (2) co-cultured PBMC.

ผลของการวัดระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วันใน PBMC ของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ

จากการทดสอบวัดระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วันใน PBMC ของคนปกติ เปรียบเทียบกับระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วันใน PBMC ของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 43.09 ± 1.29 และ 39.67 ± 1.40 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 แสดงถึงผลการทดสอบที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันคือมีระดับของหมู่เมทิลที่ไลน์วันลดลงเมื่อใช้สถิติวิเคราะห์แบบ Unpaired t-test (Figure 3) แสดงให้เห็นว่าโมเดล co-culture ที่สร้างขึ้นเพื่อจำลองสภาวะการรับส่งสารระหว่างเซลล์มะเร็ง กับเซลล์เม็ดเลือดขาวนี้ได้ผลจริงเช่นเดียวกับในร่างกายมนุษย์

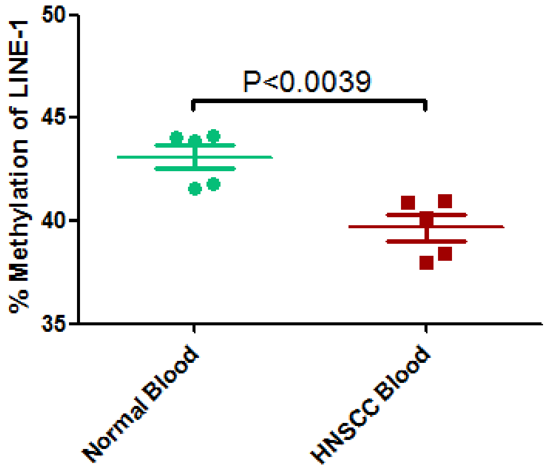


Figure 3 Percentage of LINE-1 Methylation in PBMC compare between normal blood and HNSCC blood.

ผลของการหายีนที่มีระดับของหมู่เมทิลที่แตกต่างกันในเลือดระหว่างผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ กับเลือดจากคนปกติ

จากการทดสอบการนำผลการเรืองแสงในแต่ละตำแหน่งที่อยู่บน BeadChip มาเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มควบคุมที่เป็นดีเอนเอจาก PBMC ของเลือดคนปกติ และกลุ่มทดสอบที่เป็นดีเอนเอจาก PBMC ของเลือดผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ เพื่อหายีนที่มีระดับของหมู่เมทิลที่แตกต่างกันโดยใช้โปรแกรม CU-DREAM-X พบ 94 ยีนที่มีไลน์วันเป็นส่วนประกอบ (gene containing LINE-1) มีระดับของหมู่เมทิลลดลง (Figure 4) โดยยีนเหล่านี้สามารถนำมาพัฒนาเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อกรองการเป็นมะเร็งต่อไปในอนาคตได้

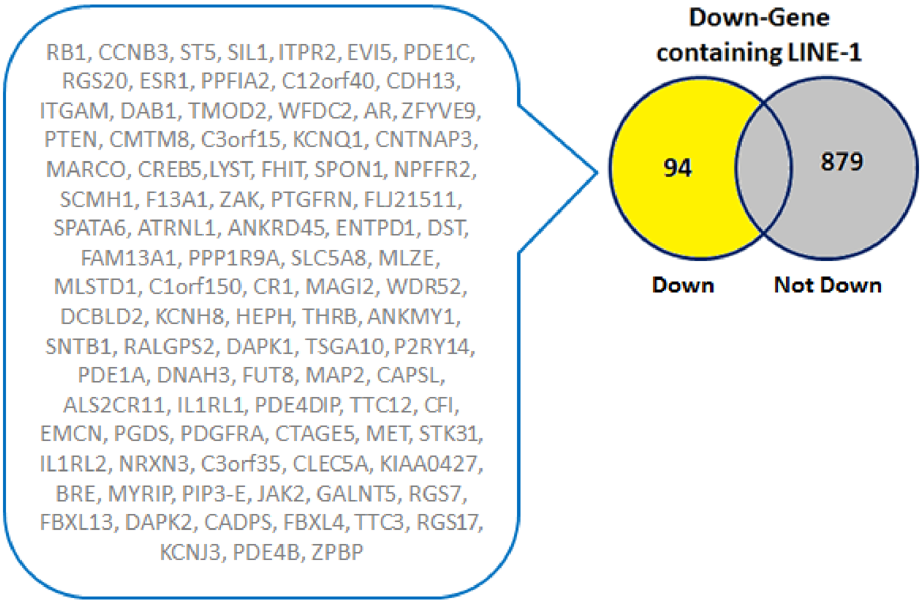


Figure 4 Data from CU-DREAM-X analysis showed 94 down-gene containing LINE-1.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชทรงพระเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุนจากสถาบันวิจัยแห่งชาติ (DPG5980005)

เอกสารอ้างอิง

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข. 2559. **ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล พ.ศ.2557.** บริษัทพรทรัพย์การพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

Bhalang, K., Suesuwan, A., Dhanuthai, K., Sannikorn, P., Luangjarmekorn, L. and Swasdison, S. 2008. The application of acetic acid in the detection of oral squamous cell carcinoma. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics** 106(3): 371-6.

Kitkumthorn, N., Tuangsintanakul, T., Rattanatanyong, P., Tiwawech, D. and Mutirangura, A. 2012. LINE-1 methylation in the peripheral blood mononuclear cells of cancer patients. **Clinica Chimica Acta** 413: 869–874.

Puttipanyalears, C., Kitkumthorn, N., Buranapraditkun, S., Keelawat, S. and Mutirangura, A. 2016. Breast cancer upregulating genes in stromal cells by LINE-1 hypermethylation and micrometastatic detection. **Epigenomics** 8(4): 475–486.

Wanichnopparat, W., Suwanwongse, K., Pin-on, P., Aporntewan, C. and Mutirangura, A. 2013. **BMC Genomics** 14: 205

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบยาสูบและรากหางไหลแดงที่มีต่ออัตราการฟักของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel

Efficacy of *Nicotiana tabaccum* leaves and *Derris elliptica* root extract on eclosion rate of *Bactrocera dorsalis* Hendel pupae

ดวงตา จุลศิริกุล[1*] อนุสรา ขันตี[1] และ สวรรยา ตาขำ[1]

Duangta Julsirikul[1*], Anusara Kantee[1] and Sawanya Takham[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบยาสูบ และรากหางไหลแดงด้วยน้ำ ในการควบคุมอัตราการฟักเป็นตัวของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactocera dorsalis* Hendel พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดทุกระดับความเข้มข้นสามารถลดอัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โดยสารสกัดจากใบยาสูบความเข้มข้น 0.20% (w/v) มีประสิทธิภาพทำให้อัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ลดลงเป็น 0.00 - 0.33% และสารสกัดจากรากหางไหลแดงความเข้มข้น 0.10% (w/v) มีประสิทธิภาพทำให้อัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ลดลงเป็น 1.33 - 5.33% และพบว่าอายุของดักแด้มีอิทธิพลต่ออัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* (P<0.05) โดยรวมสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการฟักเป็นตัวของดักแด้แมลงวันผลไม้อายุน้อยได้ดี

ABSTRACT

Efficacy of water extracts of *Nicotiana tabaccum* leaves and *Derris elliptica* root on eclosion rate of *Bactrocera dorsalis* Hendel pupae was studied. The results showed that both plants extract can significantly decrease the eclosion rate of *B. dorsalis* (P<0.05). The effective concentrations which showed the highest potential for the control of *B. dorsalis* pupae were 0.20% (w/v) for *N. tabaccum* leaves extract, which eclosion rate 0.00-0.33% and 0.10% (w/v) for *Derris elliptica* root extract, which eclosion rate 1.33-5.33%. And also found that age of pupae influences the eclosion rate of *B. dorsalis*, overall, both plants extract were effective in inhibiting the emergence of young pupae.

Key Words: *Nicotiana tabaccum*, *Derris elliptica*, *Bactrocera dorsalis*, plant extract

* Corresponding author; e-mail address: duangta@buu.ac.th

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา 169 ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, 169 Saen Sook Sub-district, Muang District, Chonburi 20131

คำนำ

Bactocera dorsalis Hendel มีชื่อเรียกโดยทั่วไปว่า แมลงวันผลไม้ หรือ แมลงวันทอง จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางการเกษตรในประเทศไทย ทำลายผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้ที่มีเปลือกบาง เช่น ฝรั่ง กล้วย มะม่วง ชมพู่ น้อยหน่า กระท้อน พุทรา เป็นต้น (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2546; Waterhouse, 1993) ซึ่งผลไม้เหล่านี้สลับกันสุกตลอดทั้งปี ทำให้ประชากรของแมลงวันผลไม้เกิดอย่างต่อเนื่องและระบาดตลอดปี เป็นปัญหาแก่เกษตรกรในประเทศไทยเป็นอย่างมากในการควบคุมกำจัด และทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทั้งทางด้านปริมาณ และคุณภาพ นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาด้านการส่งออกไปยังประเทศที่มีกฎหมายกักกันพืชเข้มงวด เช่น จีน ญี่ปุ่น สหภาพยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ (วิภาดา และสัญญาณี, 2554; OEPP/EPPO, 1983; Vargas *et al*., 2015) ด้านการควบคุมกำจัดในปัจจุบันได้มีการรณรงค์ให้ลดการใช้สารเคมีเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้โดยตรง เนื่องจากพบว่า แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงหลายชนิด (Vontas *et al*., 2011) โดยให้หันมาใช้การใช้การควบคุมศัตรูพืชโดยการจัดการแบบผสมผสาน เช่น การควบคุมโดยชีววิธี หรือ การนำสารสกัดธรรมชาติจากพืชที่มีความเป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืชมาใช้ควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชแทน เพื่อลดผลกระทบที่เกิดจากสารเคมีที่มีต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม (กรมวิชาการเกษตร, 2546)

พืชสมุนไพรป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช หมายถึงพืชที่มีสารสำคัญซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษในการเป็นสารออกฤทธิ์ต่อแมลงศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม (ผุสดี และ พันธิตร์, 2546) มีข้อดีคือ สารสกัดธรรมชาติจากพืชสลายตัวทางชีวภาพได้เร็ว จึงไม่ตกค้างในผลผลิต และไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของแมลงศัตรูพืช จึงเป็นอันตรายน้อยต่อแมลงที่เป็นประโยชน์อื่น นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดธรรมชาติมีความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ (ผุสดี และ พันธิตร์, 2546; Pascual-Villaobos and Robledo, 1999; Cloyd, 2004; Kawuki *et al*., 2005) และมีกลไกการออกฤทธิ์มากกว่าหนึ่งแบบ ดังนั้นโอกาสที่แมลงจะสร้างความต้านทานจึงเกิดขึ้นได้ยาก (สุภาณี, 2540) นอกจากนั้นยังพบว่าสารสกัดจากพืชไม่มีผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติที่อาศัยอยู่ภายในดักแด้ของแมลงศัตรูพืช (Kawuki *et al*. 2005) และสลายตัวในสภาพแวดล้อมที่มีแสงแดดได้รวดเร็ว (สุภาณี, 2540; Ware, 1989) จึงไม่ตกค้างในดินและไม่เป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อม พืชสมุนไพรที่นิยมนำมาสกัดสารเพื่อใช้ในการควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืช ได้แก่ สะเดา น้อยหน่า ยาสูบ และ หางไหล เป็นต้น

ยาสูบ (*Nicotiana tabaccum*) เป็นไม้ล้มลุกในวงศ์ Solanaceae ส่วนของใบมีสารนิโคติน (nicotine) ซึ่งเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloid) สะสมอยู่ นิยมนำมาสกัดใช้เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืช (ผุสดี และพันธิตร์, 2546) โดยพบการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดใบยาสูบต่อแมลงศัตรูพืชหลายรูปแบบ สารสิน และคณะ (2542) ได้ทดสอบสารสกัดจากใบยาสูบทั้งชนิดสดและแห้งกับหนอนแมลงวันบ้าน (*Musca domestica*) พบว่าสารสกัดจากใบยาสูบสามารถทำลายหนอนแมลงวันบ้านได้โดยอัตราการตายเฉลี่ยของหนอนแมลงวันบ้านระยะต้นสูงกว่าระยะปลาย นอกจากนี้ยังพบว่าผงใบยาสูบบดสามารถยับยั้งการเจริญพัฒนาของด้วง *Dermostes macalatus* ได้ดีทุกระยะ โดยให้ผลดีที่สุดในระยะตัวเต็มวัย (Fansankin and Aberejo, 2002) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบยาสูบมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลงศัตรูพืชในระยะ ต่าง ๆ ทั้ง ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ส่วนหางไหลแดงเป็นไม้เลื้อยในวงศ์ Leguminoceae ส่วนของรากและลำต้นมีสารโรติโนน (rotenone) ซึ่งเป็น

อนุพันธ์ของสารกลุ่มไอโซฟลาโวน (isoflavone) สะสมอยู่ นิยมนำมาใช้เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชเช่นกัน (ผุสดี และ พันธิตร์, 2546) โดย สมบูรณ์และคณะ (2548) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหางไหลสดในการควบคุมประชากรหนอนแมลงวัน พบว่าสารสกัดหางไหลสดความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำให้หนอนแมลงวันตายได้ดี คือ 20 กรัม/ลิตร และยังพบว่าสารสกัดหางไหลแดงยังสามารถใช้ควบคุมไรขาวพริก (กนกวรรณ และ สุภาณี, 2549) และ ไรศัตรูพืช *Tetranychus truncates* Ehara ได้ดีอีกด้วย (ปทุมวดี และ สุภาณี, 2550)

สำหรับในประเทศไทย ได้มีการศึกษาการใช้สารสกัดจาก สะเดา น้อยหน่า แมงลักคา ยาสูบ ข่า เลี่ยน และหางไหล ในรูปแบบต่าง ๆ กับแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ระยะต่าง ๆ (ดวงตา และคณะ, 2550; ดวงตา และ เกศราภรณ์, 2551; Chuenwong, 2006; Sukhirun *et al*. 2010) พบว่ามีประสิทธิภาพดีในการควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ทุกระยะ ดังนั้นการศึกษานี้ จึงได้เลือกพืชสมุนไพรกำจัดแมลง 2 ชนิดที่หาได้ง่ายตามท้องถิ่นทั่วไป คือ ใบยาสูบ และรากหางไหลแดงมาใช้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่มีผลต่ออัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* โดยหวังว่าผลจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำมาเป็นแนวทางในการพัฒนาสารสกัดจากพืชให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้ เพื่อเป็นการลดปริมาณการใช้สารเคมีสังเคราะห์ และเพื่อความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม อันจะนำไปสู่การทำการเกษตรแบบยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมดักแด้แมลงวันผลไม้

แมลงวันผลไม้สายพันธุ์ *B. dorsalis* นำมาจากกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร เลี้ยงในห้องทดลอง ณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เพื่อให้ได้ดักแด้ที่มีอายุ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน คัดดักแด้แต่ละอายุที่มีขนาดใกล้เคียงกันเพื่อนำไปใช้ในการทดลอง

การเตรียมสารสกัดจากพืช

นำใบยาสูบ และรากหางไหลแดง มาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ บดด้วยเครื่องบดปั่น ชั่งน้ำหนักพืชแต่ละชนิดอย่างละ 200 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เขย่าแล้วปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง กรองสารสกัดที่ได้ (ความเข้มข้น 0.2% w/v) ใส่ในขวดสีชา นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.10% และ 0.05% แล้วจึงนำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดและความเข้มข้น ไปทดสอบกับดักแด้แมลงวันผลไม้อายุต่าง ๆ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัด

นำสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดและความเข้มข้น และน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) ปริมาตร 70 มล. ไปผสมกับขี้เถ้าแกลบที่อบฆ่าเชื้อแล้ว 35 กรัม ใส่ลงในกล่องพลาสติกขนาด 10.5×16×4.5 ซม. นำดักแด้แมลงวันผลไม้อายุ 1 2 3 4 และ 5 วัน อย่างละ 100 ตัว ฝังลงในขี้เถ้าแกลบที่เตรียมไว้ ปิดฝาโดยเจาะรูให้ระบายอากาศได้ ตั้งทิ้งไว้รอจนดักแด้ฟักเป็นตัว นับจำนวนแมลงวันผลไม้ที่เกิดในแต่ละกลุ่ม บันทึกเป็นผลการทดลอง โดยแต่ละกลุ่มทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดประเมินจากอัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ที่ดักแด้สัมผัสกับสารสกัดแต่ละชนิด โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\bar{X} \pm$ SD) จากนั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดแต่ละชนิดกับกลุ่มควบคุมและเปรียบเทียบอายุของดักแด้แมลงวันผลไม้

ทางสถิติโดยใช้วิธี Two-Way Analysis of Variance (2-way ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ในภายในกลุ่มสารสกัดแต่ละชนิดและในกลุ่มของดักแด้แต่ละอายุด้วยการวิเคราะห์ Least-Significant Different โดยใช้โปรแกรม SPSS

ผลและวิจารณ์

อัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้สายพันธุ์ *B. dorsalis* จากการทดลองคิดเป็นค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน แสดงในตารางที่ 1 โดยพบว่าสารสกัดจากใบยาสูบ 0.20% เป็นความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจากการศึกษานี้ โดยทำให้อัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ลดลงเป็น 0.00 - 0.33% และสารสกัดจากรากหางไหลแดงความเข้มข้น 0.10% เป็นความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยทำให้อัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ลดลงเป็น 1.33 - 5.33%

Table 1 Mean percentage (±SD) of eclosion rate of *B. dorsalis* pupae tested with *N. tabaccum* leaves and *D. elliptica* root extract

Concentration (% w/v)		Eclosion rate (%±SD)				
		1 day pupa	2 day pupa	3 day pupa	4 day pupa	5 day pupa
Control	0	$69.67\pm0.58_{A}$	$70.33\pm0.58_{A}$	$71.67\pm1.53_{A}$	$72.67\pm1.53_{A}$	$76.33\pm0.58_{A}$
N.tabaccum leave extract	0.05	$46.67\pm9.87_{B}^{a}$	$46.00\pm5.57_{B}^{a}$	$46.00\pm3.61_{B}^{a}$	$45.67\pm2.89_{B}^{a}$	$65.33\pm3.21_{B}^{b}$
	0.10	$14.67\pm3.79_{C,E}^{a}$	$14.67\pm4.16_{C}^{a}$	$10.00\pm9.17_{C,F}^{a,b}$	$7.67\pm7.51_{C,F}^{a,b}$	$0.00\pm0.00_{C}^{b}$
	0.20	$0.00\pm0.00_{D,F}^{a}$	$0.33\pm0.58_{D,F}^{a}$	$0.00\pm0.00_{D,F}^{a}$	$0.33\pm0.58_{D,F}^{a}$	$0.00\pm0.00_{C}^{a}$
D.elliptica root extract	0.05	$20.00\pm4.63_{E}^{a}$	$24.00\pm6.24_{E}^{a,b}$	$26.67\pm1.15_{E}^{b,c}$	$30.67\pm2.08_{E}^{c,d}$	$34.33\pm3.06_{D}^{d}$
	0.10	$1.33\pm1.15_{F}^{a}$	$5.33\pm1.53_{F}^{b}$	$3.33\pm1.53_{F}^{a,b}$	$2.67\pm2.08_{F}^{a,b}$	$4.33\pm1.53_{E}^{a,b}$
	0.20	$1.33\pm0.58_{F}^{a}$	$4.67\pm0.58_{F}^{a,b}$	$5.00\pm2.00_{F}^{a,b}$	$6.33\pm3.21_{F}^{b}$	$8.00\pm1.73_{F}^{b}$

Means followed by the same lowercase letter in each row and uppercase in each column are not significantly different at 0.05 probability level.

เมื่อใช้การวิเคราะห์ Least-Significant Different เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันผลไม้พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดสามารถทำให้อัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ทุกกลุ่มอายุ ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P < 0.05) (ตารางที่ 1) โดยพบว่าสารสกัดใบยาสูบ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น จะมีประสิทธิภาพในการลดอัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ได้ดีขึ้น ในขณะที่สารสกัดรากหางไหลแดง ความเข้มข้น 0.10% และ 0.20% มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน แต่ดีกว่าความเข้มข้น 0.05% และเมื่อเปรียบเทียบที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันคือ 0.05% และ 0.10% สารสกัดจากรากหางไหลแดงมีประสิทธิภาพดีกว่าสารสกัดจากใบยาสูบ

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้แต่ละอายุ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่างกัน พบว่า โดยรวมดักแด้อายุน้อยกว่ามีอัตราการฟักเป็นตัวต่ำกว่ากว่าดักแด้ที่มีอายุมากกว่า ($P < 0.05$) ยกเว้นกลุ่มที่ทดสอบกับสารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.10% ดักแด้ที่มีอายุมากกว่ามีอัตราการฟักเป็นตัวต่ำกว่าดักแด้ที่มีอายุน้อย และ กลุ่มที่ทดสอบกับสารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.20% ดักแด้ทุกระยะมีอัตราการฟักเป็นตัวไม่แตกต่างกัน

Table 2 Two-Way Analysis of Variance for efficacy of *N. tabaccum* leaves and *D. elliptica* root extract on eclosion rate of *B. dorsalis* pupae

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	*P*-value
Concentration	66928.533	6	11154.756	813.368	0.000
Age of pupa	312.895	4	78.224	5.704	0.000
Conc*Age	1733.371	24	72.224	5.266	0.000
Error	960.000	70	13.714		
Total	129411.000	105			
Corrected Total	69934.800	104			

จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี 2-way ANOVA พบว่าระดับความเข้มข้นที่ต่างกันของสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด มีอิทธิพลต่อการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ($P < 0.05$) และอายุของดักแด้ที่ต่างกันก็มีอิทธิพลต่อการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ($P < 0.05$) เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ทั้งระดับความเข้มข้นของสารสกัดและอายุของดักแด้มีอิทธิพลร่วมต่อการฟักเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ($P < 0.05$) โดยระดับของความเข้มข้นของสารสกัดมีอิทธิพลมากกว่าอายุของดักแด้ (ตารางที่ 2)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดน้ำจากใบยาสูบและรากหางไหลแดง มีประสิทธิภาพดีในการลดอัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เนื่องจากในใบยาสูบมีสารออกฤทธิ์สำคัญในการกำจัดแมลง คือ นิโคติน และในรากหางไหลแดง มีสารออกฤทธิ์คือโรติโนน ซึ่งสารทั้งสองชนิดออกฤทธิ์ต่อแมลงแบบทางตรง คือ เมื่อแมลงได้รับสารสกัดแล้วตายทันที (ผุสดี และ พันธิตร์, 2546) กล่าวคือ นิโคติน สะสมมากบริเวณใบของยาสูบ จัดเป็นสารกำจัดแมลงที่เป็นพิษทางสัมผัส ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางของแมลง โดยยับยั้งการส่งสัญญาณระหว่างเซลล์ประสาท ส่งผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อที่ควบคุมระบบหายใจของแมลงล้มเหลว (สุภาณี, 2540; Moore and Langlet, 2004) นิยมใช้กำจัดแมลงจำพวกเพลี้ย ส่วนโรติโนน (rotenone) สะสมมากที่สุดที่บริเวณรากของหางไหลแดง (Dichoso, 2000) เป็นสารที่ดูดซึมผ่านโครงร่างแข็งภายนอก (exoskeleton) ของแมลงได้ดี ออกฤทธิ์โดยขัดขวางกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย และการใช้ออกซิเจนของเซลล์ (Haley, 1978) จึงส่งผลต่อการหายใจของแมลง โดยพบว่าในการศึกษานี้ สารสกัดยาสูบความเข้มข้น 0.20% มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถการลดอัตราการฟักเป็นตัวของ

แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ให้เป็น 0.00% ได้ สอดคล้องกับ ดวงตา และคณะ (2550) ที่พบว่าสารสกัดเมทานอลของใบยาสูบลดอัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากพืชอื่น นอกจากนั้นยังพบว่า สารสกัดน้ำของใบยาสูบที่ความเข้มข้น 0.20% มีประสิทธิภาพทำให้หนอน แมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีอัตราการตายสูงถึง 93.33% (ดวงตา และ เกศราภรณ์, 2551) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก นิโคตินเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่อแมลงสูงที่สุด ในกลุ่มสารกำจัดแมลงที่สกัดจากพืช (Cloyd, 2004) ในส่วนสารสกัดจากหางไหลแดง เมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกันพบว่า สารสกัดน้ำจากรากหางไหลแดงในการศึกษานี้ มีประสิทธิภาพในการลดอัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* (1.33 – 5.33%) ได้ดีกว่าสารสกัดเมทานอลจากใบหางไหลแดง (47.33 – 83.67%) (ดวงตา และคณะ, 2550) เนื่องจากสารโรติโนนจะสะสมมากที่สุดที่รากถึง 11.60% ในขณะที่สะสมในใบเฉลี่ยเพียง 0.39-0.77% (Dichoso, 2000; Hien *et al.*, 2003) และสารโรติโนนละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ และน้ำ ดีพอ ๆ กัน (Haley, 1978; Hien *et al.*, 2003) ดังนั้น สารสกัดจากรากหางไหล จึงให้ผลดีกว่าสารสกัดจากใบอย่างชัดเจน

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของดักแด้กับอัตราการฟักเป็นตัวของแมลงวันผลไม้ พบว่าดักแด้อายุ 5 วันให้ผลแตกต่างจากดักแด้อายุ 1-4 วันอย่างชัดเจน (ยกเว้นกลุ่มสารสกัดยาสูบความเข้มข้น 0.20%) เนื่องจากนิโคตินและโรติโนนเป็นพิษต่อระบบการหายใจของแมลงในกลไกที่แตกต่างกัน โดยนิโคตินเป็นพิษต่อระบบประสาท แบบ synaptic poison (Pedigo and Rice, 2009) จึงมีอิทธิพลต่อดักแด้ทุกช่วงอายุเนื่องจากระบบประสาทเจริญพัฒนาสมบูรณ์แล้ว ในขณะที่โรติโนนเป็นพิษแบบ metabolic poison ขัดขวางกระบวนการหายใจระดับเซลล์ จึงมีอิทธิพลต่อดักแด้ในระยะต้นที่กำลังอยู่ในช่วงของการเจริญพัฒนาเปลี่ยนสภาพ มีกระบวนการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อและการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ทำให้มีอัตราเมแทบอลิซึมสูง (Pedigo and Rice, 2009)

ในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกวิธีการใช้สารควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยการผสมลงในวัสดุที่เป็นที่อาศัยของดักแด้ เนื่องจากต้องการลดอันตรายที่เกิดจากใช้วิธีการพ่น ซึ่งจะมีละอองสารเคมีฟุ้งกระจายเป็นบริเวณกว้าง และอาจไม่โดนตัวเต็มวัยหรือตัวอ่อนของแมลงศัตรูพืชโดยตรง และอาจส่งผลกระทบต่อแมลงที่เป็นประโยชน์อื่น ๆ เช่น แมลงศัตรูธรรมชาติ (Stiling, 1985) รวมถึงมนุษย์ได้ ในสภาพธรรมชาติแมลงวันผลไม้ เมื่อระยะหนอนเจริญจนเต็มที่จะพัฒนาเป็นดักแด้ในดิน ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า วิธีการรดสารสกัดจากธรรมชาติลงในดินอาจเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถตัดวงชีวิตของแมลงวันผลไม้ในระยะดักแด้ไม่ให้เกิดเป็นตัวเต็มวัยได้ และยังเป็นการป้องกันอันตรายจากสารเคมีได้ด้วย เนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาติมีความเป็นพิษต่ำต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ไม่เป็นอันตรายต่อแมลงศัตรูธรรมชาติ (Kawuki *et al.* 2005) และสลายตัวได้เร็ว อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดจากธรรมชาติไปใช้ ควรมีความระมัดระวัง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และใช้ในพื้นที่จำกัดในบริเวณที่มีการระบาดของแมลงศัตรูพืชเท่านั้น เพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์อื่น ๆ ที่อาศัยอยู่ในดิน ดังนั้น เกษตรกรจึงอาจนำวิธีการนี้มาใช้ผสมผสานร่วมกับวิธีการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีอื่น เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพได้มาตรฐาน และไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel และขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ วรวงศ์ และสุภาณี พิมพ์สมาน. 2547. ประสิทธิภาพของสารสกัดหางไหล *Derris elliptica* Benth ต่อไรขาวพริก *Polyphagotarsonemus latus* Banks. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 35 (5-6): 99-102.

กรมวิชาการเกษตร. 2546. การเรียนรู้ศัตรูธรรมชาติ. **โครงการเสริมสร้างความเข้มแข็งแก่เกษตรกรด้านการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสานในพื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชปริมาณมาก**.

กลุ่มวิจัยโรคพืช. 2546. **เอกสารวิชาการศัตรูฝรั่ง**. สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ดวงตา จุลศิริกุล, ไตรทิพ นภาลัย และอุษา มงคลฉัตร. 2550. การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดในการลดอัตราการฟักของดักแด้แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา** 12 (2): 35-41.

ดวงตา จุลศิริกุล และ เกศราภรณ์ จันทร์ประเสริฐ. 2551. การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบพืชบางชนิดในการควบคุมหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis*. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา** 13 (2): 41-46.

ปทุมวดี วงศ์ทอง และสุภาณี พิมพ์สมาน. 2550. ความเป็นพิษของสารสกัดหางไหล *Derris elliptica* Benth ต่อไรศัตรูพืช *Tetranychus truncates* Ehara. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 38 (6): 75-78.

ผุสดี สายชนะพันธ์ และพันธิตร์ มะลิสุวรรณ. 2546. **สมุนไพรกำจัดแมลงศัตรูพืช**. ศรีสยามพริ้นแอนด์แพคก์, กรุงเทพฯ:

วิภาดา ปลอดครบุรี และสัญญาณี ศรีคชา. 2554. แมลงวันผลไม้และการป้องกันกำจัด. **เอกสารวิชาการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร**.

สมบูรณ์ แสงมณีเดช, ขวัญเกศ กนิษฐานนท์, พิทยา ภาภิรมย์ และธานี เทศสิริ. 2548. การศึกษาผลของสารสกัดหางไหลสดในการควบคุมประชากรหนอนแมลงวัน. **สัตวแพทย์ศาสตร์ มข.** 15 (2): 8-15.

สารสิน อุยยานนท์, สุเทพ ศิลปะนันทกุล และวงศ์วิวรรธ ธนูศิลป์. 2542. การประเมินผลการใช้สารสกัดจากใบยาสูบเพื่อทำลายหนอนแมลงวันบ้านในห้องปฏิบัติการ. **วารสารสาธารณสุขศาสตร์** 2: 17-25.

สุภาณี พิมพ์สมาน. 2540. **สารฆ่าแมลง**. พิมพ์ครั้งที่ 2. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

Chuenwong, P. 2006. **Biological Control of Oriental Fruit Flies (*Bactrocera dorsalis* Hendel) by The Extract of Neem, Sugar Apple and Mintweed**. Ph.D. Thesis, Suranaree University of Technology.

Cloyd, R.A. 2004. Natural indeed : Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides. **Ill. Pestic. Rev.** 17(3): 1-3.

Dichoso, W.C. 2000. Useful plant species with toxic substance. **Res. Inf. Ser. Ecosyst.** 12 (2): 1-15.

Fasankin, E.A. and B.A. Aberejo. 2002. Effect of some pulverised plant materials on the developmental stages of fish beetle, *Dermestes maculatus* Degeer in smoked catfish (*Clarias gariepinus*) during storage. **Bioresource Technol**. 85: 173-177.

Haley, T.J. 1978. A review of the literature of rotenone 1,2,12,12a-tetrahydro-8,9-dimethoxy-(2-(1-methylethenyl)-1-benzopyrano[3,5-*B*]fluoro[2,3,*H*][1]-benzopyran-6(6*h*))-one. **J. Environ. Pathol. Toxicol.** 1: 315-337.

Hien, P.P., H., Gortnizka and R., Kraemer. 2003. Rotenone – Potential and prospect for sustainable agriculture. **Omonrice**. 11: 83-92.

Kawuki, R.S., ,A., Agona, P., Nampala and E., Adipala. 2005. A comparison of effectiveness of plant-based and synthetic insecticides in the field management of pod and storage pests of cowpea. **Crop Prot.** 24: 473-478.

Moore, S.J. and A.D., Langlet. 2004. An Overview of Plants Used as Insect Repellents. pp. 343-363. In M. Willcox, G. Bodekwr and P. Rasoanaivo, eds. **Treditional Medicinal Plants and Malaria**. CRC Press LLC.

OEPP/EPPO. 1983. Data sheets on quarantine organisms No. 41, Trypetidae (non-European). **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin** 13 (1): 1-8.

Pascual-Villalobos, M.J. and A., Robledo. 1999. Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain. **Biochem. Syst. Ecol.** *27*: 1-10.

Pedigo, L.P. and M.E., Rice. 2009. **Entomology and Pest Management**. 6th ed. Waveland Press, Illinois.

Stiling, S.R. 1985. **An Introduction to Insect Pests and Their Control**. Macmillan, London.

Sukhirun, N., W. Plempanupat and V. Bullangpoti. 2010. Impact of *Alpinia galanga* rhizome extract on *Bactrocera dorsalis* population. **Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.** 75 (3): 399-403.

Vargas, R.I., J.C., Pinero and L., Leblanc. 2015. An Overview of pest species of *Bactrocera* fruit flies (*Diptera*: *Tephritidae*) and the integration of biopesticides with other biological approaches for their management with a focus on the Pacific region. **Insect** 6: 297-318.

Vontas, T., P., Hernandez-Crespo, J.T., Magaritopoulos, F., Ortego, H.T., Feng, K.D., Mathiopoulos and J.C., Hsu. 2011. Insecticide resistance in Tephritid flies. **Pestic. Biochem. Physiol.** 100 (3): 199-205.

Ware, G.W. 2000. **The Pesticide Book.** 5th ed. Thomson, California.

Waterhouse, D.F. 1993. **The Major Arthropod Pests and Weeds of Agriculture in Southeast Asia.** ACIAR, Canberra.

Effect of Oxidative Phosphorylation Uncoupler Carbonyl Cyanide m-Chlorophenyl Hydrazine (CCCP) on H_2 Production by Unicellular Halotolerant Cyanobacterium *Aphanothece halophytica*

Sunisa Pansook[1], Aran Incharoensakdi[2] and Saranya Phunpruch[1,3*]

ABSTRACT

Currently hydrogen is one of the alternative energy carriers. H_2 can be produced by many kinds of cyanobacteria. The unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*, one of H_2 producers, produces H_2 via photosynthesis and the catabolism of storage glycogen under dark anaerobic condition by bidirectional hydrogenase activity. This work aimed to study effect of the oxidative phosphorylation uncoupler CCCP on growth and H_2 production of *A. halophytica*. The result showed that cell concentration and chlorophyll a content of *A. halophytica* decreased when *A. halophytica* cells were treated with CCCP. Higher CCCP concentrations resulted in lower cell concentration and chlorophyll a content. In addition, CCCP enhanced H_2 production rate by *A. halophytica* under dark and light anaerobic condition. The highest H_2 production rate with 2.239 ± 0.026 μmolH_2 mg chl a^{-1} h^{-1} was found in cells treated with 0.5 μM CCCP under darkness, approximately 2 times compared to control. An increase of H_2 production rate by CCCP was proposed as a result of an inhibition of oxidative phosphorylation and the synthesis of ATP and protein rather than an inhibition of PS II water-splitting.

Key words: H_2 production, *Aphanothece halophytica,* CCCP

* Corresponding author; e-mail address: saranya.ph@kmitl.ac.th

[1]Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand

[2]Laboratory of Cyanobacterial Biotechnology, Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

[3]Bioenergy Research Unit, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

INTRODUCTION

Hydrogen is an interesting alternative energy source because it provides a high heating value of 141.6 MJ kg^{-1} (Perry, 1963). Moreover, H_2 combustion generates only water as a main product that does not affect the environment and ozone layer. H_2 can be produced from several kinds of microorganisms such as fermentative bacteria, photosynthetic bacteria, algae and cyanobacteria. H_2 production by cyanobacteria is interesting because these microorganisms can produce H_2 through a photosynthetic process using abundant light and water. The filamentous non-heterocystous and unicellular cyanobacteria produce H_2 via a bidirectional hydrogenase activity by receiving electrons from two processes, the water-splitting in photosystem II and the catabolism of storage glycogen under dark anaerobic condition. In addition, the heterocystous cyanobacteria can fix nitrogen in the atmosphere to produce H_2 by activity of nitrogenase enzyme.

The unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* has been found as one of efficient H_2 producers (Taikhao *et al*., 2013; Taikhao *et al*., 2015). *A. halophytica* can produce H_2 only under nitrogen deprivation. It was found that there was only one enzyme involving in H_2 evolution in this cyanobacterium, a bidirectional hydrogenase (Phunpruch *et al*., 2016). H_2 production by *A. halophytica* mainly occurred by dark anaerobic glycogen fermentation and slightly occurred via photosynthesis. Its H_2 production by photosynthesis is low because this process generates O_2 during water-splitting in photosystem II. Oxygen produced by the water splitting inhibits bidirectional hydrogenase activity due to the extreme sensitivity of bidirectional hydrogenase to molecular oxygen (Mckinlay and Harwood, 2010).

Carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone (CCCP) is an uncoupling agent of oxidative phosphorylation. It can disrupt the proton motive force by transporting protons across lipid bilayer component of membrane resulting in ATP synthesis inhibition (Hopfer *et al.,* 1968). In addition, CCCP can also provide protons from thylakoid to bidirectional hydrogenase in order to produce H_2 (Ran *et al.,* 2006). The Uncoupler CCCP can also inhibit protein translation by disturbing the energy supply of translation process (Konstantinov *et al.,* 1996). In cyanobacteria and green algae, CCCP is known as a photosystem II inhibitor that can accelerate the deactivation reaction of water-splitting enzyme system in photosystem II (Samuilov and Barsky, 1993). Moreover, CCCP uncouples the proton pumping from ATP synthase resulting in the disruption of the proton gradient by carrying protons across a membrane in *Chlamydomonas reinhardtii, Platymonas subcordiformis* and *Anabaena siamensis* (Ran *et al.,* 2006; Ji *et al.,* 2010; Khetkorn *et al.,* 2012). In addition, the glycolytic pathway and starch biosynthesis were rapidly blocked with CCCP treatment in *C. reinhardtii* (Yang *et al*., 2014). In this study, effect of CCCP on cell growth and H_2 production by *A. halophytica* will be investigated.

MATERIALS AND METHODS

1. Growth condition

The cyanobacterium *A. halophytica* was grown in a 250-mL Erlenmeyer flask containing 100 mL of BG11 medium supplemented with Turk Island salt solution (pH 7.6) (Garlick *et al*., 1997). The initial cell concentration was adjusted to an OD_{730} of 0.1. Cells were cultivated by shaking on a rotary shaker at speed of 120 rpm, 30 °C under a cool white light intensity of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1} (18 h day^{-1}) for 7 days.

2. Growth and cell concentration analysis

Growth of *A. halophytica* was determined by measurement of cell density with an absorbance at wavelength 730 nm (Yu and Vermaas, 1990) using a UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu, UV-601, Japan). Cell concentration of *A. halophytica* was analyzed using a hemacytometer under a microscope, (Nikon Eclipse Ci-L, Japan).

3. Chlorophyll a determination

The cell culture was harvested by centrifugation at 8,000 xg, 4 °C for 10 min. Chlorophyll a was extracted from the cell pellet by adding 90 % (v/v) methanol for 1 h under darkness. The chlorophyll a content of extract was determined by measuring an absorbance at wavelength 665 nm (MacKinney, 1941).

4. Measurement of H_2 and O_2 production

Five milliliters of *A. halophytica* cell suspension were transferred to a 10-mL glass vial. The vial was sealed with a rubber stopper with an aluminum rim. The air in glass vial was removed by purging argon gas for 10 min. The vial was incubated at 30°C under light intensity of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1} or darkness for 2 h. After incubation, H_2 and O_2 evolution was determined by analyzing the gas phase using Gas Chromatograph (Hewlett-Packard HP5890A, Japan) with a molecular sieve 5^{o} A 60/80 mesh packed column and thermal conductivity detector. The gas chromatography condition was performed as previously described (Taikhao *et al.,* 2013).

5. Effect of CCCP on cell concentration, chlorophyll a content, H_2 and O_2 production

A. halophytica grown for 7 days was harvested by centrifugation at 8,000 ×g at 4 °C for 10 min, washed twice and resuspended in $BG11_0$ medium supplemented with Turk Island salt solution. The cell suspension was shaken at 120 rpm at 30 °C under light intensity of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1} for 24 h. Cells were then harvested by centrifugation again and resuspended in 5-mL of $BG11_0$ medium. Five milliliters of cell suspension were transferred to a 10-mL glass vial and CCCP was added into the cell suspension to make a CCCP final concentration of 0-5 µM. The vial was sealed with a rubber stopper with an aluminum rim and incubated at 30 °C under light intensity of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1}. An aliquot of cell suspension incubated for 2, 24, 48, 72 and 96 h were harvested for

measurement of cell concentration, chlorophyll a content, H_2 and O_2 production as previously described.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Effect of CCCP on cell concentration

To study the effect of CCCP on cell concentration, *A. halophytica* grown in BG11 medium for 7 days was harvested, resuspended in $BG11_0$ medium and added with various concentrations of CCCP. The cell suspension was incubated at 30 °C under the light. Cell concentration by cell number measurement during 4 days of incubation was determined using a hemacytometer. The result showed that CCCP had an effect on the cell concentration of *A. halophytica*. An increase of CCCP concentration resulted in an apparent decrease of *A. halophytica* cell concentration (Fig. 1). In addition, it was found that CCCP affected the cell concentration within the first 2 h of incubation and longer incubation time caused lower cell concentration (Fig. 1). It was due to that uncoupling of CCCP disrupted the proton motive force and released proton across the thylakoid membrane, thus resulting in an inhibition of ATP synthesis (Hopfer *et al.,* 1968). The lack of ATP caused the termination of protein synthesis, membrane synthesis and cellular division. Moreover, photosynthetic activity was also decreased in cells treated with CCCP because CCCP inhibited water-splitting in photosystem II (Basset and Bader, 1998). Therefore higher concentration and longer incubation of CCCP definitely resulted in the lower cell concentration.

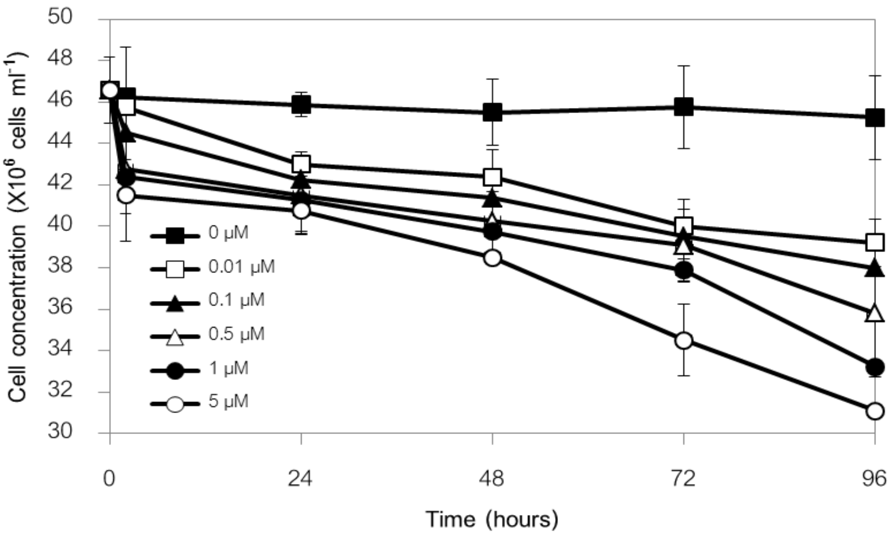


Figure 1 Effect of various concentrations of CCCP on cell concentration of *A. halophytica* at a period of incubation time.

2. Effect of CCCP on chlorophyll a concentration

To study the effect of CCCP on cell concentration, *A. halophytica* grown in BG11 medium for 7 days was harvested, resuspended in $BG11_0$ medium and added with various concentrations of

CCCP. The cell suspension was incubated at 30 °C under the light. Chlorophyll a was extracted by 90% (v/v) methanol from the cell suspension during 4 days of incubation. It was found that the pattern of chlorophyll a content was similar to that of cell concentration. Chlorophyll a content was rapidly decreased when cells were treated with CCCP. The higher CCCP concentrations led to the lower chlorophyll a content (Fig. 2). As known that CCCP causes the ATP and protein synthesis and PS II inactivation, these results might cause a decrease of intracellular pigment contents, especially a main pigment chlorophyll a. This result was in agreement with the previous study in *Platymonas helgolandica* var. *tsingtaoensis* (Zhang *et al.*, 2012) and *C. reinhardtii* (Yang *et al.*, 2014), stated that the chlorophyll content was decreased in CCCP treated cultures.

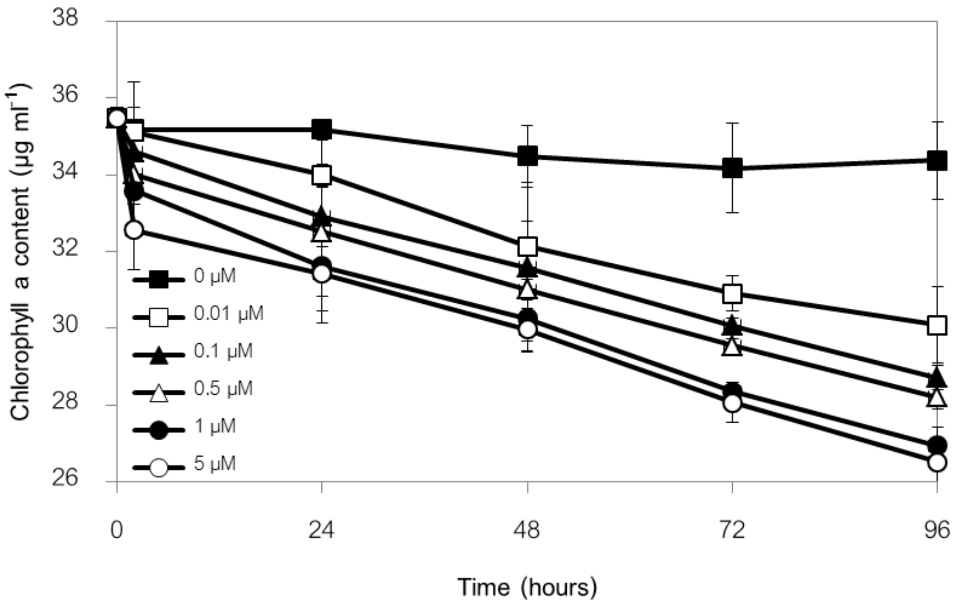


Figure 2 Effect of various concentrations of CCCP on chlorophyll a content of *A. halophytica* at a period of incubation time.

3. Effect of CCCP on H_2 and O_2 production

To investigate the effects of CCCP on H_2 and O_2 production, *A. halophytica* grown in BG11 medium was transferred in $BG11_0$ medium and incubated at 30 °C in the light for 24 h. After N-deprivation adaptation, cells were harvested, resuspended in $BG11_0$ medium and treated with 0-5 µM CCCP. Cells were incubated in the light and darkness at 30 °C for 2 h before H_2 and O_2 analysis. It was shown that *A. halophytica* incubated under darkness showed higher H_2 production rate than cells incubated in the light, suggesting that H_2 evolved mainly came from electrons releasing from the catabolism of the storage glycogen rather than electrons via photosynthesis. The highest H_2 production rate with 2.239 ± 0.026 µmolH_2 mg chl a^{-1} h^{-1} was found in cells treated with 0.5 µM CCCP under darkness (Fig. 3A). Higher concentrations than 0.5 µM CCCP resulted in a decrease H_2 production rate. It could be explained that at this concentration, CCCP could inhibit ATP and protein

synthesis, CO_2 fixation and oxidative phosphorylation (Raven and Glidewell, 1975; Konstantinov *et al.,* 1996). The excess reducing power NAD(P)H and electrons were reduced by bidirectional hydrogenase for H_2 production instead. In the light, it seemed that higher H_2 production rate was found in *A. halophytica* cells treated with CCCP. The highest H_2 production rate with 0.306 ± 0.063 µmolH_2 mg chl a^{-1} h^{-1} was observed in cells treated with 1.0 µM CCCP; however this rate is lower than that under darkness (Fig. 3B). Our result was in agreement with the previous study in *Tetraselmis subcordiformis*. It was reported that H_2 production by *T. subcordiformis* was increased in cells incubated with CCCP (Ji *et al.*, 2011). In *Chlamydomonas reinhardtii*, H_2 production was stable for at least 12 h in cells treated with CCCP (Yang *et al.*, 2014). In marine green alga *Platymonas subcordiformis*, H_2 production was increased in cells treated with CCCP due to the possibility that CCCP can disrupt the proton motive force, release protons across thylakoid membrane and supply protons to produce H_2 via bidirectional hydrogenase acticvity (Ran *et al.,* 2006). The higher H_2 production by *Oscillatoria chalybea* and *Synechocystis* sp. PCC 6803 was also shown in cells treated with CCCP. It was a result from a decrease of O_2 due to the effect of CCCP. This enhanced bidirectional hydrogenase activity to produce H_2 (Basset and Bader, 1998).

To prove whether the increased H_2 was a result from a decrease of O_2 due to the effect of CCCP on PS II water-splitting, O_2 measurement was determined. The result showed that *A. halophytica* incubated in the light produced higher O_2 than cells incubated under darkness (Fig. 3B) because there is photosynthesis in the light. In this study, we found that H_2 increased by treated with CCCP was not a result of the decrease of O_2. It is likely that CCCP might inhibit H^+ pumping via ATPase and might release protons across thylakoid membrane resulting in the H_2 production.

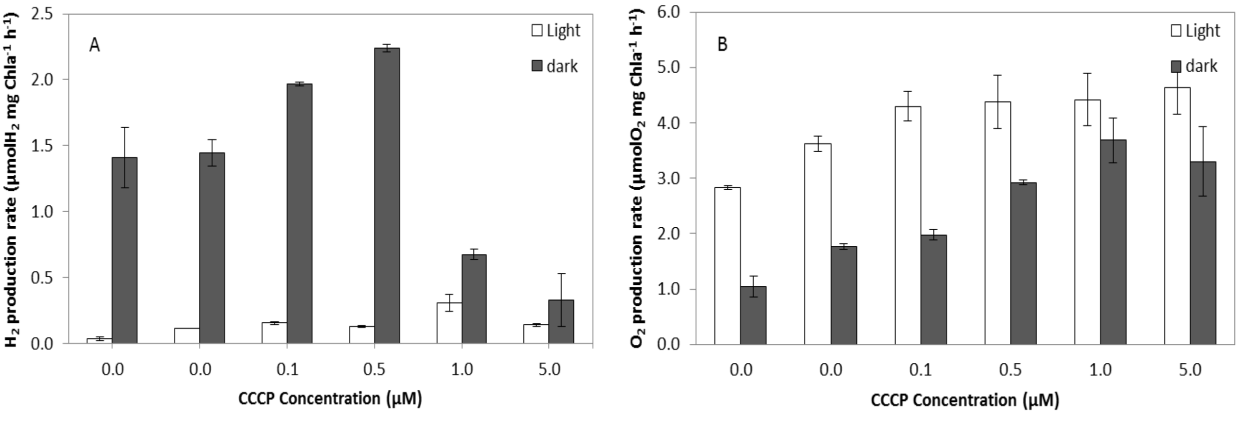


Figure 3 Effect of various concentrations of CCCP on H_2 (A) and O_2 (B) production by *A. halophytica* at 2 hours for incubation under the light and darkness.

CONCLUSION

The uncoupler oxidative phosphorylation CCCP decreased cell concentration and chlorophyll a content of *A. halophytica*. CCCP improved H_2 and O_2 production rate by *A. halophytica* under darkness and in the light. In the light, higher concentrations of CCCP than 0.5 μM CCCP resulted in a sharp decrease of H_2 production rate. O_2 production of *A. halophytica* was incubated with CCCP under light was higher than O_2 production under dark condition. An increase of H_2 production rate by CCCP might result from the inhibition of oxidative phosphorylation rather than inhibition of water-splitting.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financially supported by research grant from the Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.

REFERENCES

Basset, R. A. and K.P. Bader. 1998. Physiological analyses of the hydrogen gas exchange in cyanobacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology B:Biology.** 43(2): 146-151.

Garlick, S., A. Oren and E. Padan. 1997. Occurrence of facultative anoxygenic photosyn thesis among filamentous and unicellular cyanobacteria. **Journal of Bacteriology.** 29: 623-629.

Hopfer, U., A.L. Lehninger and T.E. Thompson. 1968. Protonic conductance across phospholipid bilayer membranes induced by uncoupling agent for oxidative phosphorylation. **Proceeding of the National Academy of Sciences.** 59:484-490.

Ji, C.F., J. Legrand, J. Pruvost, Z.A. Chen and W. Zhang. 2010. Characterization of hydrogen production by *Platymonas subcordiformis* in torus photobioreactor. **International Journal of Hydrogen Energy.** 35: 7200-7205.

Ji, C.F., X.J. Yu, Z.A. Chen, S. Xue, J. Legrand and W. Zhang. 2011. Effects of nutrient deprivation on biochemical compositions and photo-hydrogen production of *Tetraselmis subcordiformis*. **International Journal of Hydrogen Energy.** 36: 5817-5821.

Khetkorn, W., W. Baebprasert, P. Lindblad and A. Incharoensakdi . 2012. Redirecting the electron flow towards the nitrogenase and bidirectional Hox-hydrogenase by using specific inhibitors results in enhanced H_2 production in the cyanobacterium *Anabaena siamensis* TISTR 8012. **Bioresource Technology.** 118: 265-271.

Konstantinov, Y.M., I.V. Subota and A.S. Arziev. 1996. Protein synthesis in mitochondria under different redox conditions. **Maize Genetics Cooperation Newsletter.** 70: 29-30.

Mckinlay, J.B. and C. Harwood. 2010. Photobiological production of hydrogen gas as a biofuel. **Current Opinion in Biotechnology.** 21: 244-251.

MacKinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. **Journal of Biological Chemistry.** 140: 315–322.

Perry, J.H. 1963. **Chemical engineers' handbook.** 4th ed. New York : McGraw-Hill.

Phunpruch, S., S. Taikhao and A. Incharoensakdi. 2016. Identification of bidirectional hydrogenase genes and their co-transcription in unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. **Journal of Applied Phycology.** 27: 187–196.

Ran, C.Q., W. Zhang, X.J. Yu, M.F. Jin and M.C. Deng. 2006. Regulation of hydrogen production by uncoupler CCCP in green algae *Chlamydomonas reinhardtii*. **Chemical Journal of Chinese Universities.** 27: 62-66.

Ran C.Q., X.J. Yu, M.F. Jin and W. Zhang. 2006. Role of carbonyl cyanidem-chlorophenylhydrazone in enhancing photobiological hydrogen production by marine green alga *Platymonas subcordiformis*. **Biotechnology Progress.** 22: 438–43.

Raven, J.A. and S.M. Glidewell. 1975. Effects of CCCP on Photosynthesis and on Active and Passive Chloride Transport at the Plasmalemma of *Hydrodictyon africanum*. **The New Phytologist.** 75(2): 205-213.

Samuilov, V.D. and E.L. Barsky. 1993. Interaction of carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone with the photosystem II acceptor side. **FEBS Letters.** 320(2): 118-120.

Taikhao, S., S. Junyapoon, A. Incharoensakdi and S. Phunpruch. 2013. Factors affecting biohydrogen production by unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica*. **Journal of Applied Phycology.** 25: 575-85.

Taikhao, S., A. Incharoensakd and S. Phunpruch. 2015. Dark fermentative hydrogen production by the unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* grown in seawater. **Journal of Applied Phycology.** 27: 187-96.

Yang, D., Y. Zhang, D.K. Barupal, X. Fan, R. Gustafson, R. Guo and O. Fiehn. 2014. Metabolomics of photobiological hydrogen production induced by CCCP in *Chlamydomonas reinhardtii*. **International Journal of Hydrogen Energy.** 39: 150-158.

Yu, J. and W. F.J. Vermaas. 1990. Transcript levels and synthesis of photosystem II components in cyanobacterial mutants with inactivated photosystem II genes. **The Plant Cell.** 2: 315-322.

Zhang, Y., X. Fan, Z. Yang, H. Wang, D. Yang and R. Guo. 2012. Characterization of H_2 photoproduction by a new marine green alga, *Platymonas helgolandica* var. *tsingtaoensis*. **Applied Energy.** 92: 38-43.

การแยก การคัดเลือกและการระบุชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟต จากข้าวแปลงเกษตรอินทรีย์ 5 ปี

Isolation, Screening and Identification of Phosphate Solubilizing Endophytic Bacteria from Five Years Organic Rice Farming

สมคิด ดีจริง[1*]และ วิชญาพร ปาวงค์[1]

Somkid Deejing[1*] and Witchayaporn Pawong[1]

บทคัดย่อ

ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารหลักของพืชช่วยส่งเสริมการเจริญของรากและการแตกกอของต้นพืช แบคทีเรียละลายฟอสเฟตช่วยละลายฟอสเฟตให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ งานวิจัยนี้ จึงแยกและคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจากข้าวแปลงเกษตรอินทรีย์ โดยแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ได้แบคทีเรีย 53 ไอโซเลท และคัดเลือกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเบื้องต้นบนอาหารแข็ง Pikovskaya (PVK) agar มีแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท ที่เกิดวงใสรอบโคโลนี ได้แก่ RRTSA2, RSTSA3, RRPVK6, RRPVK18 และ RRISP3 โดยละลายฟอสเฟตได้ 114.32, 97.88, 92.79, 52.22 และ 49.70 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รูปร่างท่อน และแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มีลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมีแตกต่างกัน การระบุชนิดของแบคทีเรียโดยการหาลำดับเบสของยีน 16S rRNA พบว่า เป็นแบคทีเรีย *Burkholderia vietnamiensis, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter* sp., *Acinetobacter* sp. และ *Bacillus* sp. ที่ระดับความเหมือน 100, 100, 100, 99 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งน่าจะนำแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตที่คัดเลือกได้ไปประยุกต์ใช้ในระบบเกษตรอินทรีย์ต่อไป

ABSTRACT

Phosphorus is one of the major plant nutrients. It can promote root growth and stimulates tillering of plants. Phosphate solubilizing bacteria could change insoluble form of phosphate into available phosphate. Therefore, this study aimed to isolate and screen phosphate solubilizing endophytic bacteria from five years organic rice farming. The isolation of phosphate solubilizing endophytic bacteria was done on various kinds of culture medium, and fifty three bacterial isolates were obtained. Primary screening of phosphate solubilizing ability of endophytic bacteria was examined on Pikovskaya (PVK) agar. Five bacterial isolates showed clear zone such as RRTSA2, RSTSA3, RRPVK6, RRPVK18 and RRISP3 and solubilized phosphate at 114.32, 97.88, 92.79, 52.22 และ 49.70 mgP/L, respectively. Phosphate solubilizing endophytic bacteria were identified based on 16S rRNA gene sequencing as *Burkholderia vietnamiensis, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter* sp., *Acinetobacter* sp. and *Bacillus* sp. at 100, 100, 100, 99 and 100 % similarity, respectively. Selected phosphate solubilizing endophytic bacteria might be further applied to organic farming.

Key Words: isolation, identification, endophytic bacteria, phosphate solubilizing bacteria, organic rice

* Corresponding author; e-mail address: kittydeejing@gmail.com

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1]Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290

คำนำ

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อพืช (Mano and Morisaki, 2008) ซึ่งมีประโยชน์ต่อพืชในด้านต่าง ๆ เช่น ส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อพืชที่อาศัย กระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรคพืช ผลิตสารต้านทานต่อเชื้อก่อโรคพืช และยังช่วยให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ (Khalifa *et al.* 2015) โดยฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารหลักของพืชที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของรากทำให้ลำต้นแข็งแรงไม่ล้มง่ายและต้านทานโรค ช่วยการออกดอกและสร้างเมล็ดต้นอ่อน ช่วยในการสังเคราะห์แสง สร้างแป้งและน้ำตาล (Mehrvarz *et al.*, 2008) ซึ่ง Prakamhang *et al.* (2009) พบว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์ในข้าวขาวดอกมะลิ 105 *Oryza sativa* เป็นแบคทีเรีย *Enterobacter* sp., *Brevundimonas* sp. และ *Pseudomonas* sp. และ Vejan *et al.* (2016) รายงานว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์จากรากและลำต้นข้าวเป็นแบคทีเรีย *Pedobacter, Sphingomonas* และ *Paenibacillus* ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตในนาข้าวได้ และมีการใช้เอนโดไฟท์ *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. methylotrophicus* และ *B. subtilis* เพื่อช่วยละลายฟอสเฟตและควบคุมโรคไหม้ในข้าว (Ahmed *et al.*, 2015) นอกจากนี้ เอนโดไฟท์ยังผลิตกรดอินโดลอะซิติก ผลิตเอนไซม์ 1- aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) และผลิตไซเดอโรฟอร์ (Castillo *et al.*, 2015) การใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟต เป็นวิธีการทางชีวภาพที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตพืช ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจากข้าวในแปลงเกษตรอินทรีย์ ซึ่งอาจนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับจุลินทรีย์อื่นที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตข้าวอินทรีย์ เป็นการช่วยลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร และยังส่งผลดีต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ จุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้น่าจะนำไปประยุกต์ใช้ ในพื้นที่สูงที่มีปริมาณน้ำน้อย พื้นที่แห้งแล้งขาดแคลนน้ำ หรือภัยแล้งที่เกิดจากภาวะภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงได้อีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การแยกจุลินทรีย์เอนโดไฟท์จากข้าว

ล้างและตัดชิ้นส่วนของของราก ลำต้นและใบของข้าวหอมมะลิแดง จากแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์ 5 ปี จาก อ. สันทราย จ. เชียงใหม่ นำไปฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิว แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ และวางชิ้นส่วนข้าวลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด ได้แก่ Pikovskaya medium (PVK), International streptomyces projected medium 2 (ISP2), Tryptic soy agar medium (TSA) และ Plate count agar medium (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48-72 ชั่วโมง และนำน้ำสุดท้ายที่ได้จากการล้างชิ้นส่วนของข้าวไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง นำมาทำให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ไว้ศึกษาต่อไป

การคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตขั้นต้นบนอาหารแข็ง

เพาะเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟท์ทั้งหมด 53 ไอโซเลท บนอาหารแข็ง PVK agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง ซึ่งในอาหาร PVK มีไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Ca_3PO_4) เป็นส่วนประกอบอยู่หากเชื้อใดสร้างกรดอินทรีย์มาละลายแคลเซียมฟอสเฟตได้จะเกิดบริเวณใส (clear zone) รอบโคโลนี ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส และคัดเลือกเชื้อที่เกิดบริเวณใสรอบโคโลนีไว้ศึกษาต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณการละลายฟอสเฟต

นำแบคทีเรียที่เกิดวงใส ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth (NB) บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 130 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเป็นเชื้อเริ่มต้น แล้วเพาะเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารเหลว PVK บ่มที่ความเร็ว 130 รอบต่อนาที ระยะเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที แล้วนำส่วนใสที่ได้ไปทำปฏิกิริยา จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นของฟอสเฟตที่ละลายได้ ตามวิธีของ Bray and Kurt (1945)

การระบุชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตที่คัดเลือกได้

นำแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ มาศึกษาคุณลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และย้อมสีแบบแกรมส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ ศึกษารูปร่างการเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรม รวมทั้งทดสอบการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ฟรุคโตส ซูโครส มอลโตส กลูโคส กาแลคโตส ไซลิทอล แลคโตส และ แมนนิทอล ทดสอบการผลิตเอนไซม์คะตาเลสและออกซิเดส และศึกษาลำดับเบส 16S rRNA

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการแยกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจากส่วนต่าง ๆ ของข้าว

การแยกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจาก ราก ลำต้นและใบของข้าวหอมมะลิแดง พบแบคทีเรียจำนวน 32, 9 และ 12 ไอโซเลท ตามลำดับ รวม 53 ไอโซเลท ในการทดลองนี้ แยกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตได้จากส่วนรากมากกว่าส่วนอื่น ๆ ซึ่ง Johri *et al.* (1999) พบจำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตมากที่สุดในส่วนบริเวณพื้นผิวของรากพืช (rhizoplane) ตามด้วยส่วนบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) และในส่วนของดิน โดยกระบวนการเข้าสู่พืชของจุลินทรีย์เอนโดไฟท์จะผ่านทางบาดแผลของพืช หรือผ่านรากขนและบริเวณผิว และยังเข้าสู่พืชโดยผ่านช่องเปิดธรรมชาติ หรือการใช้เอนไซม์ย่อยสลาย เช่น เอนไซม์เซลลูเลสและเพคติเนส (Nath and Joshi, 2016) การที่พบเอนโดไฟท์ในส่วนของรากพืชจำนวนมาก อาจเนื่องมาจากรากพืชเป็นบริเวณที่สัมผัสกับดินซึ่งรากพืชมีการขับสารออกมา เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของจุลินทรีย์รอบรากพืช (Baker *et al.*, 2012) ขณะเดียวกันจุลินทรีย์ยังช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน และส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืช เช่น การตรึงไนโตรเจน ละลายฟอสเฟต มีกิจกรรมเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase และผลิตไซเดอโรฟอร์ และผลิตฮอร์โมนพืช รวมทั้งป้องกันพืชจากศัตรูพืชและความเครียดของพืชจากสิ่งไม่มีชีวิต (Souza *et al.*, 2015) ส่วนน้ำสุดท้ายที่ล้างชิ้นส่วนข้าว ไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแสดงว่าแบคทีเรียที่แยกได้เป็นแบคทีเรียเอนโดไฟท์

ผลการคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟต

ทดสอบการละลายฟอสเฟตขั้นต้นของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้ทั้งหมด 53 ไอโซเลท บนอาหารแข็ง PVK agar โดยดูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบโคโลนี พบว่า มีแบคทีเรียที่เกิดวงใสรอบโคโลนีจำนวน 5 ไอโซเลท คือ แบคทีเรีย RRTSA2, RRPVK6, RRPVK18, RRISP3 ซึ่งแยกได้จากรากข้าว ส่วน

แบคทีเรีย RSTSA3 แยกได้จากส่วนลำต้นข้าว (Table 1) การทดลองนี้ พบแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจากแปลงข้าวที่ทำเกษตรอินทรีย์ คิดเป็นร้อยละ 9.43 ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท ละลายฟอสเฟตได้ 114.32, 92.79, 52.22, 49.70, 97.88 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร ตามลำดับ (Table 1) ซึ่ง Panwar *et al.* (2005) อธิบายว่า กลไกในการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตของแบคทีเรียเกิดจากการสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดซัค-ซินิค กรดออกซาลิก และ กรดโพรพิโอนิก และกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของแบคทีเรีย (Anand *et al.* (2016) นอกจากนี้ ยังเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ไฟเตสอีกด้วย (Glick, 2012) ซึ่ง สุจิตรา และ คณะ (2556) พบว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์จากรากข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี สามารถละลายฟอสเฟตได้ 421.7- 465.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดลองนี้ แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่คัดเลือกได้สามารถละลายฟอสเฟตได้ไม่สูงมากนักอาจเป็นผลมาจากแบคทีเรียยังอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการละลายฟอสเฟต เนื่องจากยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการละลายฟอสเฟต เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่างและชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ซึ่ง Baliah and Begum (2015) พบว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 28-35 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีในอาหารที่มีกลูโคสและฟรุคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสได้โดยการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (Gupta *et al.* 2012) นอกจากนี้ Yadav *et al.* (2013) พบว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อน *Brevibacillus* sp. มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5

Table 1 Primary screening of phosphate solubilizing bacteria and phosphate content

Bacterial code	Clear zone diameter (mm)	Phosphate content (mgP/L)	Source
RRTSA2	5.0	114.32	Root
RRPVK6	6.0	92.79	Root
RRPVK-18	8.0	52.22	Root
RRISP3	5.0	49.70	Root
RSTSA3	8.5	97.88	Stem

การระบุชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตที่คัดเลือกได้

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตทั้ง 5 ไอโซเลทคือ RRTSA2, RRPVK6, RRPVK18, RRISP3 และ RSTSA3 มีโคโลนีสีครีมและสีเหลืองอ่อน รูปร่างโคโลนีกลม ขอบเรียบ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน เซลล์เดี่ยว ได้แก่ แบคทีเรีย RRTSA2, RRPVK6, RRPVK18 และ RSTSA3 ส่วนแบคทีเรีย RRISP3 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน เซลล์ต่อเป็นสายยาว และแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท มีลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมีแตกต่างกัน (Table 2)

เมื่อจำแนกชนิดโดยการหาลำดับเบสของยีน 16S rRNA เทียบความเหมือนกับฐานข้อมูลลำดับเบสใน GenBank พบว่า แบคทีเรีย RRTSA2, RRPVK6, RRPVK18, RRISP3 และ RSTSA3 เป็น *Burkholderia vietnamiensi*s, *Acinetobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., และ *Klebsiella pneumoniae* sp. ตามลำดับ ที่ระดับความเหมือน 100, 100, 99, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 3)

Table 2 Colony morphology, cell shape and cell arrangement and Gram 's staining of selected phosphate solubilizing bacteria

Bacterial code	Colony morphology	Cell shape and cell arrangement	Gram 's staining
RRTSA2	creamy colony, entire, raise	Rods, single	Negative
RRPVK6-1	creamy colony, entire, raise	Rods, single	Negative
RRPVK-18	slight yellow colony, entire, raise	Rods, single	Negative
RRISP3	creamy colony, entire, raise	Rods, chain	Positive
RSTSA3	creamy colony, entire, raise	Rods, single	Negative

Table 3 Physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA base sequencing of phosphate solubilizing bacteria

Bacterial code	Physiological and biochemical characteristics										Bacteria	Similarity (%)
	Test		Carbon source									
	Catalase test	Oxidase test	F	S	M	G	Ga	X	L	Ma		
RRTSA2	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	*Burkholderia vietnamiensis*	100
RRPVK6	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	*Acinetobacter* sp.	100
RRPVK18	+	-	(+)	+	(+)	+	(+)	-	+	(+)	*Acinetobacter sp.*	99
RSSISP3	+	-	+	(+)	(+)	+	-	-	-	+	*Bacillus* sp.	100
RSTSA3	+	-	+	(+)	(+)	+	(+)	-	(+)	(+)	*Klebsiella pneumoniae*	100

Remark F= Fructose, S = Sucrose, M = Maltose, G = Glucose, Ga = Galactose, X = Xylitol, L = Lactose, Ma = Mannitol
(+) = acid and gas production, + = positive, - = negative

Rangjaroen *et al.* (2015) พบว่า แบคทีเรีย *Burkholderia, Klebsiella, Novosphingobium* และ *Sphingomonas* เป็นเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากรากข้าวสามารถละลายฟอสเฟต ผลิตกรดอินโดลอะซิติก ผลิตไซ-เดอโรฟอร์ และมีศักยภาพช่วยส่งเสริมการผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในเชิงพาณิชย์ได้ ซึ่ง *Burkholderia*

vietnamensis ช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวได้ 5.6-12.16 เปอร์เซ็นต์ (Govindarajan *et al*., 2008) ต่อมา Rodrigues *et al.* (2016) ได้แยกและคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟท์จาก ราก ลำต้น ใบของอ้อย และดินรอบ ๆ รากอ้อย พบว่าได้แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต ผลิตกรดอินโดลอะซิติก ผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) แอมโมเนียและเอนไซม์เพคติเนส เซลลูเลสและไคติเนส และระบุชนิดแบคทีเรียเป็น *Klebsiella, Enterobacter* และ *Pantoea* นอกจากนี้ Chung *et al.* (2015) รายงานว่า *Bacillus oryzicola* เป็นแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากรากข้าวในเกาหลี สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่ก่อโรคในข้าวได้ และยังช่วยเพิ่มอัตราการงอกของข้าวและช่วยให้ข้าวแตกกอมากขึ้น โดย *B. oryzicola* ยังสามารถใช้ควบคุมโรคถอดฝักฝักดาบ (bakanae) ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium fujikuroi* ในข้าวได้อีกด้วย (Hossain *et al*., 2016) แบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตที่แยกได้ในการทดลองนี้ น่าจะมีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ การประยุกต์ใช้ประโยชน์จากเชื้ออาจทำได้โดยนำไปใช้ร่วมกับจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชมีบทบาทต่อพืชในด้านต่าง ๆ อีกมากมาย ได้แก่ ช่วยให้พืชทนทานต่อสภาวะเครียด ช่วยให้พืชทนทานต่อเชื้อก่อโรคพืช และเป็นปุ๋ยชีวภาพ ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช (Souza *et al*., 2015) ซึ่ง Khan *et al.* (2009) กล่าวว่า หากใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์อื่น ๆ เช่น จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและไมคอไรซา โดยใช้ในรูปแบบเชื้อผสมจะทำให้มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมากยิ่งขึ้น

สรุป

แยกได้แบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟต จากส่วนของราก ลำต้น และใบของข้าวหอมมะลิแดงจากแปลงข้าวที่ทำเกษตรอินทรีย์ระยะเวลา 5 ปี จำนวน 53 ไอโซเลท มีแบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท ที่ละลายฟอสเฟตได้ พบว่า เป็นแบคทีเรีย *Burkholderia vietnamiensis, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter* sp. และ *Bacillus* sp. โดยแบคทีเรีย RRTSA2 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงที่สุดเท่ากับ 114.32 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร เนื่องจากแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตมีผลต่อความแข็งแรงของรากและลำต้นของพืชรวมทั้งยังมีผลเพิ่มการแตกกอของพืช ซึ่งน่าจะนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ต่อพืชที่ปลูกในพื้นที่น้ำน้อย เช่น เกษตรในพื้นที่สูง พื้นที่ประสบภัยแล้งที่มีปริมาณฝนตกน้อยเนื่องจากเกิดภาวะภูมิอากาศเปลี่ยนแปลง ซึ่งกำลังประสบปัญหาอยู่ในปัจจุบัน รวมทั้งยังจะนำเชื้อที่คัดเลือกได้ไปใช้ประโยชน์ในการผลิตพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ ซึ่งจะส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้ผลิตและผู้บริโภค รวมทั้ง ยังมีผลดีต่อสภาพแวดล้อมอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

สุจิตรา ปะนันโต ภาคภูมิ ตันเตชสาธิต ศิริลักษณ์ จิตรอักษร รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์. 2556.**เอนโดไฟติกแบคทีเรียและผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว.** แก่นเกษตร 41(4): 457-468.

Ahmed, S.A., E. Shakh, K.U. Kakar, X. Wang, A.A. Almoneafy, M.R. Ojaghian M.R., B. Li , S.I. Anjum and G. Xie. 2015. Controlling bacterial leaf blight of rice and enhancing the plant growth with endophytic a rhizobacterial *Bacillus* strains. **Toxicological and Environmental Chemistry** 97(6): 55-63.

Anand, K., B. Kumari and M.A. Mallick. 2016. Phosphate solubilizing microbes: An effective and alternative approach as fertilizers. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 8(2): 37-40.

Baker, S., P. Santhosh, D. Rakshith and S. Satish. 2012. Screening of bacterial endophytes inhabiting *Mimosa pudica L*. Scientific. **Journal of Microbiology** 1: 136-140.

Baliah, T.N. and J.P. Begum. 2015. Isolation, identification and characterization of phosphate solubilizing bacteria (PSB) isolated from economically important crop plants. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** 4: 915-924.

Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. **Soil Science** 59: 39-45.

Castillo, I., J. Ojeda, E. Megias, H.J. Manyani , L. Baena, F.P. Montano, R.A. Bellogin, R.M. Espuny, M.T. Cubo, F.J. Ollero and M. Megias. 2015. Isolation of endophytic, epiphytic and rhizosphere plant growth-promoting bacteria from cultivated rice paddy soils of the Guadalquivir river marshes. **Global Advanced Research Journal of Agricultural Science** 4(2): 127-136.

Chung, E.J., M.T. Hossain, A. Khan, K.H. Kim, C.O. Jeon and Y.R. Chung. 2015. *Bacillus oryzicola*, an endophytic bacterium isolated from the roots of rice with antimicrobial, plant growth promoting, and systemic resistance inducing activities in rice. **Plant Pathology Journal** 31(2): 152-164.

Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica** 2: 1-15.

Govindarajan, M, J. Balandreau, S.W. Kwon, H.Y. Weon and C. Lakshminarasimhan. 2008. Effects of the inoculation of *Burkholderia vietnamensis* and related endophytic diazotrophic bacteria on grain yield of rice. **Microbial Ecology** 55(1):21-37.

Gupta, M., S. Kiran, A. Gulati, B. Singh and R. Tewari. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin- A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. **Microbiological Research** 167: 358-363.

Hossain, M.T., A. Khan, E.J. Chung, M.H. Rashid and Y. R. Chung. 2016. Biological control of rice bakanae by an endophytic *Bacillus oryzicola* YC7007. **Plant Pathology Journal** 32(3): 228-241.

Johri, J.K., S. Surange and C.S. Nautiyal. 1999. Occurrence of salt, pH, and temperature tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils. **Current Microbiology** 39(2): 89-93.

Khalifa, A.Y.Z, A.M. Alsyeeh, M.A. Almalki and A. Farag. 2015. Characterization of the plant growth promoting bacterium, *Enterobacter cloacae* MSR1, isolated from roots of non-nodulating *Medicago sativa*. **Saudi Journal of Biological Sciences** 23(1): 79–86.

Khan, A.A., G.Jilani, M.S. Akhtar, S.M.S Naqvi and M. Rasheed. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. **Journal of Agricultural and Biological Science** 1(11): 48-58.

Mano, H. and H. Morisaki. 2008. Endophytic bacteria in the rice plant. **Microbes and Environments.** 23: 109-117.

Mehrvarz, S., M.R. Chachi and H.A. Alikhani. 2008. Effect of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of barely (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Agriculture and Environmental Sciences** 3: 822-828.

Nath, A. and S.R. Joshi. 2016. Endophytic fungi from tropical ethnoveterinary plants and their antibacterial efficacy against *Pasteurella multocida* Capsular Type A strain. **Revista de Biologia Tropical** 64(2): 10-19.

Panwar, J.D.S. and K. Swarnalakshmi. 2005. **PGPR: a new group of biofertilizer for sustainable crop productivity.** New India Publishing Agency. New Dalhi. pp 159-180.

Prakamhang, J., K. Minamisawa, K. Teamtaisong, N. Boonkerd and N. Teaumroong. 2009. The communities of endophytic diazotrophic bacteria in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). **Applied Soil Ecology** 42(2): 141-149.

Rangjaroen, C., B. Rerkasem, N. Teaumroong, R. Noisangiam and S. Lumyong. 2015. Promoting plant growth in a commercial rice cultivar by endophytic diazotrophic bacteria isolated from rice landraces. **Annals of Microbiology** 65: 253–266.

Rodrigues, A.A., M.V. Forzani, R.S.Soares, S. T.Sibov, J.Daniel and G. Vieira. 2016. Isolation and selection of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 46(2): 149-158.

Souza, R., A. Ambrosini and L.M.P. 2015. Passaglia Plant growth-promoting bacteria as inoculants In agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology** 38(4): 80-90.

Vejan, P., R. Abdullah, T. Khadiran, S. Ismail and B.A. Nasrulhaq. 2016. Role of plant growth Promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A Review. **Molecules** 21(5): 44-53.

Yadav, H, R.K. Gothwal., V.K. Nigam., S. Sinha-Roy. and P. Ghosh. 2013. Optimization of culture conditions for phosphate solubilization by a thermo-tolerant phosphate-solubilizing bacterium *Brevibacillus* sp. BISR-HY65 isolated from phosphate mines. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology** 2: 217-225.

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้เทคนิค RAPD

Genetic Diversity of Thai Native Chickens using RAPD Technique

กรกาญจน์ ชูมี[1] และ วรกฤต วรนันทกิจ[1*]

Kornkan Choomee[1] and Worakrit Worananthakij[1*]

บทคัดย่อ

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้สัณฐานวิทยาอาจเกิดการผันแปรเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป จึงมีการนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้ประกอบกับการศึกษาทางสัณฐานวิทยาเพื่อความถูกต้อง และแม่นยำมากขึ้น งานวิจัยนี้จึงศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทย 4 สายพันธุ์ คือ ไก่ประดู่หางดำ (PD), ไก่ชีท่าพระ (CT), ไก่เหลืองหางขาวกบินทร์บุรี (LK) และไก่แดงสุราษฎร์ (DS) จำนวน 60 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค RAPD นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากขนมาเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ OPA-01, OPA11, OPA16 และ OPA18 และนำข้อมูลจากแถบดีเอ็นเอมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม NTSYS 2.01e พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนระหว่างประชากรของไก่พื้นเมืองไทยอยู่ระหว่าง 0.6597 ถึง 0.7802 แสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองทั้ง 4 สายพันธุ์มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม และจากแผนภูมิความสัมพันธ์สามารถแบ่งกลุ่มของไก่พื้นเมืองออกเป็น 4 กลุ่ม คือ DS, CT, PD และ LK ผลจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการศึกษาวิจัย และการวางแผนอนุรักษ์สายพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยต่อไปได้ในอนาคต

ABSTRACT

Genetic diversity of Thai native chickens (TNCs) using morphological classification has variation according to the changing environment. Molecular biology techniques have been used to study morphological assembly to ensure the accuracy. The aim of the study is to analyze genetic diversity of four species of TNCs: Pradu-Hangdam (PD), Chee Thapra (CT), Lueng-Hangkao Kabinburi (LK) and Dang Surat (DS). Sixty samples were investigated using Random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. The genomic DNA was extracted from feather chickens. Four RAPD primers (OPA-01, OPA11, OPA16 and OPA18) were used to amplify genomic DNA. Data analysis of genetic similarity and dendrogram were analyzed with NTSYSpc 2.01e program. The results showed that the similarity coefficient between populations was in the range of 0.6597- 0.7802 that the 4 strains were closely related. Moreover, the dendrogram results could be separated into 4 clusters; DS, CT, PD and LK. The results lead to the conclusion that this study can be used as the basic information in the research and planning for conservation of TNCs in the future.

Key Words: Thai native chicken, RAPD technique, DNA markers, genetic diversity

* Corresponding author; e-mail address: worakrit.wo@kmitl.ac.th

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

คำนำ

ไก่พื้นเมืองไทย (Thai Native Chickens) มีต้นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งมีวิวัฒนาการมาจากไก่ป่าชนิดต่างๆ และสามารถพบสายพันธุ์ของไก่ป่าในประเทศไทย คือ สายพันธุ์ไก่ป่าสีแดง (Red junglefowl) มีอยู่ 2 ชนิด คือ ไก่ป่าสีแดงตุ้มหูขาว (Cochin-Chinese Red junglefowl) และไก่ป่าสีแดงตุ้มหูแดง (Burmese Red Junglefowl) และปัจจุบันไก่พื้นเมืองไทยมีหลากหลายสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยงกัน คือ ไก่อูหรือไก่ชน ซึ่งวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงไก่พื้นเมืองโดยทั่วไปมุ่งเน้นเพื่อผลิตไข่และเนื้อ ในการเลี้ยงไก่พื้นเมืองเกษตรกรจะปล่อยให้ไก่เหล่านั้นผสมพันธุ์กันตามธรรมชาติ มีเพียงบางกลุ่มที่เลี้ยงเอาไก่สายพันธุ์ดีสำหรับการกีฬา ความสนุกสนานเพลิดเพลิน จากสภาพการเลี้ยงที่ปล่อยตามธรรมชาติเป็นต้นกำเนิดของไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ต่างๆ และชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปตามท้องถิ่นนั้นๆ เนื่องจากไม่สามารถจำแนกสายพันธุ์หรือแยกสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากออกจากกันได้อย่างชัดเจน ซึ่งมีเพียงสายพันธุ์ของไก่ชนที่ได้รับการจำแนกความแตกต่างโดยใช้รูปพรรณสัณฐานเป็นเกณฑ์ (สวัสดิ์, 2545; บวรศักดิ์, 2547) และทางกรมปศุสัตว์ได้มีการสร้างฝูงพื้นฐานของไก่พื้นเมืองพันธุ์แท้จากลักษณะภายนอกเพื่อเป็นฝูงพื้นฐานที่ยังคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรม ลักษณะประจำพันธุ์สม่ำเสมอ มีจำนวนมากพอที่จะสามารถดำรงพันธุ์และรักษาพันธุกรรมที่สมดุลได้ตลอดไป จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ (Pradu - Hangdam Chiangmai), ไก่ชีท่าพระ (Chee Thapra), ไก่เหลืองหางขาวกบินทร์บุรี (Lueng - Hangkao Kabinburi) และไก่แดงสุราษฎร์ (Dang Surat) (อุดมศรี และคณะ, 2550) จากงานวิจัยดังกล่าวใช้ระยะเวลาในการดำเนินงานเป็นเวลานาน และอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้เพราะการจำแนกทางสัณฐานวิทยามีการผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป (Lacey, 1996; Hoffman and Merilä, 1999; Badyaev, 2005) นอกจากนี้การใช้ลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียว ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ หากมีการนำเทคนิคทางด้านโมเลกุลมาใช้ในการการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความแปรผันทางพันธุกรรม และการจัดจำแนกสายพันธุ์ของไก่พื้นเมืองไทย จะทำให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ประกอบกับการศึกษาทางสัณฐานวิทยาได้ถูกต้อง และแม่นยำมากขึ้น ดังนั้นการนำเทคนิคทางโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในไก่มีหลากหลายเทคนิคด้วยกัน คือ เทคนิค Single nucleotide polymorphisms (SNP), Amplified fragment length polymorphism (AFLP), Random amplified polymorphic DNA (RAPD) และ Microsatellite จากการศึกษาเทคนิคดังกล่าว พบว่าสามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากร จัดจำแนกสายพันธุ์ และนำไปสร้างเป็นแผนที่จีโนมของไก่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Jalving *et al*., 2004; Gao *et al*., 2008; Al- Atiyat, 2009; Suh *et al*., 2014)

งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แท้ในประเทศไทยโดยใช้เทคนิค RAPD ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ไพรเมอร์เพียงเส้นเดียวในการจับแบบสุ่มทั้งจีโนม ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว มีราคาถูก ใช้ดีเอ็นเอตั้งต้นในปริมาณน้อย สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างทางพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ และนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงสายพันธุ์ อนุรักษ์สายพันธุ์ และพัฒนาเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมประจำสายพันธุ์ของไก่พื้นเมืองไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างขนของไก่พื้นเมืองในการทดลอง 60 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ไก่ประดู่หางดำ (Pradu-Hangdam; PD01-PD15) 15 ตัวอย่าง, ไก่ชีท่าพระ (Chee Thapra; CT01-CT15) 15 ตัวอย่าง, ไก่เหลืองหางขาวกบินทร์บุรี (Lueng-Hangkao Kabinburi; LK01-LK15) 15 ตัวอย่าง, ไก่แดงสุราษฎร์ (Dang Surat; DS01-DS15) 15 ตัวอย่าง และตัวอย่างขนของ out group ในการทดลอง 3 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ไก่เชิงพาณิชย์ (Broiler; B1,B2) 2 ตัวอย่าง และนกปรอทหัวโขน (Red whiskered bulbul; B3) 1 ตัวอย่าง โดยตัวอย่าง PD เก็บรวบรวมจากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์พะเยา, CT จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ, LK จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี, DS จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี, B1และ B2 จากฟาร์มไก่เนื้อของเกษตรกร อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี และ B3 จากผู้เลี้ยงนกปรอทหัวโขน อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

การสกัดดีเอ็นเอจากขนตัวอย่าง

เก็บขนของตัวอย่าง โดยใช้ปากคีบถอนขนบริเวณหน้าอกหรือใต้ปีก ใส่ในถุงซิปบล็อกประมาณ 10 เส้นต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วเติม 70% เอทานอล ประมาณ 5 มิลลิลิตร (ท่วมขนของตัวอย่าง) เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นำขนของตัวอย่างมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, USA) และตรวจคุณภาพของดีเอ็นเอโดยวิธี Spectrophotometer (BioMate™ 3 Series, Themo Fisher, USA)

การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ (Choomee and Worananthakij, 2016) พบว่าไพรเมอร์ RAPD ที่เหมาะสมในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทย จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ OPA-11 (5’-CAATCGCCGT-3’), OPA-16 (5’-AGCCAGCGAA-3’) และ OPA-18 (5’-AGGTGACCGT-3’) และมีการนำไพรเมอร์มาศึกษาเพิ่มเติม 1 ชนิด คือ OPA-01 (5’-CAGGCCCTTC-3’) จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา RAPD-PCR โดยปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ดีเอ็นเอ 100 นาโนกรัม, 1X buffer, $MgCl_2$ 0.5 mM, dNTP 2 mM, ไพรเมอร์ 4 µM, *Taq* DNA Polymerase 0.025 U และมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ อุณหภูมิเริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ตามด้วย 40 รอบ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที และรอบสุดท้ายตามด้วย 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 นาที และวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (Invitrogen, USA) และบันทึกภาพรูปแบบดีเอ็นเอ

การวิเคราะห์ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมในไก่พื้นเมืองไทย

การแปลผลของแถบดีเอ็นเอ โดยการให้คะแนนแบบไบนารี คือ เมื่อเกิดแถบดีเอ็นเอให้คะแนนเป็น 1 และเมื่อไม่มีแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้น ณ ตำแหน่งเดียวกันของแต่ละตัวอย่างให้คะแนนเป็น 0 แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) โดยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc รุ่น 2.01e (Rohlf, 1998)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ไพรเมอร์แบบสุ่มทั้งจีโนม 4 ไพรเมอร์ จำนวน 60 ตัวอย่าง (Figure 1 และ 2) พบว่าสามารถใช้เป็นเครื่องหมาย RAPD สำหรับศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองได้ และให้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สามารถแบ่งกลุ่มไก่พื้นเมืองได้ออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ไก่แดงสุราษฎร์ (DS), ไก่ชีท่าพระ (CT), ไก่ประดู่หางดำ (PD) และไก่เหลืองหางขาวกบินทร์บุรี (LK) แต่มี 2 คู่สายพันธุ์ (PD01, PD02 และ LK12, LK13) ที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างภายในสายพันธุ์เดียวกันได้ (Figure 3) เนื่องจากตัวอย่างไก่พื้นเมืองเป็นฝูงที่ได้รับการอนุรักษ์สายพันธุ์ให้เป็นไก่พื้นเมืองสายพันธุ์แท้ และมีต้นกำเนิดมาจากที่เดียวกัน ซึ่งเหตุการณ์ดังกล่าวเกิดการผสมเลือดชิดหรือมีการผสมกันภายในฝูงเดียวกัน ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อย และมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมาก (Riztyan *et al.*, 2011) จากการทดลองดังกล่าวถ้าต้องการแยกความแตกต่างภายในสายพันธุ์เดียวกัน ควรใช้ไพรเมอร์จำนวนมากขึ้น

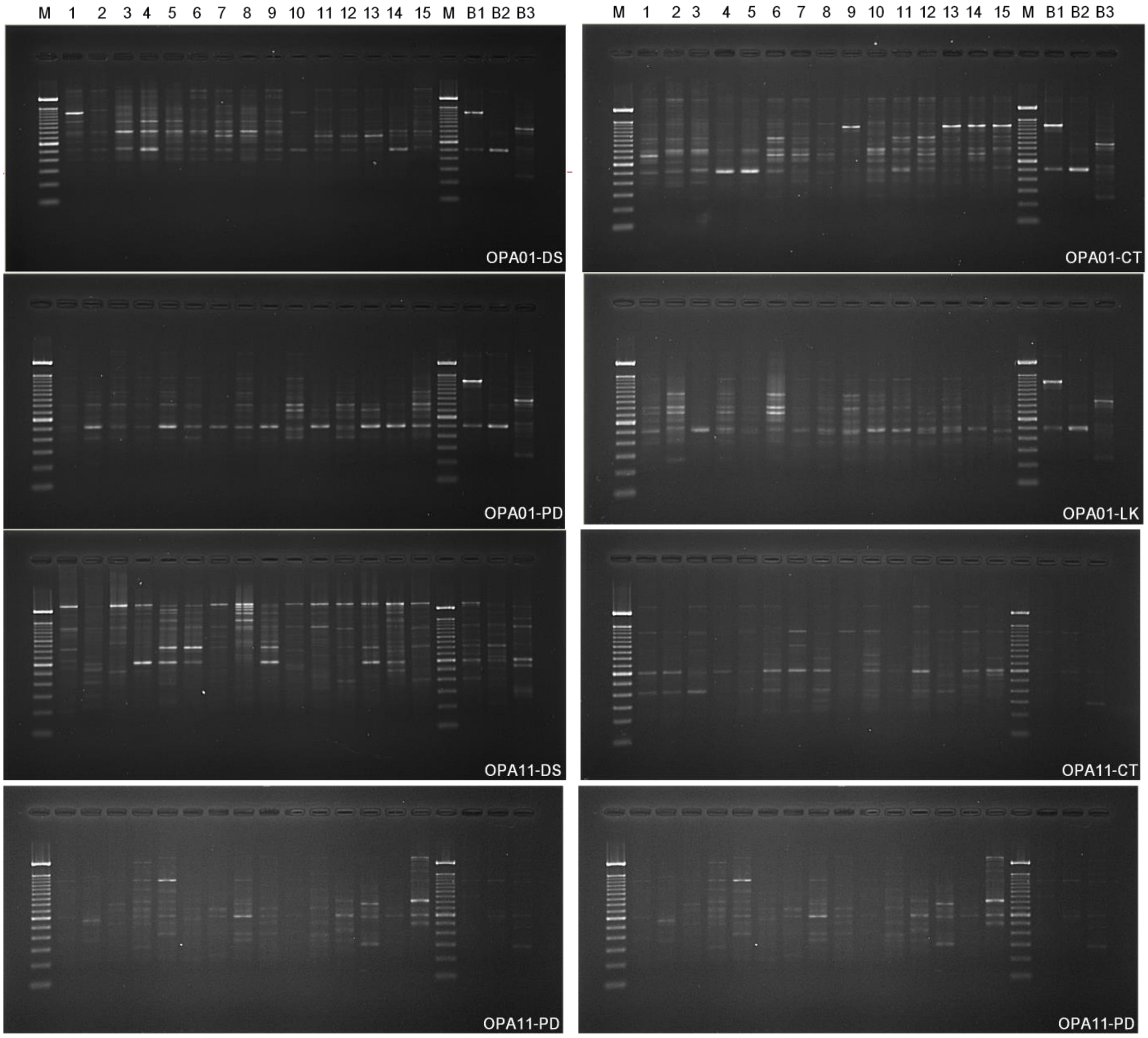


Figure 1 RAPD amplification products generated by primer OPA01 and OPA11 from each of four strains of Thai native chickens (lane 1-15) and out group (B1-3); DS = Dang Surat, CT = Chee Thapra, PD = Pradu-Hangdam, LK = Lueng-Hangkao Kabinburi, B1 and B2 = Broiler and B3 = Red whiskered bulbul. Lane M was 100 bp DNA ladder.

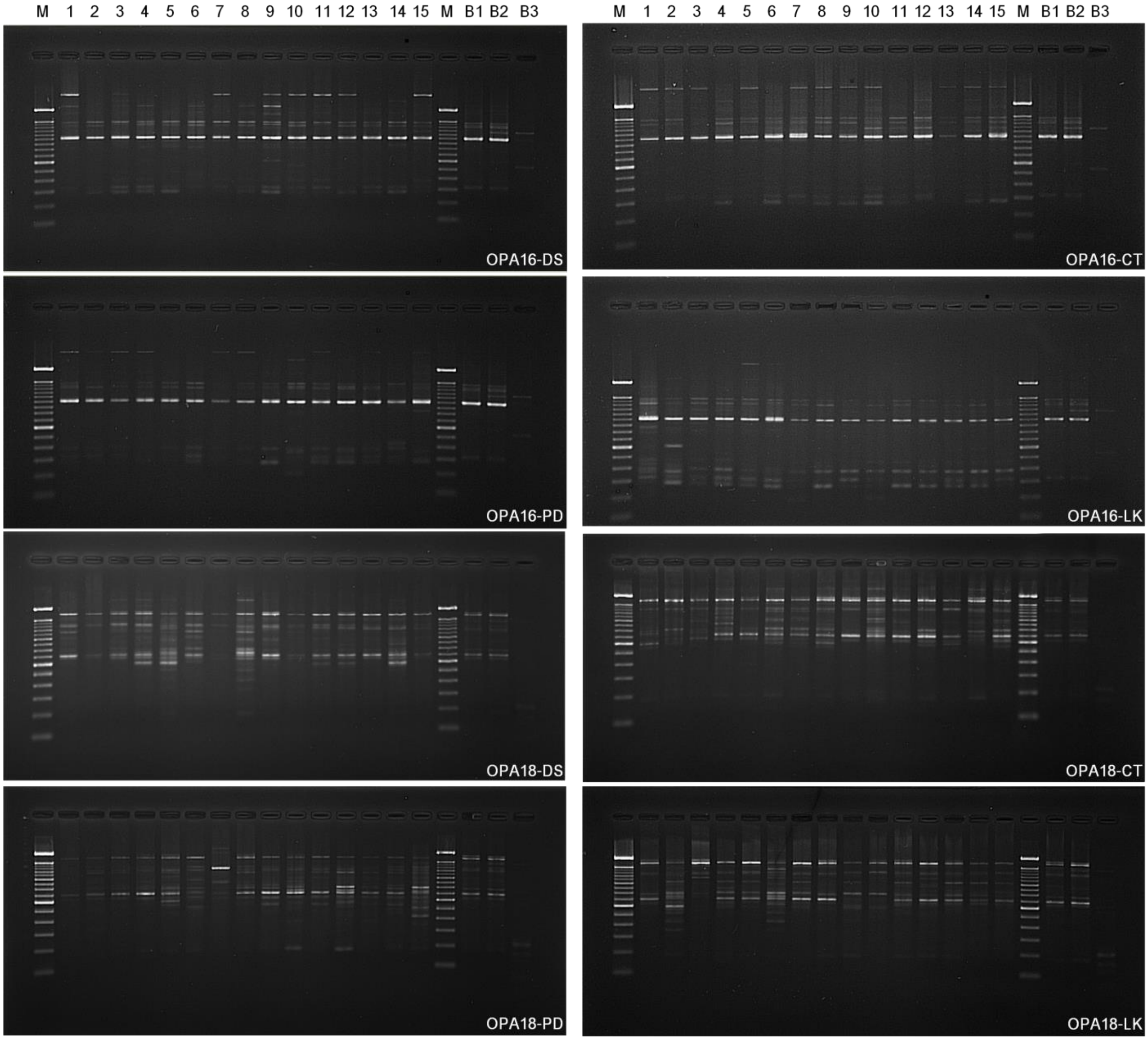


Figure 2 RAPD amplification products generated by primer OPA16 and OPA18 from each of four strains of Thai native chickens (lane 1-15) and out group (B1-3); DS = Dang Surat, CT = Chee Thapra, PD = Pradu-Hangdam, LK = Lueng-Hangkao Kabinburi, B1 and B2 = Broiler and B3 = Red whiskered bulbul. Lane M was 100 bp DNA ladder.

เมื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค RAPD ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc 2.01e และเลือกวิธีจัดกลุ่มแบบ UPGMA โดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ พบว่าไก่พื้นเมือง 60 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.6597 ถึง 0.7802 (Table 1) เมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ พบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างไก่พื้นเมืองทั้ง 60 ตัวอย่าง เป็น 4 กลุ่ม คือ DS, CT, PD และ LK และ out group 2 กลุ่ม คือ ไก่เชิงพาณิชย์ (B1, B2) และนกปรอดหัวโขน (B3) (Figure 3) ผลการวิจัยนี้แสดงว่าไก่พื้นเมืองทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ CT และ PD มีความใกล้ชิดพันธุกรรมสูงซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ที่ 0.7802 เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ LK และ DS ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ที่ 0.7386 และ 0.6883 ตามลำดับ เนื่องมาจากทุกสายพันธุ์ในไก่พื้นเมืองอาจมีต้นกำเนิดมาจากเหตุการณ์การเลี้ยงสัตว์ เกิดการอพยพจากภูมิภาคที่อยู่ใกล้เคียงกัน เกิดการแลกเปลี่ยนสายพันธุ์ไก่ โดยตัวอย่างที่นำมาศึกษามีการเก็บรวบรวมและจัดหาไก่พ่อ - แม่พันธุ์ ของสายพันธุ์ CT, PD และ LK จากภาคเหนือ, ภาค

ตะวันออกเฉียงเหนือ, ภาคตะวันออก และภาคกลางของประเทศไทย สำหรับ DS รวบรวมมาจากภาคใต้ทั้งหมด (อุดมศรี และคณะ, 2550) ด้วยเหตุนี้ทำให้ไก่พื้นเมืองบางสายพันธุ์มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม จากผลการทดลองแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏให้ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างสามารถแบ่งกลุ่มสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองได้ โดยแถบดีเอ็นเอบางแถบที่จำเพาะต่อตัวอย่างนำไปประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองได้ (Smith *et al.*, 1996) นอกจากนั้นผลการวิจัยนี้ยังเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาวิจัย และการวางแผนอนุรักษ์พันธุ์ไก่พื้นเมืองในอนาคต

Table 1 Genetic similarity estimated among sample genotypes: Dang Surat (DS), Chee Thapra (CT), Pradu-Hangdam (PD), Lueng-Hangkao Kabinburi (LK), out group (B1, B2, B3)

	DS	CT	PD	LK	B1	B2	B3
DS	1						
CT	0.6883	1					
PD	0.6824	0.7802	1				
LK	0.6597	0.7386	0.7675	1			
B1	0.7026	0.7680	0.7595	0.7288	1		
B2	0.6837	0.7359	0.7314	0.7438	0.9314	1	
B3	0.4464	0.5745	0.6249	0.5693	0.6078	0.5784	1

สรุป

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมือง 4 สายพันธุ์ คือ ไก่ประดู่หางดำ (PD), ไก่ชีท่าพระ (CT), ไก่เหลืองหางขาวกบินทร์บุรี (LK), ไก่แดงสุราษฎร์ (DS) จำนวน 60 ตัวอย่าง และ out group จำนวน 3 ตัวอย่าง คือ ไก่เชิงพาณิชย์ (B1, B2) และนกปรอทหัวโขน (B3) ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ 4 ไพรเมอร์ พบว่าสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองได้ เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.6597 ถึง 0.7802 จากแผนภูมิความสัมพันธ์องไก่พื้นเมืองที่ได้จากเทคนิค RAPD สามารถแบ่งตัวอย่างออกเป็น 4 กลุ่ม คือ DS, CT, PD และ LK โดยมี B1, B2 และ B3 เป็น out group

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในการสนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์พะเยา ท่าพระ กบินทร์บุรี และสุราษฎร์ธานี กรมปศุสัตว์ สำหรับการเก็บตัวอย่างของขนไก่พื้นเมืองทั้งสี่สายพันธุ์ ขอขอบคุณนายนเรศ-นางอนุส์ ซูมี สำหรับการเก็บตัวอย่างของขนเชิงพาณิชย์ และขอขอบคุณนายกฤษณพล ซูมี สำหรับการเก็บตัวอย่างของขนนกปรอทหัวโขนในการทดลอง

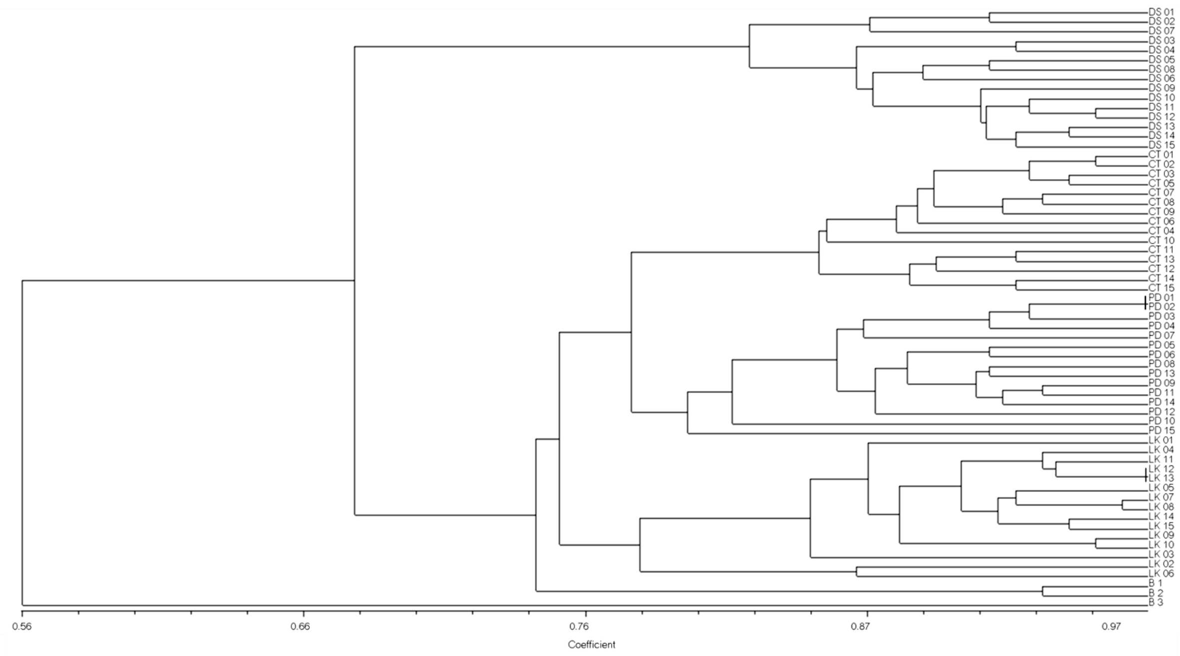


Figure 3 Dendrogram of genetic distance based on RAPD data of sample genotypes: Dang Surat (DS), Chee Thapra (CT), Pradu-Hangdam (PD), Lueng-Hangkao Kabinburi (LK) and out group (B1, B2,B3)

เอกสารอ้างอิง

บวรศักดิ์ หัสดิน ณ อยุธยา. 2547. **คู่มือการเลี้ยงไก่พื้นเมือง.** สำนักพิมพ์เพชรกะรัต สติวดิโอ, กรุงเทพฯ

สวัสดิ์ ธรรมบุตร. 2545. **การเลี้ยงไก่ชน & ไก่พื้นเมือง.** สำนักพิมพ์นาคา อินเตอร์มีเดีย, กรุงเทพฯ

อุดมศรี อินทรโชติ, อำนวย เลี้ยวธารากุล, ธีระชัย ช่อไม้, ทวีศิลป์ จีนด้วง และชูศักดิ์ ประภาสวัสดิ์. 2550. **การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองจำนวน 4 พันธุ์.** โครงการของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และกรมปศุสัตว์.

Al-Atiyat. 2009. Genetic diversity of indigenous chicken ecotypes in Jordan. **African Journal of Biotechnology** 9(41): 7014-7019.

Badyaev, A. V. (2005). Maternal inheritance and rapid evolution of sexual size dimorphism: passive effects or active strategies? **The American Naturalistl** 4: S17-30.

Choomee, K and W. Worananthakij. 2016. Genetic relationships of the Chee Thapra and the other Thai native chickens by RAPD technique. The 28th annual meeting of the Thai society for biotechnology and international conference, Chiang Mai, Thailand, November 28-30, 2016.

Gao, Y., Y. Tu, H. Tong, K. Wang, X. Tang and K. Chen. 2008. Genetic variation of indigenous chicken breeds in China and a Recessive White breed using AFLP fingerprinting. **South African Journal of Animal Science** 38 (3): 193-200.

Hoffman, A. A. and J.Merilä. (1999). Heritable variation and evolution under favourable and unfavorable conditions. **Trends in Ecology & Evolution.**14: 96-101.

Jalving, R., R. van't Slot and B. A. van Oost. 2004. Chicken single nucleotide polymorphism identification and selection for genetic mapping. **Journal of Poultry Science** 83:1925–1931.

Lacey, E. (1996). What is an adaptive environmentally induced parental effect? In Maternal Effects as Adaptations, Eds. Mousseau, T.A. & Fox C.W., **Oxford University Press.**

Riztyan, T. Katano, T. Shimogiri, K. Kawabe and S. Okamoto. 2011. Genetic diversity and population structure of Indonesian native chickens based on single nucleotide polymorphism markers. **Journal of Poultry Science** 90: 2471-2478.

Rohlf, F.J. 1998. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.0, Exeter Software. New York, USA, **Applied Biostatics Inc.**

Smith, E.J., C.P. Jones, J. Bartlett and K.E. Nestor. 1996. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chickens and turkeys. **Journal of Poultry Science** 75: 579-584.

Suh, S., A. Sharma, S. Lee, C. Cho, J. Kim, S. Choi, H. Kim, H. Seong, S. Yeon, D. Kim and Y. Ko1. 2014. Genetic diversity and relationships of Korean chicken breeds based on 30 microsatellite markers. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 27:1399-1405.

การเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ของเลือดในผู้ประกอบอาชีพอู่เรือที่มีภาวะตะกั่วในเลือดสูง

Hematological Parameters Changing in Shipyard Workers with High Blood Lead Level

สมิตา ภูกัณหา[1] สุภาภรณ์ ยิ้มเที่ยง[1,2] และ **วิยดา กวานเหียน**[1,2*]

บทคัดย่อ

สุ่มเจาะเลือดคนงานในอู่เรือจำนวน 21 คน เป็นเพศชายทั้งหมด มีอายุเฉลี่ย 50 ปี 4 เดือน เป็นช่างตอกหมัน 11 คน ช่างซ่อมเครื่องยนต์ จำนวน 5 คน ช่างไม้ 3 คน พนักงานทำความสะอาด และผู้จัดการอาชีพละ 1 คน พบมีตะกั่วในเลือดสูงคือมากกว่าหรือเท่ากับ 30 µg/dl จำนวน 6 คน ซึ่งทุกคนเป็นช่างตอกหมัน ค่าเฉลี่ยคือ 35.33 µg/dl และค่าเฉลี่ยตะกั่วในเลือดของตัวอย่างที่เหลือ เท่ากับ 14.72 µg/dl ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าค่าพารามิเตอร์จากการตรวจเลือดแบบสัมบูรณ์ (Complete blood count; CBC) ของกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในช่วงปกติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบพารามิเตอร์เหล่านี้ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ และต่ำกว่า 30 µg/dl พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดสูงมีจำนวนเม็ดเลือดขาวสูงกว่ากลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดต่ำอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ จำนวนเม็ดเลือดแดงของกลุ่มตะกั่วในเลือดสูง มีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มตะกั่วในเลือดต่ำอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาบ่งชี้ว่าภาวะตะกั่วในเลือดสูงมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ในเลือด

ABSTRACT

The blood of 21 shipyard workers was randomly collected. All donors are male at the average age of 50 years 4 months. 11 samples were from caulkers. 5 samples were from mechanic technicians. 3 samples were from carpenters. 1 was from a cleaner and 1 from a manager. 6 caulkers had blood lead level (BLL) $\geq$ 30 µg/dl (average 35.33 µg/dl) whereas the average BLL of left other donors was 14.72 µg/dl. When comparing the average BLL of both groups, they were significantly different. All complete blood count (CBC) parameters of almost samples were normal. However, when the comparison between the BLL $\geq$ 30 and the BLL < 30 µg/dl was performed, the amount of white blood cells of the high BLL group was significantly higher than the lower BLL group. In contrast, the amount of red blood cell of the high BLL group was significantly lower than the other group. The results indicates the correlation between the high BLL and the changing of blood parameters.

Key Words: Blood lead level, Complete blood count, Caulker

* Corresponding author; e-mail address: kwiyada@wu.ac.th

[1] หลักสูตรชีวเวชศาสตร์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

[1] Biomedical science program, School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University

[2] หน่วยวิจัยพิษวิทยาและโรคติดเชื้อ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

[2] Research center of Toxicology and Infectious disease, Walailak University

คำนำ

ตะกั่ว (lead; Pb) เป็นโลหะหนักมีสีเทาเงิน สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง คือ ทางอาหาร ทางการหายใจ และทางผิวหนัง ปัจจุบันอุตสาหกรรมทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่มีการใช้ตะกั่วเป็นวัตถุดิบเป็นจำนวนมาก เช่น ใช้สังเคราะห์สารเตตะเอทิลเลด (tetraethyllead) ในเบนซินเพื่อเพิ่มค่าออกเทน เมื่อมีการออกซิไดซ์จะได้เลดอ๊อกไซด์ (PbO) ซึ่งจะถูกรีดิวซ์ได้โลหะตะกั่ว และออกสู่สภาวะแวดล้อม ตะกั่วยังใช้ทำอุปกรณ์อิเล็คโทรนิคและคอมพิวเตอร์ ซึ่งทำให้เกิดการปลดปล่อยตะกั่วและสารประกอบของตะกั่วในรูปของสารมลพิษออกสู่สภาวะแวดล้อม นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการทำการประมง เช่นการต่อและซ่อมเรือต้องใช้ตะกั่วเพื่อป้องกันการเกาะของเพรียง การมาดอวนเพื่อเพิ่มน้ำหนักอวนให้จมน้ำ จากที่กล่าวมาทั้งหมดทำให้มีการปนเปื้อนของตะกั่วจากการประกอบอาชีพเหล่านี้ปนเปื้อนลงทั้งในดิน น้ำ และอากาศ

จากการศึกษาของ Thanapop *et al.* (2007) ในคนงานมีหน้าที่ตอกหมัน ทาสี ช่างเครื่องยนต์ ของอู่ต่อเรือ 2 แห่ง ในอำเภอปากพนัง และ อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช คนงานมีปริมาณตะกั่วในเลือดสูงร้อยละ 48 และจำนวนนี้ร้อยละ 67 เป็นคนตอกหมันนั้นมีปริมาณสารตะกั่วในเลือดสูงกว่า 40 µg /dl ซึ่งค่าเฉลี่ยสูงกว่าคนทาสีและซ่อมเครื่องยนต์ (Thanapop *et al.* 2007) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาต่อเนื่องของ Thanapop *et al.* (2009) โดยแสดงให้เห็นว่าคนงานตอกหมันที่ทำงานในอู่ต่อเรือนั้น สามารถนำตะกั่วมาปนเปื้อนในบ้านเรือนของคนงาน ถือเป็น take home lead พบตะกั่วปนเปื้อนสูงบนขอบประตูหน้าต่าง โดยพบมากที่สุดในบริเวณพื้นของห้องนอน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช่บ้านของคนงานตอกหมันแต่ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน (Thanapop *et al*, 2009) สำหรับระดับตะกั่วในเลือดของคนไทยที่ไม่มีอาชีพที่มีความเสี่ยงในการสัมผัสตะกั่ว มีรายงานในปี 2002 มีค่า 3.2 µg/L (Sirivarasi *et al.*, 2002)

มีรายงานผลกระทบของภาวะตะกั่วในเลือดสูงต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ในการตรวจเลือดสัมบูรณ์ (complete blood count parameters) จำนวนมากเช่น การศึกษาของ Jacob *et al.* (2000) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลผลกระทบของระดับตะกั่วในเลือดต่อค่าพารามิเตอร์ในเลือดของเด็กอายุ 5-14 ปีในประเทศเยอรมัน เคยตรวจไว้ในช่วงปี ค.ศ. 1992-1993 จำนวนตัวอย่าง 791 คน มีค่าตะกั่วในเลือดเฉลี่ย 33.3 µg/L ซึ่งกระจายอยู่ในช่วง 7.5-239 µg/L พบว่าตะกั่วในเลือดที่สูงขึ้นเพียงเล็กน้อย 10 µg/L มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดแดงในเด็กหญิง พร้อมกับมีค่า MCV (mean corpuscular volume) และ MCH (mean corpuscular hemoglobin) ที่ลดลง โดยการศึกษานี้สรุปไว้ว่าผลกระทบที่แตกต่างกันในต่างเพศที่ยังไม่สามารถอธิบายได้ แต่สามารถบอกได้ว่ารูปร่างและการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เปลี่ยนแปลงไปนั้นน่าจะเกิดจากการมีตะกั่วในเลือดที่สูงขึ้น (Jacob *et al.*, 2000) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในกลุ่มนักโทษที่มีตะกั่วในเลือดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มคนปกติในประเทศจอร์แดนพบว่าตะกั่วในเลือดของนักโทษสูงกว่าคนปกติเพียงเล็กน้อยคือ 0.924 และ 0.57 µg/L ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามส่งผลให้มีค่าพารามิเตอร์หลายค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต จำนวนเกล็ดเลือด และจำนวนเม็ดเลือดขาว ค่าเหล่านี้มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มนักโทษเมื่อเทียบกับคนปกติ (Khatib *et al.*, 2013) สำหรับการศึกษาผลกระทบจากการประกอบอาชีพที่มีความเสี่ยงในการสัมผัสตะกั่วต่อภาวะตะกั่วในเลือดสูง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ในเลือดนั้นก็มีอยู่หลายการศึกษา ยกตัวอย่างเช่น Kalahasthi *et al.* (2012) ศึกษาตะกั่วในเลือดของผู้ทำงานในโรงงานผลิตแบตเตอรี่ (lead-battery

manufacturing process) โดยแบ่งคนงานที่มีระดับตะกั่วในเลือดที่ ≥ 30 μg/dl เป็นกลุ่มตะกั่วในเลือดสูง ทำการเปรียบเทียบพารามิเตอร์ในเลือดจากค่า CBC ไม่พบค่าที่แตกต่างกันกับกลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดน้อยกว่า 30 μg/dl อย่างไรก็ตามค่าตัวบ่งชี้อื่นที่พบว่ามีความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มนี้อย่างมีนัยสำคัญคือค่า urinary-γ- ALA (delta-aminolevulinic acid dehydratase) โดยแสดงให้เห็นชัดว่าสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการติดตามพิษของการสัมผัสตะกั่วได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kalahasthi *et al.*, 2012)

จากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาในคนงานอู่ต่อเรือในประเทศไทย ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงในการสัมผัสกับตะกั่วสูงถึงผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ต่างๆในเลือด จึงเป็นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ทำงานในอู่ต่อเรือใน อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช เป็นผู้ที่ยินยอมโดยสมัครใจ จำนวน 21 คน โดยการศึกษาครั้งนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เลขที่รหัสโครงการ 57/057

การเก็บตัวอย่างเลือด

เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำที่แขนปริมาตร 10 มิลลิลิตรแบ่งใส่หลอดที่มีสารกันเลือดแข็ง EDTA จำนวน 2 หลอด หลอดละ 5 มิลลิลิตร โดยเก็บเลือดเพียงครั้งเดียว เพื่อใช้ในการตรวจระดับตะกั่วในเลือดและตรวจเลือดสัมบูรณ์ (complete blood count)

การตรวจตะกั่วในเลือด

เลือดในสารกันเลือดแข็ง EDTA นำไปตรวจระดับตะกั่วในเลือดที่ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลรามาธิบดี โดยวิธี graphite-furnance atomic-absorption spectrometry

การตรวจเลือดสัมบูรณ์

เลือดในสารกันเลือดแข็ง EDTA อีกหนึ่งหลอดนำไปตรวจ CBC โดยเครื่องตรวจอัตโนมัติหลักการ electrical impedance ที่ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย BLL และค่าพารามิเตอร์ของเลือดแต่ละกลุ่ม ใช้สถิติ Independent T test เมื่อข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ ในข้อมูลที่กระจายตัวไม่ปกติจะใช้สถิติ Man-Whitney test

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลักษณะของกลุ่มตัวอย่าง

สุ่มเจาะเลือดคนงานในอู่ซ่อมและต่อเรือจำนวน 2 อู่ ในอำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช ตัวอย่างจำนวน 21 คน โดยทั้งหมดเป็นเพศชายอายุเฉลี่ย 50 ปี 4 เดือน เป็นช่างตอกหมัน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 52.3 ช่างเครื่องยนต์ กลึง ซ่อมแบตเตอรี่ จำนวน 5 คน คิดเป็นร้อยละ 23.8 ช่างไม้ 3 คน คิดเป็นร้อยละ 14.3 พนักงานทำความสะอาด และผู้จัดการอาชีพละ 1 คน คิดเป็นอาชีพละ 4.8 (Table 1)

ผลการตรวจตะกั่วในเลือด

ตัวอย่างจำนวน 21 ราย พบมีตะกั่วในเลือดสูง (≥ 30 µg/dl) จำนวน 6 คน ซึ่งทุกคนเป็นช่างตอกหมัน และอีก 15 คน มีระดับตะกั่วในเลือด < 30 µg/dl ซึ่งประกอบด้วยช่างตอกหมัน 4 คน ช่างเครื่องยนต์ กลึง ซ่อมแบตเตอรี่ 5 คน ช่างไม้ 3 คน พนักงานทำความสะอาด 1 คน และผู้จัดการอู่เรือ 1 คน (Table 1) โดยค่าเฉลี่ย BLL ของกลุ่มทีมีตะกั่วในเลือดสูง มีค่าเท่ากับ 35.33 µg/dl และค่าเฉลี่ย BLL ของกลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดต่ำ มีค่าเท่ากับ 14.72 µg/dl ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย BLL ของทั้ง 2 กลุ่ม พบมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p value* < 0.05) อายุเฉลี่ยของกลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดสูงเท่ากับ 57 ปี 2 เดือน และอายุเฉลี่ยของกลุ่มที่มีตะกั่วต่ำเท่ากับ 48 ปี 1 เดือน ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ (*p value* = 0.061) ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Thanapop *et al.* (2007) ที่ระบุไว้ผู้มีอาชีพตอกหมันนั้นมีความเสี่ยงสูงในการมีตะกั่วในเลือดสูงกว่าอาชีพอื่นในอู่ต่อเรือ

Table 1 Demographic data of samples

Characteristics	Total	BLL (µg/dl) ≥ 30	BLL (µg/dl) < 30
Sex			
Male	21 samples	6 sample	15 sample
Average age	50 years 4 months	57 years 2 months	48 years 1 months
Occupation			
Caulker	11 samples (52.3 %)	6 samples (100%)	5 samples (33.3%)
Mechanic technician	5 samples (23.8 %)	-	5 samples (33.3%)
Carpenter	3 samples (14.3 %)	-	3 samples (20.0 %)
Cleaner	1 sample (4.8 %)	-	1 sample (6.7%)
Manager	1 sample (4.8 %)	-	1 sample (6.7 %)

ผลการตรวจ Complete Blood count (CBC)

เลือดของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 21 รายเมื่อนำไปตรวจวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ของเลือดจากการตรวจเลือดแบบสัมบูรณ์ (complete blood count; CBC) พบว่าพารามิเตอร์ที่คัดเลือกมาทั้งหมดของกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในช่วงปกติ โดยที่บางตัวอย่างเท่านั้นที่มีค่านอกช่วงปกติ (Table 2)

เมื่อทำการเปรียบเทียบพารามิเตอร์เหล่านี้ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดสูง กับกลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดต่ำ (Table 3) พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดสูง มีจำนวนเม็ดเลือดขาว (White blood cell count) สูงกว่ากลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดต่ำอย่างมีนัยสำคัญ (*p value* = 0.0165) โดยมีค่าเท่ากับ 8.45 และ 6.70 x10^3 cells/µl ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Farkhondeh *et al.* (2013) ซึ่งทำการทดลองโดยให้เลดอะซิเตดในหนูทางการหายใจ พบว่าตะกั่วมีผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวของหนูเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และยังสอดคล้องกับการศึกษาอีกหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าตะกั่วสามารถช่วยกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวได้ (Gillis *et al.* 2012; Lawrence *et al.* 1981; Razani-Boroujerdi *et al.* 1999,

Warner *et al.* 1986, De Guise *et al* 2000) โดยการกระตุ้นดังกล่าวผ่าน PKC-dependent cell signaling cascades (Verstraeten *et al.*, 2008)

Table 2 Blood parameters from complete blood count (CBC) test

Hematological Parameters	21 samples		Normal Ranges
	Min-Max	Mean	
White blood cell count (x10^3 cells/µl)	4.7-12.4	7.20	Male 4.5-10
WBC differentiation (%)			
- Neutrophils	35.4-66	51.75	40 - 60
- Lymphocytes	16.3-51.1	34.12	20 – 40
- Monocytes	4-9.3	6.46	2 - 8
- Eosinophils	1.7-18.9	7.16	1 - 4
- Basophils	0-1.4	0.50	0.5 - 1
RBC Count (x10^6 cells/µl)	3.8-6.99	5.20	Male: 4.7 - 6.1
Hemoglobin (mg/dl)	11.6-16.2	14.17	Male: 13.8 - 17.2
Hematocrit (%)	36.4-49.2	43.15	Male: 40.7 - 50.3
Platelet count (x10^3 cells/µl)	166-343	250.52	150 - 450

Table 3 Selected parameters compare between BLL $\geq$ 30 µg/dl and BLL< 30 µg/dl

Parameters	BLL (µg/dl)		*p-value*
	$\geq$ 30	< 30	
WBC (x10^3 cells/µl)	8.45	6.7	0.0165*
% Neutrophil	52.45	51.47	0.4089
% Lymphocyte	32.75	34.67	0.3243
% Monocyte	6.18	6.57	0.3033
% Eosinophil	8.15	6.76	0.2998
% Basophil	0.47	0.52	0.3653
RBC (x10^6 cells/µl)	4.76	5.38	0.0374*
Hemoglobin	13.82	14.31	0.1701
Hematocrit	42.16	43.73	0.191
PLTC (x10^3 cells/µl)	265.67	244.47	0.1824

* = *p* value < 0.05 (Significant different), BLL = Blood lead level (µg/dl), WBC = White blood cell count, RBC = Red blood cell count, PLTC= Platelet count

นอกจากนี้กลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดสูง พบมีแนวโน้มมีเซลล์ eosinophil สูงขึ้น แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดต่ำ ซึ่งการศึกษาของ Farkhondeh *et al.* (2013) แสดงสัดส่วนของ Eosinophil ที่สูงขึ้นกลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดสูงอาจจะเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการภูมิไวเกิน (hypersensitivity) เช่นเดียวกับในการศึกษานี้พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดสูงนั้นมีแนวโน้มเกล็ดเลือดที่สูงขึ้น แม้จะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับจำนวนเกล็ดเลือดในกลุ่มตะกั่วในเลือดต่ำกว่า แม้ว่าผลการศึกษาครั้งนี้แสดงผลของตะกั่วต่อจำนวนเกล็ดเลือดที่แตกต่างจากการศึกษาของ Khatib *et al.* (2013) ที่รายงานว่าตะกั่วมีผลทำให้เกล็ดเลือดมีจำนวนลดลง อย่างไรก็ดีการศึกษาของ Alwaleedi (2015) ที่ทำการศึกษาในหนูที่ได้รับตะกั่วในเลือดในระดับ sub-lethal dose เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าหนูมีจำนวนเกล็ดเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Yagminas *et al.* (1990)

เมื่อพิจารณาจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC count) พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดสูงนั้นมีจำนวนจำนวนเม็ดเลือดแดงน้อยกว่ากลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดต่ำอย่างมีนัยสำคัญ (*p value* = 0.0374) ซึ่งเมื่อพิจารณาร่วมกับค่าฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริตของกลุ่มตัวอย่างที่มีตะกั่วในเลือดสูง พบว่ามีแนวโน้มน้อยกว่ากลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดต่ำ แม้จะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีข้อมูลแสดงให้เห็นว่าตะกั่วมีผลโดยตรงต่อระบบเม็ดเลือดแดง ผ่านการยับยั้งการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินโดยการยับยั้งเอนไซม์ที่สำคัญต่างๆที่เกี่ยวข้องในเส้นทางการสังเคราะห์ฮีม ทำให้อายุของเม็ดเลือดแดงสั้นลง โดยการทำให้เมนเบรนของเม็ดเลือดแดงมีความเปราะบางแตกง่าย ซึ่งเมื่อรวมทั้งสองกลไกนี้ ผลของตะกั่วในเลือดที่สูงจะทำให้เกิดภาวะซีดหรือ anemia ได้ (Guidotti *et al.*, 2008; Cornelis, 2005)

อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนตัวอย่างน้อย ทำให้เมื่อแยกกลุ่มที่มีตะกั่วในเลือดสูง จะมีตัวอย่างเพียง 6 คน ในขณะที่กลุ่มตะกั่วในเลือดต่ำมี 15 คน ซึ่งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่าง และควรคำนึงถึงจำนวนของแต่ละกลุ่มอาชีพควรใกล้เคียงกัน

สรุป

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ของการมีตะกั่วในเลือดสูง กับการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ในเลือด โดยพบจำนวนเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น และส่งผลให้จำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์อื่นได้แก่ มีค่าฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต จะต่ำลง แต่จำนวนเกล็ดเลือดและร้อยละของเซลล์ eosinophil มีค่าสูงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ไดรับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

เอกสารอ้างอิง

Alwaleedi, S.A. 2015. Haemato-biochemical changes induced by lead intoxication in male and female albino mice. **International Journal of Recent Scientific Research** 6: 3999-4004.

Cornelis, R. 2005. **Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine & occupational health.** John Wiley & Sons, USA

De Guise, S., J. Bernier, P. Lapierre, M.M. Dufresne, P. Dubreuil and M. Fournier. 2000. Immune function of bovine leukocytes after in vitro exposure to selected heavy metals. **Am J Vet Res** 61: 339-344.

Farkhondeh, T., M. H. Boskabady, M. K. Koohi, G. Sadeghi-Hashjin and M. Moin. 2013. The effect of lead exposure on selected blood inflammatory biomarkers in guinea pigs. **Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets** 13: 45-49.

Guidotti, T.L., J. McNamara and M.S. Moses, 2008. The interpretation of trace element analysis in body fluids. **Indian J Med Res** 128: 524-532.

Gillis, B.S., Z. Arbieva and I.M. Gavin. 2012. Analysis of lead toxicity in human cells. **BMC Genomics** 13: 344.

Hegazy, A.A., M.M Zaher, M.A. Abd El-hafez., A.A. Morsy and R.A. Saleh. 2010. Relation between anemia and blood levels of lead, copper, zinc and iron among children. **BMC Research Notes** 3: 133.

Jacob, B., B. Ritz, J. Heinrich, B. Hoelscher and H.E. Wichmann. 2000. The effect of low-level blood lead on hematologic parameters in children. **Environ Res** 82: 150-159.

Kalahasthi, R., T. Barman andH.R. Rao. 2012. Assessment of the relationship between blood lead levels and hematological parameters among lead acid –storage battery plant workers. **J Environ Occup Sci** 1: 1-5.

Khatib, A.J. A., H.M. Taani, and F Laiche. 2013. Hematological changes in prisoners with higher blood lead levels compared with general population. **Euro Scientific Journal** 9: 343-347.

Lawrence, D.A. 1981. Heavy metal modulation of lymphocyte activities--II. Lead, an in vitro mediator of B-cell activation. **Int J Immunopharmacol** 3: 153-161.

Razani-Boroujerdi, S., B. Edwards, and M.L. Sopori. 1999. Lead stimulates lymphocyte proliferation through enhanced T cell-B cell interaction. **J Pharmacol Exp Ther** 288: 714-719.

Sirivarasi, J., S. Kaorjaren, W. Wananukul and P, Srisomerg. 2002. Non-occupational determinants of cadmium and lead in blood and urine among a general population in Thailand. **Southeast Asian J Trop Med Public Health** 33: 180-187.

Thanapop, C., A.F Geater, M.G. Robson, P. Phakthongsuk and D. Viroonudomphol. 2007. Exposure to Lead of Boatyard Workers in Southern Thailand. **J Occ Health** 49: 345-352.

Verstraeten S.V., L. Aimo and P.I. Oteiza. 2008. Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity. **Arch Toxicol** 82: 789-802

Warne, G.L. and D.A. Lawrence. 1986. Stimulation of murine lymphocyte responses by cations. **Cell Immunol** 101: 425-439.

Yagminas, A.P., C.A. Franklin, D.C. Villeneuve, A.P. Gilman, P.B. Little and V.E. Valli. 1990. Subchronic oral toxicity of triethyl lead in the male weanling rat. Clinical, biochemical, hematological, and histopathological effects. **Fundam Appl Toxicol** 15: 580-596

Growth and Hydrogen Production by Wild type and Mutant strains of Unicellular Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*

Yuwadee Khamheang[1], Cherdsak Maneerattanarungroj[2,3] and Saranya Phunpruch[1,3*]

ABSTRACT

Hydrogen is an alternative clean and renewable energy carrier. It can be produced by several kinds of microorganisms such as bacteria, photosynthetic bacteria, cyanobacteria and green algae. *Chlamydomonas reinhardtii* known as one of model microorganism for studying H_2 metabolism in green algae can evolve H_2 using unlimited raw materials, sunlight and water. In this study, growth and H_2 production by two wild type and three mutant strains of *C. reinhardtii* were investigated. It was shown that all wild type and mutant strains of *C. reinhardtii* could grow heterotrophically in TAP medium and use acetate as a carbon source. Growth by OD_{750} measurement, cell density and total chlorophyll content of all mutant strains was lower than those of wild type strains. For H_2 determination, it was found that wild type strains of *C. reinhardtii* showed higher H_2 production rate than mutant strains. The highest H_2 production rate with 0.908 ± 0.010 mL L^{-1} h^{-1} was observed in the wild type *C. reinhardtii* CC-124 incubated in sulfur-deprived TAP medium. This H_2 production was approximately 2 folds higher than that in TAP medium.

Key words: Hydrogen production, *Chlamydomonas reinhardtii*, Wild type, Mutant

* Corresponding author; e-mail address: saranya.ph@kmitl.ac.th

[1]Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand

[2]Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand

[3]Bioenergy Research Unit, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

INTRODUCTION

Hydrogen (H_2) is one of interesting energy carriers because it is a clean and renewable energy and provides a high heating value of 141.6 MJ kg^{-1} (Perry, 1963). It can be produced by both chemical and biological processes. Hydrogen can be produced by several kinds of microorganisms. Especially, green algae can use unlimited solar energy and water to produce H_2 via photosynthetic process catalyzed by hydrogenase. However, hydrogenase is inhibited by O_2 from the water splitting. Therefore, sustained H_2 production is necessary to remove O_2 from culture. N- and S-deprivation has been reported to inhibit photosystem II activity and O_2 production; and subsequently resulting in increased H_2 yield in green algae *Chlorella* and *Chlamydomonas* (Wykoff *et al*., 1998).

Chlamydomonas reinhardtii, a unicellular eukaryotic green alga, has been used as a model microorganism for studying H_2 metabolism in green algae (Harris, 2001). The production of H_2 by *C. reinhardtii* depends on the type of algal strains and many physiological factors. In this work, growth and H_2 production were investigated in two wild type and three mutant strains of *C. reinhardtii*. Two wild type strains consist of *C. reinhardtii* CC-124 with mating type - and CC-125 with mating type + (Harris, 1989). Three mutant strains comprise *C. reinhardtii* CC-503 (mating type +) with an absence of cell wall (Hyams and Davies, 1972), *C. reinhardtii* CC-3806 (mating type +) without arylsulfatase activity expression when grown under sulfur-deficient condition, and *C. reinhardtii* CC-4147 (mating type +) with a deletion of *psbA* gene encoding D1 protein in PSII reaction centers (Bennoun *et al*., 1980). The absence of cell wall of *C. reinhardtii* CC-503 makes it possible to release H_2 easier than cell wall containing cells. The recent study reported that *C. reinhardtii* CC-503 could grow in AWM (ASSF wastewater medium) and produced the accumulated H_2 with 1.35 μmolH_2 (Chen *et al*., 2014). Normally the unicellular green alga *C. reinhardtii* responds to sulfate deprivation by production of arylsulfatase (Lien and Schreiner, 1975; Schreiner *et al*., 1975), functioning to release sulfate essential for the cell adaptation. In this study, *C. reinhardtii* CC-3806 without arylsulfatase activity was expected to enter the complete sulfate deprivation adaptation faster than wild type strains and possibly produce higher H_2 production. Finally, *C. reinhardtii* CC-4147 without *psbA* encoding D1 protein in PSII could not generate O_2 during water-splitting process of photosynthesis. The absence of O_2, inhibitor of hydrogenase enzyme, might lead to produce higher H_2 production.

MATERIALS AND METHODS

1. *Chlamydomonas* strains and growth condition

Five green algae *Chlamydomonas reinhardtii* strains used in this study were obtained from Chlamydomonas Resource Center (Duke University, USA). They were photoheterotrophically grown in a 250-mL Erlenmeyer flask containing 100 mL of Tris acetate phosphate (TAP) medium (pH 7.2)

(Harris, 1989). The initial cell concentration was adjusted to OD_{750} of approximately 0.1. The flasks were shaken at 120 rpm under a light iillumination of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1} at 30 °C for 36 h.

2. Measurement of growth and total chlorophyll content

Growth by OD_{750} was determined. The cell density was determined by counting cell number using a hemacytometer. Total chlorophyll of cell culture was extracted with 90% (v/v) acetone. Total chlorophyll content was determined by measuring an absorbance at 647 and 664 nm using a spectrophotometer (Jeffrey and Humphrey, 1975). All analyses were performed in triplicate.

3. Measurement of H_2 production

C. reinhardtii grown for 36 h was harvested by centrifugation, washed twice and resuspended in 5 mL of TAP medium, N-free TAP medium (TAP-N) and S-free TAP medium (TAP-S). The cell suspension was transferred to a 10 mL glass vial, purged with argon gas for 10 min and incubated at 30 °C in the light. H_2 in headspace was analyzed by GC with a thermal conductivity detector (Hewlett-Packard HP5890A, Japan) using a molecular sieve 5 °A 60/80 mesh packed column. H_2 production rate was calculated as mL of H_2 evolved per L of medium per hour (mL L^{-1} h^{-1}). All experiments were done in triplicate for each treatment.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Growth of wild type and mutant strains of *C. reinhardtii*

All *C. reinhardtii* strains were grown in TAP medium at 30 °C under a light illumination of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1} for 90 h. It was shown that growth by OD_{750} measurement of all *C. reinhardtii* strains was rapidly increased during the first 36 h of cultivation. After that their growth rate was lower and cells entered the stationary phase during 36-72 h of cultivation (Figure 1). Growth by OD_{750} of both *C. reinhardtii* wild type strains, CC-124 and CC-125, was higher than that of all mutant strains, especially the lowest Growth by OD_{750} found in mutant strain CC-3806 (Figure 1). It was shown that both wild type and mutant strains could grow heterotrophically in TAP medium using acetic acid or acetate as a carbon source. Under heterotrophic cultivation, algal cells normally use acetate for ATP generation and cellular respiration (Fischer *et al*., 2006). It was reported that growth of wild type and mutant strains of *C. reinhartdii* in the presence of acetate was higher than that in the absence of acetate (Therien *et al*., 2014). Besides carbon source, TAP medium also contains other macronutrients such as nitrogen, sulfur and phosphorus; and many kinds of trace metals. Growth of all *C. reinhardtii* strains was quite similar to the bacterial growth pattern consisting of logarithmic, stationary and death phases. Cells could increasingly divide themselves during growth but when the nutrients in the medium were limited, they ceased the growth and cell division.

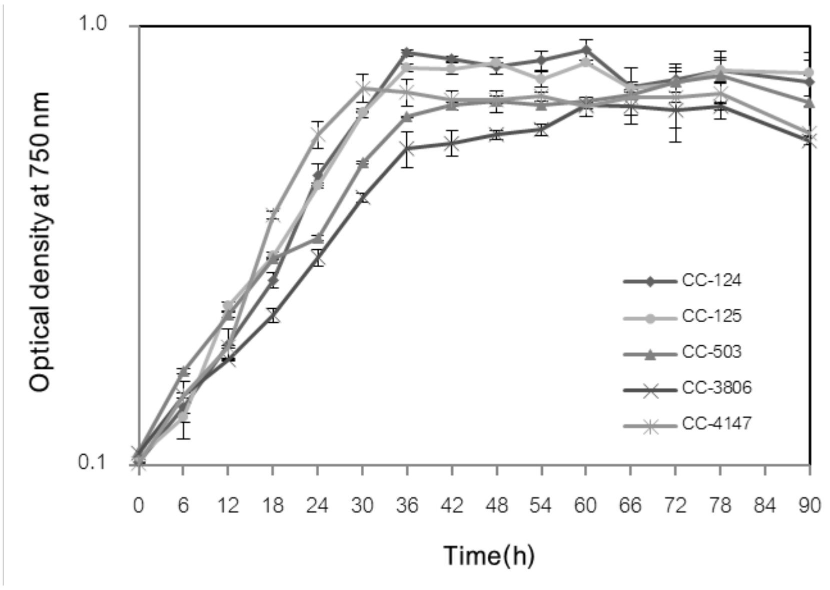


Figure 1 Growth by OD_{750} measurement of wild type and mutant strains of *C. reinhardtii*. Data are means ± SD.

During algal growth, cell density of wild type and mutant strains was also determined by counting cell number using a hemacytometer. It was shown that cell density increased gradually at the initial 36 h of cultivation (Figure 2). Cell density of wild type strains was higher than that of all mutant strains. The lowest cell density was also observed in the mutant strain CC-3806 (Figure 2). The result was similar to the previous reports that cell density of wild type *C. reinhardtii* strain was greater than that of mutant *C. reinhardtii* strain CC-3913 with an impaired motility phenotype (Fadaghi *et al*., 2012).

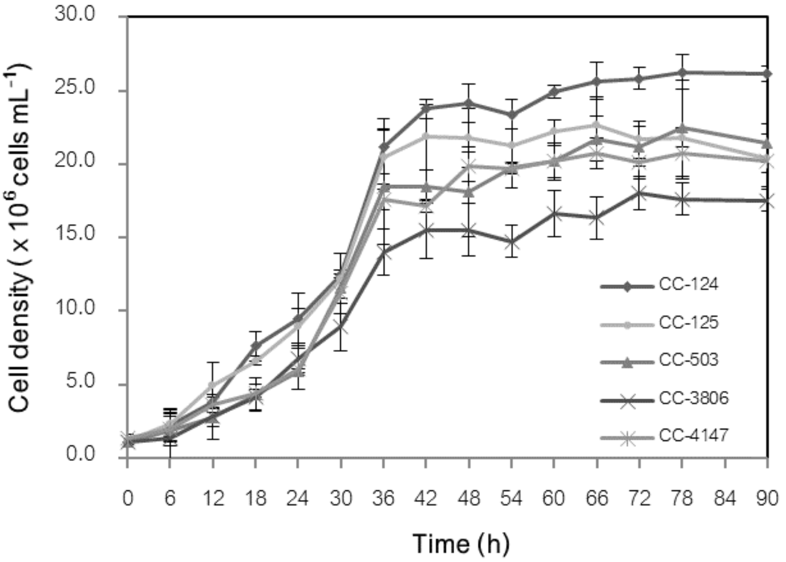


Figure 2 Cell density of wild type and mutant strains of *C. reinhardtii*. Data are means ± SD.

In addition, total chlorophyll of *C. reinhardtii* was extracted and determined by spectrophotometer. It was found that wild type *C. reinhardtii* strains, CC-124 and CC-125, gave higher chlorophyll content than all mutant *C. reinhardtii* strains as shown in Figure 3. The result indicated that total chlorophyll content of *C. reinhardtii* was correlated with the cell growth result (Figure 1). It is suggested that all mutant strains showed some different phenotypes resulting in a decrease in the growth rate, cell density and total chlorophyll content.

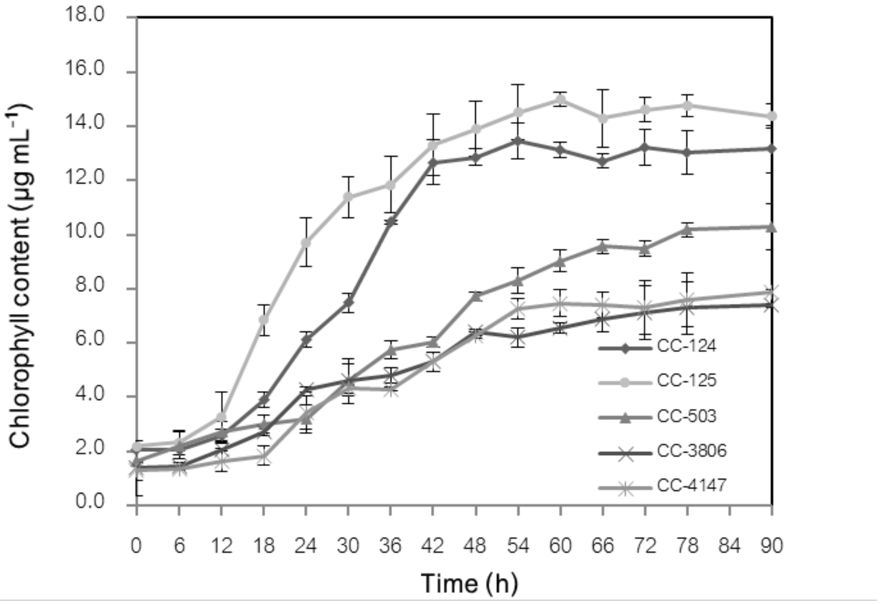


Figure 3 Chlorophyll content of wild type and mutant strains of *C. reinhardtii* strains. Data are means ± SD.

2. H_2 production by wild type and mutant strains of *C. reinhardtii*

C. reinhardtii grown for 36 h was harvested by centrifugation, resuspended and incubated in TAP, TAP-N and TAP-S medium for 24 h. The cell suspension was transferred to a glass vial, purged with Argon gas for 10 min, and incubated at 30 ºC under continuous illumination of 30 μmol photons $m^{-2}s^{-1}$ for 2 h before H_2 analysis. The result showed that all wild type strains of *C. reinhardtii* gave higher H_2 production than mutant strains (Figure 4). All *C. reinhardtii* strains showed clearly the highest H_2 production rate under sulfur deprivation. It can be explained that sulfur is an essential component of cysteine and methionine in many types of protein including D1 protein of PSII reaction centers. Under S-deprivation D1 protein was damaged, resulting in an induction of PSII activity inhibition (Wykoff *et al*., 1998). When PS II was inhibited, O_2 from water-splitting did not occur, finally leading to the expression of hydrogenase and H_2 evolution (Melis *et al*., 2000; Zhang *et al*., 2002; Melis, 2007).

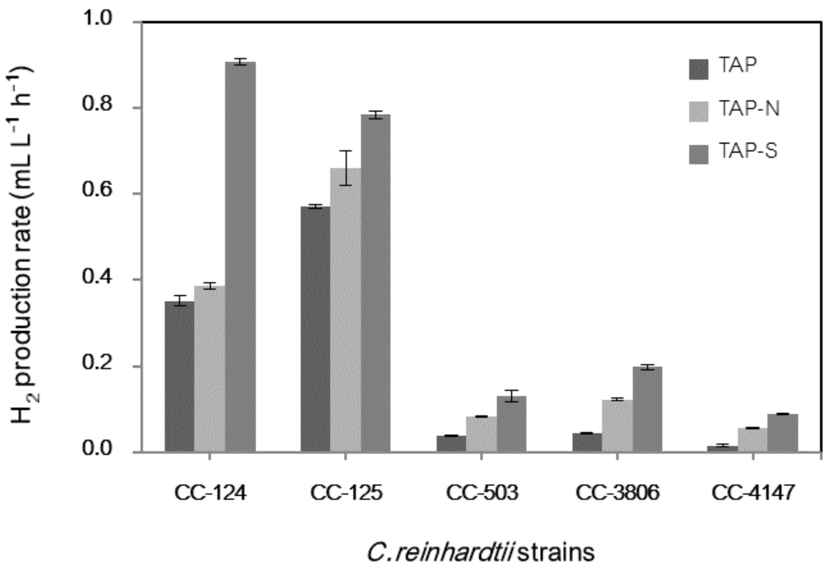


Figure 4 H_2 production rate by wild type and mutant strains of *C. reinhardtii* incubated in TAP, TAP-N and TAP-S after 2 h of anaerobic condition. Data are means ± SD.

The wild type *C. reinhardtii* CC-124 is known as one of high H_2 producing *Chlamydomonas* strains (Rochaix, 1995; Harris, 2001). The highest H_2 production rate with 0.908 ± 0.010 mL L^{-1} h^{-1} was found in the wild type *C. reinhardtii* CC-124 incubated in TAP-S medium (Figure 4). It was approximately 2 times higher that cells incubated in TAP and TAP-N medium. This H_2 production rate was obviously lower than that of *C. reinhardtii* CC-124 reported by Scoma and coworkers (2012). It could be explained that although it was the same strain but it has some different cultivation conditions. In this study, *C. reinhardtii* was grown in a flask scale with 100 mL working volume under a light iillumination of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1} at 30 °C whereas in Scoma *et al*. (2012), *C. reinhardtii* was grown in a Roux-type bottles with 800 mL working volume under both side of light iillumination of 70 µmol photons m^{-2} s^{-1} at 28 °C. In addition, the lower H_2 production of all mutant strains is a result from the lower cell growth, cell density and total chlorophyll content. The mutant *C. reinhardtii* CC-503 which lacks a cell wall was expected to rapidly transport intracellular H_2 to outside the cells. The mutant *C. reinhardtii* CC-3806 which does not express arylsulfatase activity was proposed to enter the complete sulfur deprivation adaptation faster than wild type. The mutant *C. reinhardtii* CC-4147 which *psbA* gene encoding principal protein D1 in PS II is deleted was assumed to decrease O_2 production from water-splitting. Therefore, it is suggested that the mutation in these strains might affect growth, cell division, chlorophyll content, many chemical pathways including H_2 evolution.

CONCLUSION

In this study, growth and H_2 production of wild type and mutant strains of *C. reinhardtii* were investigated. Growth by OD_{750} measurement, cell density, a total chlorophyll content and H_2 production rate of all mutant strains was obviously lower than those of wild type strains. It is suggested that the lower H_2 production rate of all mutant strains came from the lower growth and chlorophyll content including other physiological parameters of each individual mutant strain.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by research grant from the Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.

REFERENCES

Bennoun, P., A. Masson and M. Delosme. 1980. A method for complementation analysis of nuclear and chloroplast mutants of photosynthesis in *Chlamydomonas*. **Genetics**. 95: 39-47.

Chen, M., L. Zhang., S. Li., S. Chang., W. Wang., Z. Zhang., J. Wang, G. Zhao., L. Qi. and W. Xu. 2014. Characterization of cell growth and photobiological H2 production of *Chlamydomonas reinhardtii* in ASSF industry wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**. 39: 13462 -13467.

Fischer, B., R. Eggen, A. Trebst and A. Krieger-Liszkay. 2006. The glutathione peroxidase homologous gene *Gpxh* in *Chlamydomonas reinhardtii* is upregulated by singlet oxygen produced in photosystem II. **Planta**. 223: 583-590.

Fadaghi, H., K. Jayasundera, D. Krishnan and R. Liu. 2012. The effect of temperature on cell density of wild type and mutant *Chlamydomonas reinhardtii*. **The Expedition**.1.

Hyams, J. and D.R. Davies. 1972. The induction and characterisation of cell wall mutants of *Chlamydomonas reinhardii*. **Mutation Research**. 14(4): 381-389.

Harris, E.H. 1989. **The Chlamydomonas Sourcebook**. Academic Press. San Diego.

Harris, E.H. 2001. *Chlamydomonas* as a model organism. **Plant Physiology**. 52: 363–406.

Jeffrey, S.W. and G.F. Humphery. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a1, b1, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. **Biochemistry Physiology**. 167: 191-194.

Lien, T. and S. Olive. 1975. Properties of a derepressible arylsulfatase from *Chlamydomonas reinhardtii*. **Biochimica et Biophysica Acta**. 384: 180-193.

Melis, A., L. Zhang, M. Forestier, M.L. Ghirardi and M. Seibert. 2000. Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Plant Physiology**. 122: 127-135.

Melis, H. 2007. Photosynthetic H_2 metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* (Unicellular green algae). **Planta.** 226: 1075-1086.

Perry, J.H. 1963. **Chemical engineers**. Handbook. McGraw-Hill, New York.

Rochaix, J.D. 1995. *Chlamydomonas reinhardtii* as the photosynthetic yeast. **Annual Reviews**. 29: 209-230.

Scoma, A., D. Krawietz, C. Faraloni, L. Giannelli, T. Happe and G.Torzillo. 2012. Sustained H_2 production in a *Chlamydomonas reinhardtii* D1 protein mutant. **Journal of Biotechnology**. 157: 613–619.

Schreiner, O., T. Lien and G. Knutsen. 1975. The capacity for arylsulfatase synthesis in synchronous and synchronized cultures of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Biochimica et Biophysica Acta**. 384:180-193.

Therien, J.B., O.A. Zadvornyy, M.C. Posewitz, D.A. Bryant and J.W. Peters. 2014. Growth of *Chlamydomonas reinhardtii* in acetate-free medium when co-cultured with alginate-encapsulated, acetate-producing strains of *Synechococcus* sp. PCC 7002. **Biotechnology for Biofuels.**

Wykoff, D.D., J.P. Davies, A. Melis and A.R. Grossman. 1998. The regulation of photosynthetic electron transport during nutrient deprivation in *Chlamydomonas reinhardtli*. **Plant Physiology**. 117: 129-139.

Zhang, L., T. Happe and A. Melis. 2002. Biochemical and morphological characterization of sulfur-deprived and H_2 production *Chlamydomonas reinhardtii* (green algae). **Planta**. 214: 552-561.

Flag Acidic Target Tag (FATT) Improves Solubility and Production Yield of Recombinant *P. falciparum* Plasmepsin V (*Pf*PMV)

Chaleampol Loymunkong[1*], Ratree Wongpanya[1] and Nonlawat Boonyalai[1]

ABSTRACT

Plasmepsin V from *Plasmodium falciparum* (*Pf*PMV) plays a major role in the cleavage of the exported protein containing *Plasmodium* export element (PEXEL) motif. *Pf*PMV is vital for parasite viability and become a novel target for antimalarial therapy. The aim of this work was to improve the solubility and production yield of the recombinant *Pf*PMV. Recodonized *Pf*PMV (residues 84-521) called *Pf*PMVm was fused to Flag Acidic Target Tag (FATT) protein, generating FATT-*Pf*PMVm. The recombinant protein was successfully overexpressed in *E. coli* as a soluble form. SDS-PAGE and Western blot analysis confirmed that FATT-*Pf*PMVm was over-expressed by 0.2 mM IPTG induction at 16 ^{0}C for overnight and showed the molecular weight of 70 kDa. FATT-*Pf*PMVm was partially purified using Ni^{2+} affinity chromatography in combination with ATP treatment to eliminate *E. coli* Hsp60 contaminant. FATT-*Pf*PMVm was further purified using HiTrap Q HP column. The enzyme activity of FATT-*Pf*PMVm was determined against a PEXEL-containing peptide (*Pf*EMP2) and non-PEXEL peptides (*Pf*EMP2-AAA and YHV). FATT-*Pf*PMVm could hydrolyze *Pf*EMP2 but not *Pf*EMP2-AAA and YHV substrate peptides. The recombinant enzyme exhibited the specific activity of 0.31 $nmole \cdot min^{-1} \cdot \mu g^{-1}$ toward *Pf*EMP2. The product yield of the recombinant protein is 0.24 mg/L of culture. To sum up, this work provided the strategy to improve the yield and solubility of *Pf*PMV, which will be useful for further biochemical studies.

Keywords: Flag Acidic Target Tag, Malaria, PEXEL, Plasmepsin V

* Corresponding author; e-mail address: golf_carawan@hotmail.com

[1] Department of Biochemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wongwan Road, Chatuchak, Bangkok, 10900

INTRODUCTION

Malaria, a major health problem in tropic and subtropical countries, kills around 438,000 people annually (World Health Organization, 2015). The disease in human is caused by parasites of the genus *Plasmodium* including *P. falciparum, P. vivax, P. ovale, P. malariae and P. knowlesi*. Of the five species, *P. falciparum* is responsible for the majority of deaths associated with malaria infections. *P. vivax* is less dangerous but accounts for considerable morbidity, and the others are found less frequently. For survival during the intraerythrocytic stage, malarial parasites export more than 300 proteins into the host cell via parasitophorous vacuole membrane (PVM). However, most of the exported proteins contain the *Plasmodium* export element (PEXEL) motif at the N-terminus (Boddey *et al*., 2013). The PEXEL motif consists of the pentameric sequence (RxLxE/Q/D), which is conserved in all *Plasmodium* spp. To export the parasitic protein into host erythrocyte, the PEXEL motif is cleaved by an ER aspartic protease called Plasmepsin V (PMV) after the conserved residue of leucine (L), and then N-acetylated by an unknown enzyme in the parasitic ER (Boddey *et al*., 2010; Russo *et al*., 2010). Since PEXEL cleavage is thought to be essential for export as well as for parasite viability, blocking PMV to prevent protein export is a promising new strategy for combating this important pathogen. Previous works in Boonyalai's laboratory showed that thioredoxin (Trx) tag could be fused with either *Pf*PMV or *Pv*PMV to produce soluble Trx-*Pf*PMV and Trx-*Pv*PMV (Boonyalai *et al*., 2015 and Sappakhaw *et al*., 2015). However, the yield of the protein production was relatively flat. To increase the solubility and production yield, Flag Acidic Target Tag (FATT) derived from the human amyloid precursor protein (APP) extracellular region (Sangawa *et al*., 2013) was considered. The FATT polypeptide (~14 kDa) contained the 97-residue APP acid region sequence preceded by a FLAG epitope tag and followed by a Target tag, Factor Xa cleavage site. The strong negative charge and the unique hydrodynamic characteristics of this polypeptide would change the physicochemical property of a protein when appended as a fusion partner and may facilitate easy purification. In this study, the N-terminus of mature *Pf*PMV (*Pf*PMVm) was fused to FATT producing FATT-*Pf*PMVm. The recombinant protein was over-expressed and purified using Ni^{2+} affinity chromatography in combination with ATP treatment. The recombinant protein was enzymatically characterized with FRET-substrate peptides. This work reports the new strategy to obtain more soluble recombinant *Pf*PMV with a relative decent enzyme activity.

MATERIALS AND METHODS

1. Construction of pGEM-T-Easy-syn*Pf*PMVm cloning plasmid

The truncated residues from 84 to 521 of Plasmepsin V (PMV) of *P. falciparum* encoding of mature PMV (PMVm) was amplified from the pSY5-*Pf*PMVm$_{84}$ plasmid using polymerase chain reaction (PCR) with F_*Pf*PMV_84 (5′-GGCC**GGATCC**TAGACCTGTATAAATATAACTGTACGGCG-3′) and R_*Pf*PMV_521 (5′-

GGCC**GGATCC**CTA**<u>ATGATGATGATGATGATG</u>**ATGGTTAGACGGGCATTTGGATTC-3′). Both forward and reverse primers contained *Bam*HI site (bold letters) while in the reverse primer, six repetitive histidine codons (bold and underlined letters) were added right next to the stop codon. PCR amplification was performed on a T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad, USA), using initial denaturation of 95 °C for 5 min, followed by 25 cycles of 95 °C for 1 min, 64 °C for 40 s, and 72 °C for 3 min, and the final extension at 72 °C for 5 min. PCR products were analyzed by 0.8% agarose gel electrophoresis and were purified using NucleoSpin Gel and PCR clean up (Machery-Nagl, Germany). The PCR products were ligated into a pGEM-T-Easy vector (Promega, USA). The resulting reaction was transformed into *E. coli* DH5α cells using heat shock technique. The resulting plasmids were screened by *Bam*HI restriction digestion (Thermo Scientific, USA) and were sequenced using T7 and SP6 primers (Macrogen, South Korea).

2. Construction of pFATT3-syn*Pf*PMVm expression plasmid

pGEM-T-Easy-syn*Pf*PMVm and pFATT3 plasmids were digested with *Bam*HI and purified using NucleoSpin Gel and PCR clean up (Machery-Nagl, Germany) to obtain a piece of *pfpmvm* gene and linearized pFATT3 vector. The ligation reaction was carried out at the molar ratio of 1:3 using T4 DNA ligase. The ligation reaction was then transformed into competent *E.coli* DH5α. PCR screening was used to identify the clone containing the insert *pfpmvm* gene with the correct direction since there are two possible ways that *pfpmvm* gene could be inserted into the *Bam*HI site of pFATT3. The PCR screening was performed using screening_FATT3 (5′-CAAAGATGATGATGATGTCGAGG-3′) and R_*Pf*PMVm_521 primers

3. Overexpression of recombinant FATT-*Pf*PMVm

pFATT3-syn*Pf*PMVm was transformed into *E. Coli* BL21 (DE3). A single colony was picked and inoculated into 50 mL LB broth containing 100 µg/mL of ampicillin as starter cells. The culture was then inoculated (1% v/v) into the same medium and incubated at 37 °C. When the OD_{600} reaches 1.2, recombinant protein expression was induced by 0.2 mM isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside (IPTG) at 16 °C for overnight. The cells were collected by centrifugation at 1,900 x g for 20 min at 4 °C. The expression level of recombinant proteins was analyzed by 12% SDS-PAGE. The presence of FATT-*Pf*PMVm was confirmed by western blotting analysis probed with 1:2500 of HisProbe-HRP antibody (Thermo Scientific, USA).

4. Purification of FATT-*Pf*PMVm

Cell pellets were re-suspended in lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH 8, 0.5 M NaCl, 0.03 M imidazole) supplement with 1% Tritron-X-100 and 1.6 mM β-2-Mecaptoethanol. The cells were

sonicated for 30 min at 4 °C. After the sonication, cell debris was removed by centrifugation at 7,125 x g for 30 min at 4 °C. The supernatant was applied to a HisTrap HP column at 1 mL/min and washed with the washing buffer (50 mM Tris-HCl pH 8, 0.5 M NaCl, 0.03 M imidazole) to remove non-specifically bound proteins. The fusion protein was eluted with an increasing gradient of 0.03-0.5 M imidazole in elution buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8, 0.5 M NaCl, 0.5 M imidazole) in 20 min. The protein of interest fractions was pooled and analyzed by 12% SDS-PAGE. To remove *E. coli* Hsp60, the eluted fractions from HisTrap HP column were subjected to a HiTrap Desalting column (GE Healthcare) to eliminate imidazole and NaCl. The flow-through fractions were incubated with 10 mM ATP for 30 min at 4 °C. The reaction was subsequently loaded onto HisTrap HP column and eluted with linear gradient of 0.03-0.5 M imidazole. FATT-*Pf*PMVm was then applied onto a HiTrap Q HP column (GE Healthcare). The column was washed with the washing buffer (20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.4 M NaCl, 5% glycerol, 1 mM EDTA) to remove non-specifically bound proteins. The bound proteins were eluted with a stepwise gradient of NaCl concentrations (0.4-0.5 M NaCl for 5 min, 0.5-0.75 M for 5 min, 0.75-0.85 M for 5 min and 0.85-1 M for 5 min) in elution buffer (20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 5% glycerol, 1 mM EDTA, 1 M NaCl). The purity and identity of the recombinant protein were confirmed by 12% SDS-PAGE.

5. Enzyme specific activity

Three FRET-peptides were used to determine the enzymatic activity of FATT-*Pf*PMVm. *Pf*EMP2 (DABCYL-RYVRILSETE-E-EDANS) was used as a positive control, while *Pf*EMP2-AAA (DABCYL-RYVAIASATE-E-EDANS) and YHV (DABCYL-KAVHYEHNVK-E-EDANS) were used as negative controls. *Pf*EMP2 peptide contains the PEXEL motif (RILSE) which can be cleaved by FATT-*Pf*PMVm while *Pf*EMP2-AAA and YHV peptides lack the PEXEL motif so they cannot be hydrolyzed by FATT-*Pf*PMVm. PEXEL cleavage assays contained 50 μg of FATT-*Pf*PMVm in 50 mM Tris-malate pH 6.5, 100 mM NaCl and 2 μM peptide substrates and were measured with Luminescence Spectrometer (Perkin-Elmer) at λ_{ex} = 336 nm and λ_{em} = 490 nm. The data were fitted, and standard errors were calculated. The specific activity in nmol min^{-1} μg^{-1} was then reported.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Amplification of *Pf*PMVm and the construction of pFATT3-*Pf*PMVm plasmids

pSY5-*Pf*PMVm_{84} containing the *E. coli* optimized codon of *Pf*PMV covering amino acid residue 84 to 521 was used as a parental plasmid to amplify *pfpmvm* gene. Figure 1A shows that the PCR product of *pfpmvm* gene (1.37 kb) could be generated. The purified *pfpmvm* gene was ligated into pGEMT-Easy vector generating pGEMT-Easy-*Pf*PMVm. The recombinant plasmid was validated by DNA sequencing (data not show). Subsequently, the *pfpmvm* gene purified from pGEMT-Easy-

*Pf*PMVm was ligated into the pFATT3 vector at *Bam*HI sites to generate pFATT3-*Pf*PMVm expression plasmid. The resulting plasmid was digested with *Bam*HI to check the presence of *pfpmvm* gene. Figure 1B confirms that the chosen recombinant plasmid is pFATT3-*Pf*PMVm. To check if the *pfpmvm* gene was inserted into pFATT3 at the correct direction, PCR screening by specific primers was carried out. If the *pfpmvm* gene is inserted into pFATT3 with 5′ to 3′ direction, a PCR product of 1.77 kb should be observed. On the contrary, a PCR product of 0.4 kb should be detected in the insertion from 3′ to 5′ direction. Figure 1C shows that the selected pFATT3-*Pf*PMVm contains the *pfpmvm* gene in the correct orientation. Thus the expression plasmid pFATT3-*Pf*PMVm was successfully constructed.

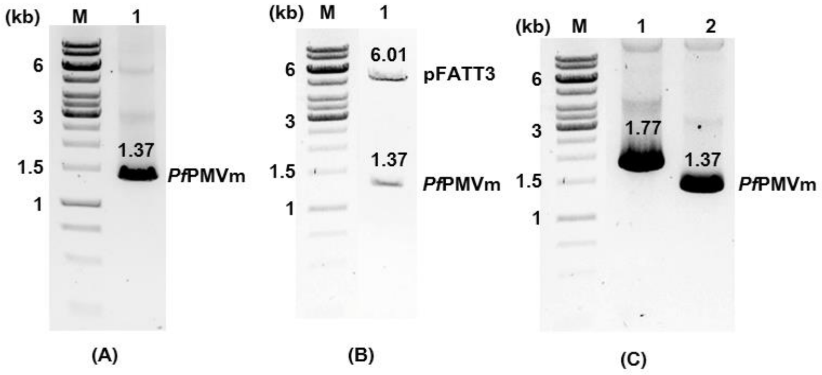


Figure 1 0.8% agarose gel electrophoresis confirming pFATT3-*Pf*PMVm construct. (A) Amplification of *pfpmvm* gene (lane 1) from pSY5-*Pf*PMVm_{84} with the expected size of about 1.37 kb. (B) *Bam*HI restriction enzyme analysis of pFATT3-syn*Pf*PMVm (C) PCR screening of 5′ to 3′ direction of pFATT3-syn*Pf*PMVm. The PCR product of 1.77 kb is observed in lane 1. pGEM-T-Easy-syn*Pf*PMVm was used as the positive control of PCR (lane 2). Lane M contains a molecular weight marker (GeneRuler 1 kb DNA Ladder, Thermo Scientific, USA)

2. Overexpression of soluble recombinant protein of FATT-*Pf*PMVm

To produce the recombinant FATT-*Pf*PMVm in soluble form, the *E. coli* BL21 (DE3) cells containing pFATT3-*Pf*PMVm were induced with 0.2 mM IPTG at 16 °C for overnight. Figure 2 illustrates the analysis of the protein expression for FATT-*Pf*PMVm. The expected molecular weight of FATT-*Pf*PMVm is around 70 kDa. According to SDS-PAGE in Figure 2 (left panel), FATT-*Pf*PMVm was detected in both in induced lysate (lane I) and soluble fraction (lane S). The presence of FATT-*Pf*PMVm was also confirmed by Western blot analysis using anti-His antibody (Figure 2, right panel). The results indicated that the FATT-*Pf*PMVm was over-expressed mainly as a soluble form when the cell was induced with 0.2 mM IPTG at 16 °C for overnight.

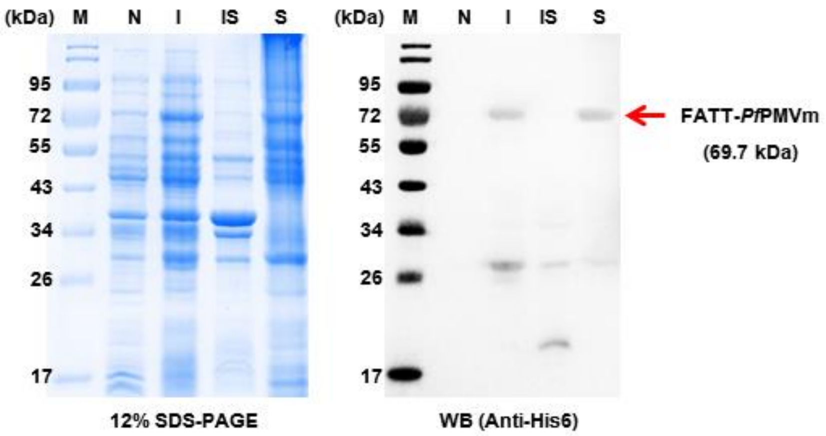


Figure 2 Protein expression analysis of FATT-*Pf*PMVm. FATT-*Pf*PMVm (70 kDa) could be detected on Coomassie brilliant G-250 stained 12% SDS-PAGE (left panel) and Western blot probed with an anti-His antibody (right panel). Lane M designates page ruler prestained protein ladder (Thermo Scientific, USA) while Lanes N, I, IS and S represent non-induced lysate, induced lysate, insoluble fraction and soluble lysate fraction, respectively.

3. Purification of FATT-*Pf*PMVm

Since it was confirmed that FATT-*Pf*PMVm could be expressed as a soluble form, the next step was to purify the recombinant protein. Ni^{2+}-affinity chromatography was firstly chosen to purify FATT-*Pf*PMVm due to the presence of 6xHis tags at the C-terminus. According to Figure 3A, proteins eluted from the HisTrap HP column contains FATT-*Pf*PMVm as well as other contaminant proteins (Figure 3A, lane 1). It was previously shown that the 60-kDa protein was *E. coli* Hsp60 (Boonyalai *et al.*, 2015 and Sappakhaw *et al.*, 2015). To prove this, the protein bands at 70 kDa and 60 kDa were subjected to LC-MS/MS analysis and Figure 3B confirmed that the upper band (70 kDa) is FATT-*Pf*PMVm while the lower band (60 kDa) is *E. coli* Hsp60 (Figure 3B). To eliminate the *E. coli* Hsp60, the eluted fractions from HisTrap HP column were loaded onto the HiTrap Desalting column (Figure 3A, lane 2) followed by the treatment of ATP. The ATP treated proteins were reapplied onto HisTrap HP column (Figure 3A, lane 3) and further purified by HiTrap Q HP column (Figure 3A, lane 4). FATT-*Pf*PMVm was partially purified to about 80% with some contaminant proteins at around 26 kDa. Together, the reported protocol could produce FATT-*Pf*PMVm 0.24 mg/L of culture, which was higher than the previous work of *Pf*PMVm84 (0.151 mg/L of culture) (Boonyalai *et al.*, 2015).

4. Enzymatic activity of FATT-*Pf*PMVm

The activity of FATT-*Pf*PMVm was determined using FRET-substrate peptides. *Pf*EMP2 containing the PEXEL motif was hydrolyzed by the recombinant, and the specific activity was 0.31 nmole·min^{-1}·μg^{-1} (Figure 3C), which was higher than that obtained from Trx-*Pf*PMVm84 (0.079

nmole·min^{-1}·µg^{-1}) (Boonyalai *et al*., 2015). On the other hand, FATT-*Pf*PMVm could not cleave the peptides lacking the PEXEL motif (*Pf*EMP2-AAA and YHV peptides). Also, purified FATT protein could not hydrolyze *Pf*EMP2 peptide (data not shown). This result indicated the specificity of recombinant FATT-*Pf*PMVm toward the PEXEL-containing peptide. The FATT tag will be next removed using Factor Xa.

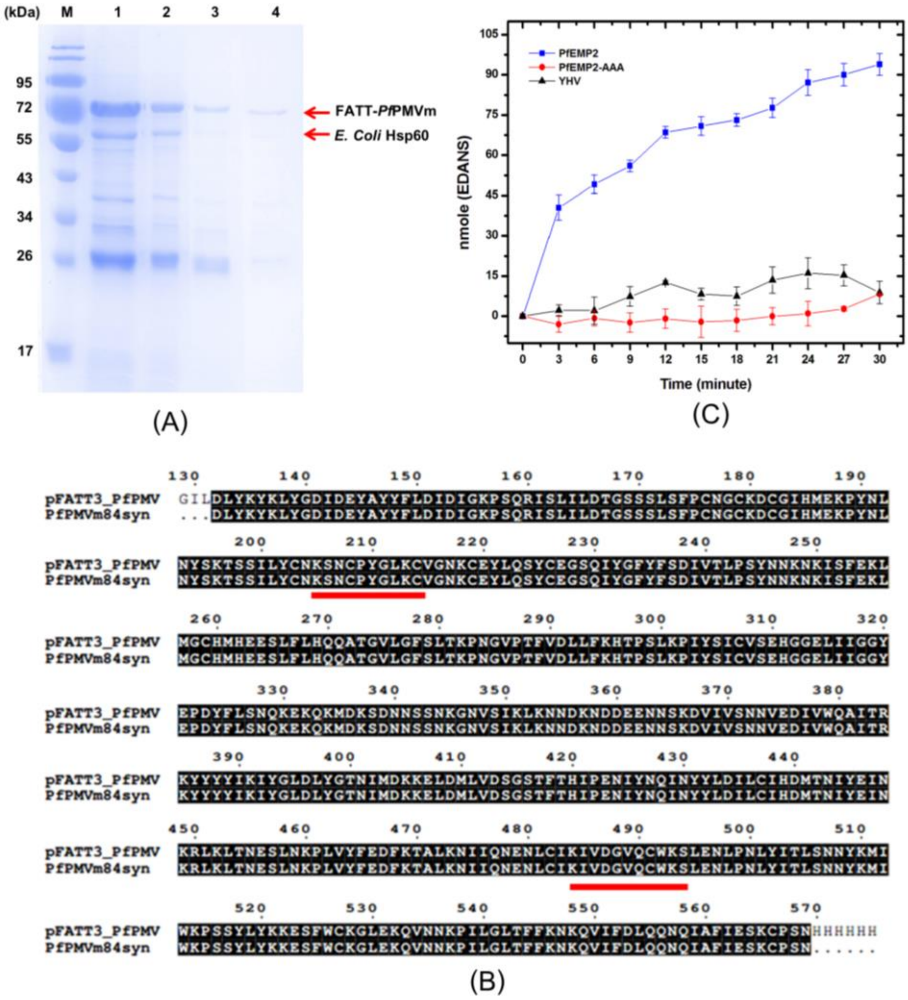


Figure 3 Purification and LC-MS/MS analysis of FATT-*Pf*PMVm. (A) Coomassie brilliant G-250 stained 12% SDS-PAGE. Lane M presents page ruler prestained protein ladder (Thermo Scientific, USA). Lane 1 holds FATT-*Pf*PMVm purified by HisTrap HP column, and lane 2 holds the flow-through fraction from HiTrap Desalting column, and lane 3 presents FATT-*Pf*PMVm treated with ATP and purified by HisTrap HP column and lane 4 contains FATT-*Pf*PMVm purified by HiTrap Q HP column. (B) LC-MS/MS analysis of FATT-*Pf*PMVm and *E. coli* Hsp60. Red underlines indicate peptide fragments obtained from LC-MS/MS analysis. (C) Enzymatic activity of FATT-*Pf*PMVm. FATT-*Pf*PMVm activity on different FRET peptides is compared. The peptide *Pf*EMP2 contains the PEXEL motif, while *Pf*EMP2-AAA and YHV do not. Error bars indicate the standard deviation of 3 activity curves.

CONCLUSION

Taken together, the production of soluble, active FATT-*Pf*PMVm as reported herein would allow for further studies of this important enzyme to control protein export in *P. falciparum*. The yield and the enzymatic activity of FATT-*Pf*PMVm were much higher than that from the previously reported construct Trx-*Pf*PMVm84. This work, therefore, indicates that Flag Acidic Target Tag (FATT) derived from the human amyloid precursor protein (APP) extracellular region is very useful to improve the protein solubility for *E. coli* expression system.

ACKNOWLEDGMENTS

We gratefully acknowledge financial support from Thailand Research Fund grant (RSA5980024). Financial support from the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), Commission on Higher Education, Ministry of Education is also gratefully acknowledged.

REFERENCES

Boddey, J.A., A.N. Hodder, S. Gunther, P.R. Gilson, H. Patsiouras, E.A. Kapp, J.A. Pearce, T.F. de Koning-Ward, R.J. Simpson, B.S. Crabb and A.F. Cowman. 2010. An aspartyl protease directs malaria effector proteins to the host cell. **Nature.** 463(7281): 627-631.

Boddey, J.A., T.G. Carvalho, A.N. Hodder, T.J. Sargeant, B.E. Sleebs, D. Marapana, S. Lopaticki, T. Nebl and A.F. Cowman. 2013. Role of Plasmepsin V in Export of Diverse Protein Families from the Plasmodium Falciparum Exportome. **Traffic.** 14(5): 532-550.

Boonyalai, N., P. Sittikul and J. Yuvaniyama. 2015. *Plasmodium falciparum* Plasmepsin V (PfPMV): Insights into recombinant expression, substrate specificity and active site structure. **Molecular and Biochemical Parasitology.** 201(1):5-15.

Russo, I., S. Babbitt, V. Muralidharan, T. Butler, A. Oksman and D.E. Goldberg. 2010. Plasmepsin V licenses Plasmodium proteins for export into the host erythrocyte. **Nature.** 463(7281): 632-636.

Sangawa, T., S. Tabata, K. Suzuki, Y. Saheki, K. Tanaka and J. Takagi. 2013. A multipurpose fusion tag derived from an unstructured and hyperacidic region of the amyloid precursor protein. **Protein science.** 22(6):840-850.

Sappakhaw, K., R. Takasila, P. Sittikul, P. Wattana-Amorn, W. Assavalapsakul and N. Boonyalai. 2015. Biochemical characterization of plasmepsin V from *Plasmodium vivax* Thailand isolates: Substrate specificity and enzyme inhibition. **Molecular and Biochemical Parasitology.** 204(2):51-63.

Wolrd Health Organization (WHO). 2015. **World Malaria Report 2015.** Available Source: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/200018/1/9789241565158_eng.pdf

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิต Indole-3-acetic acid (IAA) ของ *Bacillus* spp. ที่แยกได้จากดินด่าง

Optimization of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Bacillus* spp. isolated from alkaline soil

จันทร์แรม รูปขำ[1*] สาวิตร ตระกูลน่าเลื่อมใส[2] ธนภูมิ มณีบุญ[1]และ ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม[1]

Chanram Roopkham[1*], Savitr Trakulnaleamsai[2], Thanapoom Maneeboon[1] and Siriwan Soiklom[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาสมบัติการเป็นเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการผลิต Indole-3-acetic acid (IAA) ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ที่แยกได้จากดินด่างบริเวณสถานีวิจัยกาญจนบุรี จำนวน 23 ไอโซเลท พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. endophyticus* P12-12 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม L-tryptophan 5 กรัมต่อลิตร สามารถผลิต IAA ได้สูงที่สุดเท่ากับ 11.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต IAA ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทดังกล่าวพบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะคือ mannitol และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะคือ yeast extract จากนั้นได้ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต IAA โดยออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman ที่ประกอบด้วย 7 ปัจจัยๆ ละ 2 ระดับ (-1, +1) ได้แก่ yeast extract (1, 10 กรัมต่อลิตร), mannitol (10, 50 กรัมต่อลิตร), K_2HPO_4 (0.1, 1 กรัมต่อลิตร), $MgSO_4$ (0.1, 0.5 กรัมต่อลิตร), NaCl (1,10 กรัมต่อลิตร), L-tryptophan (1, 10 กรัมต่อลิตร) และ pH (7, 9) พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลทางบวกต่อการผลิต IAA คือ yeast extract, K_2HPO_4, $MgSO_4$, NaCl, L-tryptophan และ pH นอกจากนี้พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลในทางลบต่อการผลิต IAA คือ mannitol โดยผลการวิเคราะห์กราฟพื้นผิวตอบสนองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต IAA คือการใช้ yeast extract 10 กรัมต่อลิตร, mannitol 10 กรัมต่อลิตร, K_2HPO_4 1 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4$ 0.5 กรัมต่อลิตร, NaCl 1 กรัมต่อลิตร, L-tryptophan 10 กรัมต่อลิตร และ pH 9 โดยสามารถผลิต IAA ได้สูงถึง 113.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ABSTRACT

A total of 23 isolates of *Bacillus* species isolated from alkaline soils at Kanchanaburi research station was studied of plant growth promoting activity for a production of Indole-3-acetic acid (IAA). It was found that *B. endophyticus* P12-12 grew in fermentation medium containing 5 g/L of tryptophan exhibit highest IAA production of 11.3 µg/ml. In addition, mannitol and yeast extract were found to be a most suitable carbon and nitrogen sources for IAA production, respectively. Plackett-Burman design was used for screening of the medium composition which consisted of 7 factors and 2 levels of each factor (-1, +1) such as yeast extract (1, 10 g/L), mannitol (10, 50 g/L), K_2HPO_4 (0.1, 1 g/L), $MgSO_4$ (0.1, 0.5 g/L), NaCl (1,10 g/L), L-tryptophan (1, 10 g/L) and pH (7, 9). Regression analysis revealed that the factors had a positive influence on production of IAA were yeast extract, K_2HPO_4, $MgSO_4$, NaCl, L-tryptophan and pH. Whereas, mannitol was found to has a negative effect on production of IAA. Result of response surface analysis showed that the optimum condition for the production of IAA was as follows: yeast extract 10 g/L, mannitol 10 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, $MgSO_4$ 0.5 g/L, NaCl 1 g/L, L-tryptophan 10 g/L and pH 9. The highest IAA production of 113.5 µg/ml was obtained.

Key words: plant growth promoting bacteria, phytohormone, *Bacillus*, IAA,

* Corresponding author; e-mail address: rdicrr@ku.ac.th

[1]ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Scientific Equipment and Research Division, KURDI, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินด่างบริเวณสถานีวิจัยกาญจนบุรี จำนวน 365 ไอโซเลท โดยใช้อาหาร haloalkaliphile จากผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และจากการวิเคราะห์ลำดับยีน 16S rRNA ระบุว่าเป็นแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus, Teribacillus, Jeotgalicoccus* และ *Staphylococcus* โดยเฉพาะพบจีนัส *Bacillus* มากที่สุด ได้แก่ *Bacillus* sp., *B. licheniformis, B. pumilus, B. subtilis, B. firmus, B. clausii, B. cereus* และ *B. endophyticus* จากผลการวิจัยของจันทร์แรม และคณะ (2559) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวโดยเฉพาะกลุ่ม *Bacillus* สามารถผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนกลุ่มออกซินที่จำเป็นในการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช ทั้งนี้แบคทีเรียกลุ่ม Plant growth promoting bacteria (PGPB) ที่อาศัยอยู่ในดินและรอบรากพืชสามารถผลิต IAA ซึ่งช่วยเพิ่มผลผลิตให้กับพืชที่แบคทีเรียอาศัยอยู่และสร้างสารทุติยภูมิที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตให้พืช (Shokri and Emtiazi 2010a, b) แบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* และ *Paenibacillus* (Idris *et al*., 2007: Kloepper *et al*., 2004) จะผลิตสารควบคุมการเจริญเติบโตให้พืชเช่น IAA, gibberellins และ cytokinins (Bottini *et al*., 2004: Bloemberg and Lugtenberg, 2001) ซึ่ง IAA จะทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการที่สำคัญทางสรีระวิทยา และส่งเสริมให้มีการดูดซึมแร่ธาตุและอาหารจากดิน (Demain, 1998) PGPB มีอยู่หลายสปีซี่ส์และหลายสายพันธุ์ ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Azoarcus, Arthrobacter*, *Azospirillum, Bacillus, Burkholderia, Clostridium, Enterobacter, Gluconacetobacter, Azotobacter, Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* และ *Serratia* (Hurek and Reinhold-Hurek, 2003) แบคทีเรียที่มีการศึกษากันมากคือกลุ่มของ *Bacillus* และ *Pseudomonas* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยในดินรอบรากพืช และแบคทีเรียกลุ่มนี้จัดได้ว่าเป็นปุ๋ยชีวภาพและเป็นเชื้อปฏิปักษ์หรือเป็นได้ทั้งสองอย่างในเวลาเดียวกัน

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรียจีนัส *Bacillus* ที่แยกได้จากดินด่างบริเวณสถานีวิจัยกาญจนบุรี คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เพื่อนำไปใช้เป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เพื่อลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยเคมีและทดแทนการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อแบคทีเรีย

ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 23 ไอโซเลท ที่แยกได้จากดินด่างบริเวณสถานีวิจัยกาญจนบุรี คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA

ทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตฮอร์โมน IAA ของเชื้อกลุ่ม *Bacillus* โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว NB (peptone 5 กรัมต่อลิตร, yeast extract 3 กรัมต่อลิตร, beef extract 1 กรัมต่อลิตร, NaCl 5 กรัมต่อลิตร, pH 7) ที่มีความเข้มข้นของ L-tryptophan ในระดับ 1, 3 และ 5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาวัดปริมาณ IAA ที่เชื้อผลิตขึ้น โดยนำมาทดสอบกับสารละลาย Salkowski reagent (Gordon and Weber, 1951) โดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยสเปกโตรโฟโต

มิเตอร์ คำนวณความเข้มข้นของ IAA โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน คัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิต IAA ปริมาณสูงที่สุดไปทำการทดลองต่อไป

การทดสอบแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม

เลี้ยงเชื้อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวชนิด Yeast extract mannitol medium (YEM) ที่ประกอบด้วย yeast extract 2 กรัมต่อลิตร, L-tryptophan 1 กรัมต่อลิตร, mannitol 2 กรัมต่อลิตร, K_2HPO_4 0.5 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4$ 0.2 กรัมต่อลิตร, NaCl 0.1 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 7.0±0.2 โดยเปรียบเทียบการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้แก่ glucose, sucrose, fructose, glycerol และ mannitol ในปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร

การทดสอบแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

เลี้ยงเชื้อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวชนิด YEM ที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมจากการทดลองข้างต้น และเปรียบเทียบชนิดของแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ KNO_3, NH_4Cl, $(NH_4)_2SO_4$, $NaNO_3$ และ yeast extract ในปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต IAA

การหาสภาวะที่เหมาะสมของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิต IAA ของเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลทที่คัดเลือกด้วยการออกแบบการทดลองโดยใช้ Plackett-Burman โดยทำการศึกษาปัจจัยขององค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อรวมทั้งหมด 7 ปัจจัยๆ ละ 2 ระดับ โดยปัจจัยและระดับที่ทำการทดสอบแสดงดัง Table 1 ทำการทดลองจำนวน 2 ซ้ำ และนำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Design Expert 7.0® (Trial Version) เพื่อวิเคราะห์การถดถอย (Regression analysis) และสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต IAA

Table 1 Experimental range and levels of factor

Factor	Actual level		Coded level	
	Low	High	Low	High
Yeast extract (g/L)	1	10	-1	1
Mannitol (g/L)	10	50	-1	1
K_2HPO_4 (g/L)	0.1	1	-1	1
$MgSO_4$ (g/L)	0.1	0.5	-1	1
NaCl (g/L)	1	10	-1	1
Tryptophan (g/L)	1	10	-1	1
pH	7	9	-1	1

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการผลิต IAA ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 23 ไอโซเลท พบว่า การผลิต IAA ของแบคทีเรียจะแปรผันตามปริมาณของ L-tryptophan ที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อแบคทีเรียทุกไอโซเลทมีการผลิต IAA สูงที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม L-tryptophan 5 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อที่ผลิต IAA สูงที่สุด คือ P12-12 โดยสามารถผลิต IAA ได้สูงที่สุดเท่ากับ 11.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Idris *et al.* (2007) ที่พบว่าการผลิต IAA ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จะเกี่ยวข้องกับการให้ Tryptophan โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* FZB42 จะผลิต IAA เพิ่มขึ้นตามปริมาณของ Tryptophan ที่เพิ่มขึ้น (Swain *et al.*, 2007) ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *B. endophyticus* P12-12 ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถผลิต IAA ได้มากที่สุดไปใช้ในการทดลองต่อไป

Table 2 Effect of different levels of L-tryptophan on IAA production

		L-tryptophan		
		1 g/l	3 g/l	5 g/l
P12-12	*Bacillus endophyticus*	6.9	9.4	11.3
P1-11	*Bacillus cereus*	1.8	6.1	7.4
1-15	*Bacillus firmus*	0.0	4.7	6.2
4-1	*Bacillus pumilus*	0.0	2.5	6.6
P10-25	*Bacillus pumilus*	0.5	3.1	5.9
P3-17	*Bacillus pumilus*	1.5	4.0	5.8
P1-8	*Bacillus pumilus*	1.0	2.9	4.8
P12-14	*Bacillus pumilus*	0.1	2.5	4.5
P3-9	*Bacillus pumilus*	0.7	2.9	4.3
P3-14	*Bacillus pumilus*	0.1	2.6	4.2
P3-10	*Bacillus pumilus*	0.4	2.4	4.1
P1-1	*Bacillus pumilus*	0.2	2.0	3.4
P1-15	*Bacillus pumilus*	0.7	2.5	2.4
P12-2	*Bacillus subtilis*	1.8	3.3	5.0
2-17	*Bacillus subtilis*	0.9	0.9	4.9
2-7	*Bacillus subtilis*	0.3	1.4	4.0
P12-4	*Bacillus subtilis*	0.4	1.9	3.9
P5-15	*Bacillus subtilis*	0.3	2.1	2.1
P7-14	*Bacillus subtilis*	0.5	2.3	2.0
P6-18	*Bacillus licheniformis*	0.9	2.4	4.1
P6-8	*Bacillus licheniformis*	0.6	2.6	4.0
P4-20	*Bacillus licheniformis*	0.1	1.2	3.0
P7-30	*Bacillus licheniformis*	0.0	1.7	1.7

ผลการทดสอบแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม

ผลการศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิต IAA ของเชื้อแบคทีเรีย *B. endophyticus* P12-12 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YEM ที่เติม L-tryptophan 1 กรัมต่อลิตร พบว่า mannitol เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม รองลงมาคือ sucrose, glycerol และ glucose ตามลำดับ ในขณะที่การใช้ fructose เป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าไม่เหมาะสมต่อการผลิต IAA ของเชื้อแบคทีเรีย *B. endophyticus* P12-12 สำหรับแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ yeast extract รองลงมาคือ KNO_3 และเมื่อใช้ NH_4Cl, $(NH_4)_2SO_4$ และ $NaNO_3$ พบว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบสามารถเจริญได้แต่ไม่มีการผลิต IAA (Figure 1)

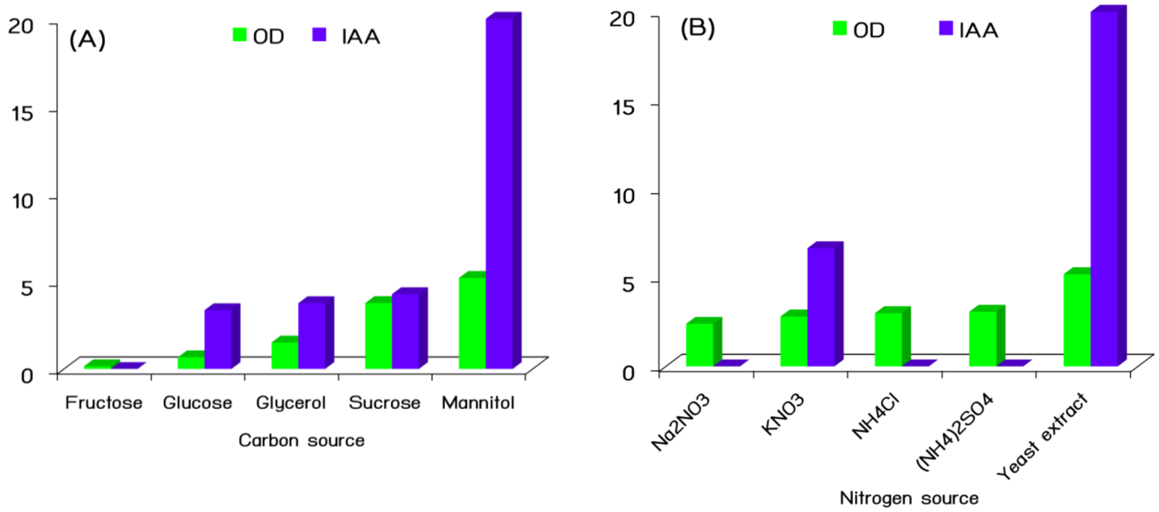


Figure 1 Effect of various carbon sources (A) and nitrogen sources (B) on growth (OD_{600}) and IAA production by *B. endophyticus* P12-12.

ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต IAA

Shokri and Emtiazi (2010b) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิต IAA ในแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนแบบอิสระและแบบพึ่งพาอาศัยกันด้วยวิธี Chromatography และ Colorimetric และการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่ามีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้องมีผลทำให้การผลิต IAA ได้ในปริมาณที่ต่างกัน โดยตัวแปรที่สำคัญคือองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง เช่น แหล่งไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอนซึ่งมีผลต่อการผลิต IAA จากการใช้อาหารทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ NB, LBTD4, YEMB และ TSB พบว่าอาหาร YEMB ให้ปริมาณการผลิต IAA สูงสุด โดยใช้ mannitol และ KNO_3 เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ และมีการเติม L-tryptophan 3 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับผลการศึกษาองค์ประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการผลิต IAA ของเชื้อแบคทีเรีย *B. endophyticus* P12-12 ที่ได้ออกแบบการทดลองแบบ Plackett-Burman ของการศึกษาในครั้งนี้แสดงใน Table 3 ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์กราฟพื้นผิวตอบสนองพบว่า yeast extract, K_2HPO_4, $MgSO_4$, NaCl, L-tryptophan และ pH เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลทางบวกต่อการผลิต IAA ในขณะที่ปัจจัยที่มีอิทธิพลในทางลบต่อการผลิต IAA คือ mannitol โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต IAA ได้แก่ การใช้ yeast extract 10 กรัมต่อลิตร, mannitol 10 กรัมต่อลิตร, K_2HPO_4 1 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4$ 0.5 กรัมต่อลิตร, L-tryptophan 10 กรัมต่อลิตร, NaCl 1 กรัมต่อลิตร และ pH 9 โดยสามารถผลิต IAA ได้สูงถึง 113.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Figure 2)

Table 3 Result of Plackett-Burman for growth(OD_{600}) and IAA production by *B. endophyticus* P12-12

Run	Yeast extract	Mannitol	K_2HPO_4	$MgSO_4$	NaCl	Tryptophan	pH	Response	
								OD_{600}	IAA(µg/ml)
1	1	50	1	0.1	10	10	9	4.2	15.7
2	10	50	0.1	0.1	1	10	7	36.7	31
3	1	10	0.1	0.5	1	10	9	5.8	41.1
4	1	50	0.1	0.5	10	1	9	4.2	5.6
5	10	10	1	0.5	1	10	9	19.2	113.5
6	1	10	1	0.1	10	10	7	37.2	22.1
7	10	50	1	0.1	1	1	9	43	0
8	10	50	0.1	0.5	10	10	7	36.7	31.1
9	5.5	30	0.55	0.3	5.5	5.5	8	19.1	33
10	1	50	1	0.5	1	1	7	4.9	0
11	10	10	1	0.5	10	1	7	16.1	59.4
12	1	10	0.1	0.1	1	1	7	16.1	0
13	10	10	0.1	0.1	10	1	9	16.1	70.6

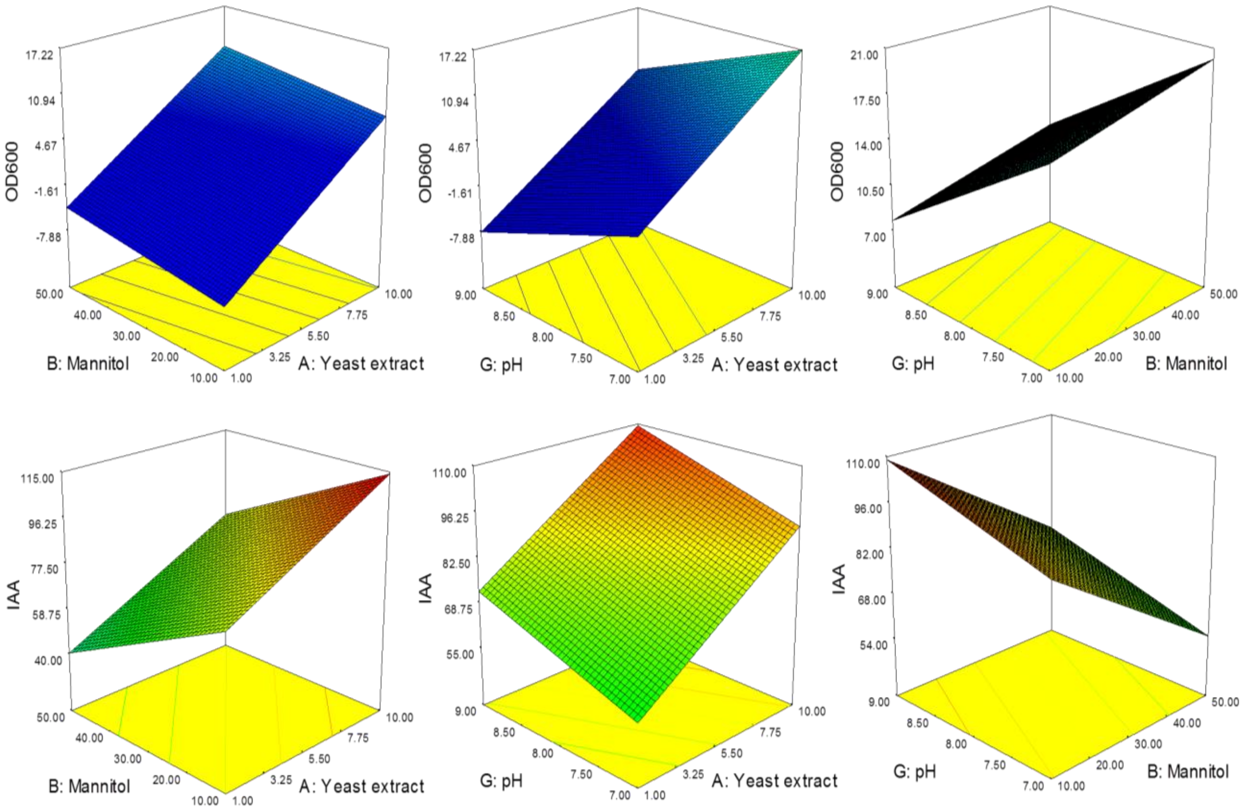


Figure 2 Response surface showing the effect of mannitol, yeast extract and pH on growth (OD_{600}) and IAA production by *B. endophyticus* P12-12.

สมการอธิบายการเจริญ (OD_{600}) และการผลิต IAA ของเชื้อ *B. endophyticus* P12-12 ที่ได้จากการวิเคราะห์การถดถอย แสดงดังสมการต่อไปนี้

OD_{600} = 49.14 + 1.76*Yeast extract + 0.08*Mannitol + 1.67*K_2HPO_4 - 27.67*$MgSO_4$ - 0.21*NaCl + 0.73*Tryptophan - 4.60*pH

IAA (µg/ml) = - 61.79 + 4.09*Yeast extract - 0.93*Mannitol + 5.79*K_2HPO_4 + 46.37*$MgSO_4$ + 0.35*NaCl + 2.20*Tryptophan + 8.57*pH

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต IAA ของเชื้อแบคทีเรีย *B. endophyticus* P12-12 จากเดิมที่ผลิตได้เท่ากับ 11.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยภายหลังการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมพบว่าเชื้อทดสอบสามารถผลิต IAA ได้เพิ่มขึ้นเท่ากับ 113.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง สำหรับการวิจัยต่อไปจะทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระดับแปลงปลูก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จันทร์แรม รูปขำ, สาวิตร ตระกูลน่าเลื่อมใส, ธนภูมิ มณีบุญ, ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม และน้ำผึ้ง อนุกูล. 2559. **การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียกลุ่มที่ชอบเกลือและพีเอชเป็นด่างที่แยกได้จากดินด่างบริเวณสถานีวิจัยกาญจนบุรีในการเป็นเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช**, 159-166. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54 (สาขาวิทยาศาสตร์).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Bloemberg, G. V. and B. F.J. Lugtenberg. 2001. Molecular Basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Curr. Opin. Plant Biol.** 4: 343–350

Bottini, R, F. Cassan and P. Picolli. 2004. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion. **Appl. Microbiol. Biotechno.l** 65: 497–503

Demain, A. I. 1998. Induction of microbial secondary metabolism. **Int. Microbiol.** 1: 256-264.

Godon, S. A. and R. P. Weber. 1951. Colorimetric estimation of indole acetic acid. **Plant. Physiol.** 26: 192-195.

Hurek, T. and B. Reinhold-Hurek. 2003. *Azoarcus* spp. strains BH72 as a model for nitrogen fixing grass endophytes. **J. Biotechnol.** 106: 169.

Idris E. E. S, D. J. Iglesias, M. Talon and R. Borriss. 2007. Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. **Mol. Plant Microbe. Interact.** 20: 619–626

Kloepper, J. W., C. M. Ryu, and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. **Phytopathology**. 94:1259-1266.

Shokri D. and G. Emtiazi. 2010a. Ammonium production during the nitrogen-fixing process by wild *Paenibacillus* strains and cell free extract adsorbed on nano TiO_2 particles. **J. Microbiol Biotechnol**. 20(2): 1251-1258

______________________. 2010b. Indole-3-acetic (IAA) production in symbiotic and non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria and its optimization by Taguchi design. **Curr. Microbiol.** 61(3):217-225

Swain M. R., S. K. Naskar and R. C. Ray. 2007. Indole-3-acetic acid production and effect on sprouting of Yam (*Dioscorea rotundata* L.) Minisetts by *Bacillus subtilis* isolated from culturable cowdung microflora. **Pol. J. Microbiol**. 56(2): 103-110.

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน *Parmotrema* sp.

Screening for antibacterial activities of lichen-associated bacteria isolated from *Parmotrema* sp.

วัชราภรณ์ พันชัย[1] สุรีย์พร เจรียงประเสริฐ[1] ปิยะนุช เนียมทรัพย์[1] และ **ศรีกาญจนา คล้ายเรือง**[1*]

Watcharaporn Panchai[1], Sureeporn Jariangprasert[1] , Piyanuch Niamsup[1] and Srikanjana Klayraung[1*]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโร[1]คของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนจีนัส *Parmotrema* sp. โดยแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนได้ทั้งสิ้น 50 ไอโซเลต จากไลเคน 6 ตัวอย่าง นำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเบื้องต้นต่อแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี spot on lawn พบว่ามีแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนจำนวน 10 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ และเมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเซลล์มาทดสอบกิจกรรมการยับยั้ง ด้วยวิธี Agar well diffusion assay พบว่า มีแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* จำนวน 3 ไอโซเลต ที่แสดงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* จากลำดับเบสของยีน 16S rRNA แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนจำนวน 9 ไอโซเลต จัดอยู่ในจีนัส *Bacillus* ประกอบด้วย *B. velezensis,B. pumilus, B. safensis, B. invictae* และ *B. megaterium* ส่วนอีก 1 ไอโซเลต จำแนกเป็น *Lysinibacillus fusiformis*

ABSTRACT

The objective of this study was to screen for the antibacterial activities against pathogenic bacteria of lichen-associated bacteria isolated from *Parmotrema* sp. Total of fifty bacterial isolates were obtained from six lichen samples. Their antibacterial activity against *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* was preliminary performed by the spot on lawn method. It was found that ten isolates exhibited the antagonistic activity against *S. aureus*. Cell free supernatant of these bacteria were then investigated the antibacterial activity by agar well diffusion method. Only three isolates of genus *Bacillus* expressed the inhibitory effect on *S. aureus* growth. According to 16S rRNA base sequencing, nine isolates of lichen-associated bacteria were characterized into the genus *Bacillus* comprising of *B. velezensis, B. pumilus, B. safensis, B. invictae* and *B. megaterium* and another isolate was identified as *Lysinibacillus fusiformis*.

Key Words: lichen, lichen-associated bacteria, antibacterial activity

* Corresponding author; e-mail address: **s.klayaraung@gmail.com**

---

[1] สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1] Division of Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiangmai 50290

คำนำ

ไลเคน (Lichen) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่สามารถเจริญเติบโตอยู่บนพื้นที่เกาะอาศัย (substrate) ในธรรมชาติได้อย่างหลากหลาย เกิดจากการอยู่ร่วมกัน (symbiosis) ของรา (fungi) และสาหร่ายสีเขียว (green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) (ขวัญเรือน, 2558) นอกจากสิ่งมีชีวิต 2 กลุ่มนี้ในโครงสร้างของไลเคนยังมีรายงานการพบแบคทีเรียที่อยู่ร่วมด้วยในกลุ่มของ Acetobacteriaceae, Acidobacteriaceae และ Alphaproteobacteria ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Hodkinson and Lutzuni, 2009; Selbmann et al., 2010) สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกมีรายงานการตรวจพบแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนในกลุ่มของ *Bacillus*, *Paenibacillus* และ *Lysinibacillus* เป็นต้น (Selbmann et al., 2010; Ge et al., 2015) รวมทั้งมีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าว เช่น ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ*Pseudomonas aeruginosa* (Kim et al., 2013; Kim et al., 2014) ซึ่งในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ โดยเฉพาะใน อำเภอเชียงดาว ซึ่งมีอากาศเย็น และมีการปลูกต้นยางพารากันอย่างกว้างขวางสามารถพบไลเคนบนต้นยางพาราในปริมาณมาก ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นแหล่งที่มีปริมาณมากพอที่สามารถนำมาแยกแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนสกุล *Parmotrema* sp. จากสวนยางพาราใน อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ และทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของแบคทีเรียดังกล่าว โดยหวังว่าจะเป็นแหล่งจุลินทรีย์ใหม่เพื่อใช้ประโยชน์ในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน

เก็บตัวอย่างไลเคนในสกุล *Parmotrema* sp. จากสวนยางพารา ในอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งอาศัยข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบปฏิกิริยาทางเคมีเบื้องต้น (สุรีย์พร, 2557) ในการแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนทำโดยนำไลเคนมาล้างด้วยน้ำประปาแบบไหลผ่าน แช่ไว้ 10 นาที จากนั้นฟอกด้วยวิธีการที่ดัดแปลงจาก Selbmann และคณะ (2010) โดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85% (0.85% NaCl) 3 ครั้ง นำ 0.85% NaCl ที่ล้างไลเคนครั้งสุดท้าย มา Spread บนอาหาร Nutrient Agar (NA) เพื่อยืนยันการฆ่าเชื้อพื้นผิว จากนั้นนำชิ้นส่วนของไลเคนที่ผ่านการล้างมาบดในโกร่งบดให้ละเอียด เจือจางไลเคนด้วย 0.85% NaCl ให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม นำมา Spread บนอาหาร NA, King’s medium B agar (KB), Tryptic Soy Agar (TSA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวมาทำให้บริสุทธิ์โดยการ Streak ลงบนอาหาร เก็บเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ใน TSA slant ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บใน glycerol ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli* DMST 4212, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* DMST 8840 และ *Listeria monocytogenes* DMST 17303

2.1 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี Spot on lawn method

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากไลเคนมาเลี้ยงในอาหาร Nutrient broth (NB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร Brain Heart Infusion broth (BHI) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมาปรับปริมาณของเชื้อด้วย 0.85% NaCl วัดความขุ่นความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าความขุ่น 0.10 จากนั้นนำมา Swab บนอาหาร Nutrient agar (NA) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที นำเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนที่เตรียมไว้ข้างต้น ปริมาตร 2 ไมโครลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหาร NA ที่มีเชื้อแบคทีเรียก่อโรค จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สังเกตการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค จากการเกิดบริเวณใส (clear zone) รอบๆ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียจากไลเคนที่เจริญ

2.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยวิธี Agar well diffusion

นำเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเมื่อทดสอบด้วยวิธี spot on lawn มาเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที นำส่วนใสมากรองผ่านเมมเบรนปลอดเชื้อขนาด 0.22 ไมครอน เตรียมเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบนอาหาร NA ด้วยวิธีเดียวกับในข้อ 2.1 และเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นหลุมด้วย Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วนำส่วนใสที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมลงในหลุมที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการยับยั้งที่เกิดขึ้นจากการเกิดบริเวณใส และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสที่เกิดขึ้นโดยรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุม

3. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนโดยเทคนิคอณูชีววิทยา

นำเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนที่บริสุทธิ์เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BHI แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แยกเซลล์แบคทีเรียออกจากอาหาร BHI โดยการนำไปปั่นเหวี่ยง 10000 รอบ/นาที นาน 5 นาที ใช้ตะกอนเซลล์แบคทีเรียมาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Genomic DNA Mini Kit (Geneaid, Taiwan) จากนั้นนำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) ด้วยเครื่อง PCR Mastercycler Cycler-25 (Major Science, USA โดยใช้ primer คือ 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') และ 1522R (5'-AAGGAGGTGATCCRCCGCA-3') (Integrated DNA Technologies, Singapore) จากนั้นตรวจสอบ PCR product ด้วย agarose gel electrophoresis จากนั้นนำ PCR product ของชิ้นส่วน 16S rRNA ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุด GEL/PCR DNA Fragments Extraction Kit (RBC Bioscience, Taiwan) ส่งไปหาลำดับเบส ที่ FirstBASE Laboratories ณ ประเทศมาเลเซีย และนำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล โดยใช้โปรแกรม BLAST ของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อระบุสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน และการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย

ผลของการแยกแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนจากสวนยางพาราในอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียจากไลเคนได้จำนวน 50 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อน 47 ไอโซเลต และแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อน 3 ไอโซเลต

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนจากสวนยางพาราในอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 50 ไอโซเลตในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 4 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี spot on lawn บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA พบว่าแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนจำนวน 10 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยตรวจพบการเกิดบริเวณยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย มีค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนความกว้างของบริเวณใสต่อโคโลนีอยู่ในช่วง 1.46-2.49 (**Table 1**) อย่างไรก็ตามเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากไลเคนไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *E.coli*, *L. monocytogenes* และ *P. aeruginosa* ซึ่งแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* อยู่ในจีนัส *Bacillus* จำนวน 9 ไอโซเลต และ *Lysinibacillus* จำนวน 1 ไอโซเลต (**Table 2**) โดยเป็นเชื้อ *Bacillus* ที่สามารถระบุว่าอยู่ในสปีชีส์ *B. velezensis*, *B. pumilus*, *B. safensis*, *B. invictae* และ *B. megaterium*

Table 1 Inhibitory effects on *S. aureus* of lichen-associated bacteria according to spot on lawn assay

Bacterial isolate	Ratio of diameter of inhibition zone to diameter of colony
LC43	1.7 ± 0.2
LC70	1.5 ± 0.5
LC83	1.6 ± 0.2
LC97	2.1 ± 0.4
LC98	2.2 ± 0.5
LC101	1.8 ± 0.3
LC102	2.5 ± 0.1
LC105	2.1 ± 0.0
LC107	1.5 ± 0.1
LC114	1.9 ± 0.6

*mean ± SD; - = no inhibition zone

จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคจากการทดสอบด้วยวิธี spot on lawn มาทดสอบต่อด้วยด้วยวิธี agar well diffusion โดยใช้น้ำเลี้ยงปราศจากเซลล์ ที่เพาะเลี้ยงนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่ามีน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Bacillus* sp. LC43, *Bacillus pumilus* LC97 และ *Bacillus safensis* LC98 ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ โดยมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 8.10-11.65 มิลลิเมตร (**Table 3**) โดยเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคมากที่สุด

คือ *Bacillus* sp. LC43 ที่เวลา 72 ชั่วโมงซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ระหว่าง 10.92-11.65 มิลลิเมตร

Table 2 Identification of lichen-associated bacteria by 16S rRNA genes

Bacterial isolate	Most related sequence	Size (bp)	Accession no.	%Homology
LC43	*Bacillus* sp.	1075	KP119610	99%
LC70	*Bacillus velezensis*	1175	KX673635	99%
LC83	*Bacillus pumilus*	1180	KR010180	99%
LC97	*Bacillus pumilus*	1180	CP012330	99%
LC98	*Bacillus safensis*	1180	JF411308	99%
LC101	*Bacillus pumilus*	1180	KX426046	100%
LC102	*Lysinibacillus fusiformis*	1180	KR055033	100%
LC105	*Bacillus safensis*	1180	KX694275	99%
LC107	*Bacillus invictae*	1180	KT719707	100%
LC114	*Bacillus megaterium*	1180	KX350034	99%

Table 3 Antibacterial activity against *S.aureus* of cell free supernatant of lichen-associated bacteria by agar well diffusion method

Bacteria	Diameter of inhibition zone (mm)*		
	24 h	48 h	72 h
Bacillus sp. LC43	-	8.4 ± 0.7	11.4 ± 0.4
Bacillus sp. LC97	-	-	8.7 ± 0.8
Bacillus pumilus LC98	-	8.3 ± 0.2	-

*mean ± SD; - = no inhibition zone

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน *Parmotrema* sp. ที่เจริญบนต้นยางพารา พบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งจากงานวิจัยเกี่ยวกับแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไล เคนที่มีมาก่อนหน้านี้ มีรายงานการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Pseudomonas, Burkholderia, Sphingomonas* และแบคทีเรียในกลุ่ม Proteobacteria อื่นๆ ทั้งจากงานวิจัยที่มีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และงานวิจัยที่ใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา (Selbmann et al., 2010; Kim et al., 2014; Sigurbjörndóttir et al., 2016) สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรายงานการศึกษาอย่างละเอียด คือ จากงานวิจัยของ Ge et al.(2015) ซึ่งได้ศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียแกรมบวกในกลุ่มที่มีความสัมพันธ์กับ *Bacillus* พบเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus, Paenibacillus, Brevibacillus, Lysinibacillus* และ *Viridibacillus* อยู่ที่พื้นผิว และภายในไลเคนที่เก็บจากเทือกเขา Wuyi ในประเทศจีน

ส่วนฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนในงานวิจัยนี้พบว่าจากขั้นตอนการทดสอบเบื้องต้นด้วยวิธี spot on lawn พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ยับยั้งได้อยู่ในสกุล *Bacillus* และ *Lysinibacillus* โดยยับยั้งได้เฉพาะ *S. aureus* เท่านั้น ซึ่งจากรายงานการวิจัยที่พบก่อนหน้ามีเพียงงานวิจัยของ Kim et al. (2014) ที่รายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน พบว่าสารสกัดจาก *Sphingomonas* และ *Burkholderia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียลบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* และ *Escherichia coli* ได้ด้วย สำหรับฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* นั้น จากรายงานของ Sanders และคณะ (2003) พบว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะในกลุ่มของเพปไทด์ได้หลากหลายชนิดซึ่งจัดว่าเป็นสารทุติยภูมิที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้น มีฤทธิ์กว้างในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้ที่น้ำเลี้ยงเชื้ออายุ 48-72 ชั่วโมง ที่มีฤทธิ์ยับยั้งได้ดี แต่ยับยั้งได้เฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมคือ *S. aureus* เท่านั้น

จากผลการทดลองในส่วนของการทดสอบด้วยวิธี spot on lawn เมื่อเทียบกับ agar well diffusion จะเห็นได้ว่ามีแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนเพียง 3 ไอโซเลตเท่านั้นที่น้ำเลี้ยงเชื้อที่ยังคงแสดงฤทธิ์การยับยั้ง *S. aureus* อยู่ ในประเด็นนี้จากงานวิจัยของ Ramírez et al. (2015) ได้วิเคราะห์ไว้ว่า rhizobacteria จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ดีเมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture แต่เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อ rhizobacteria มาทดสอบฤทธิ์กลับลดลง หรือหายไปเช่นกัน เนื่องจากในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลวในลักษณะของ axenic culture เชื้อแบคทีเรียไม่ได้อยู่ในสภาวะแข่งขันกับสิ่งมีชีวิตอื่นจึงทำให้ไม่มีความจำเป็นในการผลิตสารเมแทบอไลท์ นั้นออกมา

สรุป

แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน *Parmotrema* sp. มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ โดยมี 3 ไอโซเลตในสกุลของ *Bacillus* ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากการทดสอบทั้ง 2 วิธี ทั้งนี้จะต้องมีการศึกษาในรายละเอียดของกลไก และปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในการผลิตสารออกฤทธิ์ดังกล่าว จึงถือได้ว่าไลเคนเป็นแหล่งทรัพยากรจุลินทรีย์ที่สำคัญที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เภสัชกรรม และอุตสาหกรรมได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนวิจัย (มจ.1-59-071)

เอกสารอ้างอิง

ขวัญเรือน นาคสุวรรณ์กุล. 2558. อนุกรมวิธานของไลเคน. บริษัท ศิริภัณฑ์ (2497) จำกัด, ขอนแก่น.

สุรีย์พร เจรียงประเสริฐ. 2557. ไลเคนเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

Ge, C., B. Liu, J. Che, M. Chen, G. Liu, G. and J. Wei, J. 2015. Diversity of *Bacillus* species inhabiting on the surface and endophyte of lichens collected from Wuyi Mountain. **Wei Sheng Wu Xue Bao** 55: 551-563.

Hodkinson, B. P. and F. Lutzoni. 2009. A microbiotic survey of lichen-associated bacteria reveals a new lineage from the Rhizobiales. **Symbiosis** 49: 163-180.

Kim, M.K., H. Park and T.J. Oh. 2013. Antimicrobial properties of the bacterial associates of the Arctic lichen *Stereocaulon* sp. **African Journal of Microbiology Research**, 7: 3651-3657.

Kim, M.K., H. Park and T.J. Oh. 2014. Antibacterial and antioxidant capacity of polar microorganisms isolated from Arctic lichen *Ochrolechia* sp. **Polish Journal of Microbiology** *63*: 317-322.

Ramírez, R., M. Arias, J. David, J.C. Bedoya, L. Rueda, E. Antoni and S. David. 2015. Metabolites produced by antagonistic microbes inhibit the principal avocado pathogens *in vitro*. **Agronoma Colombiana** 33: 58-63.

Sanders, M., L. Morelli and T. Tompkins. 2003. Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** *2*: 101-110.

Selbmann, L., L. Zucconi, S. Ruisi, M. Grube, M. Cardinale and S.Onofri, S. 2010. Culturable bacteria associated with Antarctic lichens: affiliation and psychrotolerance. **Polar Biology**, 33: 71-83.

Sigurbjörnsdóttir, M. A., Ó. S. Andrésson, M. Grube and O. Vilhelmsson. 2016. Nutrient scavenging activity and antagonistic factors of non-photobiont lichen-associated bacteria: a review. **World Journal of Microbiology Biotechnology** 32: doi: 10.1007/s11274-016-2019-2.

Screening of Green Algae Isolated from Natural Water Sources in Thailand for H_2 Production

Amornrat Puangplub[1], Aran Incharoensakdi[2] and Saranya Phunpruch[1,3*]

ABSTRACT

H_2 photoproduction by green algae is one of the clean alternative interesting energy carriers. Green algae can produce H_2 via a photosynthetic process using sunlight as an energy source and by a storage carbohydrate catabolism. This study aimed to screen for the potential H_2 producing green algae isolated from natural water sources in Thailand. The result showed that among 24 green algal strains, unicellular green alga *Chlorella* sp. LSD-W2 showed the highest H_2 production rate with 0.722 ± 0.028 mL L^{-1} h^{-1} under N-deprivation. During cultivation in a 120 mL glass bottle, *Chlorella* sp. LSD-W2 was rapidly grown in Tris-Acetate-Phosphate (TAP) medium and reached the late logarithmic phase after 36 h of cultivation. The highest H_2 production rate with 0.825 ± 0.005 mL L^{-1} h^{-1} was found in 36-h grown cells incubated TAP-N medium in a 120 mL glass bottle under a continuous illumination for 24 h.

Key words: Hydrogen production, Green algae, *Chlorella*

* Corresponding author; e-mail address: saranya.ph@kmitl.ac.th

[1]Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand

[2]Laboratory of Cyanobacterial Biotechnology, Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

[3]Bioenergy Research Unit, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

INTRODUCTION

Hydrogen (H_2) is a significant energy carrier for the future because during combustion it provides higher energy content than hydrocarbon fuels and produces heat and water as products. Photobiological H_2 production by green algae is very interesting because they can use solar energy and water to produce H_2 via photosynthesis. Moreover, they can grow under photoautotrophic and photoheterotrophic condition. In green algae H_2 is generated by [FeFe]-hydrogenase which obtains electrons mainly from water splitting by photosystem II (PSII). However, this enzyme is very sensitive to O_2 generated by water splitting. In addition, H_2 in green algae can be produced from electrons derived from the carbohydrate catabolism.

H_2 production in green algae is dependent on the type of strains, physiological parameters and nutrient compositions. It has been reported that S-deprivation can increase the H_2 evolution in many green algal species (Melis *et al.,* 2000). In addition, the deprivation of other macroelements such as nitrogen and phosphorous also stimulate H_2 production (Philipps *et al.,* 2012). The present study aimed to screen for high H_2 producing green microalgal strains isolated from natural water sources in Thailand under the photoheterotrophic cultivation. Factors affecting H_2 production by the selected high H_2 producing strain such as growth period, cell age and a combination of nutrient deprivation were investigated.

MATERIALS AND METHODS

1. Green algal strains and cultivation condition

Twenty-four green algal strains were isolated from natural water sources in Thailand. They were purified and subsequently genetically identified by 18S rDNA sequencing analysis. All algal strains were grown in a 250 mL Erlenmeyer flask containing 100 mL of Tris-acetate-phosphate (TAP) medium (Harris, 1989). The initial cell concentration was adjusted to approximate OD_{750} value of 0.100. Cells were cultivated with a shaking speed of 120 rpm under a continuous light intensity of 30 μmol photons m^{-2} s^{-1} at 30 ^{o}C.

2. Screening for H_2 producing green microalgae

The green algal cells cultivated as previously described were harvested by centrifugation at 8,000xg at 4 ^{o}C for 10 min. The cell pellet was washed twice, resuspended in 5 mL of TAP, TAP-N (N-deprived TAP medium) and TAP-S medium (S-deprived TAP medium) and then transferred into a 10 mL glass vial. The vial was sealed with a rubber stopper and purged with argon gas for 10 min to remove O_2 from a glass vial. The cell culture was incubated under a light intensity of 30 μmol photons m^{-2} s^{-1} at 30 ^{o}C for 2 h before analyzing H_2 production.

3. Hydrogen measurement

H_2 evolution was determined by analyzing a gas phase using Gas Chromatograph (Hewlett-Packard HP5890A, Japan) with a molecular sieve 5 °A 60/80 mesh packed column and a thermal conductivity detector. Argon gas was used as a carrier gas. The GC condition was performed according to Taikhao *et al.* (2013). Three replicates were used for each treatment.

4. Effect of cell age on growth and H_2 production in a bottle scale

The high H_2-producing green algal strain was grown in a 120 mL glass bottle containing 90 mL of TAP medium. It was stirred at a speed of 250 rpm in the light at 30 °C. Growth by OD_{750} measurement was determined. H_2 production by cell cultures grown for 18, 36, 54 and 72 h was determined.

5. Effect of nutrient deprivation on H_2 production in a bottle scale

The high H_2-producing green algal strain was grown in a 120 mL glass bottle containing 90 mL of TAP medium for 36 h. Cells were harvested by centrifugation, washed twice and resuspended in N-, S- and P-deprived medium. The cell suspension was transferred to a 120 mL glass bottle, incubated in the light for 24 h and purged with argon for 10 min. The N-deprived TAP medium was prepared by a removal of NH_4Cl from TAP medium. The S-deprived TAP medium was obtained by adding $MgCl_2$, $FeCl_2$, $ZnCl_2$ and $CuCl_2$ instead of $MgSO_4$, $FeSO_4$, $ZnSO_4$ and $CuSO_4$ with the same molar concentration of Mg^{2+}, Fe^{2+}, Zn^{2+} and Cu^{2+} in TAP medium. The P-deprived TAP medium was obtained by adding KCl instead of KH_2PO_4 and K_2HPO_4 with the same molar concentration of K^+.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Screening for high H_2 producing green algal strains

Twenty-four green algal strains isolated from natural water sources in Thailand were cultivated in TAP medium before harvesting by centrifugation. The cell pellet was resuspended in TAP, TAP-N and TAP-S medium. The suspension culture was incubated under light anaerobic condition for 2 h before determination of H_2 production. The result showed that H_2 could be detected in 20 from a total of 24 green algal strains, consisting of Genus *Chlorella*, *Coelastella*, *Coelastrum*, *Micractinium, Neochloris*, *Scenedesmus*, *Tetrachlorella* and *Tetraspora* (Table 1). Among them, the unicellular *Chlorella* sp. LSD-W2 showed the highest H_2 production rate with 0.722 ± 0.028 mL L^{-1} h^{-1} or 5.392 ± 0.211 µmolH_2 mg chl^{-1} h^{-1} when cells were incubated in TAP-N medium (Table 1). This rate was approximately 2.4 times and 1.6 times higher than that of cells incubated in TAP medium and TAP-S medium, respectively.

Table 1 H_2 production rate by green algal strains isolated from natural water sources in Thailand. They were incubated in TAP, N-deprived TAP (TAP-N) and S-deprived TAP medium (TAP-S).

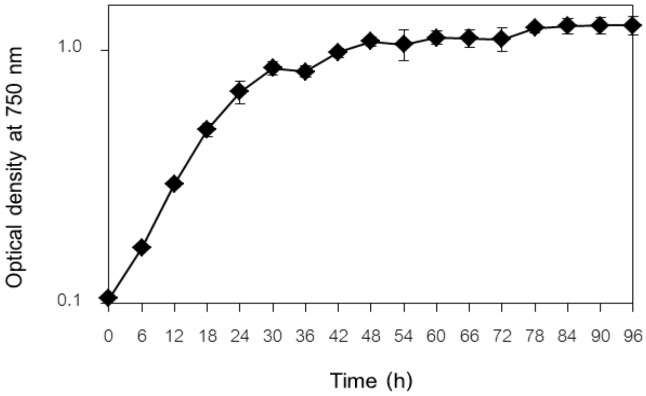
Strains	Origin	Hydrogen production rate ($mLH_2\ L^{-1}\ h^{-1}$)		
		TAP	TAP-N	TAP-S
Chlorella sp. 1SinS1.1	Singburi	0.152 ± 0.015	0.087 ± 0.003	0.122 ± 0.005
Chlorella sp. 2TKS2.1	Takhli, Nakhon Sawan	0.175 ± 0.016	0.107 ± 0.003	0.357 ± 0.019
Chlorella sp. 2TKS2.2	Takhli, Nakhon Sawan	0.089 ± 0.003	0.103 ± 0.016	0.089 ± 0.003
Chlorella sp. 2SinS4	Singburi	0.478 ± 0.036	0.576 ± 0.034	0.503 ± 0.008
Chlorella sp. 8260	Bangkok	0.415 ± 0.023	0.618 ± 0.052	0.490 ± 0.015
Chlorella sp. ChiS4	Chai Nat	0.176 ± 0.017	0.077 ± 0.007	0.098 ± 0.005
Chlorella sp. ChiW1	Chai Nat	0.457 ± 0.018	0.636 ± 0.000	0.402 ± 0.026
Chlorella sp. CirGreen	KMITL, Bangkok	0.546 ± 0.034	0.635 ± 0.043	0.568 ± 0.041
Chlorella sp. LSD-W2	Laemsadet, Chanthaburi	0.299 ± 0.030	0.722 ± 0.028	0.446 ± 0.087
Chlorella sp. NakS4	Nakhon Sawan	0.190 ± 0.023	0.379 ± 0.021	0.297 ± 0.045
Coelastella sp. CH	KMITL, Bangkok	0.138 ± 0.012	0.234 ± 0.012	0.187 ± 0.018
Coelastrum sp. 8562	KMITL, Bangkok	n.d.	n.d.	n.d.
Coelastrum sp. 8568	Nong Chok, Bangkok	0.527 ± 0.023	0.699 ± 0.032	0.638 ± 0.031
Coelastrum sp. SD	KMITL, Bangkok	0.019 ± 0.004	0.003 ± 0.000	0.004 ± 0.000
Micractinium sp. A25.1	Chai Nat	0.408 ± 0.040	0.693 ± 0.015	0.452 ± 0.033
Monoraphidium sp. 8553	Ladkrabang, Bangkok	n.d.	n.d.	n.d.
Neochloris sp. 8412	Don Mueang, Bangkok	n.d.	n.d.	n.d.
Neochloris sp. 2C2	KMITL, Bangkok	0.005 ± 0.000	0.039 ± 0.004	0.003 ± 0.000
Scenedesmus sp. 8641	Pak Kert, Nonthaburi	0.021 ± 0.008	0.022 ± 0.001	0.027 ± 0.003
Scenedesmus sp. B35.1	Maha Sarakham	0.120 ± 0.005	0.114 ± 0.017	0.100 ± 0.008
Scenedesmus sp. L	KMITL, Bangkok	n.d.	n.d.	n.d.
Scenedesmus sp. OVG	KMITL, Bangkok	0.296 ± 0.054	0.335 ± 0.034	0.340 ± 0.017
Tetrachlorella sp. 8486	Samut Prakan	0.130 ± 0.011	0.240 ± 0.040	0.140 ± 0.004
Tetraspora sp. TT	Pathum Thani	0.328 ± 0.023	0.381 ± 0.009	0.291 ± 0.037

n.d.; not detected

Chlorella sp. LSD-W2 was originally isolated from seawater in Laemsadet, Chanthaburi province, Thailand and genetically identified as *Chlorella* by 18S rDNA sequence analysis according to Tinpranee *et al.* (2016). Under a light microscope, it has a round shape with a cell diameter of about 5 µm. Under N-deprivation, *Chlorella* sp. LSD-W2 gave the highest H_2 production rate. It could be explained that lack of nitrogen in medium led to a decline in PSII activity in *Chlorella* sp. LSD-W2, and subsequently resulting in a reduction of photosynthetic oxygen evolution. When O_2 evolution was decreased, the O_2-sensitive hydrogenase enzyme increased its activity, leading to higher H_2 production rate. Our result was similar to the result of *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris* TISTR 8261 which showed the maximum hydrogen production rate with 2.6 µmolH_2 mg chl^{-1} h^{-1} when grown cells in 87 mM sodium acetate containing TAP medium (Rattana *et al.*, 2009).

2. Growth and H_2 production of *Chlorella* sp. LSD-W2 during photoheterotrophic cultivation in a bottle scale

Chlorella sp. LSD-W2 was grown in a 120 mL glass bottle containing 90 mL of TAP medium with a magnetic stirring, under a continuous light intensity of 30 µmol photons m^{-2} s^{-1} for 4 days (Figure 1(A)). Growth by OD_{750} was determined every 6 h of cultivation. It was found that *Chlorella* sp. LSD-W2 showed a high growth rate during first 30 h of cultivation and reached the late logarithmic phase and stationary phase after 36 and 54 h of cultivation (Figure 1(B)).



(A) (B)

Figure 1 Cultivation of green alga *Chlorella* sp. LSD-W2 in a 120 mL bottle (A). Growth by OD_{750} measurement of *Chlorella* sp. LSD-W2 cultivated in TAP medium for 96 h (B).

To determine the effect of cell age on H_2 production, cells grown in TAP medium for 18, 36, 54 and 72 h were harvested by centrifugation, washed twice and resuspended in TAP-N medium. Cells were transferred to a 120 mL glass bottle, incubated in the light for 24 h and purged with argon. The result showed that *Chlorella* sp. LSD-W2 grown for 36 h exhibited the highest H_2 production rate with 0.824 ± 0.037 mL L^{-1} h^{-1} compared to cells grown for 54, 72 and 18 h, respectively (Figure 2). Cells grown for 18 h or cells in the logarithmic phase could use nutrients in medium and intracellular reducing powers for their growth and cell division. Therefore, there were no enough reducing powers for H_2 production. During the late logarithmic phase, the highest photosynthetic capacity, accumulation of starch and availability of reducing powers was occurred. These brought about an increase of electrons and protons used for H_2 production. After entering the stationary phase cells began to die because of nutrient limitation, leading to the reduction of chlorophyll and starch concentrations. Therefore, electrons used for H_2 evolution were decreased. The highest H_2 production by cells at the late logarithmic phase was shown as previously reported in several green algae such as *Scenedesmus* sp. KMITL-01(Rattana *et al*., 2010) and *Chlorella* sp. (Song *et al*., 2011).

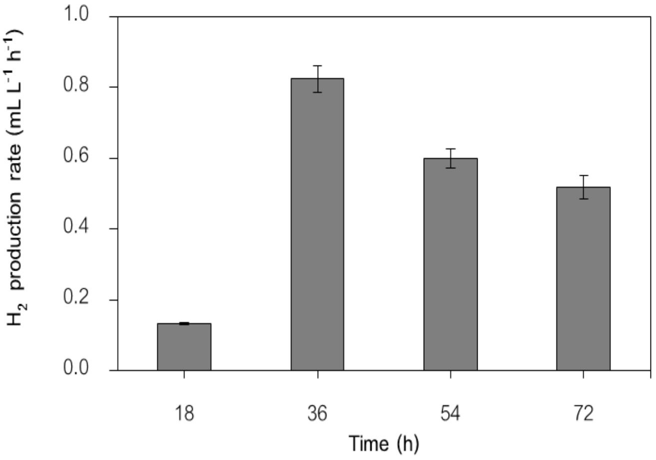


Figure 2 H_2 production rate by *Chlorella* sp. LSD-W2 with different cell ages.

3. Effect of nutrient deprivation on H_2 production by *Chlorella* sp. LSD-W2 in a bottle scale

Chlorella sp. LSD-W2 grown in a 120 mL glass bottle was harvested by centrifugation, washed twice and resuspended in TAP, TAP-N, TAP-S, TAP-P, TAP-N-S, TAP-N-P, TAP-S-P and TAP-N-S-P medium. Cells were transferred to a glass bottle, incubated for 24 h and purged with argon before H_2 production analysis. It was shown that nitrogen starvation significantly induced H_2 production rate by *Chlorella* sp. LSD-W2. The highest H_2 production rate with 0.825 ± 0.005 mL L^{-1} h^{-1} was found in cells incubated in TAP-N medium, followed by the rate of cells incubated in TAP-N-P, TAP-N-S-P, TAP-P and TAP-N-S medium, respectively (Figure 3), indicating the influence of nitrogen starvation on H_2 metabolism. In general, N-starvation is a serious stress condition for green algae because nitrogen is a major component of proteins and nucleic acids. Under N-starvation, cells could generate high yield of H_2 because it affected PSII photochemical activity resulting in a reduction of photosynthetic O_2 evolution. In *Chlamynomonas reinhardtii* N-deprivation stimulated higher starch accumulation than S-deprivation (Philipps *et al*., 2012). The accumulation of starch and its consumption caused the O_2 depletion and the enhancement of H_2 production (He *et al*., 2012). Therefore, the highest H_2 production rate by *Chlorella* sp. LSD-W2 during N-deprivation might be a result of electrons driven from the starch degradation.

Interestingly, the high H_2 production by *Chlorella* sp. LSD-W2 was observed in cells incubated in TAP-P medium (Figure 3). It can be explained that a lack of phosphorus in the medium also caused the reduction of the photosynthetic electron transport activity due to the depletion of phosphorylated intermediates of reductive pentose phosphate cycle, resulting in an increase of H_2 output. In the previous study, P-deprivation has been shown to inhibit O_2 production activity in *C. reinhardtii* (Wykoff *et al*., 1998).

In contrast, H_2 produced by *Chlorella* sp. LSD-W2 under S-deprivation was slightly lower than that in normal TAP medium but the lowest H_2 production rate was observed under both S- and P-

deprivation combination (Figure 3). Normally, S-deprivation triggers H_2 production due to a gradual inactivation and degradation of PSII complexes, resulting in a decrease in O_2 evolution while respiratory activity uptake continues. Therefore, an anaerobic condition is established in the cultures which would be favorable for H_2 production (Melis *et al.*, 2000).

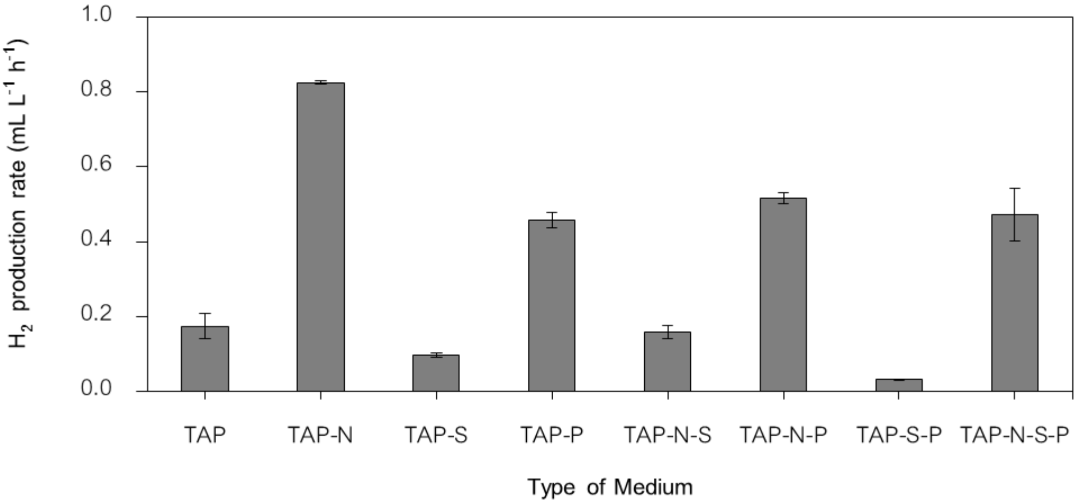


Figure 3 H_2 production rate by *Chlorella* sp. LSD-W2 under various nutrient deprivation condition.

CONCLUSION

In conclusion, the unicellular green alga *Chlorella* sp. LSD-W2 was shown as one of potential H_2 producers. In a bottle scale, *Chlorella* sp. LSD-W2 grew rapidly in TAP medium and showed a similar growth pattern as found in bacteria. The highest H_2 production rate with 0.825 ± 0.005 mL L^{-1} h^{-1} was found in *Chlorella* sp. LSD-W2 grown in TAP medium for 36 h before incubating in N-deprived TAP medium for 24 h and purging with argon gas for 10 min.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the financial support from Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.

REFERENCES

Harris, E.H. 1989. **The Chlamydomonas sourcebook: a comprehensive guide to biology and laboratory use.** San Diego: Academic Press.

He, M.L., L. Li, L. Zhang, and J.G. Liu. 2012. The enhancement of hydrogen photoproduction in *Chlorella protothecoides* exposed to nitrogen limitation and sulfur deprivation. **International Journal of Hydrogen Energy**. 37: 4046-4056.

Melis, A., L.P. Zhang, M. Forestier, M.L. Ghirardi and M. Seibert. 2000. Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Plant Physiology**. 122: 127-135.

Philipps, G., T. Happe and A. Hemschemeier. 2012. Nitrogen deprivation results in photosynthetic hydrogen production in *Chlamydomonas reinhardtii.* **Planta**. 235(4): 729-745.

Rattana, S., A. Incharoensakdi and S. Phunpruch. 2009. Hydrogen production of a unicellular green alga *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris* TISTR 8261. Proceedings of the 3th International conference on fermentation technology for value added agricultural products; Khon Kaen Province, Thailand. H3P1,1-9.

Rattana, S., S. Junyapoon, A. Incharoensakdi and S. Phunpruch. 2010. Hydrogen production by the green alga *Scenedesmus* sp. KMITL-01 under heterotrophic conditions. Proceedings of the 8th International symposium on biocontrol and biotechnology; Pattaya, Chonburi Province, Thailand. 114-120.

Song, W., N. Rashid, W. Choi and K. Lee. 2011. Biohydrogen production by immobilized *Chlorella* sp. using cycles of oxygenic photosynthesis and anaerobiosis. **Bioresource Technology***.* 102: 8676-8681.

Taikhao, S., S. Junyapoon, A. Incharoensakdi and S. Phunpruch. 2013. Factors affecting biohydrogen production by unicellular halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica.* **Journal of Applied Phychology**. 25(2): 187-196.

Tinpranee, N., A. Incharoensakdi and S. Phunpruch. 2016. Hydrogen production by unicellular green alga *Chlorella* sp. LSD-W2 isolated from seawater in Thailand. **KKU Research Journal**. 22(1): 256-266.

Wykoff, D.D., J.P. Davies, A. Melis and A.R. Grossman. 1998. The regulation of photosynthetic electron transport during nutrient deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Plant Physiology**.117: 129-139.

Optimization of Growth Regulators for Callus Induction from Thai Rice Cultivar

Manita Kuntapa[1], Amornrat Promboon[1] and Wannarat Pornsiriwong[1*]

ABSTRACT

Plant tissue culture is a widely used and essential technique for micropropagation and genetic transformation. The optimum conditions for plant growth have been studied in many plant species, including rice. In this study, the effects of plant growth regulator were evaluated on the efficiency of rice callus induction (*Oryza sativa* cv. KDML105). Seeds were used as an explant source and grown in MS medium supplemented with different concentrations (0, 0.5, 1 mg/L) of BA (6-benzylaminopurine) and 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxi acetic acid) at 1 mg/L concentration. The maximum callus induction frequency was observed on MS medium containing 1 mg/L of 2,4-D and BA. Furthermore, the sizes of callus grown under dark were significantly larger compared to that kept under 16/8 (light/dark) conditions. Taken together, the results obtained from this work can be applied to micropropagation and genetic transformation of rice for further analysis.

Key words: rice, callus, tissue culture, 2,4-D, BA

*Corresponding; e-mail address: fsciwrp@ku.ac.th

[1] Department of Biochemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, 10900

INTRODUCTION

In Thailand, rice is the country's most important crop, widely grown in all regions. Due to intensively increasing world's population and effects of environmental stresses, rice production has significantly been affected. Previous studies in *Arabidopsis* demonstrated that SAL1, a dephosphorylating enzyme with dual activities *in vitro* which are 3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase and inositol polyphosphate-1-phosphatase, acts as a negative regulator of drought tolerance. The mutation in this gene leads to increased drought tolerance when compared to wild-types (Wilson *et al*., 2009). Recently, two *SAL1* homologues were successfully identified from Thai jasmine rice, KDML105 and these genes may have important implications for drought tolerance in rice plants.

To further characterize the function of *SAL1* homologues in rice, RNA interference technology was utilized. In order to generate transgenic rice plants using Agrobacterium-mediated transformation, efficient callus induction and high frequency of rice regeneration are required. The enriched medium with appropriated nutrients and hormones for rice development increases the callus induction and transgenic rice regeneration efficiency. Previous studies in rice (*Oryza sativa* L. KDML105) found that MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ranging from 0-5 mg/L showed 87.16%-96.67% frequency of callus induction (Summart *et al*., 2008). The callus of mulberry (*Morus alba* L. vars. Chinese White and Kokuso-27) was 95%-100% successfully induced in MS medium containing a combination of 1 mg/mL 2,4-D and 0.5 mg/L BA (Bhau and Wakhlu, 2001). This data demonstrated that BA is also one of important growth-promoting hormones for callus induction.

Therefore, this research aimed to develop a rapid and efficient protocol for rice callus induction using Thai jasmine rice, KDML 105. The improved method will be useful for Agrobacterium-mediated transformation of callus cultures in order to generate transgenic rice plants and study gene function in the future.

MATERIALS AND METHODS

1. Plant materials

Seeds of Thai jasmine rice, Khao Dawk Mali 105 (KDML 105), harvested from rice plants grown in pots and kept in a greenhouse at Department of Biochemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, were used throughout this study. All seeds were incubated in oven at 65°C for sterilization.

2. Sterilization of rice seeds

The dehusked seeds were sterilized with 70% ethyl alcohol for 1 min, and then for 5 min with 50% (v/v) sodium hypochlorite (Clorox®) solution containing Tween®20. Surface sterilized seeds were rinsed three times with sterile distilled water before inoculation on callus induction medium, containing of MS medium supplemented with 2,4-D and BA (Table 1). The medium was autoclaved at 15 pound square inch (psi) for 15 min at 121°C. The pH of the medium was adjusted at 5.6-5.8.

3. Effect of 2,4-D and BA concentrations on callus induction

Seeds of KDML 105 were placed on MS medium supplemented with various concentrations of 2,4-D and BA as shown in Table 1. The seeds were incubated at 25±2°C and 65±5%RH with dark and light cycle for callus induction. Four weeks after culture, the callus induction frequency (%) and contamination (%) were recorded and calculated using these equations (Summart *et al*., 2008):

Callus induction frequency (%) = (Number of seeds produced callus/Number of seeds cultured)x100

Contamination (%) = (Number of contamination callus/Number of seeds cultured)x100

4. Effect of light on callus induction

To find the best condition for callus culture, the dark condition (24-h dark) and light/dark condition (16/8 light/dark) were investigated.

Table 1 MS medium supplemented with different concentrations of plant growth regulators.

SAMPLE	GROWTH REGULATOR CONCENTRATIONS (mg/L)	
	2,4-D	BA
S_1	0	0
S_2	1	0
S_3	2	0
S_4	3	0
S_5	1	0.5
S_6	1	1
S_7	1	2

*** Here S = Sample group (n = 20)

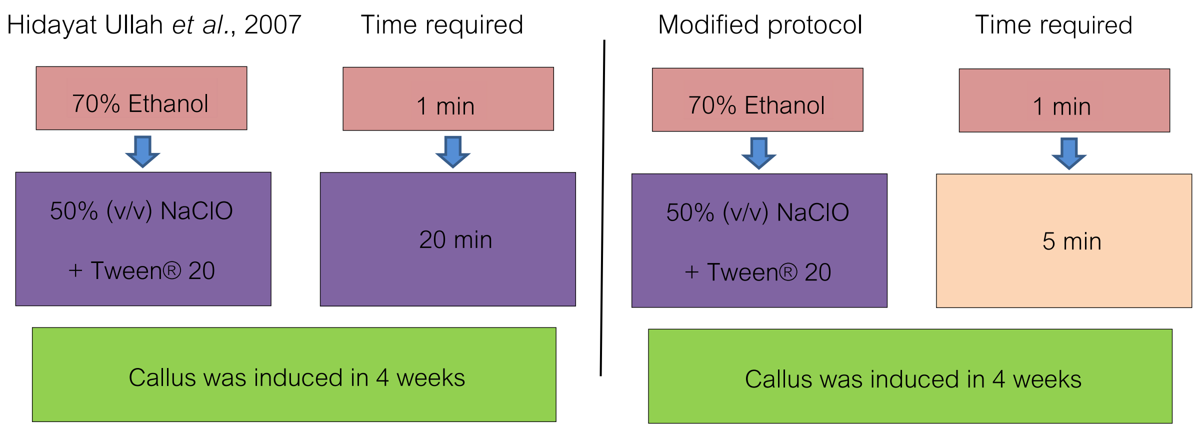


Figure 1 Comparison of seed sterilization using two different protocols.

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, a seed sterilization protocol was developed for plant tissue culture. This method was found to be less time-consuming procedure with reduced contamination when compared to the previous report (Figure 1). A synthetic auxin, 2,4-D, is an important growth regulator widely used for plant tissue culture. The effect of 2,4-D on rice callus formation was summarized in Table 2. Here, a combination of 2,4-D and BA, synthetic cytokinin, was used to find the optimum condition for callus induction. After 4 weeks of cultivation in MS medium containing 1 mg/L of 2,4-D and different concentrations of BA (0, 0.5, 1 mg/L), embryogenic calli were developed from mature KDML 105 seeds.

Table 2 Callus formation in MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-D.

CONCENTRATION of 2,4-D (mg/L)	CULTIVARS	FREQUENCY OF CALLUS INITIATION (%)	REFERENCES
0.5	Chiniguri	40.0	Sikder *et al*., 2006
1.0	Chiniguri	70.0	Sikder *et al*., 2006
	Khao Dawk Mali 105	95.6	Summart *et al*., 2008
1.5	Chiniguri	100.0	Sikder *et al*., 2006
	Hati Bromashi	100.0	Hoque *et al*., 2013
	Kacha Biroin	0.0	Hoque *et al*., 2013
	Pakhi Biroin	50.0	Hoque *et al*., 2013
2.0	Basmati 370	23.0	Tariq *et at*., 2008
	Basmati 370	20.8	Hidayat *et al*., 2007
	Basmati 371	27.0	Tariq *et at*., 2008
	Basmati 385	50.0	Hidayat *et al*., 2007

	Chiniguri	100.0	Sikder *et al.,* 2006
	Hati Bromashi	100.0	Hoque *et al.*, 2013
	Kacha Biroin	62.5	Hoque *et al.*, 2013
	Khao Dawk Mali 105	96.7	Summart *et al.*, 2008
	Pakhi Biroin	75.0	Hoque *et al.*, 2013
2.5	Basmati 370	23.0	Tariq *et at.*, 2008
	Basmati 371	27.0	Tariq *et at.*, 2008
	Chiniguri	100.0	Sikder *et al.,* 2006
	Hati Bromashi	100.0	Hoque *et al.*, 2013
	Kacha Biroin	62.5	Hoque *et al.*, 2013
	Pakhi Biroin	100.0	Hoque *et al.*, 2013
3.0	Basmati 370	23.0	Tariq *et at.*, 2008
	Basmati 371	27.0	Tariq *et at.*, 2008
	Chiniguri	100.0	Sikder *et al.,* 2006
	Hati Bromashi	100.0	Hoque *et al.*, 2013
	Kacha Biroin	52.0	Hoque *et al.*, 2013
	Khao Dawk Mali 105	100.0	Summart *et al.*, 2008
	Pakhi Biroin	75.0	Hoque *et al.*, 2013
4.0	Khao Dawk Mali 105	87.2	Summart *et al.*, 2008
5.0	Khao Dawk Mali 105	91.7	Summart *et al.*, 2008

Table 3 Effect of 2,4-D and BA on callus induction from rice and mulberry plants.

TYPE OF PLANTS	HORMONE (mg/L)		CALLUS INDUCTION FREQUENCY (%)	REFERENCES
	2,4-D	BA		
Mulberry (Ichinose)			95	Bhau and Wakhlu 2001
Mulberry (Kokuso-27)	1.0	0.5	100	Bhau and Wakhlu 2001
Rice (KDML 105)			100	
Mulberry (Ichinose)			85	Bhau and Wakhlu 2001
Mulberry (Kokuso-27)	1.0	1.0	60	Bhau and Wakhlu 2001
Rice (KDML 105)			100	

The results demonstrated that BA can significantly enhance rice callus formation when compared to the use of 2,4-D alone (Figure 2 and Figure 3). As shown in Table 3, the MS medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BA and 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BA were found to be the optimum condition as it gave 100% callus induction frequency. Moreover, using established seed

sterilization protocol, there was no contamination in callus cultures. Highest callus induction rate was obtained from the medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BA and 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BA (Figure 4). However, 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BA condition gave large size of callus (2.5 mm), compared to those grown on 1 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BA containing media (Table 4). Rice calli, around 2.5 – 3.0 mm in size, are suitable for genetic transformation (Ozawa *et al.,* 2009).

Table 4 The percentages of callus induction frequency and contamination of rice samples grown on MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-D and BA. Seeds were sterilized using two different methods.

CULTIVARS	STERILIZING AGENTS		CLOROX TIME/ ETHANOL TIME (min)	HORMONE (mg/L)		CONTAMINATION (%)	CALLUS INDUCTION FREQUENCY (%)	SIZE OF CALLUS ±SD (mm)	REFERENCES
	Clorox (%)	Ethanol (%)I		2,4-D	BA				
KDML 105	50	70	5.0/1.0	0.0	0.0	0	0	0.00 ± 0.00	
KDML 105	50	70	5.0/1.0	1.0	0.0	0	20.33	1.20 ± 0.12	
KDML 105	50	70	5.0/1.0	1.0	0.5	0	100.00	1.50 ± 0.11	
KDML 105	50	70	5.0/1.0	1.0	1.0	0	100.00	2.50 ± 0.11	
KDML 105	50	70	5.0/1.0	1.0	2.0	0	67.67	2.50 ± 0.09	
Basmati 371			20.0/1.0			58.33	20.83	-	Hidayat *et al*., 2007
Basmati 385	50	70	20.0/1.0	2.0	0.0	1	50	-	Hidayat *et al*., 2007
KDML 105			5.0/1.0			0	15.75	0.30 ± 0.08	
Basmati 371	50	70	20.0/1.0	2.0	0.1	73.61	22.22	-	Hidayat *et al*., 2007
Basmati 385						2	50	-	
Basmati 371	50	70	20.0/1.0	2.0	0.5	52.77	27.77	-	
Basmati 385						3	50	-	Hidayat *et al*., 2007
KDML 105	50	70	5.0/1.0	3.0	0.0	0	5.00	0.20 ± 0.08	

Here, number of samples = 20 (n = 20)

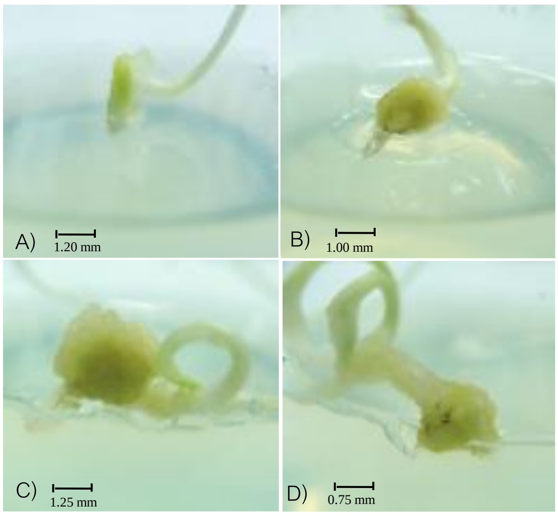


Figure 2 Callus formation on MS media supplemented with (A) 1 mg/L 2,4-D, (B) 1 mg/L 2,4-D and 0.5 mg/L BA, (C) 1 mg/L 2,4-D and BA, (D) 1 mg/L 2,4-D and 2 mg/L BA.

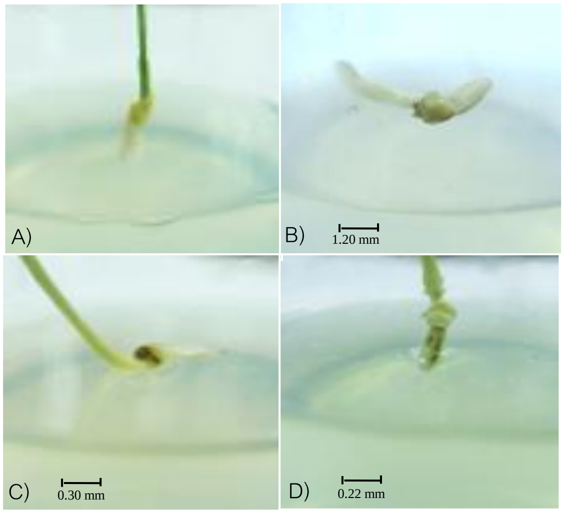


Figure 3 Callus formation on MS media containing different concentrations of 2,4-D. (A) 1 mg/L, (B) 2 mg/L, (C) 3 mg/L and (D) 4 mg/L.

In addition, the effect of light conditions on growth of the KDML 105 callus was shown in Figure 5. The calli kept under dark condition (24-h dark) had higher frequency of callus induction than that grown under light condition (16/8 light/dark). With respect to callus morphology, cells grown under light condition were relatively friable as compared to that grown under dark condition.

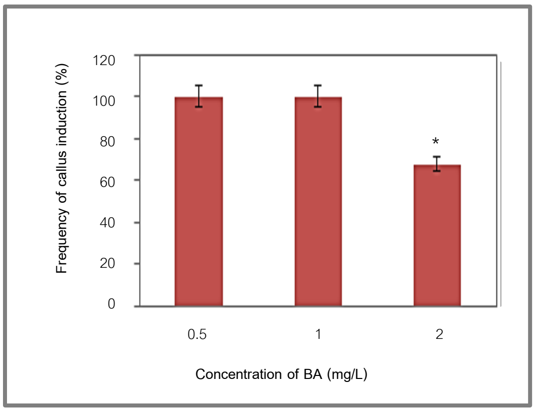


Figure 4 Callus induction frequency of KDML 105. Different concentrations of BA were added to the MS medium containing 1 mg/L 2,4-D (*$p<0.05$).

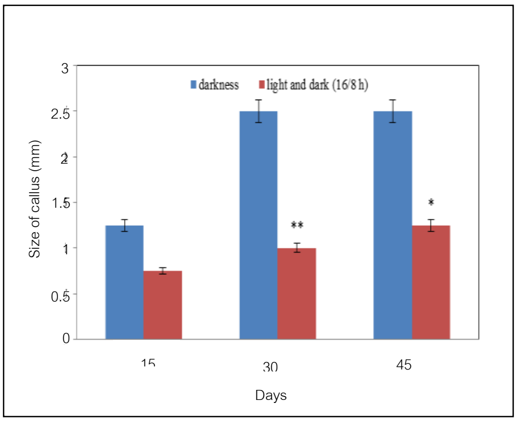


Figure 5 Effect of light on callus growth (*$p<0.05$, **$p<0.01$).

CONCLUSION

The frequency of rice callus induction depends on components of plant tissue culture media and growth environment. The results here indicated that combination of 2,4-D and BA can enhance callus induction frequency. The MS medium supplemented with 1 mg/L 2,4-D and 1 mg/L BA under dark was found to be the best condition for callus induction. This data will be useful for further studies on rice plant transformation via Agrobacterium.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was financially supported by Kasetsart University Research and Development Institute (v-t(d)129.58) and the Graduate Program Scholarship from the National Research Council of Thailand to MK.

REFERENCES

Bhau, B. S. and A. K. Wakhlu. 2001 Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*. **Plant cell, tissue and organ culture.** 66(1):25-29.

Hoque, K. M. A., Z. A. Azdi, S. H. Prodhan. 2013. Development of callus initiation and regeneration system of different indigenous indica rice varieties. **Journal of Biology.** 1:46-51.

Ozawa, K. 2009. Establishment of a high efficiency Agrobacterium-mediated transformation system of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Science**, 176(4):522-527.

Sikder, M. B. H., P. K. Sen, M. A. Mamun, M. R. Ali, S.M. Rahman. 2006. *In vitro* regeneration of aromatic rice (*Oryza sativa* L.). **International Journal of Agriculture and Biology (Pakistan).**

Summart, J., S. Panichajakul, P. Prathepha, P. Thanonkeo. 2008. Callus induction and influence of culture condition and culture medium on growth of Thai aromatic rice, Khao Dawk Mali 105, cell culture. **World Applied Sciences Journal.** 5(2):246-251.

Tariq, M., G. Ali, F. Hadi, S. Ahmad, N. Ali, A. A. Shah. 2008. Callus induction and *in vitro* plant regeneration of rice (*Oryza sativa* L.) under various conditions. **Pakistan Journal of Biological Sciences.** 11(2):255-259.

Ullah, H., I. Ullah, , S. A. Jadoon, , H. Rashid. 2007. Tissue culture techniques for callus induction in rice. **Sarhad Journal of Agriculture.** 23(1):81.

Wilson, P. B.,G. M. Estavillo,K. J.Field, W. Pornsiriwong, A. J. Carroll, K. A. Howell, N. S. Woo, J. A. Lake, S. M. Smith, A. H. Millar, S. V. Caemmerer, B. J. Pogson. 2009. The nucleotidase/phosphatase SAL1 is a negative regulator of drought tolerance in *Arabidopsis*. **The Plant Journal.** 58(2):299-317.

การเตรียมและการวิเคราะห์ ZnO ที่แทรกตัวในโครงสร้าง Cloisite โดยใช้แหล่ง Zn(II) ต่าง ๆ

Preparation and Characterization of ZnO Intercalated in Cloisite Clay Using Various Zn(II) Sources

วีรภัทร ฝอยทอง[1*] วีกิตต์ ศิริศักดิ์สุนทร[1] อภิสิฏฐ์ ศงสะเสน[1] และ พินิจ กิจขุนทด[2]

Weerapat Foytong[1*], Weekit Sirisaksoontorn[1], Apisit Songsasen[1] and Pinit Kidkhunthod[2]

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการเตรียม ZnO ในโครงสร้างที่เป็นชั้นของ Cloisite ด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn^{2+} และ $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ รวมถึงวิธีการนำ Cloisite ผ่านการแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn^{2+} แล้วมาเหนี่ยวนำด้วยไอระเหยของแอมโมเนีย และการนำ Zinc hydroxy double salt (Zn-HDS) นำมาใช้แลกเปลี่ยนไอออนกับ Cloisite แล้วนำสิ่งที่เตรียมได้มาเผาที่อุณหภูมิ 200, 350 และ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ส่วนสารที่ได้จาก Zn-HDS ได้ถูกนำมาเผาที่อุณหภูมิ 400 และ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจากนั้นนำมาวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค Infrared Spectroscopy (IR), X-ray Diffraction (XRD) และ X-ray Absorption Spectroscopy (XAS) ที่ให้ผล X-ray Absorption Near-edge Structure (XANES) และ Extended X-ray Absorption Fine Structure (EXAFS) จากผลการวิเคราะห์พบว่า วิธีการเตรียม ZnO ในโครงสร้าง Cloisite โดยการแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn-HDS สามารถเกิด ZnO ขนาดเล็ก ๆ ในโครงสร้างได้ผลดีกว่าวิธีเตรียมวิธีอื่น

ABSTRACT

The study on preparation of ZnO intercalated in Cloisite clay was investigated via the ion-exchange process with Zn^{2+}, $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ and Zinc hydroxy double salt (Zn-HDS). Moreover, Zn^{2+}-exchanged Cloisite was induced by vaporized ammonia for the preparation. All as-prepared samples were calcined at 200, 350 and 500°C for 2 h., except for the sample using Zn-HDS with the calcination temperature at 400 and 500°C for 3 h. The structure characterization was investigated by Infrared Spectroscopy (IR), X-ray Diffraction (XRD) and X-ray Absorption Spectroscopy (XAS). The result indicate that only ZnO-clay using from Zn-HDS as a Zn^{2+} source can form nanosized ZnO inside the clay gallery compared to other smples.

Key Words: zinc oxide, Cloisite clay, layered structure

* Corresponding author; e-mail address: **weerapat.fo@ku.th**

[1] ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Chemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2] สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) นครราชสีมา 30000

[2] Synchrotron light research institute (Public Organization), Nakhon Ratchasima 30000

คำนำ

Zinc Oxide (ZnO) มีสมบัติเป็นสารกึ่งตัวนำประเภท n (n-type semiconductor) โดยมีพลังงาน band gap เป็น 3.37 อิเล็กตรอนโวลต์ ZnO มักถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการทำไดโอดเปล่งแสง เซนเซอร์ ตัวตรวจวัดทางแสงในช่วงแสงยูวี ตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง เซลล์แสงอาทิตย์และเครื่องมือนำไฟฟ้าเชิงกล (Magnus, W. *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตามสมบัติการเป็นสารกึ่งตัวนำขึ้นกับขนาดอนุภาคของ ZnO ซึ่งเกี่ยวข้องกับผลของควอนตัม (quantum effect) (Viswanatha, R. *et al.*, 2004) เพราะฉะนั้นในการปรับปรุงสมบัติของ ZnO สามารถปรับปรุงในแง่ของขนาดอนุภาคได้ ซึ่งหนึ่งในวิธีในการควบคุมขนาดผลึกคือการนำโครงสร้างบังคับมายับยั้งการเติบโตของผลึก ZnO ซึ่งโครงสร้างแบบบังคับดังกล่าวอาจเป็นโครงสร้างลักษณะเป็นชั้นในแนว 2 มิติ เช่น Cloisite เป็นต้น

แร่ดินเหนียวที่นำมาศึกษาเป็น Cloisite-Na ซึ่งมี montmorillonite เป็นองค์ประกอบหลัก โดยโครงสร้างจะประกอบไปด้วยชั้นเตตระฮีดรัลของ silicate 2 ชั้น ประกบกับชั้นออกตะฮีดรัลของ $Al(OH)_3$ หรือ $Fe(OH)_3$ 1 ชั้น ทำให้เป็นโครงสร้าง Cloisite ในลักษณะ 2:1 แต่อย่างไรก็ตามการแทนที่ของ Si^{4+} ในเตตระฮีดรัลของ silicate สามารถถูกแทนที่ด้วย Al^{3+} หรือ Fe^{3+} หรือการแทนที่ของ Al^{3+} ในออกตะฮีดรัลของ $Al(OH)_3$ ด้วย Mg^{2+} หรือ Fe^{2+} ทำให้ผิวของโครงสร้างที่เป็นชั้นมีประจุสุทธิเป็นลบ เพื่อให้เกิดการดุลประจุโครงสร้างของ montmorillonite จึงจำเป็นต้องมีไอออนบวกมาอยู่ในช่องว่างระหว่างชั้นรวมทั้งมีโมเลกุลน้ำมาล้อมรอบไอออนบวกนั้นด้วย ส่งผลให้ montmorillonite มีสมบัติบวมตัวในน้ำซึ่งสมบัติดังกล่าวจะช่วยให้เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนที่อยู่ระหว่างชั้นได้ดี (Ogawa, M. and K. Kuroda, 1995)

เพราะฉะนั้นในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยต้องการนำสมบัติการแลกเปลี่ยนไอออนของแร่ดินเหนียว Cloisite-Na มาใช้ในการควบคุมการเติบโตของ ZnO โดยผ่านวิธีการแลกเปลี่ยนไอออนกับสารตั้งต้นและเผาขึ้นรูปให้ได้ผลึกภายในโครงสร้าง นอกจากนี้ยังนำวิธีการเหนี่ยวนำด้วยไอระเหยของแอมโมเนีย และการใช้ Zinc hydroxy double salt (Zn-HDS) เป็นสารตั้งต้นในการเตรียม ZnO (Jang, E.-S. *et al.*, 2010; Poul, L. *et al.*, 2000) พร้อมทั้งวิเคราะห์ทางโครงสร้างโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

สารเคมี มีดังนี้ :- Cloisite-Na ที่ค่าความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออน (Cation Exchange Capacity, CEC) เป็น 92.6 มิลลิสมมูลต่อปริมาณ Cloisite-Na 100 กรัม, Anhydrous zinc chloride ($ZnCl_2$) (reagent grade >98%, Sigma-Aldrich, USA), Zinc oxide (ZnO) (analytical reagent grade, QRëC, New Zealand), Zinc acetate dihydrate ($Zn(CH_3COO)_2{\cdot}2H_2O$) (ACS reagent grade 98%, Sigma-Aldrich, USA) Tetramethylammonium bromide (TMAB) (98%, Sigma-Aldrich, USA), Formamide (ACS reagent >99.5%, Sigma-Aldrich, USA) และ Ammonia solution 30% (Panreac, E.U.)

เทคนิคการวิเคราะห์ตัวอย่าง มีดังนี้ :- X-ray Diffraction (XRD) โดยใช้เครื่อง Philip Pw X-ray Diffractometer (Cu K_{α}, 0.15406 นาโนเมตร), Infrared Spectroscopy (IR) โดยใช้เครื่อง Bruker fourier transform infrared spectrometer และ X-ray Absorption Spectroscopy (XAS) ซึ่งให้ผล 2 ประเภท ได้แก่ X-ray Absorption Near-edge Structure (XANES) และ Extended X-ray Absorption Fine Structure (EXAFS) ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ที่ beamline 5.2 สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งใช้โหมดการวัดแบบส่องผ่านสำหรับตัวอย่างอ้างอิง ZnO (Ref. ZnO) และ Zn-HDS และโหมดการวัดแบบฟลูออเรสเซนต์สำหรับตัวอย่างชนิดอื่น ใช้ผลึกคัดเลือกพลังงานแสง (double crystal monochromator) เป็นผลึก Ge(220) เลือกวัดธาตุ Zn ที่มีพลังงาน Zn K-edge = 9659 อิเล็กตรอนโวลต์ และใช้แผ่นฟอยล์ของ Zn ในการวัดเทียบมาตรฐาน (calibration)

การเตรียม ZnO ในที่แทรกตัวอยู่ในโครงสร้าง Cloisite ด้วยแหล่ง Zn(II) ต่าง ๆ

(1) การเตรียมด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn^{2+} ดังแสดงในสมการ (1) โดยเริ่มจากนำ Cloisite-Na หนัก 300 มิลลิกรัม มากระจายตัวในน้ำที่มีปริมาตร 30 มิลลิลิตรในขวดก้นกลม โดยการคนด้วยเครื่องคนแม่เหล็กเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย $ZnCl_2$ ที่มีปริมาณเป็น 5 เท่าของค่า CEC ของ Cloisite ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และตามด้วยน้ำปริมาตร 6 มิลลิลิตร ลงไปในขวดก้นกลมที่มี Cloisite ที่กระจายตัวในน้ำ แล้วจึงคนต่ออีก 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วให้แยกเก็บของแข็งโดยการใช้เครื่องเหวี่ยง (ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที) แล้วล้างของแข็งนั้นด้วยน้ำหลายรอบ ทำให้แห้งด้วยตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง กำหนดชื่อสารตัวอย่างของแข็งจากการเตรียมวิธีนี้เป็น Zn-Cloisite

$$\text{Cloisite-Na} + Zn^{2+} \longrightarrow \text{Zn-Cloisite} + 2Na^{+} \quad (1)$$

(2) การเตรียมด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนไอออนกับไอออนเชิงซ้อน $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ ดังแสดงในสมการ (2) มีวิธีการเหมือนกับการเตรียม Zn-Cloisite แต่เปลี่ยนเป็นสารละลาย $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ ที่มีปริมาณเป็น 5 เท่าของค่า CEC ของ Cloisite ซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถถูกเตรียมได้โดยการเติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงไปในสารละลาย $ZnCl_2$ ที่มีปริมาณเป็น 5 เท่าของค่า CEC ของ Cloisite ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กำหนดชื่อสารตัวอย่างของแข็งจากการเตรียมวิธีนี้เป็น $Zn(NH_3)_4$-Cloisite

$$\text{Cloisite-Na} + [Zn(NH_3)_4]^{2+} \longrightarrow Zn(NH_3)_4\text{-Cloisite} + 2Na^{+} \quad (2)$$

(3) การเตรียมด้วยวิธีเหนี่ยวนำด้วยไอระเหยแอมโมเนียลงบนตัวอย่าง Zn-Cloisite ดังแสดงในสมการที่ (3) โดยนำของแข็ง Zn-Cloisite หนัก 300 มิลลิกรัม วางในบีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร นำบีกเกอร์ที่มีตัวอย่างวางลงใน teflon autoclave ที่มีสารละลายแอมโมเนียปริมาตร 10 มิลลิลิตร (อัตราส่วน สารละลายแอมโมเนียเข้มข้น : น้ำ เป็น 5 : 5) ถูกบรรจุอยู่ อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา เก็บของแข็งและทำให้แห้งด้วยตู้อบสุญญากาศในอุณหภูมิห้อง กำหนดชื่อสารตัวอย่างของแข็งจากการเตรียมวิธีนี้เป็น Vap-Zn-Cloisite

$$\text{Zn-Cloisite} \xrightarrow{NH_3\,(g)} \text{Zn-Vap-Cloisite} \quad (3)$$

(4) การเตรียมด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างที่ Cloisite ผ่านการปรับปรุงด้วย tetramethyl-

ammonium (TMA^+) กับ Zinc hydroxy double salt (Zn-HDS) ในส่วนของการปรับปรุงพื้นผิวของ Cloisite ด้วยไอออนของ TMA^+ ดังแสดงสมการที่ (4) โดยการเติม 250 มิลลิกรัม ของ Cloisite-Na ลงในสารละลาย TMA^+ เข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปคนด้วยเครื่องคนแม่เหล็กเป็นเวลา 30 นาที และแช่ในอ่างอุลตราโซนิค (ultrasonic bath) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นคนสารต่อด้วยเครื่องคนแม่เหล็กที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้แยกเก็บของแข็งโดยการใช้เครื่องเหวี่ยง (ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที) แล้วล้างของแข็งนั้นด้วยน้ำและเอทานอลหลายรอบ ทำให้แห้งด้วยตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง ของแข็งที่ได้จะถูกกำหนดชื่อสารตัวอย่างนี้ว่า TMA-Cloisite ในส่วนของการเตรียม Zn-HDS ซึ่งมีสูตรทางเคมีเป็น $Zn_5(OH)_8(CH_3COO)_2{\cdot}2H_2O$ (Nityashree, N. and M. Rajamathi, 2013) เริ่มจากการนำ ZnO หนัก 0.41 กรัม เติมลงสารละลาย $Zn(CH_3COO)_2{\cdot}2H_2O$ (หนัก 1.65 กรัม) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และคนอย่างแรงด้วยเครื่องคนแม่เหล็กเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วปล่อยสารทิ้งไว้อีก 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองเก็บของแข็ง ล้างด้วยน้ำ และทำให้แห้งด้วยตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง

การแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง TMA-Cloisite และ Zn-HDS ดังแสดงในสมการที่ (5) โดยนำสารตัวอย่างแต่ละชนิดซึ่งหนัก 40 มิลลิกรัม มากระจายในตัวกลางฟอร์มามีด 20 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องคนแม่เหล็กเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาให้นำสารละลาย Zn-HDS มาหยดลงใน TMA-Cloisite ที่ผ่านการกระจายในตัวกลางฟอร์มามีดทีละหยดอย่างช้า ๆ จนกว่าเกิดการตกตะกอนสมบูรณ์ แยกเก็บของแข็งโดยการใช้เครื่องเหวี่ยง (ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที) แล้วล้างของแข็งนั้นด้วยน้ำและเอทานอลหลายรอบ ทำให้แห้งด้วยตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กำหนดชื่อสารตัวอย่างของแข็งจากการเตรียมวิธีนี้เป็น Zn-HDS-Cloisite

$$\text{Cloisite-Na} + TMA^+ \longrightarrow \text{TMA-Cloisite} + Na^+ \qquad (4)$$

$$\underset{\text{(Zn-HDS)}}{\text{TMA-Cloisite} + Zn_5(OH)_8(CH_3COO)_2} \longrightarrow \underset{\text{(Zn-HDS-Cloisite)}}{Zn_5(OH)_8\text{-Cloisite}} + TMA^+ + 2CH_3COO^- \qquad (5)$$

นำตัวอย่าง Zn-Cloisite, $Zn(NH_3)_4$-Cloisite, NH_3-Vap-Zn-Cloisite ที่เตรียมได้จากวิธีต่าง ๆ มาเผาที่อุณหภูมิ 200, 350 และ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศปกติ และนำ Zn-HDS-Cloisite มาเผาที่ อุณหภูมิ 400 และ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศปกติ (กำหนดให้ อุณหภูมิที่ทำการเผาเขียนไว้หลังชื่อตัวอย่าง)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ลักษณะด้วยเทคนิค IR

จากสเปกตรัมใน Figure 1a ที่ได้จากการวิเคราะห์ลักษณะของ Cloisite-Na ก่อนนำไปแลกเปลี่ยนไอออน พบว่าปรากฏแถบที่เลขคลื่น 3626 และ 3465 เซนติเมตร$^{-1}$ ที่แสดงหมู่ -OH ที่ติดอยู่กับ Al^{3+} ที่อยู่ในช่องออกตะฮีดรัล (Al-OH-Al stretching) และ –OH ของน้ำที่อยู่บริเวณที่ว่างระหว่างชั้น (-OH stretching) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังปรากฏแถบที่เลขคลื่น 1642 เซนติเมตร$^{-1}$ ซึ่งเป็น -OH ของน้ำ (-OH bending) ที่อยู่บริเวณที่ว่างระหว่างโครงสร้าง และแถบอื่น ๆ ที่แสดงลักษณะเฉพาะของ Cloisite-Na (Vidal, N. C. and C. Volzone, 2009)

เมื่อนำ Cloisite-Na ไปแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn^{2+} ที่ได้จากการแตกตัวเป็นไอออนของ $ZnCl_2$ ได้เป็นตัวอย่าง Zn-Cloisite พบว่าสเปกตรัมที่ได้ไม่ได้แตกต่างจาก Cloisite-Na (Figure 1a) และเมื่อนำ Cloisite-Na ไปแลกเปลี่ยนไอออนกับไอออนเชิงซ้อน $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ ซึ่งได้เป็นตัวอย่าง $Zn(NH_3)_4$-Cloisite พบว่าปรากฏแถบใหม่ที่เลขคลื่น 1400 เซนติเมตร$^{-1}$ บนสเปกตรัมใน Figure 1b ซึ่งแสดงการสั่นตัวของ NH_3 (combination band ของ N-H rocking stretching) (Sajó, I. E. *et al.*, 2008) แต่แถบแสดงการสั่นตัวของ NH_3 แบบอื่น ได้แก่ N-H stretching (3500 – 3400 เซนติเมตร$^{-1}$), N-H scissoring (1800 – 1700 เซนติเมตร$^{-1}$) และ N-H wagging (1150 – 1000 เซนติเมตร$^{-1}$) ถูกบดบังด้วยแถบแสดงลักษณะเฉพาะของ Cloisite นั่นหมายความว่ามีไอออนเชิงซ้อน $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ อยู่ในโครงสร้างที่เป็นชั้นของ Cloisite แล้ว นอกจากนี้เมื่อนำ Zn-Cloisite มาทำให้อยู่ภายใต้บรรยากาศไอระเหยของแอมโมเนียที่ทำให้ได้เป็นตัวอย่าง Vap-Zn-Cloisite ปรากฏว่าได้สเปกตรัม Figure 1c ที่เหมือนกับตัวอย่าง $Zn(NH_3)_4$-Cloisite แสดงว่า Zn^{2+} ที่อยู่ในโครงสร้างทำปฏิกิริยากับไอระเหยของแอมโมเนียแล้วได้เป็นไอออนเชิงซ้อน $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$

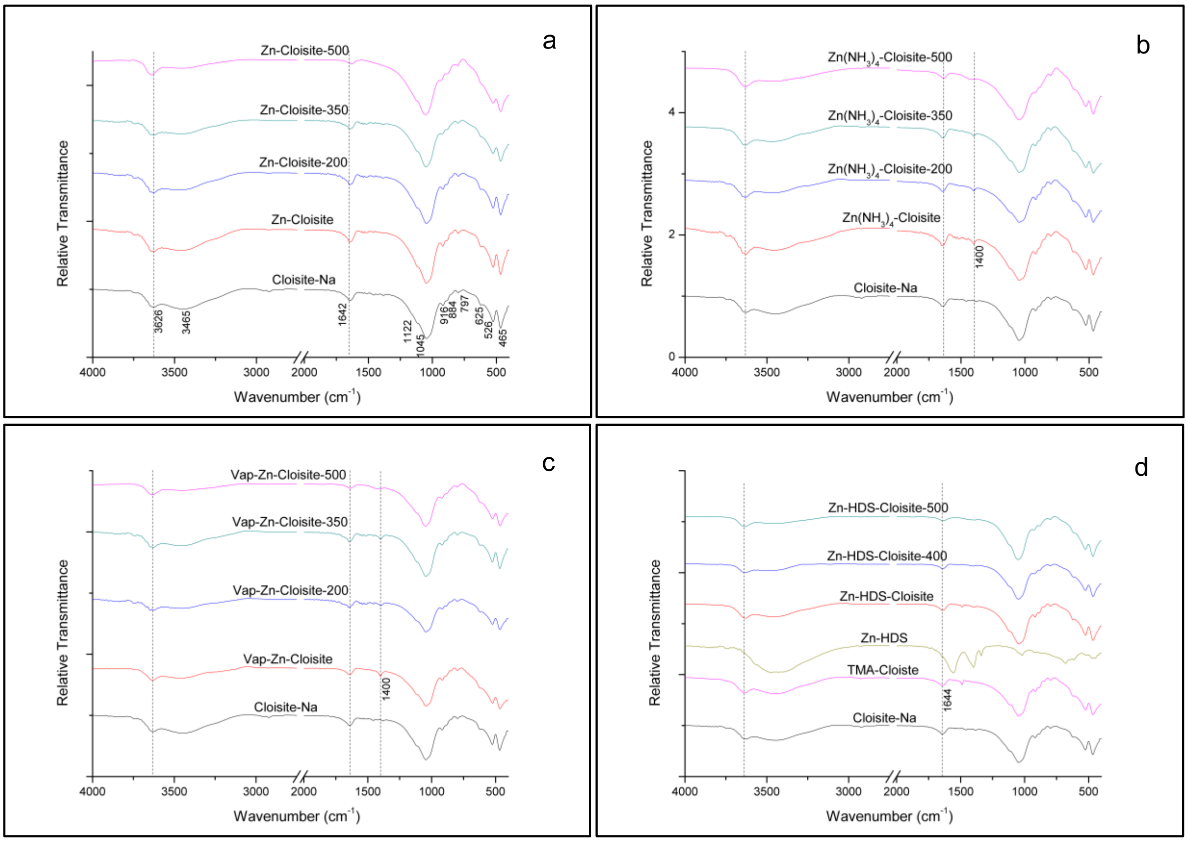


Figure 1 IR spectra of Zn-Cloisite (a), $Zn(NH_3)_4$-Cloisite (b), Vap-Zn-Cloisite (c) and Zn-HDS-Cloisite (d) calcined at various temperatures.

จากสเปกตรัมใน Figure 1d พบว่าเมื่อนำ Zn-HDS และ TMA-Cloisite มาแลกเปลี่ยนไอออนกันจะทำให้ได้โครงสร้างผสมของ Zn-HDS-Cloisite และทำให้ไอออนดุลประจุของ Zn-HDS และ TMA-Cloisite ได้หลุด

ออกจากโครงสร้างและละลายในตัวกลาง จะเห็นได้ว่า Zn-HDS-Cloisite ปรากฏแถบที่คล้ายลักษณะของ Cloisite-Na และไม่ได้ปรากฏแถบแสดงลักษณะเฉพาะของไอออน CH_3COO^- (สังเกตได้จากแถบ C=O stretching ที่ 1620 – 1570 และ 1430 - 1300 เซนติเมตร$^{-1}$) (Poul, L. *et al.*, 2000) และ TMA^+ (สังเกตได้จากแถบ C-H asymmetric bending ที่ 1490 เซนติเมตร$^{-1}$) (Vidal, N. C. and C. Volzone, 2009) ซึ่งดุลประจุโครงสร้างดังกล่าว จึงอนุมานได้ว่า Zn-HDS-Cloisite ประกอบไปด้วยโครงสร้างที่เป็นชั้นของ Cloisite และ Zn-HDS ซึ่งมีประจุไฟฟ้าบนชั้นเป็นลบและบวกตามลำดับ โดยโครงสร้างนี้อยู่ตัวได้ด้วยแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic interaction)

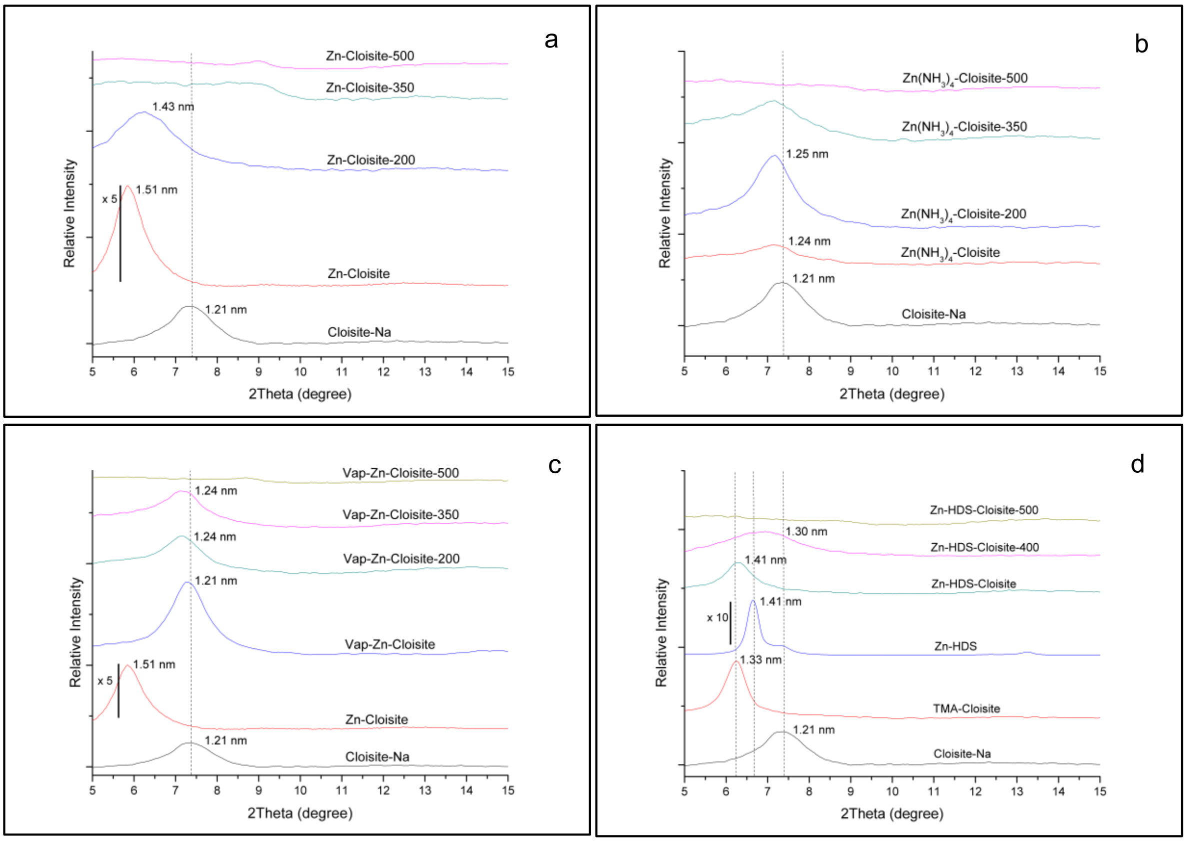


Figure 2 XRD patterns of Zn-Cloisite (a), $Zn(NH_3)_4$-Cloisite (b), Vap-Zn-Cloisite (c) and Zn-HDS-Cloisite (d) calcined at various temperatures.

การวิเคราะห์ลักษณะด้วยเทคนิค XRD

เมื่อนำ Cloisite-Na มาแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn^{2+} ได้เป็นตัวอย่าง Zn-Cloisite พบว่าพีค (001) บน XRD pattern (Figure 2a) ของ Cloisite-Na ได้เลื่อนไปยังมุม (2Theta) ที่ต่ำลง และเมื่อพิจารณาหาค่า d-spacing พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจาก 1.21 เป็น 1.51 นาโนเมตร สาเหตุของการเพิ่มขึ้นของ d-spacing นี้คือการแทนที่ไอออน Na^+ ด้วย Zn^{2+} ซึ่งมีประจุมากกว่า ทำให้มีโมเลกุลน้ำมาล้อมรอบไอออน (solvation) มากขึ้น จึงเกิดการขยายช่องว่างระหว่างโครงสร้างได้มากขึ้น และเมื่อ Zn-Cloisite ผ่านการเผาที่อุณหภูมิสูง (350 และ 500 องศา

เซลเซียส) พบว่าพีค (001) ได้เลื่อนมายังมุมที่มากขึ้น ค่า d-spacing ลดลงจาก 1.51 เป็น 1.43 นาโนเมตร เนื่องจากการเผาทำให้โครงสร้างสูญเสียน้ำและเกิดการเติบโตของ ZnO ในโครงสร้าง ช่องว่างระหว่างโครงสร้างจึงแคบลง รวมถึงเกิดการสูญเสียความเป็นระเบียบของโครงสร้าง ส่งผลให้พีคที่เกิดขึ้นกว้างและความเข้มของพีคต่ำ

จาก XRD pattern (Figure 2b and 2c) ของตัวอย่าง $Zn(NH_3)_4$-Cloisite และ Vap-Zn-Cloisite พบว่าค่า d-spacing จากพีค (001) เป็น 1.24 และ 1.21 นาโนเมตรตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า d-spacing ของ Zn-Cloisite (1.51 นาโนเมตร) เนื่องจากไอออนเชิงซ้อน $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ ที่อยู่ในโครงสร้างมีโมเลกุลน้ำล้อมรอบไอออนได้น้อยกว่าไอออน Zn^{2+} ที่อยู่ในโครงสร้าง Zn-Cloisite จาก IR สเปกตรัมของ $Zn(NH_3)_4$-Cloisite และ Vap-Zn-Cloisite (Figure 1b and 1c) ได้แสดงแถบแสดงลักษณะเฉพาะของ NH_3 ใน $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ ที่อยู่ในโครงสร้างอย่างชัดเจน และเมื่อทำการเผาที่อุณหภูมิ 200 และ 350 องศาเซลเซียส พบว่าค่า d-spacing มากขึ้นและมีค่าใกล้เคียงกันระหว่างสองอุณหภูมิ เนื่องจากเกิดการเติบโต ZnO ในโครงสร้างขณะเผา แต่อย่างไรก็ตามการเผาที่อุณหภูมิสูงทำให้โครงสร้างสูญเสียความเป็นระเบียบ ซึ่งสังเกตได้จากความกว้างของพีคที่เพิ่มขึ้นและความเข้มของพีคที่ลดลง

ตัวอย่าง Zn-HDS-Cloisite (Figure 2d) ที่เตรียมขึ้นจากการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง Zn-HDS และ TMA-Cloisite พบว่ามีค่า d-spacing เป็น 1.41 นาโนเมตร เมื่อนำค่าความหนาของ Cloisite มาลบออกจากค่า d-spacing ของ Zn-HDS-Cloisite จะพบว่ามีค่าเป็น 0.45 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับความหนาของ Zn-HDS (0.46 นาโนเมตร) (Jang, E.-S. *et al.*, 2010) จึงสามารถสรุปได้ว่าโครงสร้าง Zn-HDS-Cloisite ประกอบไปด้วยชั้นของ Zn-HDS และ Cloisite เรียงสลับกันชั้นต่อชั้น และเมื่อนำไปเผาอุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส พบว่ามีค่า d-spacing ลดลงและพีคมีความกว้างมากขึ้น ความเข้มของพีคต่ำลง เนื่องจากชั้น Zn-HDS ในโครงสร้าง Zn-HDS-Cloisite ถูกแปลงสภาพเป็น ZnO ผ่านปฏิกิริยา dehydroxylation เมื่อได้รับความร้อน (Jang, E.-S. *et al.*, 2010) แต่อย่างไรก็ตามการเผาที่อุณหภูมิสูง ๆ ทำให้โครงสร้างสูญเสียความเป็นระเบียบ

การวิเคราะห์ลักษณะด้วยเทคนิค XAS

จากข้อมูล Zn K-edge XANES ของ Zn-Cloisite, $Zn(NH_3)_4$-Cloisite (Figure 3a and 3b) ทั้งก่อนและหลังการเผาที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส และ Zn-HDS-Cloisite-400 (Figure 3c) พบว่าปรากฏพีคการดูดกลืนพลังงานที่มีค่าน้อยกว่า ZnO มาตรฐาน (Ref. ZnO) แต่มีค่า edge energy ใกล้เคียง จึงสรุปได้ว่าธาตุ Zn ที่อยู่ในโครงสร้างของสารตัวอย่างมีเลขออกซิเดชันเป็น +2 ประกอบกับการศึกษาด้วยข้อมูล Zn K-edge EXAFS ที่วิเคราะห์ในช่วง k ตั้งแต่ 3 ถึง 8 อังสตรอม$^{-1}$ และปรับให้เป็น k^2-weight (Figure 3d) พบว่า Zn-Cloisite ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นชัดเจนว่ามีอะตอม O ล้อมรอบอะตอม Zn ในระยะประมาณ 1.50 อังสตรอม ส่วน Zn-HDS-Cloisite ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส มีอะตอม O และ Zn ล้อมรอบอะตอม Zn ในระยะ 1.53 และ 2.91 อังสตรอม ซึ่งใกล้เคียงกับข้อมูล Zn K-edge EXAFS ของ Ref. ZnO แต่ความเข้มของสัญญาณที่ 2.91 อังสตรอมของตัวอย่างมีความเข้มน้อยกว่า Ref. ZnO จึงสรุปได้ว่า Zn-Cloisite เมื่อผ่าน

การเผาแล้ว จะปรากฏ ZnO ที่เติบโตขึ้นในโครงสร้าง Zn-Cloisite จะมีการจัดตัวเป็นระเบียบในช่วงสั้นกว่า ZnO ที่เติบโตขึ้นในโครงสร้าง Zn-HDS-Cloisite และ ZnO ที่อยู่ในโครงสร้างทั้งสองมีขนาดเล็กกว่า Ref. ZnO

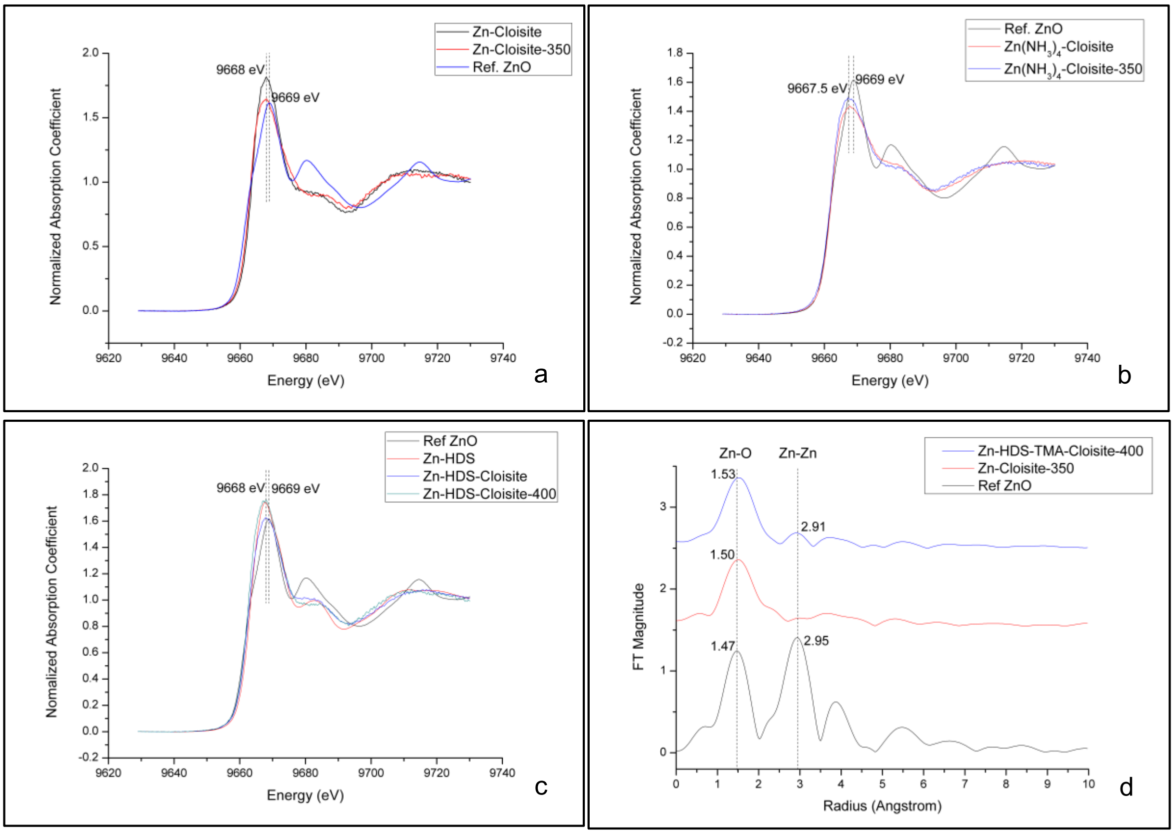


Figure 3 Zn K-edge XANES spectra of Zn-Cloisite (a), $Zn(NH_3)_4$-Cloisite (b) and Zn-HDS-Cloisite (c) calcined at various temperatures, and Fourier transform Zn K-edge EXAFS spectra of Zn-Cloisite-350 and Zn-HDS-Cloisite-400. Zn K-edge XANES and EXAFS spectra of Ref. ZnO is also given for comparison.

สรุป

ผู้วิจัยได้ประสบผลสำเร็จในการเตรียม ZnO ในโครงสร้าง Cloisite ด้วยวิธีการแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn^{2+}, $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$ และ Zn-HDS รวมถึงวิธีการนำ Cloisite ผ่านการแลกเปลี่ยนไอออนกับ Zn^{2+} แล้วมาเหนี่ยวนำด้วยไอระเหยของแอมโมเนียและตามด้วยการเผาที่อุณหภูมิสูง โดย ZnO ที่ถูกเตรียมขึ้นจาก Zn-HDS จะมีจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบในระยะยาวกว่า ZnO ที่เตรียมขึ้นด้วยวิธีอื่น และยังมีขนาดอนุภาคเล็กกว่า ZnO มาตรฐาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ในการให้ทุนศึกษาเล่าเรียน และขอขอบคุณสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน จังหวัดนครราชสีมา ที่เอื้อเฟื้อและอำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XAS

เอกสารอ้างอิง

Jang, E.-S., J.-H. Won, Y.-W. Kim, Z. Cheng and J.-H. Choy. 2010. Synthesis of Porous and Nonporous Zno Nanobelt, Multipod, and Hierarchical Nanostructure from Zn-HDS. **Journal of Solid State Chemistry**. 183(8): 1835-1840.

Magnus, W., N. Omer, H. Kamranul, A. Gul and S. MuhammadYousuf. 2014. Zinc Oxide Nanostructures: Synthesis, Characterization, and Device Applications on Nonconventional Substrates, p. 185-212. *in*, eds. **Zinc Oxide Nanostructures.** Pan Stanford Publishing.

Nityashree, N. and M. Rajamathi. 2013. Interstratified Composite of the Anionic Clays, $Zn_5(OH)_8(NO_3)_2{\cdot}2H_2O$ and $Ni_3Zn_2(OH)_8(NO_3)_2{\cdot}2H_2O$, by Delamination-Costacking. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**. 74(8): 1164-1168.

Ogawa, M. and K. Kuroda. 1995. Photofunctions of Intercalation Compounds. **Chemical Reviews**. 95(2): 399-438.

Poul, L., N. Jouini and F. Fiévet. 2000. Layered Hydroxide Metal Acetates (Metal = Zinc, Cobalt, and Nickel): Elaboration Via Hydrolysis in Polyol Medium and Comparative Study. **Chemistry of Materials**. 12(10): 3123-3132.

Sajó, I.E., L. Kótai, G. Keresztury, I. Gács, G. Pokol, J. Kristóf, B. Soptrayanov, V.M. Petrusevski, D. Timpu and P.K. Sharma. 2008. Studies on the Chemistry of Tetraamminezinc(Ii) Dipermanganate ($[Zn(NH_3)_4](MnO_4)_2$): Low-Temperature Synthesis of the Manganese Zinc Oxide ($ZnMn_2O_4$) Catalyst Precursor. **Helvetica Chimica Acta**. 91(9): 1646-1658.

Vidal, N.C. and C. Volzone. 2009. Analysis of Tetramethylammonium–Montmorillonite and Retention of Toluene from Aqueous Solution. **Applied Clay Science**. 45(4): 227-231.

Viswanatha, R., S. Sapra, B. Satpati, P.V. Satyam, B.N. Dev and D.D. Sarma. 2004. Understanding the Quantum Size Effects in ZnO Nanocrystals. **Journal of Materials Chemistry**. 14(4): 661-668.

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 โดยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs

Genetic Purity Testing of Hybrid Sweet Corn Chai Nat 2 by SSRs Markers

ศุภลักษ์ สัตยสมิทสถิต[1*] และจิระ สุวรรณประเสริฐ[1]

Supalak Sattayasamitsathit[1*] and Jira Suwanprasert[1]

บทคัดย่อ

ความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมเป็นสิ่งหนึ่งที่ใช้ในการกำหนดคุณภาพเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมของข้าวโพดหวานมีโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนจากการผสมข้ามของสายพันธุ์อื่นหรือเกิดการผสมตัวเอง ดังนั้นจึงศึกษาการใช้เครื่องหมายโมเลกุลมาตรวจสอบความบริสุทธิ์และความเป็นลูกผสมของข้าวโพดหวานพันธุ์ชัยนาท 2 ของกรมวิชาการเกษตร โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSRs จำนวน 30 คู่เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ของข้าวโพดหวานลูกผสมโดยรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างแถบดีเอ็นเอของพ่อและแม่จะสามารถจำแนกความเป็นลูกผสมได้ จากการศึกษาพบว่าเครื่องหมายที่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 ซึ่งมีสายพันธุ์แม่ CNS 75 และสายพันธุ์พ่อ CNS 66 ได้แก่เครื่องหมาย Umc 1506 และเมื่อนำเครื่องหมายที่ได้ไปตรวจสอบต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดพันธุ์ลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 จำนวน 50 ต้น พบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสม มีความบริสุทธิ์เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม

ABSTRACT

Genetic purity is one of the quality criteria. In producing sweet corn hybrid seeds, it is frequently contaminated by crossed pollen from another variety or the occurrence of selfing. The molecular markers were examined for genetic purity of sweet corn hybrid Chai Nat 2 obtained from Department of Agriculture using thirty SSRs markers based on the complementary banding pattern of the male and female parent made a way to identify the hybrid. The markers could be clearly identified of the sweet corn hybrid Chai Nat 2 form parental lines of inbred No.75 and No. 66 namely Umc 1506. The marker was used in genotyping of 50 hybrid seedlings and found that Chai Nat 2 had purity level of 100% which is in the standard for hybrid seed production.

Key Words: hybrid sweet corn, molecular marker, genetic purity

* Corresponding author; e-mail address: supalakus@yahoo.com

[1]ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก อ. วังทอง จ. พิษณุโลก 65130

[1]Phitsanulok Seed Research and Development Center, Wangthong, Phitsanulok 65130

คำนำ

ข้าวโพดหวานเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญของประเทศ สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี เป็นพืชอายุสั้น สามารถปลูกในระบบการปลูกพืชได้ดี ผลผลิตส่วนใหญ่ร้อยละ 75 จะถูกนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ข้าวโพดหวานกระป๋องและแช่แข็ง ส่งออกไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก โดยปี 2558 มีปริมาณการส่งออก 186,060 ตัน มูลค่า 6,150 ล้านบาท (สมาคมผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป, 2559) ร้อยละ 25 ใช้บริโภคฝักสดภายในประเทศ พันธุ์ที่เกษตรกรใช้ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ลูกผสมเดี่ยว (single-cross hybrid) จากทั้งภาครัฐ และเอกชน เนื่องจากข้าวโพดหวานลูกผสมมีการพัฒนาพันธุ์ให้ผลผลิตสูง คุณภาพบริโภคดี มีความแข็งแรงและการเจริญเติบโตดี รวมถึงผลผลิตได้มาตรฐานของตลาดและโรงงานอุตสาหกรรมสูง อีกทั้งความสม่ำเสมอของพันธุ์ทำให้การปฏิบัติดูแลรักษา และการเก็บเกี่ยวผลผลิตกระทำได้ง่ายขึ้น โดยมีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสมจากหน่วยงานราชการและเอกชนเพื่อให้มีคุณภาพที่ดียิ่งขึ้น จึงมีหลากหลายสายพันธุ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดปัจจุบัน ธุรกิจเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานของไทยยังมีโอกาสเพิ่มการเติบโตได้อย่างมาก เนื่องจากนักลงทุนทั้งไทยและต่างประเทศเล็งเห็นถึงศักยภาพในการที่จะผลักดันให้ไทยกลายเป็นศูนย์กลางการผลิตและกระจายเมล็ดพันธุ์ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ส่งผลให้มีการนำเข้าและส่งออกเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้น ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมสำหรับจำหน่ายได้มีการกำหนดคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้มีความเป็นลูกผสมมากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ ประกอบกับราคาเมล็ดพันธุ์ลูกผสมค่อนข้างสูง เพราะมีขั้นตอนในการผลิตที่ยุ่งยากจึงต้องมีขั้นตอนในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางสายพันธุ์จะเป็นข้อมูลที่ใช้ยืนยันสายพันธุ์เมื่อเกิดปัญหาการขโมยพันธุ์พ่อแม่จากแปลงปลูกเพื่อนำไปจำหน่ายภายใต้เครื่องหมายการค้าของตนเองจะส่งผลทำให้ผู้ค้าทั้งไทยและต่างประเทศเกิดความมั่นใจเกี่ยวกับมาตรการคุ้มครองเมล็ดพันธุ์ของไทย เกิดการพัฒนาทางธุรกิจเมล็ดพันธุ์ยิ่งขึ้นต่อไป

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์โดยทั่วไปนั้นเป็นการตรวจดูจากสัณฐานวิทยาที่ปรากฏออกมาทั้งจากเมล็ด ต้นกล้า ตลอดจนต้นพืชที่เจริญเต็มที่ ซึ่งต้องใช้ระยะเวลานาน อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในการปลูกทดสอบแต่ละครั้งซึ่งไม่สามารถควบคุมให้สภาพแวดล้อมเหมือนกันทุกครั้งได้ เนื่องจากสภาพแวดล้อมรวมทั้งการถูกกระตุ้นด้วยสภาวะบางอย่างในระหว่างการพัฒนาของเมล็ดนั้นจะมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของบางลักษณะ การตรวจสอบความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตในระดับดีเอ็นเอนับว่ามีประสิทธิภาพกว่าการตรวจสอบในระดับอื่นๆ สามารถวิเคราะห์จากส่วนใดของพืชก็ได้โดยไม่ขึ้นกับเนื้อเยื่อ ระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อม การตรวจสอบสามารถตรวจสอบได้ทั้งส่วนของยีนและส่วนที่ไม่ใช่ยีน (สุรินทร์, 2539) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) สามารถนำมาใช้ในการจำแนกและตรวจสอบความตรงต่อสายพันธุ์ได้เป็นอย่างดี เครื่องหมายโมเลกุลได้เข้ามามีบทบาทในงานด้านพันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างมาก เนื่องจากการจัดกลุ่มหรือการจำแนกสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาทำได้ยากโดยเฉพาะพืชซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน (สรพงศ์, 2554) จึงทำให้เกิดความผิดพลาดในการแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์พืชบางชนิดที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม การใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการบ่งชี้ความแตกต่างของสายพันธุ์พืช (varietal identification) ช่วยให้การจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์มีความถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น นอกจากนั้นยังได้รับความนิยมอย่างมากในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย (Mondini *et al*., 2009)

เครื่องหมายโมเลกุลที่นำมาใช้ในการตรวจสอบความตรงต่อสายพันธุ์ ได้แก่ เครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP (restriction fragment length polymorphism), RAPD (random amplified polymorphic DNA) และเครื่องหมายโมเลกุลชนิด microsatellite หรือ simple sequence repeats (SSRs) เครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมนำมาใช้และให้ผลการตรวจสอบที่แม่นยำ คือเครื่องหมายโมเลกุลชนิด microsatellite หรือ SSRs ซึ่งเป็นดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสที่มีลักษณะซ้ำกันเรียงอยู่ต่อเนื่องกันที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ในจีโนม ตั้งแต่ขนาด 1-6 เบส เช่น (C)n (CT)n (CTT)n เมื่อ n คือจำนวนซ้ำ พบว่า SSRs มีความถี่และกระจายตัวอยู่ทั่วไปในจีโนมของสิ่งมีชีวิตชนิดยูคาริโอต (สุรินทร์, 2552) ความแปรปรวนของ SSRs เกิดขึ้นเนื่องจากความผิดพลาดระหว่างการจำลองตัวของดีเอ็นเอ (DNA replication) SSRs เป็นบริเวณที่มีความแปรปรวนสูง ทำให้สามารถตรวจพบความแตกต่างได้ง่ายในแต่ละตำแหน่งของ SSRs จึงมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs มาใช้อย่างแพร่หลายในการจำแนกสายพันธุ์พืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยเฉพาะพืชที่มีฐานพันธุกรรมแคบซึ่ง SSRs ที่มีกระจัดกระจายอยู่ทั่วไปในจีโนมของพืช และถูกนำมาใช้เพื่อการพัฒนาวิธีการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ได้เป็นอย่างดีการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอมาตรฐานด้วยเครื่องตรวจสอบลำดับเบสอัตโนมัติจะให้รูปแบบอัลลีลที่หลากหลายเนื่องจากสามารถหาความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันเพียง 1 เบสได้ (สุรีพร, 2546) การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด microsatellite หรือ SSRs ทำโดยการสร้างห้องสมุดดีเอ็นเอ (DNA library) และคัดเลือกโคลนที่มี microsatellite นำมาหาลำดับเบสเพื่อใช้ออกแบบไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณส่วน microsatellite ที่ตำแหน่งนั้นๆ แต่โอกาสที่จะพบโคลนที่มีลำดับเบส microsatellite ค่อนข้างต่ำ จึงมีการพัฒนาวิธี microsatellite enrichment ขึ้นโดยตัดจีโนมิกดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ นำมาเชื่อมต่อกับ adapter แล้วคัดเลือกชิ้นดีเอ็นเอที่มี microsatellite การพัฒนาเครื่องหมาย microsatellite นอกจากสร้างห้องสมุดดีเอ็นเอและคัดเลือกโคลนโดยตรง ในสิ่งมีชีวิตที่มีการศึกษาลำดับเบสในจีโนมแล้ว สามารถพัฒนาเครื่องหมาย microsatellite ได้โดยค้นจากฐานข้อมูลลำดับเบสที่มีอยู่ นำมาออกแบบไพรเมอร์และทดลองใช้ (สุรินทร์, 2552) การใช้เครื่องหมาย microsatellite หรือ SSRs ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์พืชลูกผสมหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นเมล็ดพันธุ์ข้าว ผัก พืชไร่ ไม้ยืนต้น รวมทั้งข้าวโพดหวานซึ่งมีงานวิจัยจำนวนมากที่ใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs เพื่อบอกความแตกต่างในระดับจีโนไทป์ระหว่างพ่อและแม่ได้ (Amorim *et al.*, 2003; Bered *et al.*, 2005; Srdic *et al.*, 2008; Rupp *et al.*, 2009) นอกจากนี้มีการใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSRs สำหรับศึกษาความสัมพันธ์กับผลผลิตและความต้านทานโรคของข้าวโพด (Phumichai *et al.*, 2008)

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs ที่สามารถใช้ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานลูกผสมซึ่งจะใช้สำหรับการควบคุมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ให้เป็นไปตามมาตรฐานสากลต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล SSRs ที่แยกความแตกต่างทางจีโนไทป์ระหว่างพ่อและแม่

การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอโดยเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่มาล้างใบด้วยน้ำเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน ซับน้ำให้แห้ง ตัดใบข้าวโพดเป็นชิ้นเล็ก (50 มิลลิกรัม) ใส่ลงในโกร่งขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 150 มิลลิเมตร ที่มีสารละลาย CTAB ซึ่งอุ่น 65 องศาเซลเซียสก่อนใช้ จำนวน 2 มิลลิลิตร บดตัวอย่างให้ละเอียด ดูดสารละลายที่มีเนื้อเยื่อ

ข้าวโพด 700 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร บ่มตัวอย่างไว้ที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที, เขย่าตัวอย่างไปมาทุกๆ 1 นาที และเติม chloroform: isoamyl (24:1) 700 ไมโครลิตร ปิดฝาหลอดให้แน่น เขย่าอย่างแรงประมาณ 2-3 นาที ปั่นตกตะกอนที่ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที, ดูดส่วนใส (ด้านบน) ใส่หลอดทดลองใหม่ เติม isopropanol 700 ไมโครลิตร ลงในส่วนใส เขย่าเบาๆ ประมาณ 30 วินาที ปั่นตกตะกอน 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที, เทสารละลายทิ้ง (ดีเอ็นเอจะตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด) ตากตะกอนดีเอ็นเอไว้ให้แห้งเติมสารละลาย 80% ethanol 1 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เพื่อให้ตะกอนดีเอ็นเอหลุดออกจากก้นหลอด ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ปั่นตกตะกอนที่ 14,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 นาที เทสารละลายทิ้ง ตากตะกอนให้แห้งประมาณ 3 ชั่วโมงหรือข้ามคืน เติมสารละลายบัฟเฟอร์ TE buffer 50 ไมโครลิตร, รอจนดีเอ็นเอละลายหมด เก็บสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ 4°C หรือ -20°C เมื่อต้องการเก็บรักษาไว้นาน

การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจสอบความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ด้วยเครื่องวัดปริมาณความเข้มข้นสารปริมาณน้อยโดยแรงตึงผิว (nanodrop) ที่ใช้ปริมาณสารละลายดีเอ็นเอ 2 ไมโครลิตรโดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงแสง 260 นาโนเมตร ซึ่งหน่วยความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่วัดได้ คือ นาโนกรัม/ไมโครลิตร ส่วนความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอที่สกัดได้จะดูจากสัดส่วนการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวช่วงแสง 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร ซึ่งหากดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์สูง ควรมีค่าเท่ากับ 1.8 (A260/A280 = 1.8) หากค่าสัดส่วนที่ได้มีค่าน้อยกว่า 1.8 แสดงว่าผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้มีการปนเปื้อนจากโปรตีน หรือสารเคมีอื่นๆ

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย PCR (polymerase chain reaction)

นำดีเอ็นเอที่ได้จากข้างต้นมาเพิ่มปริมาณด้วย PCR โดยใช้ SSR primer หรือเครื่องหมายโมเลกุล SSR จากบริษัท SIGMA Aldrich Inc. สำหรับทดสอบ 30 คู่ โดยในปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วย DNA ที่ผ่านการทำให้เจือจางให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, Master Mix 2X (GeneDirex) 25 ไมโครลิตร, forward primer (25 μM/μl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, reverse primer (25 μM/μl) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย ddH2O ให้ได้ปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร นำส่วนผสมที่ได้มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยตั้งโปรแกรมการเพิ่มปริมาณ (PCR Profile) ที่เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ดังนี้ : Preheat 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 35 รอบของ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 54 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 2 นาที และ 1 รอบของ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

การตรวจสอบผลด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟริซิส

นำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟริซีสโดยใช้ 3.5% Metaphore Agarose ใน 1X TBE buffer ที่ 70 Volt เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ย้อมสีดีเอ็นเอด้วยสีย้อม SYBR®safe ดูแถบดีเอ็นเอ (ขนาดอัลลีล) ที่ปรากฏ โดยเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (molecular weight marker) บันทึกผลด้วยเครื่องถ่ายรูปภายใต้แสง UV

การบันทึกผล

คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างในการเกิดแถบดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์พ่อและแม่ของข้าวโพดหวานอย่างชัดเจน เพื่อใช้ในการตรวจสอบลูกผสม F_1

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานลูกผสมโดยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs

สุ่มเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานพันธุ์ชัยนาท 2 ตามมาตรฐาน ISTA มา 50 เมล็ดและทำการปลูกทดสอบ จากนั้นนำใบอ่อนแต่ละต้นมาสกัดดีเอ็นเอและทดสอบโดยใช้เครื่องหมายที่คัดเลือกได้ คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมจากรูปแบบดีเอ็นเอที่ปรากฏของตัวอย่างข้าวโพดหวานแต่ละต้นโดยใช้สูตร (Hipi *et al*., 2013)

Purity hybrid (%) = $\{1-\left[\frac{NH}{TS}\right]\}$ X 100%

TS (total sample) = จำนวนตัวอย่าง/จำนวนต้นพืชที่นำมาทดสอบทั้งหมด; NH (non-hybrid) = จำนวนตัวอย่าง/จำนวนต้นพืชที่ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนแม่หรือพ่อและตัวอย่างที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นเครื่องหมายโมเลกุล SSR ของฐานข้อมูล www.maizegdb.org ที่ทราบตำแหน่งบนทั้ง 10 โครโมโซมของข้าวโพด เพื่อให้มีการกระจายตัวทั้งจีโนม ได้คัดเลือก 30 เครื่องหมาย เพื่อใช้ในการทดสอบความสามารถในการแยกหรือบ่งความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสมและสายพันธุ์พ่อแม่ต่างๆ ดังใน Table 1 โดยในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมจำเป็นต้องตรวจหาความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ก่อนเพื่อเลือกตำแหน่งที่พบความแตกต่างในพ่อและแม่นั้นไปใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ลูกผสมต่อไป เมื่อทำการตรวจสอบความแตกต่างทางจีโนไทป์ระหว่างพ่อและแม่ในบริเวณดีเอ็นเอที่มีลักษณะเป็น Microsatellite ของข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 ซึ่งมีสายพันธุ์แม่ CNS 75 และสายพันธุ์พ่อ CNS 66 เครื่องหมาย Umc 1506 สามารถบอกความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่จะมีขนาดอัลลีลที่จำเพาะเท่ากับ 111 bp ในสายพันธุ์แม่ CNS 75 และ 132 bp ในสายพันธุ์พ่อ CNS 66 ซึ่งแถบดีเอ็นเอที่ได้ทั้งสองขนาด 111 bp และ 132 bp พบในลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 (Figure 1) ขณะที่เครื่องหมาย Umc 2071 สามารถบอกความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ได้เช่นกันแต่ไม่สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 ได้ เนื่องจากให้ขนาดอัลลีลจำเพาะตรงกับข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 86-1 ส่วนเครื่องหมายที่เหลือไม่สามารถตรวจพบความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ได้โดยพบแถบดีเอ็นเอเพียงแถบเดียว

เมื่อทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 โดยการสุ่มเมล็ดพันธุ์ตามมาตรฐาน ISTA มา 50 เมล็ดและทำการปลูกทดสอบจากนั้นนำใบอ่อนแต่ละต้นมาสกัดดีเอ็นเอและทดสอบโดยใช้เครื่องหมายที่คัดเลือกได้ พบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานมีความบริสุทธิ์เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2) ซึ่งผลการตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม คือมีความบริสุทธิ์มากกว่า 98% ซึ่งแสดงว่าต้นแม่หรือต้นพ่อที่ใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสมเป็นสายพันธุ์แท้ที่มีลักษณะจีโนไทป์แบบ homozygous ดังนั้นเมื่อนำมาเป็นแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมจึงมีการกระจายตัวสม่ำเสมอคือได้ลูกผสมที่มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์แม่และพ่อที่นำมาใช้สร้างลูกผสมมีผลต่อความถูกต้องของการตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs เป็นอย่างมาก เพราะถ้าต้นแม่และพ่อไม่ใช่สายพันธุ์แท้ก็จะส่งผลกระทบทำให้เกิดการกระจายตัวของลำดับเบสบางตำแหน่งในรุ่นลูกได้ซึ่งเป็นสาเหตุให้การตรวจสอบไม่มีความสม่ำเสมอทาง

พันธุกรรม หากในการตรวจสอบลูกผสมเกิดแถบดีเอ็นเอแถบเดียวที่เหมือนต้นพ่อ แสดงว่ามีการปนเปื้อนของเมล็ดพันธุ์เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการเก็บเกี่ยวหรือกระบวนการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ อย่างไรก็ตามควรจะมีการปลูกทดสอบในแปลงร่วมด้วยเพื่อสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่ต้องควบคุมสิ่งแวดล้อม เช่น พื้นที่ปลูก ฤดูกาลให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ เช่น ความสูงของต้น น้ำหนักเมล็ด เนื่องจากสิ่งแวดล้อมจะมีผลอย่างยิ่งต่อความแปรปรวนของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช (Hipi *et al.*, 2013) ดังนั้นการสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาอย่างเดียวไม่สามารถนำมาประเมินความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวโพดได้

Table 1 List of SSRs markers for genetic purity testing of hybrid sweet corn

Primer	Sequence 5'-3'		Repeat Type	Chromosome
Umc 2129	F: ACGTGGTCATCACTCACCGC	R: AAGGAGGAGCGTTCTCGTGG	$(CGC)_5$	2
Bnlg 1443	F: TACCGGAATCCTCTTTGGTG	R: TTTGACAACCTCTTCCAGGG	$(AG)_{25}$	6
Umc 1040	F: CATTCACTCTCTTGCCAACTTGA	R:AGTAAGAGTGGGATATTCTGGGAGTT	$(CT)_{11}$	9
Umc 1109	F: GCAACACAGGACCAAATCATCTCT	R: GTTCGGTCCGTAGAAGAACTCTCA	$(ACG)_4$	4
Bnlg 1350	F: TGCTTCAGCGCATTAAACTG	R: TGCTCGTGTGAGTTCCTACG	$(AG)_{13}$	3
Umc 1506	F: AAAAGAAACATGTTCAGTCGAGCG	R: ATAAAGGTTGGCAAAACGTAGCCT	$(AACA)_4$	10
Phi112	F: TGCCCTGCAGGTTCACATTGAGT	R: AGGAGTACGCTTGGATGCTCTTC	AG	7
Bnlg 1633	F: GTACCTCCAGGTTTACGCCA	R: TCAACTTCTCATGCACCCAT	$(AG)_{16}$	2
Umc 2128	F: ACGTGGTCATCACTCACCGC	R: AAGGAGGAGCGTTCTCGTGG	$(TCGTCC)_4$	9
Umc 1620	F: CCTTTCAATGTTCATGTTCTCTTCC	R: CCACCGAGTGACTAGTTGTGAGAG	$(TTC)_4$	4
Umc 1023	F: CAGTTTGGAACAGGGAAAAGTACG	R: CTTGTGCCACCACATGCAGTA	$(AT)_{11}$	6
Umc 1097	F: CTGTTAGATGTGCGACAACAGAGC	R: CTCGTCAACGTCAACCCAAGTAAG	$(CA)_8$	5
Umc 1034	F: TCATCCATGTGACAGAGACGACTT	R: GTGTTTCCGTTTCGCTGATTTTAC	$(GA)_{12}$	8
Umc 1331	F: ATATCTGTCCCTCTCCCACCATC	R: TTATGAACGTGGTCGTGACTATGG	$(GGT)_{10}$	1
Umc 1648	F: GCTTGAGCTGTGAGGAAGTTTTG	R: CTGCAGTACGTGAGCCTGTACG	$(TC)_8$	10
Umc 2071	F: ACTGATGGTGTTCTTGGGTGTTTT	R: ATACACGCAGTTACCCGAAGGTT	$(ATGT)_5$	3
Umc 1636	F: GTACTGGTACAGGTCGTCGCTCTT	R: ATATCAGTCGTTCGTCCAGCTAA	$(ACTGC)_9$	9
Umc 1241	F: TGAAGCAAGTCACTGGTAAGAGCA	R: TGACACACCCATACTTCCAACAAG	$(GTCTTTG)_4$	7
Umc 2293	F: ATGTTCCGTTTATTATTTGCCCG	R: AAAGAACAGACGGGATCCAATC	$(TCTCTCTC)_4$	5
Umc 2350	F: CGAATCGAGGATGGTTTGTTTTT	R: AGTAGCGACTCCTCTGCGTGAG	$(GGCCGT)_4$	10
Umc 2383	F:CTCGCAACTGCGCTTCTAGATACT	R: CATAGACGTGCCCCTTGTCATC	$(AGC)_6$	1
Umc 1363	F:TGTTTAAGTGTTGGCAGAAAGCAA	R: TCTCCCTCCCCTGTACATGAATTA	$(AGG)_4$	1
Umc 1590	F:CAGAGTCTGATAGTCCGAACCCAG	R: GTAAAGCTCACAGCTTCCGACAG	$(AAGGAG)_5$	1
Umc 1383	F:CACACACATCGATCATGAGCATAC	R: GTGTACTACCATCAGACCCATCCA	$(GACG)_6$	1
Bnlg 1083	F: ACAGTCTGTTGGGGAACAGG	R: CAACGCTGGTTTGTCGTTTA	$(AG)_{29}$	1
Umc 1506	F:AAAAGAAACATGTTCAGTCGAGCG	R: ATAAAGGTTGGAAAACGTAGCCT	$(AACA)_4$	10
Umc 1077	F: CAGCCACAGTGAGGCACATC	R:CAGAGACTCTCCATTATCCCTCCA	$(CA)_{15}(CCCA)_{12}$	10
Umc 1292	F:GAAGTGGGGAACATGGTTAATGTC	R:TCACGGTTCAGACAGATACAGCTC	$(TGG)_6$	1
Umc 1736	F:CCATCCACCACTAGAAAGAGAGGA	R:TTAATCGATCGAGAGGGTGCTTTTC	$(CCAT)_6$	2
Bnlg 1063	F: GGAGACAACCCCGACGAC	R: GGTACCAGAGCCACAGATCC	$(AG)_{42}$	3

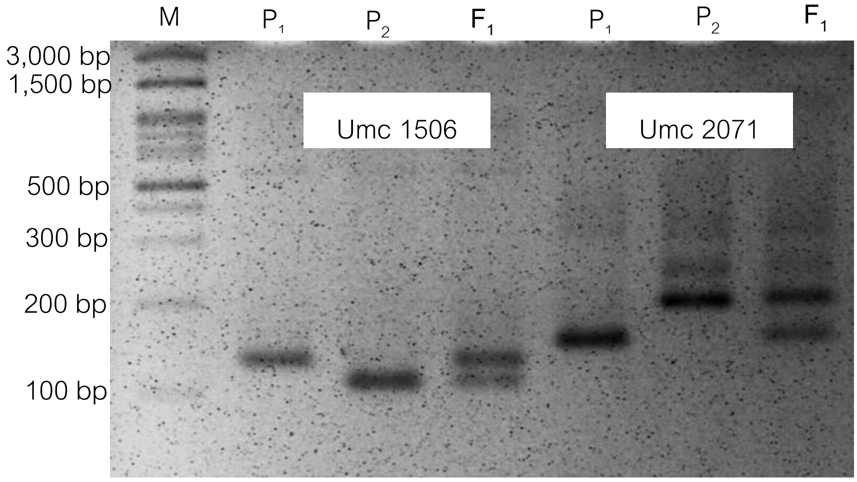


Figure 1 Visualization of specific marker for parental of hybrid sweet corn Chai Nat 2 (M = DNA ladder, P_1= female parent, P_2= male parent, F_1= hybrid)

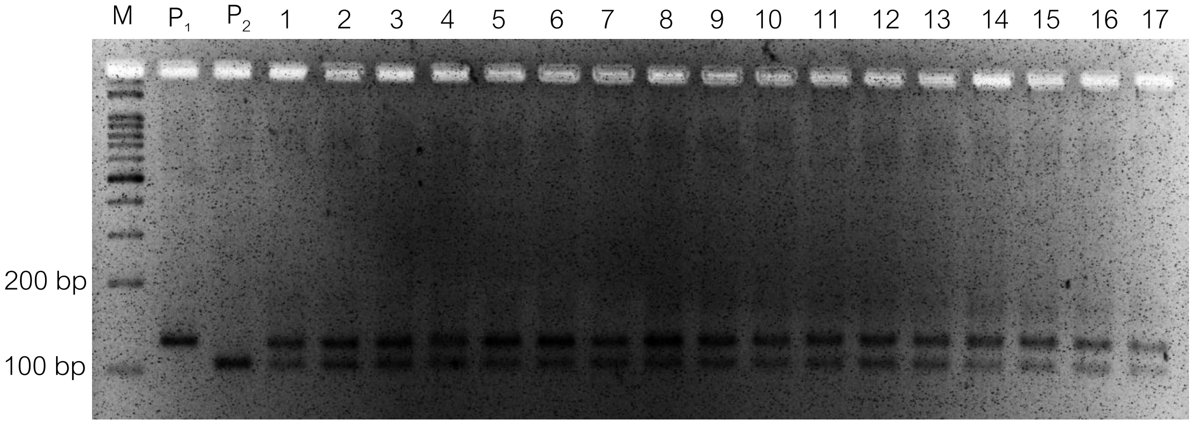


Figure 2 Visualization of DNA banding pattern using SSRs markers Umc 1506 through vertical electrophoresis 3.5% Metaphore Agarose. M = DNA ladder, P_1 = female parent, P_2 = male parent. No. 1, 2, 3, ... 17 is hybrid sweet corn Chai Nat 2

จากการทดลองพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละคู่สามารถตรวจพบความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ได้มากน้อยต่างกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากตำแหน่งของ SSRs ที่เพิ่มปริมาณ มีขนาดและชนิดของเบสซ้ำที่แตกต่างกัน ซึ่งโดยทั่วไปแล้วในจีโนมของพืชจะพบ SSRs ที่มีขนาด 2 เบส กระจายอยู่ทั่วไปในจีโนมและสามารถตรวจพบความแตกต่างได้มากกว่าพวกที่มีลำดับเบสซ้ำขนาด 3 หรือ 4 เบส (Areshchenkova and Ganal, 2002) และบางเครื่องหมายก็ไม่สามารถนำมาใช้เพิ่มปริมาณบริเวณ SSRs ที่ต้องการได้อย่างชัดเจน เป็นเพราะกระบวนการในการสร้างไพรเมอร์สำหรับดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดนี้ขึ้นอยู่กับเทคนิคในการสร้างที่ยังมีความซับซ้อนในการที่จะให้ได้ไพรเมอร์ที่ขนาบข้างในตำแหน่งของ Microsatellite ในแต่ละตัวอย่างอย่างเฉพาะเจาะจง ซึ่งต้องเลือกตำแหน่งที่ไม่ห่างกันมากนัก โดยผลผลิตพีซีอาร์ที่คาดหมายควรมีขนาดไม่เกิน 300 คู่เบส เพื่อให้การแยกขนาดของดีเอ็นเอที่มีความยาวต่างกันน้อยๆ มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมแต่ละพันธุ์ข้าวโพดหวานจำนวนเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้บอกความแตกต่างทางจีโนไทป์ มีจำนวนแตกต่างกันอาจเนื่องมาจาก ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์พ่อและแม่ที่นำมาใช้สร้างลูกผสมใน

แต่ละคู่นั้นมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด วิธีการที่ใช้ในการสร้างลูกผสม เช่น ลูกผสมเดี่ยว ลูกผสมสามทาง และลูกผสมคู่ ทำให้ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างพ่อและแม่มีความแตกต่างกันมากน้อยไม่เท่ากัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs มีวิธีการที่ยุ่งยากพอสมควร แต่เมื่อได้เครื่องหมายแล้ว สามารถนำไปใช้ได้ง่าย เนื่องจากเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้วิธีการเพิ่มปริมาณด้วยพีซีอาร์ จึงต้องการดีเอ็นเอต้นแบบปริมาณน้อยและชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบก็มีขนาดเล็ก จึงไม่ต้องใช้ดีเอ็นเอตัวอย่างที่มีคุณภาพดีมากนัก ผลการตรวจสอบยังมีความแม่นยำ สามารถส่งข้อมูลลำดับเบสของไพรเมอร์เพื่อนำไปใช้ที่ห้องปฏิบัติการใดก็ได้ ดังนั้นจากการทดลอง จากการตรวจสอบความแตกต่างทางจีโนไทป์ของพ่อและแม่ที่ใช้ในการผลิตข้าวโพดหวานลูกผสมพบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs ที่สามารถตรวจสอบความบริสุทธิ์ของผลิตเมล็ดพันธุ์และความเป็นลูกผสมได้อย่างรวดเร็วซึ่งมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในระบบการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ลูกผสมต่อไป

สรุป

เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs สามารถใช้ตรวจสอบความแตกต่างทางจีโนไทป์ของพ่อและแม่ที่ใช้ในการผลิตข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชัยนาท 2 ได้แก่เครื่องหมาย Umc 1506 ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSRs สามารถตรวจสอบความบริสุทธิ์ของผลิตเมล็ดพันธุ์และความเป็นลูกผสมได้อย่างรวดเร็วซึ่งมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในระบบการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ลูกผสมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาทที่อนุเคราะห์ให้พันธุ์ข้าวโพดหวานที่ใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตรที่สนับสนุนทุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สุรีพร เกตุงาม. 2546. **เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช**. วารสารอุบลราชธานี. 5: 37-58.

สุรินทร์ ปิยะโชคณกุล. 2539. **พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น.** ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

สุรินทร์ ปิยะโชคณกุล. 2552. **เครื่องหมายดีเอ็นเอ:จากพื้นฐานสู่การประยุกต์**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สรพงศ์ เบญจศรี. 2554. **เครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืช.** วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 39: 350-363.

Amorim, E. P., C. C. De Souza Almeida, M. J. C. Melo Sereno, F. Bered and J. F. Barbosa Neto. 2003. Genetic variability in sweet corn using molecular markers. **Maydica** 48: 177-181.

Areshchenkova, T and M. W. Ganal. 2002. Comparative analysis of polymorphism and chromosomal location of tomato microsatellite markers isolated from different sources. **Theoretical and Applied Genetics** 104: 229–235.

Bered, F., T. F. Terra, M. Spellmeier and J. F. B. Neto. 2005. Genetic variation among and within sweet corn populations detected by RAPD and SSR markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 5: 418-425.

Hipi, A., M. Surahman, S. Ilyas and Giyanto. 2013. Seed genetic purity assessment of maize hybrid using microsatellite markers (SSR). **International Journal of Applied Science and Technology** 3: 66-71.

Mondini, L., A. Noorani and M.A. Pagnotta. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. **Diversity** 1: 19-35.

Rupp, J. V., C. A. Mangolin, C. A. Scapim and M. F. Pires da Silva Machado. 2009. Genetic structure and diversity among sweet corn (su1-germplasm) progenies using SSR markers. **Maydica** 54: 125-132.

Srdic, J., A. Nikolic and Z. Pajic. 2008. SSR markers in characterization of sweet corn inbred line. **Genetika** 40: 169-177.

Phumichai, C., W. Doungchan, P. Puddhanon, S. Jampatong, P. Grudloyma, C. Kirdsri, J. Chunwongse and T. Pulam. 2008. SSR-based and grain yield-based diversity of hybrid maize in Thailand. **Field Crops Research** 108: 157-162.

Applied Technique for Chromosome Slide Preparation of Animal Fibroblast Cells for Karyotyping

Wilairat Chumsing[1*], Pattra Moonjit[1] , Orawan Boodde[1] and Worawidh Wajjwalku[1]

ABSTRACT

This research aimed to develop the technique for uncomplicated routine application of karyotyping for animal cytogenetic study. The fibroblast cell line candidated for this study was Vero cells. Cells were cultured at 37 °C 5%CO_2 for 24 hr. Cells were treated with colchicine 0.01 µg/ml with 3 conditions varied by time of cells - colchicine contact of 30 min, 1 hour and 3 hour. The cells suspension of 50µl was smeared on slides for metaphase chromosome study. The chromosomes slides preparations were applied using two methods. The conventional method was using automatic pipette to mount sample on slide and dropping 50 µl of the cells suspension vertically above the slide at 30 cm of distance. The applied method was using mainly the air pressure from plastic syringe and controls the correct direction of smear by the plastic cylinder that set straight with the marked area at the slide. The metaphase chromosomes were then stained with Giemsa staining (G-banding) and observed for chromosome image under light field microscope. The distribution of chromosomes from syringe pressing technique was compared with the conventional method. The result showed that metaphase chromosomes distribution was obviously seen by syringe pressing method. This led to easy procedure for applying the image for Karyotyping. Cells- colchicine contact at different time of incubation showed metaphase stage from all conditions, however 1 hour incorporated with syringe plunger pressing condition gave favorable image for chromosomes monitoring.

Key words; chromosome, karyotyping, fibroblast cells, cytogenetic study

*Corresponding author; e-mail address: fvetwich@ku.ac.th

[1] Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Nakorn Pathom 73140

INTRODUCTION

Karyotyping is a technique for chromosome study. (Enzer, 2011). Karyological analysis could be approached by manual or visual determination of enlarged metaphase chromosome paired image and automated pairing. However the assorted chromosomes made it difficult for the analysis. Thus the good distribution of metaphase chromosomes would be concerned. Considering the methodology to get the fine quality of determining chromosome image, stage of cells division and enhancing the metaphase is important. Variation of time used for colchicine or its derivative to get the metaphase chromosome had been reported depending on species or each type of cells.(Silva *et al.*,2011) The metaphase chromosomes distribution that localized on the prepared slides were subjected to be analyzed when extension at 3,000 magnification. Therefore the technique that properly implied is necessary for application for further exhibited cells study.

MATERIALS AND METHODS

1. Cells culture

Vero cells were grown in 25 cm^3 flask with Iscove's Dulbecco's Modified Eagle Medium (IMDM) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS), Penicillin-Streptomycin (10,000 U/mL) and Amphotericin B 250 µg/ml at 37 °C 5% CO_2 supplied incubator. After 24 hour of culture, fibroblast cells were observed under inverted microscope. In this period, cells were presumed to have the metaphase stage chromosome.

2. Colchicine Incubation and cells harvesting

The cells cultures were then treated with colchicine 0.01 µg/ml with 3 conditions varied by time of cells - colchicine contact of 30 min, 1 hour and 3 hour. After the proposed time, the cells were detached from cultured flask with 2 ml of 0.25 % trypsin solution incubated at 37 °C for 5 min. 5 ml of IMDM containing 5% FBS was added and centrifuged for 2,500 rpm for 5 min. Cells pellet were then washed with Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.2 and centrifuged for 2,500 rpm 5min.

3. Chromosomes preparation

The cells pellet were resuspended with 2 ml of 0.075 M Potassium Chloride solution (KCL) and incubated at room temperature for 20 min. For chromosome fixation, 8 ml of cold 25 % acetic acid in absolute ethanol were added slowly into the tube and placed on ice for 10 min. The fixed cells were centrifuged for 2,500 rpm 5min and discarded the supernatant. The cells pellet was resuspended with fixative solution at 3 volume of the pellet.

4. Fixation on slides and preparation techniques

The pre-chilled positive charge slides were stored at 4 °C prior 30 min before using. Cells suspension of 50µl was subjected to be fixed on slides by two methods. For conventional method each 50 µl of suspension were dropped above the slide vertically at 30 cm margin using automatic pipette and glass slide. The second method applied in this study using the pressure from syringe to break cells and separate chromosomes. In detail, plunger was separated from syringe then suspension of 50µl was transferred in the 3 ml plastic syringe connected with 23 GX1" needle. The prepared slide placed on the Petridis that covered with plastic cap cylinder containing small air hole. The needle and syringe barrel were set straight in the air hole cover for direction controlling. The margin of sample obtained in needle and slide is 9 cm and then pressing the air pressure by immediately push plunger to feed the sample on the slides.

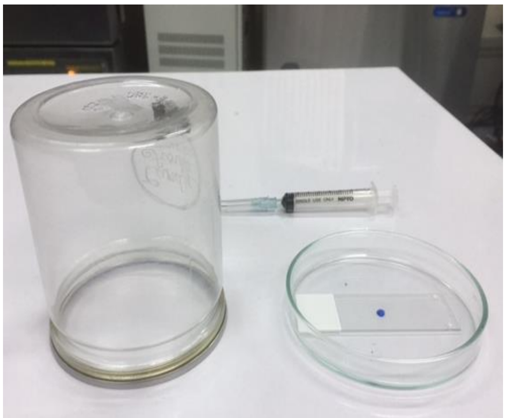


Figure 1 Plastic container with small air hole, Petridis, positive charge slide and plastic syringe with needle that used for cells suspension to be fixed on slide by syringe pressing method

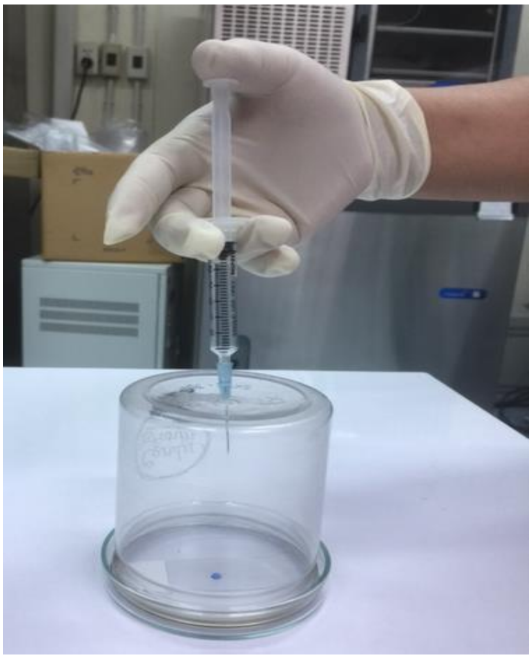


Figure 2 Applied technique for cell suspension on slide using syringe pressing method at the distance of 9 cm apart from the marked area

5. Chromosomes staining

The chromosomes G-banding was determined using trypsin and Giemsa dye staining was performed, the slides were dried up immediately on flame, treated with 0.25 % trypsin solution for 30 second. Then slides were soaked with PBS for 10 second. They were later stained with 10 % Giemsa dye for 3 min. After drying, slides were observed for metaphase chromosomes under light field microscope.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Cells and colchicine period of contact and chromosome Image caption

The varied time of cells -colchicine contact treat for 30 min,1 hour and 3 hour gave the images of metaphase chromosome by both methods of chromosomes slides preparation. Although some was used 3 hour of incubation for blocking mitotic spindle during cells division holding the metaphase stage. (Mirzaghaderi,2010). The microscopic view of both methods of cells suspension preparations, were found metaphase chromosome since 30 min of incubation.

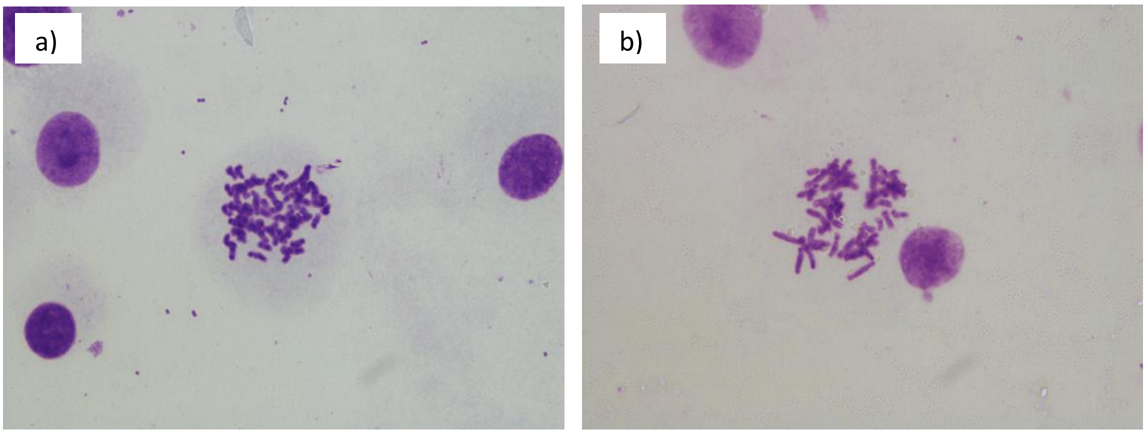


Figure 3 Metaphase chromosomes of Vero cells were incubated for 30 min with colchicine. Giemsa staining and observed under light field microscope. The sample slide prepared by conventional method (a) and applied method (b)

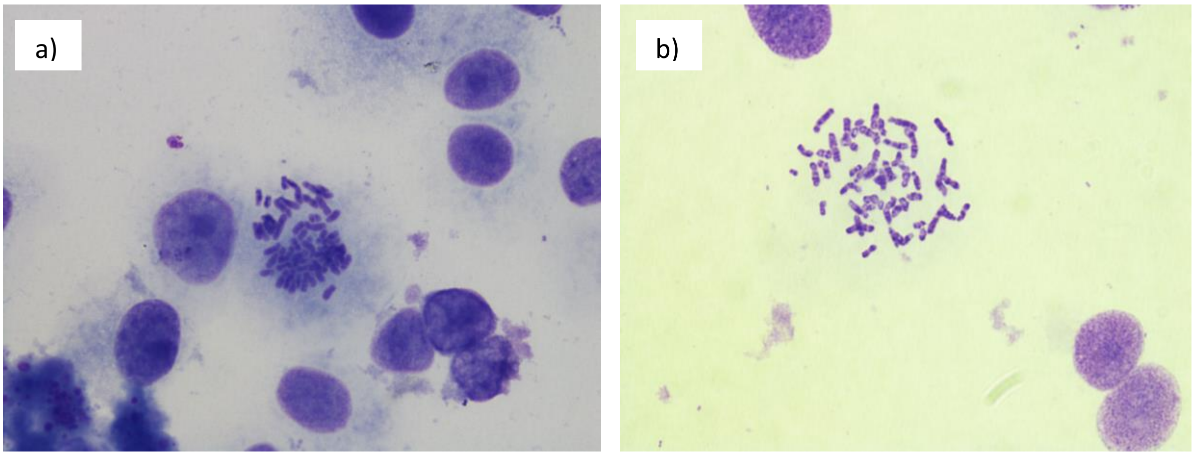


Figure 4 Metaphase chromosomes of Vero cells were incubated for 1 hour with colchicine. Giemsa staining and observed under light field microscope. The sample slide prepared by conventional method (a) and applied method (b)

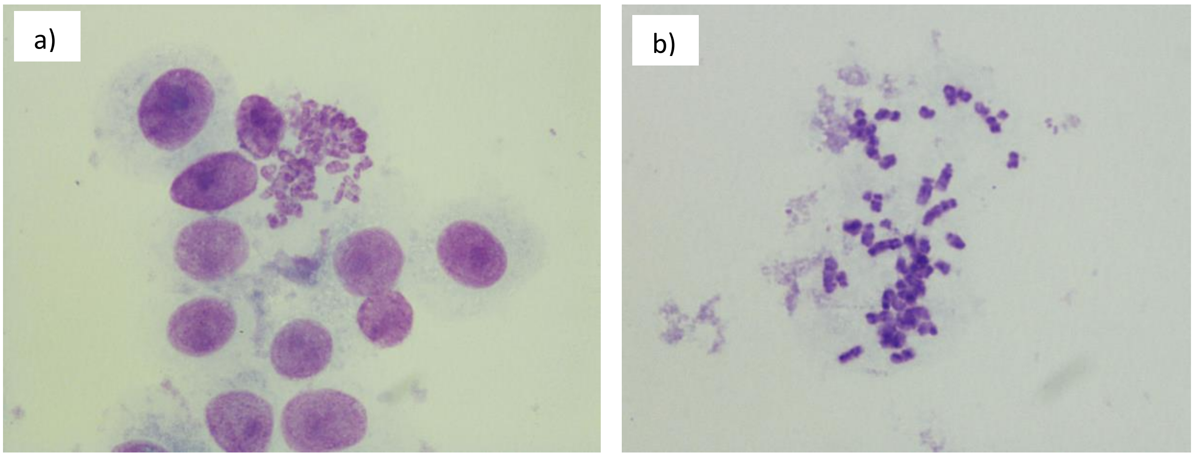


Figure 5 Metaphase chromosomes of Vero cells were incubated for 3 hour with colchicine. Giemsa staining and observed under light field microscope. The sample slide prepared by conventional method (a) and applied method (b)

2. Cells suspension and slide preparation technique

The fixative that usually used for cells fixation is methanol: acetic acid at ratio of 3:1 by volume and Canoy's solution depending on source of studied specimens. In this study, we use mixture solution of 25 % acetic acid in absolute ethanol for fibroblast cells culture. The conventional protocol for preparation had been described that sample must be prepared on cleaned slides. The slides that used in this study were positive charge slide which is 3% silane coated glass slides. The important process of smearing and fix sample on slides by conventional method was dropping the sample above the slides at 20-30 cm away from the slide. (Felip *et al*., 2009 , Howe *et al*., 2014).It is still problematic topic that is uncertain to get the good smear of sample on slides and so the appropriated technique is required for each species. Although the metaphase chromosomes had

been prepared, Nevertheless difficulty found to get the favorable result of chromosome distribution on slides that shown in figure 3 a), 4a and 5a. On the other technique applied here is syringe pressing technique which created enough pressure to present metaphase chromosomes distribution on slides. The result of this technique shown in figure 3b), 4b) and 5b) respectively. Comparing both techniques, dropping amount of suspension from a distance was hardly right directional practice, may cause loss of specimen and time course. The applied technique is simply practiced and able to control the position and direction of marked area of sample slides as shown in Figure 1 and Figure 2. Additionally, when incubation period of cells- colchicine contact is focused and corroborated with chromosomes slides preparation techniques. It is markedly noticed that for the cells in this study, 1 hour of colchicine condition with syringe pressing technique performed the favorable result of distribution for extension to be used in further Karyotyping. There were reports in corresponded to 3 hour longer time of exposure to colchicine.(Sumalee *et al.* 2015), but the chromosome slides preparation was done by pipette cells suspension on slide. However, it was reported also that colchicine treat may varied by species. (Mirzaghaderi, 2010)

CONCLUSION

The applied technique of syringe plunger pressing to prepare metaphase chromosomes slide is applicable and simply practiced. It gave the favorable result of distribution of chromosomes sample on the slide. In the preparation of metaphase chromosomes of Vero cells, a known chromosome candidate was successful for demonstrated study of technique that has been adapted to present a better method for easy procedure in metaphase chromosomes monitoring.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are thankful to The Research and Development Project of Animal Genetic Biodiversity and Animal Health, Kasetsart University for the support.

REFERENCES

Enzer,N . 2006. Karyotyping a Cell Line. Koch Institute for Integrative Cancer Research.

Felip A.,M. Carrillo, M.P. Herraez, S. Zanuy and B. Basurco.2009. Advances in fish reproduction and their application to broodstock management:a practical manual for sea bass Zaragoza:CIHEAM/

Mirzaghaderi, G. 2010. A simple metaphase chromosome preparation from meristematic root tip cells of wheat for karyotyping or *in situ* hybridization.African Journal of Biotechnology 9(3)314-318

Howe,B., A. Umrigar and F. Tsien.2014. Chromosome Preparation From Cultured Cells.Journal of Visualized Experiments (83)

Silva,T.L.M.I.A. Silva, L.P.R.Venancio, C.E.S. Zago, V.A.G. Moscheta, A. V.B. Lima, L.D. Vizotto, J.R. Santos, C.R. Bonini Domingos and M.T.V. Azeredo- Oliveira .2011. Simple method for culture of peripheral blood lymphocytes of Testudiniae. Genetics and Molecular Research 10(4)3020-3025

Sumalee Pimpun, A. Tanomtong, Y. Chuayngern and D. Prathumthong.2015. Karyological Analysis of Red Junglefowl (Gallus *gallus gallus* Linnaeus,1758) Using Fibroblast Cell Culture.KKU Sci.J.43(1)39-48

Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Opuntia elatior* Fruit

Butsarakham Singchai[1*], Dumrong Pongputthachat[2] and Umaporn Daengkhwanthong[1]

ABSTRACT

This research was aimed to study the preliminary phytochemicals, antioxidant activity, antibacterial activities and cytotoxicity test of the extracts of *O. elatior.* The fruit was harvested in December 2015. After separated peeled fruit from the flesh, dried and ground flesh was successively extracted with ethanol. The antioxidant activity of the extract was tested by using DPPH assay, and vitamin C was as a positive control. In addition, the antimicrobial activities were tested by using agar diffusion method, against six human pathogenic microorganisms, including *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *E. aerogenes*, and *M. luteus* while including 5%DMSO as a negative control. In order to investigate cytotoxicity against primate cell line, primate cell line performed with the standard drug, ellipticine used as positive controls. The results showed that; this extract showed the moderated antioxidant activity with DPPH assay of 4 1.87±1.140 inhibited percentages at final concentration of 125 µg/ml. On the other hand, the extract inhibited antimicrobial activity against tested organisms. The highest antimicrobial activity was found to against *S. saprophyticus* at the minimum concentration of 0.75±0.43 mg/ml, the following was against *M. luteus* at the minimum concentration of 1.50±0.00 mg/ml. This extract showed the minimum concentration inhibited against other microorganisms at 3.00 mg/ml. Notably, ellipticine using as standard drug showed IC_{50} of 0.75 µg/ml, in this cytotoxicity study.

Key words: phytochemicals, *Opuntia elatior*, biological activities

* Corresponding author; e-mail address: sbung13@yahoo.com

[1] Division of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi Province, 76000

[2] Division of Biology, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Nawung Subdistric, Muang District, Phetchaburi Province, 76000

INTRODUCTION

Opuntia elatior Mill., in Thailand, commonly named as *"Sema"* belongs to family Cactaceae (Smitinand, 2014). The plant was more than three meter height. Leaves was 7.5 mm long, subulate, recurved, reddish at the tips, variable in size, about 10-18 cm in width by 18-30 cm in height. The obovate or elliptic was rather thin but was not undulatem dull bluish green. Areoles were rather slender straight prickles which are grey and opaque except when quite young. Flowers were 5 cm. across, yellow or orange, perianth rotate. The outer segments were short, ovate, acute, reddish in the center, yellow at the edges. Stamens were a shorter than the perianth. There were six stigmas. However, there were occasionally a few prickles, reddish purple when riped (Chauhan *et al.*, 2013). The fruits had traditional used in term of haematinic and spasmolytic activity, but there were no research to evaluate biological activities and phytoconstituents of the fruits. Therefore, the objectives of this research were to carry out investigate phytochemical screening and to evaluate biological activities of fruits of *O. elatior* as in vitro antioxidation, antibacterial and cytotoxicity.

MATERIALS AND METHODS

1. Preparing of *O.elatior* extracts

Harvested an inner fruit except seed in December 2015 at side road of Hardjao Samran road, Muang District, Phetchaburi Province. The collected plants were identified by Dr. Boonsanong Chourykaew, Division of Biology, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University. After dried and ground samples were extracted with ethanol and then removed solvent by using vacuum evaporator at 60^{o}C. The extracts were stored at 5^{o}C prior to biological activity tests.

2. Scavenging activity

The free radical scavenging activity was applied and modified from the method describe by Srimoon and Ngiewthaisong, 2015. The extracts were dissolved in methanol at various concentrations (0.001-125 µg/ml). Then 0.1 ml of each extract solution was mixed with 0.2 ml of 0.2 mM DPPH and 3.7 ml of methanol. All tests were incubated in dark at room temperature for 30 minutes. The tests were performed in triplicate and the absorbance was measure at 517 nm. The negative control and positive control were run in parallel as using methanol and vitamin C, respectively. The scavenging activity was calculated using formula as below.

$$\% \text{ scavenging} = [(A517_{control} - A517_{saple})/A517_{control}] \times 100.$$

Where $A517_{control}$ was mixed with methanol and DPPH, while, $A517_{sample}$ was mixed with methanol, sample and DPPH.

3. Antimicrobial test (Pukumpuang, Thongwai and Y. Tragoolpua, 2012)

The antimicrobial activities of the extract were determined by agar diffusion method. The biological activities were evaluated by measuring the diameter of zone of inhibition exhibited. Briefly, Muller Hinton agar was prepared and sterilized. The medium was poured three times onto the plates after intermittent solidification there by a 4 mm thickness agar was prepared. Using well cutter wells (6 mm diameter) were prepared. In each step of well cutting, the well cutter was thoroughly wiped with alcohol and sterilized on direct flame. Lawn of different organisms was prepared using sterile swabs and labeled accordingly and kept for few minutes. The various concentrations of the extracts and the antibiotic drug were loaded using a sterile micropipette in the respective well and the plates were labeled at the bottom. The discs were prepared using 60 µL of crude extract diluted in ethanol concentrations of 100 mg/mL, 50 mg/mL, 12.5 mg/mL, 6.25 mg/mL, 3.12 mg/mL and 1.56 mg/mL respectively; thus, each disc contained 6.00 mg/ml 3.00 mg/ml, 1.50 mg/ml, 0.75 mg/ml, 0.37 mg/ml, 0.18 mg/ml and 0.09 mg/ml of crude extract, respectively. The plates were incubated at 37 ^{o}C for 24 hrs. Tests were performed in triplicate and the zone of inhibition was calculated by measuring the dimension of the zone of no microbial growth around the well. Dimethyl sulfoxide (DMSO): methanol (1:1V/V) solvent was using as a negative control. Determination of Minimum inhibitory concentration (MIC) were using diffusing well agar assay as mentioned above, by prepared in various extract concentration.

4. Cytotoxicity test against Vero cell (primate cell line) (Hunt, *et al.*, 1999)

The GFP-expressing Vero cell line was generated in-house by stably transfecting the African green money kidney cell line (ATCC CCL-81) with pEGFP-N1 plasmid. The cell line is maintained in minimal essential medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum, 2mM L-glutamine, 1mM sodium pyruvate, 1.5 g/L sodium bicarbonate and 0.8 mg/ml geneticin, at 37^{o}C in a humidified incubator with 5% carbon dioxide. The assay is carried out by adding 45 µl of cell suspension at $3.3X10^{4}$ cells/ml to each well, after containing 5 µl of test compounds previously diluted in 0.5% dimethyl sulfoxide. Then plates were incubated for 4 days in 37^{o}C incubator with 5% carbon dioxide. Fluorescence signals are measured by using SpectraMax M5 microplate reader (Molecular Devices, USA) in the bottom-reading mode with excitation and emission wavelengths of 485 and 535 nm fluorescence signal at day 4 is subtracted with background fluorescence at day 0. The percentage of cytotoxicity is calculated by following equation, where FU_T and FU_C represented the fluorescence units of cells treated with test compounds and untreated cells, respectively.

$$\% \text{ cytotoxicity} = [1-(FU_T/FU_C)] \times 100$$

IC_{50} values are derived from dose-response curves, using 6 concentrations of 3-fold serially diluted samples, by the SOFTMax Pro software (Molecular Devices). Ellipticine and 0.5% dimethyl sulfoxide are used as a positive and negative control, respectively. The IC_{50} values (extract concentrations resulting in a 50% inhibition) were derived from dose-response curves using 6 concentrations of twofold serially diluted samples with the SOFTMax Pro software (Molecular Device, USA). Ellipticine and 0.5% DMSO were used as positive and negative controls respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Scavenging activity and cytotoxicity

According to the traditional used of *O. elatior* fruit had shown in Figure 1, as to cure aematinic, anti-asthmatic and spasmolytic activity, this research was investigated to antioxidation, antibacterial and cytotoxicity tests. The peel fruits of this plant were separated successively with ethanol.

Figure *1* *O. elatior*

Table 1 The biological activities of fruits of *O. elatior*.

Test	% Scavenging activity	Cytotoxicity* (IC_{50} µg/ml)
Extract	41.87±1.140	-
Ellipticine	nd	0.75
VitaminC	100 (IC_{50} = 29.2±0.03 µg/ml)	nd

Note -Mean no activities, *mean the final concentration at 50 µg/ml, nd mean not determined.

At the final maximum concentration of 125 µg/ml, the extract of *O. elatior* showed moderated scavenging activity of 41.87±1.140 percentage, however the positive control, vitamin C, displayed IC_{50} of 29.2±0.03 µg/ml as shown in Table 1.

The cytotoxicity of the *O. elatior* extract on Vero cell line showed no cytotoxicity at the final concentration of 50 µg/ml, however the positive control, ellipticine was evaluated IC_{50} at 0.75 µg/ml. (Table1.)

Table 2 The inhibited zone and MIC of the ethanolic extract against six microorganisms.

Microorganisms	Ethanolic extract of *O. elatior*		Negative control
	Inhibited zone±SD (mm)	MIC ±SD (mg/ml)	Inhibited zone (mm)
B. subtilis	25.0±1.15	3.00±0.00	-
B. cereus	24.0±1.53	3.00±0.00	-
S. aureus	25.0±0.58	3.00±0.00	-
S. saprophyticus	34.0±0.00	0.75±0.43	-
E. aerogenes	25.0±0.00	3.00±1.73	-
M. luteus	32.0±1.53	1.50±0.00	-

Note - mean no antimicrobial activities

In this work, antimicrobial activities of the alcoholic extracts of *O. elatior* fruits on six microorganism strains were assessed by inhibited zone and minimal inhibitory concentration (MIC) values. The extract showed the high inhibited *S. saprophyticus* with inhibited zone of 34 mm, following inhibited against *M. luteus, B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus* and *E. aerogenes* in range of inhibited zone of 24-34 mm as showed in Table 2. However, 5%DMSO was used as the negative control. In additionally, the MIC value of extract was against *S. saprophyticus* of 0.75 mg/ml.

CONCLUSION

The present work had shown that *O. elatior* is potentially a good source of antimicrobial agents which can be used as in Thai medicinal traditional wisdom. Additionally, this research was the first reported antimicrobial activities, cytotoxicity. The crude extracts showed board spectrum for antimicrobial activities against human pathogenic microorganisms, including *B. subtilis*, *B. cereus, S. aureus*, *S. saprophyticus*, *E. aerogenes*, and *M. luteus* according to research of Kumaar *et al*., 2013 that studied antimicrobial of *O. dillenii* fruit extract. Moreover, flesh fruit extract of this plant had the low scavenging activity by DPPH assay.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by Phetchaburi Rajabhat University and the authors would like to thank Bioassay laboratory, BIOTEC, Thailand, for cytotoxicity and antiviral tests.

REFERENCES

Smitinand T. 2014.**Thai plant name**. Bangkok: Buddhists office.

Chauhan S.P., Sheth N.R., Rathod I.S., Suhagia B.N. and R.B. Maradia. 2013. Phytochemical Screening of Fruits of *Opuntia elatior* Mill. **American Journal of PharmTech Research**. 3(2): 3387-2249.

Srimoon R. and S. Ngiewthaisong. 2015. Antioxidant and Antibacterial Activities of Indian Marsh Fleabane (*Pluchea indica* (L.) Less). **KKU Res.j.** 20(2): 144-154.

Pukumpuang W., Thongwai N. and Y. Tragoolpua. 2012. Total phenolic contents, antibacterial and antioxidant activities of some Thai medicinal plants extracts. **Journal of Medicinal Plants research**. 6(35):4953-4960.

Hunt L., Jordan M., Jesus M. De and F.M. Wurm. 1999. GFP-expressing mammalian cells for fast, sensitive, noninvasive cell growth assessment in a kinetic mode. **Biotechnol and Bioeng**. 65: 201-205.

Kumaar A. P. S., Vanitha J., Venkateshwaran K., Reddy K. S. and D. Karthikeyan. 2013. Antibacterial and antifungal activity of *Opuntia dillenii* (Cactaceae) fruit extract. **J. Environ. Nanotechnol.** 2 (1): 16-19.

Molecular cloning and characterization of TSP-EGF from the Banana shrimp *Fenneropenaeus merguiensis*

Natthaporn Khwanmuang[1*], Wilaiwan Chotigeat[1,2] and Monwadee Wonglapsuwan[1,2*]

ABSTRACT

Thrombospondins (TSPs) are extracellular, multidomain, calcium-binding glycoproteins that modulate cell behavior in homeostasis and during ovarian development, wound-healing, immune response and tumor growth of adult tissues in vertebrate. In invertebrates, these proteins are a major component of cortical rods in mature oocytes. The full-length of thrombospondin gene was identified from shrimps. The completed cDNA sequence is a polypeptide that contains chitin-binding type-II (ChtBD2), an EGF-like domain (TSP-EGF), a Thrombospondin type-III repeats (TSP-3) and C-terminal domain (TSP-C). The full length of TSP-EGF gene was identified from *Fenneropenaeus merguiensis*. The completed cDNA sequence is 462 bp contain an open reading frame (ORF) of 154 amino acids. Homology analysis of the nucleic acid sequence of TSP-EGF with other known TSP-EGF sequences by the NCBI database indicated that the TSP-EGF has a high homology with the sequence of *Fennerpenaeus chinensis* (90% identity). This study has focused on the wound healing process by TSP-EGF protein which CHO-cell lines repaired itself after scratch. Analysis of cell proliferation by *In vitro* scratch assay and using a real-time cell analyzer. Our results have demonstrated that the CHO-cell lines exposed to TSP-EGF proteins at a concentration of 100 µg/ml achieved a significantly higher wound closure as compared to the 0,1 and 10 µg/ml TSP-EGF proteins.

Key words: banana shrimp, *Fenneropenaeus merguiensis*, Thrombospondin,TSP-EGF

* Corresponding author; e-mail address: monwade@hotmail.com

[1]Center for Genomics and Bioinformatics Research, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112

[2]Center of Excellence on Medical Biotechnology: CEMB

INTRODUCTION

The thrombosdins (TSPs) are a family of extracellular proteins that participate in cell-to-cell and cell-to-matrix communication. There are five members in TSP family which each is separated by gene products. TSP-1, the prototypic member of the family, functions in angiogenesis during wound repair and tumor growth. The function of TSP-2 overlaps with TSP-1 but the patterns of expression are differrent. There are poor knowleagde about TSP-3, TSP-4 and TSP-5/COMP. TSP family have high degree of homology in type-III repeats and carboxyl-terminal domain (Lawler, 2000; Adams et al.,2004 and Helkin et al., 2015). The studies of TSP have mainly focused on vertebrates, such as human, rat, cow and chickens. Besides the vertebrates, TSP cDNAs also have been identified in some invertebrates including; *Drosophila melanogaster*, *Marupenaeus japonicas*, *Penaeus monodon* and *Fennerpenaeus chinensis*. These studies demonstrated that invertebrates TSP could be involved in shrimp ovarian development because TSP was a major component of cortical rods in mature oocytes (Yamano et al.,2004; Wonglapsuwan et al. and Zhou et al.,2011).

The banana shrimp (*Fenneropenaeus merguiensis*) is widely distributed in the Pacific Ocean and considered an important species for shrimp fisheries. However, it is hard to fertilize them in a tank, so the postlarvae or juveniles mostly are captured from wild broodstock. The banana shrimp population is dramatically decresing in nature. The mechanism of oocyte maturation of the shrimp is stil required.

In this study, we cloned and characterised the EGF domain of TSP gene from the banana prown. Moreover, we attempted to find the function and ability of TSP-EGF in wound healing. So, this study could be benefits to medical biotechnology further.

MATERIALS AND METHODS

1. RNA extraction and cDNA synthesis

Total RNA was extracted from the ovaries of the banana shrimp (*Fenneropenaeus merguiensis*) by using Trizol reagent (GIBCO BRL, USA) according to the manufacturer's instruction. Sample was incubated for 5 min at room temperature, then, chloroform was added to the homogenous and mixed vigorously. Samples were centrifuged at 12000 xg for 15 min at 4 ^{o}C. The aqueous phase was mixed with 0.5 ml of isopropyl alcohol to precipitate RNA at -80 ^{o}C for 30 min and spun at 12000 xg for 10 min at 4 ^{o}C. The pellet was washed with 1 mL of 75% ethanol followed by centrifugation at 7500 xg for 5 min at 4 ^{o}C. The RNA pellet was dried under a vacuum and resuspended in RNase-free water. To reverse RNA to cDNA, 2 µg of total RNA were combined with DNA using 100 ng of random primer and incubated at 70 ^{o}C for 5 min then immediately placed on ice for 5 min to denature RNA. This content was then mixed with the reaction buffer consisting of 0.75 µL of 10.0 mM dNTP, 2.5 µL of RT buffer, 0.5 µL of 0.2 units/µL of AMV reverse transcriptase and 5.75 µL

of DEPC – treated water. After incubating at 48 °C for 2 h, the cDNA was checked by detecting the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) house keeping gene using PCR.

2. Cloning the full cDNA of TSP-EGF

To amplify the full cDNA of TSP-EGF gene, PCR reaction was conducted using the following conditions: 1 cycle at 95˚C for 5 min; 35 cycles at 95˚C for 30 s, 55˚C for 30 s, and 72 ˚C for 30 s; and 1 cycle at 72˚C for 10 min. The PCR product was purified and then cloned into the pGEM T-easy vector (Promega), condition for ligation contained 0.5 µL of 10x ligation buffer, 0.5 µL of pGEM®vector (25 ng), 0.5 µL of T4 DNA ligase (3 unit/µL), 2 µL of DI water and 1.5 µL of TSP-EGF DNA. The reaction was incubated at 4 ˚C, overnight. Then, the recombinant DNA was transformed into competent *E. coli* cells (Top10). A 200 µL volume of competent cells (Top 10) was mixed gently with 0.1-1.0 µg of the ligation reaction. To get a higher transformation, the mixture was placed on ice for 30 min frequency. After that, the cell mixture was incubated at 42 ˚C for 90 sec and then the tube was placed immediately on ice for 5 min to heat shock the cells. The transformed cells were mixed with 800 µL of LB broth and incubated at 37 ˚C for 45 min with vigorously shook. Finally, 200 µL of transformed culture was spread on a LB selective plate which contained 80 µg/ml of ampicillin antibiotics and incubated at 37 ˚C for 16-18 h. Then, the construction was confirmed by sequencing (1st BASE Sequencing, Singapore). The nucleotide and protein sequence similarities analysis were conducted with the BLAST algorithm at the National Center for Biotechnology Information (NCBI).

3. Cloning of TSP-EGF into expression vector

A single colony of *E. coli* (TOP 10), contained pGEM-FmTSP plasmid, was inoculated into 5 ml of LB containing 80 µg/ml ampicillin. The cell culture was incubated at 37 °C with shaking for 16-18 h.Then, the pGEM-TSP-EGF plasmid DNA was extracted using the QIAprep spin miniprep kit (QIAGEN). After that, the pGEM-TSP-EGF plasmid DNA and pCold-TF vector were digested with the *Hind* III and *Nde* I restriction enzyme. The fragments were visualized on 1.2 % agarose gels, and then purified using NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up Kit (Macherey-Nagel) according to the manufacturer's instruction. The ligation of there fragments were constructed (pCold-TSP-EGF) and transformated in to *E. coli* BL21(DE3) host.

4. Expression and purification of TSP-EGF recombinant protein

The recombinant plasmid (pCold-TSP-EGF) was transformed into *E. coli* BL21(DE3) and then expressed as a His-TSP-EGF fusion protein after 1 mM IPTG induction. After that, TSP-EGF protein was purified using Ni-NTA bead. 400 µl of TSP-EGF protein was incubated with 200 µl of slurry bead in a 1.5 ml microcentrifuge tube for 1 h at room temperature. The tube was spun at 800 ×g for 10 min

at 4 ˚C and the excess protein was removed. To get rid of unexpected protein, washing buffer (50 mM NaH_2PO_4, 300 mM NaCl and 20 mM imidazole) was added to the tube, incubated at room temperature for 10 min and then spun at 800 ×g for 10 min, 4 ˚C. The washed step was repeated 20 times. After washing, elution buffer (50 mM NaH_2PO_4, 30 mM NaCl and 500 mM immidazole) was added to the tube for eluting the TSP-EGF protein. The beads were incubated in elution buffer for 30 min at 8 ˚C before being spun at 800 ×g for 10 min at 4 ˚C. The soluble was subjected to 12% SDS-PAGE for detecting the purified TSP-EGF protein

5. In vitro scratch assay

CHO cell lines were culture in DMEM medium containing 10% (v/v) fetal bovine serum. Then, the cells were seed into 12-well tissue culture plate. After 24 h of seeding, the monolayer was gently scrathed with a new 200 µl pipette tip across the center of the well. After scratching, the gently were washed twice with medium to remove the detached cells and replenished with fresh medium containing TSP-EGF proteins 1, 10 and 50 µg/ml. Then, the cells were incubated at 37 ºC, 5% CO_2 for 48 h. The cells were visualised by inverted microscope (Olympus IX73). The gap distances were quantitatively evaluated using ImageJ without bias. (http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html).

6. Cell proliferation assays using real-time cell analyzer (RTCA).

CHO cell line were cultured in DMEM medium containing 10% (v/v) fetal bovine serum at $3x10^4$ cell per 250µl per well. The cells were incubated at 37 ºC, 5% CO_2 for 24 h. Then, TSP-EGF proteins were added at concentration 1,10 and 100 µg/ml. The cells were incubated for additional at 48 h. Cell attachment and proliferation from wells of the E-Plate16 were recorded every 30 min using the Real-Time Cell Analyzer (RTCA).

Figure 1 Real-Time Cell Analyzer (RTCA) DP system from ACEA Biosciences, Inc. RTCA is composed of a control unit, analyzer and E-plate 16

RESULTS AND DISCUSSION

1. Cloning and characterization of TSP-EGF

The cDNA encoding TSP-EGF was amplified by PCR with the specific primers containing restriction sites for *Hind* III and *Nde* I restriction enzyme to facilitate insertion into the pCold-TF expression vector. The cDNA fragment was ligated into pGEM T-easy vector and subcloned into the pCold-TF expression vector.The positive clones were identified by digestion with *Hind* III and *Nde* I restriction enzyme to obtain two fragments of 462 bp (TSP-EGF) and 3,015 bp (pGEM t-easy vector). The TSP-EGF gene was confirmed by sequencing.

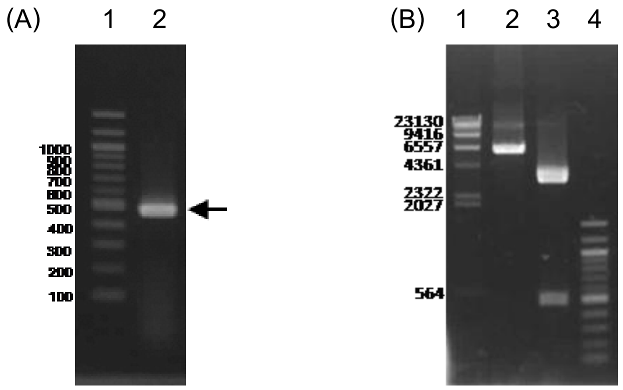


Figure 2 (A) Showed the PCR products with about 462 bp, Lane 1: Marker 100 bp, Lane 2: The PCR products (TSP-EGF). **(B)** Showed the positive clones were identified by digestion with *Hind* III and *Nde* I restriction enzyme, Lane 1: Lambda *Hind* III Marker, Lane 2: Positive clones, Lane 3: The positive clones were digestion with *Hind* III and *Nde* I restriction enzyme to obtain two fragments of 462 bp (TSP-EGF) and 3,015 bp (pGEM t-easy vector), Lane 4: Marker 100 bp.

2. Expression and purification of His-TSP-EGF protein

The recombinant plasmid (pCold-TSP-EGF) was transformed into *E. coli* BL21 (DE3) and then expressed as a fusion protein with His_6 after 1 mM IPTG induction. A cell lysate was analyzed via SDS-PAGE. The molecular mass of pCold-TSP-EGF corresponds to the predicted mass 68 kDa (His-TF tag 52 kDa + TSP-EGF 16 kDa) (Figure 3A). To purify the His-TSP-EGF protein, nickel-nitrilotriacetic acid (Ni-NTA) metal-affinity chromatography technique was used Ni-Affinity Chromatography uses the ability of His_6 to bind nickel. Nickel were bound to an agarose bead by chelation using nitroloacetic acid (NTA) beads. Proteins were bound to the beads by mixing the beads with the sample. Low concentrations of phosphate and imidazole were used to remove low affinity bound proteins. Finally, higher concentrations of imidazole were used to elute the protein from the NTA-beads (Figure 3B).

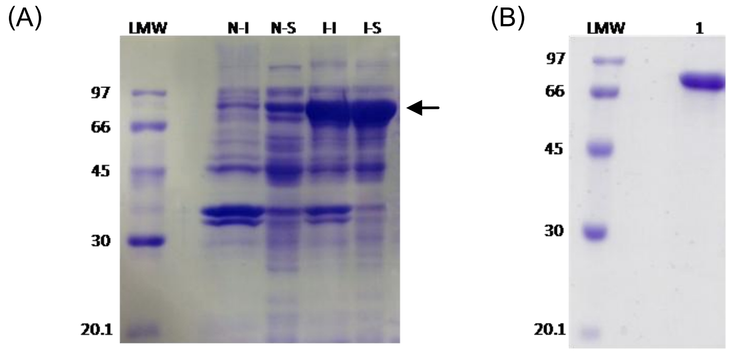
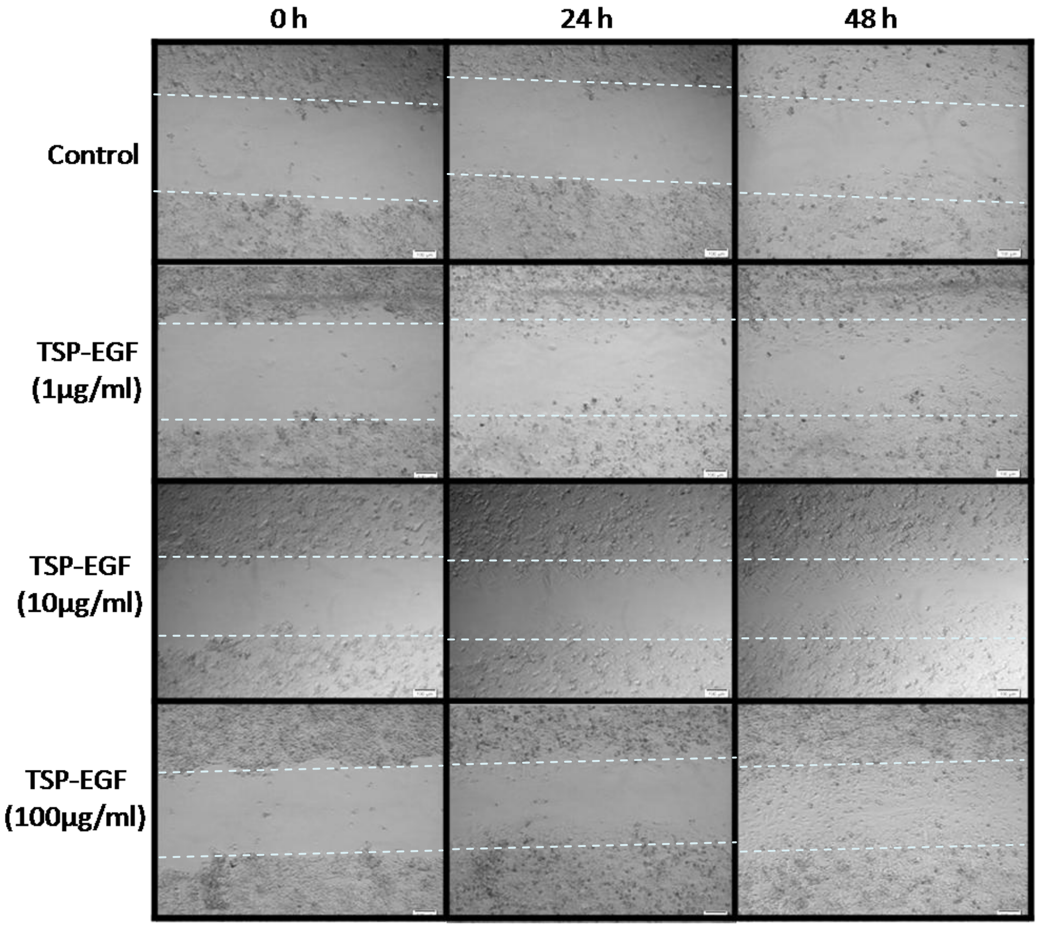


Figure 3 (A) Expression of His-TSP-EGF protein, Lane N-I: Cell extract solution (Non-induction-Insoluble) , Lane N-S: Cell extract solution (Non-induction-Soluble), Lane I-I: Cell extract solution (Induction-Insoluble), Lane I-S: Cell extract solution (Induction-Soluble). (B) Purification of His-TSP-EGF protein, Lane 1: The His-TSP-EGF protein was purified (eatimated molecular weight 68 kDa).

3. The effect of TSP-EGF protein with CHO-cell lines.

Scratch wound experiments showed that the cells treated with 100 µg/ml of TSP-EGF were filled in faster than 0, 1 and 10 µg/ml (Figure 4A and 4B). We suggested that TSP-EGF protein might stimulate in wound healing. This result was confirmed by real-time cell analyzer. The result indicated that 100 µg/ml of TSP-EGF could stimulate the proliferation of CHO-cells (data not show). This study revealed that EGF domain from TSP protein could function the same as human-EGF. This novel TSP-EGF protein might be develop for using in wound healing in the future.

(A)



(B)

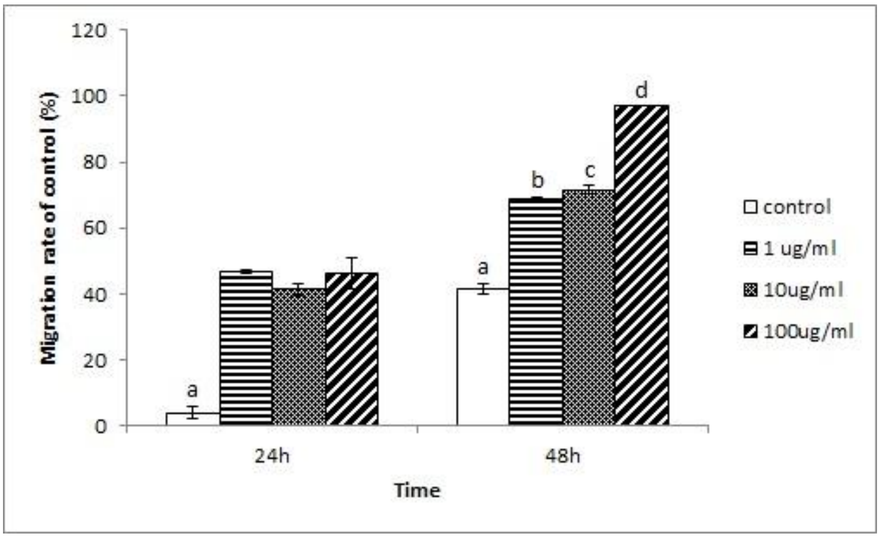


Figure 4 (A) Cell migration in the *In vitro* scratch assay. Images captured using a phase-contrast microscope (Olympus IX73). White dotted lines indicate the wound borders at the beginning of the assay and were recorded at 0, 24 and 48 h post-scratching. (scale bars = 100 μm)
(B) Statistical analysis of effects of TSP-EGF protein on the migration of CHO-cell lines. Letter indicate the significant different between control and test groups. (* $p < 0.05$, n = 3)

CONCLUSION

We have identified a TSP-EGF gene in the banana shrimp (*Fenneropenaeus merguiensis*). The complete cDNA sequence is 462 bp and open reading frame (ORF) of the cDNA encoding a polypeptide of 154 amino acids, The molecular mass of pCold-TSP-EGF corresponds to the predicted mass 68 kDa. Our results have demonstrated that the CHO-cell lines exposed to TSP-EGF proteins at a concentration of 100 µg/ml achieved a significantly higher wound closure as compared to the 1,10 µg/ml TSP-EGF proteins and controls.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Center for Genomics and Bioinformatics Research, Faculty of Science, Prince of Songkla University, PSU.GS and Center of Excellence on Medical Biotechnology (CEMB)

REFERENCES

Adams, J.C., Lawler, J. 2004. **Molecules in focus the thrombospondins.** Biochemistry and Cell Biology 36 :961–968

Helkin, A., Maier, K.G., Gahtan V. 2015.**Thrombospondin-1, -2 and -5 have differential effects on vascular smooth muscle cell physiology.** Biochemical and Biophysical Research Communications. 464:1022-1027

Lawler, J. 2000 **The functions of thrombospondin-1 and -2.** Cell Biology. 12:634–640

Wonglapsuwan, M., Phongdara, A., Chotigeat, W. 2009. **Dynamic changes in gene expression during vitellogenic stages of the white shrimp: *Fenneropenaeus merguiensis* de Man.** Aquaculture Research. 40: 633-643

Yamano, K., Qiu, G.F., Unuma, T. 2004. **Molecular Cloning and Ovarian Expression Profiles of Thrombospondin a Major Component of Cortical Rods in Mature Oocytes of Penaeid Shrimp: *Marsupenaeus japonicas*.** Biology of Reproduction. 70:1670–1678

Zhou, F., Zheng, L., Zhang, D., Huang, J.H., Qiu, L., Yang, Q.B., Jiang, S.G. 2011. **Molecular cloning, characterization and expression analysis of thrombospondin gene from *Penaeus monodon*.** Marine Genomics, 4(2):121-128

การศึกษาข้อมูลพิษวิทยาเบื้องต้นของสาร aurisin A จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ในหนูแรทสายพันธุ์ Wistar และไส้เดือนดิน

Acute Oral Toxicity of Aurisin A form Luminescent Mushroom (*Neonothopanus nambi*) in Wistar Rats and Earthworm

สุรีย์พร บัวอาจ[1*] ยุรวรรณ อนันตนมณี[1] ปรัชญา เอกฐิน[1] จรรยา มณีโชติ[1] อัศศิริ กลางสวัสดิ์[1] สุพัตรา ชาวกงจักร[2]
นิมิต วงศ์สุวรรณ[2] รัศมี เหล็กพรม[3] และ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์[4]

Bua-art Sureeporn[1*], Yurawan Anantanamanee[1], Pruchya ekkathin[1], Chanya Maneechote[1] ,
Assiri Klangsawad[1] , Supattra Chaokongchak[2], Nimit Wongsuwan[2], Ratsami Lekphrom[3] and Weerasak Saksirirat[4]

บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง ในหนูแรท เพศเมีย สายพันธุ์ Wistar โดยป้อนสารสกัดในขนาด 5, 50, 300 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (BW) แก่หนูครั้งเดียว พบว่า สาร aurisin A ทุกความเข้มข้นไม่ทำให้หนูตาย และหนูไม่แสดงอาการเป็นพิษหลังจากได้รับสารสกัดภายใน 24 ชั่วโมง และเมื่อสังเกตอาการต่อเนื่อง 14 วัน ก็ไม่พบหนูทดลองตาย และไม่ส่งผลกระทบกับน้ำหนักตัวและน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ ส่วนการทดสอบใช้ก้อนเชื้อจากเห็ดเรืองแสงต่อไส้เดือนดิน โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 7 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ด้วยการผสมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงในปุ๋ยหมักเพื่อเป็นที่อยู่สำหรับไส้เดือนดิน (Bedding) อัตรา 10, 20, 30, 40, 50 และ 100 กรัม เมื่อครบ 30 วัน พบว่าไส้เดือนดินมีน้ำหนักตัว เฉลี่ย 0.9 กรัม ซึ่งเพิ่มขึ้นมาเป็น 0.3 กรัม ของน้ำหนักตัวก่อนนำมาทดสอบ และทุกอัตราที่ใส่ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง พบว่าไม่มีผลต่อการตายหรือการดำรงชีวิตของไส้เดือนดิน และพบว่าการใส่ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง อัตรา 100 กรัมต่อภาชนะที่ใช้เลี้ยง ส่งผลให้ไส้เดือนดินสามารถสร้างถุงไข่ได้มากถึง 22.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงผสมกับ Bedding พบถุงไข่ เพียง 4.25 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้กรรมวิธีที่ใส่เห็ดเรืองแสงช่วยให้ไส้เดือนดินสามารถสร้างมูลสีดำออกน้ำตาลได้มาก และมีความละเอียด โปร่งเบา มีความพรุนระบายน้ำและอากาศได้ดี

ABSTRACT

The acute oral toxicity of Aurisin A from luminescent mushroom, *Neonothopanus nambi* on female Wistar rats was evaluated. By a single oral administration of various doses of the extract (5, 50, 300 and 2,000 mg/kg (BW)) revealed that all the doses of extract did not produce any sign or symptom of toxicity. And also, the mortal rat was not observed during a period of observation within 24 h and a further period for 14 days. Furthermore, the extract had no effect on body weight and relative organ weight. Toxicity of the Aurisin A was also tested on earthworm in compost process as its bedding. Spawn of *N. nambi* was used as bedding of rates 10, 20,30,40, 50 and 100 g treated for 30 days. The result indicated that the earthworm increased average body weight of 0.9 g from bedding 0.3 g. There was no mortality observed. In addition, incorporated 100 g of spawn per container caused the earthworm egg sac increasing of 22.50%, which significantly different to control treatment (no spawn). Only 4 .2 5 % of egg sacs was obtained. Besides, treatments with luminescent mushroom spawn gave rise to brownish black excreta of earthworm and light and fine for showing a good property of ventilation and water draining.

Key Words: Acute oral toxicity, Bedding, Bioactive Compound, Cocoons, Earthworm, Luminescent Mushroom

* Corresponding author; e-mail address: Kay_bua-art@hotmail.com

[1]สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ; Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร กาฬสินธุ์ กรมวิชาการเกษตร ; Kalasin Agricultural Research and Development Center

[3]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ; Department of Chemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University

[4]ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

คำนำ

ในต่างประเทศมีการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากเห็ดเรืองแสงโดยนำสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยเฉพาะในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจมากกว่า 5,000 ชนิด ทั้งในเขตหนาว และเขตร้อน (สืบศักดิ์, 2541) Sterner และคณะ (1997) รายงานว่าสาร secondary metabolite ที่ได้จาก culture filtrate โดยเลี้ยงเห็ด *Omphalotus olearius* ในอาหารเหลว yeast glucose malt (YMG) แล้วนำมาทดสอบกับไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* พบว่าสามารถยับยั้งไส้เดือนฝอยรากปมได้ จากการศึกษาพบว่า เห็ดเรืองแสงชนิดนี้จะสร้างสารพิษที่เรียกว่า omphalotin และ Mayer และคณะ (1997) นำเห็ดเรืองแสง *O. olearius* มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YMG แล้วนำ culture filtrate ที่ได้มาทดสอบกับตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* พบว่า J2 ตาย 90 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากใน culture filtrate มีสารพิษ omphalotin ซึ่งมีผลต่อระบบประสาทของไส้เดือนฝอยรากปม

ในประเทศไทย Saksirirat และคณะ (2003) ได้รายงานเป็นครั้งแรกว่า พบเห็ดเรืองแสง ในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น ซึ่งเป็นพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชโดยสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารีฯ ต่อมาสุรีย์พร (2550) ได้ศึกษาเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา (PW1 และ PW2) และเห็ดที่พบในมหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยอาศัยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน ITS1-5.8S-ITS2 rDNA และข้อมูลจากผู้เชี่ยวชาญด้านเห็ดเรืองแสง (Prof. Dr. Roy Watling, สวนพฤกษศาสตร์ Kew, Surley, สหราชอาณาจักร Dr. Matin Kirchmair, Institute Microbiology, University of Innsbruck, Innsbruck, Austria และ Dr. J.M. Monclavo, Centre for Biodiversity and Conservation Biology, Toronto, Canada ติดต่อส่วนตัว) จึงสรุปว่า เห็ดเรืองแสง ทั้ง 3 ไอโซเลท นี้ คือ เห็ดเรืองแสงที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Neonothopanus nambi* และได้สกัดและแยกสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง ทั้ง 3 ไอโซเลท โดยใช้ Thin Layer Chromatography (TLC) พบสารออกฤทธิ์ที่น่าสนใจ เมื่อนำมาทดสอบ พบว่า ทั้ง 3 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพต่อการตายของตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของไส้เดือนฝอยรากปม จากนั้น สุรีย์พร (2554) ได้วิเคราะห์โครงสร้างของสารด้วยเทคนิคทาง สเปกโทรสโกปี พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ที่ได้จากเห็ดเรืองแสง ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ สาร aurisin A ซึ่งพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/L มีผลต่อการตายของ J2 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 1 นาที และได้ยื่นขอจดอนุสิทธิบัตร เรื่องสารผสมออกฤทธิ์ทางชีวภาพออริซิน เอ (aurisin A) สำหรับกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม โดยมีเลขที่คำขอ 1101002381 ต่อมา Bua-art และคณะ (2012) ได้ประยุกต์ใช้ประโยชน์จากเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* ไอโซเลท PW2 ในรูปแบบของก้อนเชื้อเห็ด เพื่อความสะดวก ประหยัดและง่ายต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง โดยทดสอบในพริก ในอัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อต้น พบว่า ที่อัตรา 10 กรัมต่อกระถาง สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปมเพียง 12.40 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการใช้ก้อนเชื้อเห็ดรองลงมาที่อัตรา 20, 40, 30 และ 50 กรัมต่อกระถาง ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากปม 23.20, 25.40, 30.00 และ 30.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีไส้เดือนฝอยรากปมเพียงอย่างเดียว และการใช้สารเคมี carbofuran ที่พบการเกิดปมสูงถึง 75.60 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ดังนั้น ควรศึกษาถึงความปลอดภัยทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงทางด้านพิษวิทยา เพื่อความปลอดภัยต่อผู้ใช้และจุลินทรีย์อื่นๆ ที่มีประโยชน์ในดิน ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงได้อย่างถูกต้อง และพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี อันจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์สภาพแวดล้อม และช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi* หรือ "เห็ดสิรินรัศมี"

"เห็ดสิรินรัศมี" ได้รับพระราชทานนามจากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารีฯ ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้เชื้อเห็ดเรืองแสง ไอโซเลท PW2 ที่แยกได้จากเห็ดเรืองแสงที่พบในเขตโคกภูตากา อำเภอเวียงเก่า จังหวัดขอนแก่น โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)

การเตรียมหัวเชื้อข้าวฟ่าง โดยนำขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 30 นาที จากนั้นนำเชื้อเห็ดเรืองแสงที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 เซนติเมตร เจาะตรงปลายเส้นใย แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงในขวดข้าวฟ่าง โดยให้ชิ้นวุ้นอยู่กึ่งกลางของขวดหัวเชื้อข้าวฟ่าง ลนปากขวด ปิดจุกสำลีหุ้มกระดาษ และรัดด้วยหนังยาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เส้นใยเจริญเต็มขวดข้าวฟ่าง

การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง *N. nambi* นำก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วใส่ข้าวฟ่างที่มีเส้นใยเห็ดเรืองแสงเจริญเต็มขวด เขย่าให้เมล็ดข้าวฟ่างร่วนออกจากกัน จากนั้นเทเมล็ดข้างฟ่างที่มีเชื้อเจริญเต็มขวดประมาณ 15-20 เมล็ดลงบนก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปเก็บในโรงบ่มเชื้อจนกว่าเส้นใยจะเดินเต็มก้อนจึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมสารสกัด aurisin A จากเชื้อเห็ดเรืองแสง *Neonothopanus nambi*

เลี้ยงเชื้อเห็ดเรืองแสงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว malt extract broth (MEB) เป็นเวลา 30 วัน กรองเส้นใยและเก็บเส้นใยที่ได้นำไปอบที่ตู้อบ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเส้นใยแห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น จากนั้นสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยเอทิลอะซีเตต (EtOAc) จำนวน 3 ครั้ง เก็บสารละลายที่ได้มากรองและระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดัน ด้วยเครื่อง rotary evaporator นำสารสกัดหยาบ crude EtOAc ไปแยกสกัดด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยการใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับและใช้ EtOAc:hexane เป็นตัวชะ เก็บสารที่ถูกชะออกมาพร้อมกับตัวชะเป็น fraction เพิ่มความแรงของขั้วของตัวชะให้มากขึ้นจนถึง 100% EtOAc จึงหยุด นำแต่ละ fraction มาตรวจสอบด้วย thin layer chromatography (TLC) เพื่อทำการรวม fraction ที่เหมือนกันไว้ด้วยกัน จากนั้นนำ faction ที่มีจุดบน TLC ไปแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟีและการตกผลึกจนได้สาร aurisin A ที่สกัดได้ในรูปผงสีเหลืองอ่อน

การเตรียมปุ๋ยหมักเพื่อเป็นที่อยู่สำหรับไส้เดือน (Bedding)

นำมูลโคนม : ขุยมะพร้าว : ชานอ้อย (อัตรา 4/6 : 1/6: 1/6) ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันจากนั้นรดน้ำให้พอชุ่ม โดยให้มีความชื้นเฉลี่ย 50-60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นบรรจุในกระสอบมันปากกระสอบ และกลับพลิกกระสอบเมื่อ 3-4 วัน เพื่อระบายอากาศไม่ให้ร้อนเกินไป ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 10-15 วัน ก่อนนำมาเลี้ยงไส้เดือนต่อไป

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัด aurisin A โดยประเมินความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก

ปริมาณความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 5, 50, 300 และ 2,000 mg/kg(BW) พร้อมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสัตว์ทดลอง การเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพระดับมหกายวิภาคของทุกอวัยวะ ตาม OECD guideline 423 Guidelines for the Testing of Chemicals ของ Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method (OECD, 2002) สัตว์ทดลอง ใช้หนูแรท สายพันธุ์ Wistar อายุ 6-8 สัปดาห์ น้ำหนัก 180-220 g เพศเมีย จำนวน 12 ตัว สัตว์ทดลองทั้งหมดได้จากงานผลิตสัตว์ทดลอง ของ ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล และทำการเลี้ยงสัตว์ไว้ใน Quarantine room 1 วัน จากนั้นย้ายสัตว์ทดลองไปยัง mini clean room เพื่อให้สัตว์ทดลองได้ปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมอย่างน้อย 5 วัน ก่อนการป้อนสาร โดยป้อนสารทดสอบในแต่ละกลุ่ม เริ่มที่ความเข้มข้น 300 mg/kg(BW) โดยป้อนสารแต่ละความเข้มข้นห่างกัน 24 ชั่วโมง หลังการป้อนสารให้อดอาหารต่ออีก 4 ชั่วโมง สังเกตและบันทึกอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นอย่างละเอียดภายใน 24 ชั่วโมงแรกหลังการป้อนสาร (บันทึกที่ 30 นาที, 4 ชั่วโมง, 8 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง) โดยสังเกต Skin, Fur, Eyes, Mucous membranes, Respiratory, Circulatory, Autonomic and central nervous systems, Somatomotor activity, Behaviour pattern, Tremors, Convulsions, Salivation, Diarrhoea, Lethargy, Sleep, Coma และเฝ้าติดตามดูอาการวันละครั้งในช่วงเวลาเดียวกันจนครบระยะเวลา 14 วัน โดยชั่งน้ำหนักตัว บันทึกปริมาณการกินอาหารและน้ำ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง การผ่าพิสูจน์ซากหาความผิดปกติของอวัยวะภายในด้วยตาเปล่า (Gross necropsy) ถ้าพบความผิดปกติที่อวัยวะใดให้ดำเนินการเก็บเนื้อเยื่ออวัยวะที่ผิดปกตินั้นเพื่อตรวจหาความผิดปกติทางพยาธิสภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ (Histopathology)

การทดสอบก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงต่อไส้เดือนดิน (Earthworm)

โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธี 1 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 10 กรัม + ไส้เดือนดิน 35 ตัว

กรรมวิธี 2 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 20 กรัม + ไส้เดือนดิน 35 ตัว

กรรมวิธี 3 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 30 กรัม + ไส้เดือนดิน 35 ตัว

กรรมวิธี 4 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 40 กรัม + ไส้เดือนดิน 35 ตัว

กรรมวิธี 5 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 50 กรัม + ไส้เดือนดิน 35 ตัว

กรรมวิธี 6 ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง 100 กรัม + ไส้เดือนดิน 35 ตัว

กรรมวิธี 7 ใส่เฉพาะไส้เดือนดิน 35 ตัว เพียงอย่างเดียว

วิธีปฏิบัติการทดลอง นำก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงที่มีเส้นใยเดินเต็มถุงมาขยี้ให้ก้อนเชื้อแยกออกจากกัน แล้วผสมกับ bedding เพื่อเป็นที่อยู่สำหรับไส้เดือนดิน ในภาชนะพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร เจาะรูเป็นรูระบายน้ำเล็กๆ จำนวน 8 รู จากนั้นใส่ไส้เดือนดินในอัตราความหนาแน่น น้ำหนัก bedding : น้ำหนักไส้เดือนดิน อัตรา 20 : 1

การบันทึกข้อมูล โดยเก็บข้อมูล น้ำหนักตัวก่อนทดสอบและหลังทดสอบ การอยู่รอดของไส้เดือนดิน และความสามารถในการสร้างมูล การขยายและเพิ่มจำนวนของไส้เดือนดิน เมื่อ 30 วันหลังการทดลอง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัด aurisin A

พบว่าสาร aurisin A เมื่อทำการป้อนสารทดสอบกับหนูแรทสายพันธุ์ Wistar ในปริมาณความเข้มข้นที่จำกัด 4 ระดับ คือ0 5, 50, 300 และ 2,000 mg/kg(BW) พบว่า สาร aurisin A ทุกความเข้มข้นไม่ทำให้หนูทดลองตาย และหนูไม่แสดงอาการเป็นพิษหลังจากได้รับสาร aurisin A ภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อสังเกตอาการต่อเนื่อง 14 วัน ก็ไม่พบหนูทดลองตาย และไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักตัวและเมื่อสิ้นสุดการทดลองหลังทำการผ่าพิสูจน์ซากหาความผิดปกติของอวัยวะภายในด้วยตาเปล่า (Gross necropsy) ก็ไม่พบความผิดปกติที่อวัยวะใด

ผลการทดสอบก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงต่อไส้เดือนดิน (Earthworm)

น้ำหนักตัวของไส้เดือนดินก่อนทดสอบ เฉลี่ย 0.6 กรัมต่อตัว หลังการทดลอง เมื่อครบ 30 วัน ไส้เดือนดินมีน้ำหนักตัว เฉลี่ย 0.9 กรัม จากการทดสอบ พบว่า ทุกอัตราที่ใช้เห็ดเรืองแสง 10, 20, 30, 40, 50 และ 100 กรัม ไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตและเจริญเติบโตของไส้เดือนดิน คือ ไส้เดือนดินยังอยู่ครบทุกตัวเท่าเดิมที่ใส่ครั้งแรก มีการเจริญเติบโตดี มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นจากเดิม เฉลี่ย 0.3 กิโลกรัมต่อตัว นอกจากนี้ไส้เดือนดินยังสามารถสร้างถุงไข่ได้มากถึง 22.50 ถุงไข่ต่อภาชนะที่ใช้เลี้ยง ในกรรมวิธีที่ใช้เห็ดเรืองแสง อัตรา 100 กรัม แสดงให้เห็นว่าเห็ดเรืองแสงไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตของไส้เดือนดินเลย นอกจากนี้แล้วเมื่อเปรียบเทียบมูลของไส้เดือนดินระหว่างกรรมวิธีที่ใช้เห็ดเรืองแสงกับที่ไม่ได้ใส่เห็ดเรืองแสง มูลที่ได้แตกต่างกัน คือ มูลที่ได้จากกรรมวิธีที่ใช้เห็ดมีลักษณะเป็นเม็ดร่วนละเอียด มีสีดำออกน้ำตาล โปร่งเบา มีความพรุนระบายน้ำและอากาศได้ดี ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ได้ใส่เห็ดเรืองแสง มูลที่ได้มีความละเอียดและจำนวนมูลน้อยกว่า รวมทั้งการย่อยสลาย bedding หรืออาหารที่ใช้เป็นที่อยู่ของไส้เดือนดินยังย่อยสลายไม่ดี ยังเหลือเป็นเศษ ซากของชานอ้อยให้เห็น (Table 1, Figure 1 and Figure 2) สอดคล้องกับ Bua-art *et al*. (2010) ที่รายงานว่า สาร aurisin A ซึ่งสกัดได้จากเห็ดเรืองแสง *N. nambi* โดยทดสอบกับสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย เช่น เชื้อราจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช *Trichoderma* sp. และ *Bacillus subtilis*, แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน (*Rhizobium* sp.) และเชื้อราที่นำมาเป็นหัวเชื้อผลิตปุ๋ยหมัก (*Aspergillus* sp.) รวมทั้งไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง (*Steinernema carpocapsae*) พบว่า ไม่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์

การศึกษานี้ ชี้ให้เห็นถึงความปลอดภัยทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงทั้งในรูปสารสกัด aurisin A และก้อนเชื้อเห็ดไปใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกร ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงได้อย่างถูกต้อง และไม่มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมต่อไป

Table 1 Egg capsules (cocoons) percentage of earthworm treated with mycelium from spawn of *Neonothopanus nambi* isolate PW2 were evaluated at 30 days after treatment

Treatments	Cocoons (%)
luminescent mushroom spawn at 10 g	4.25 c
luminescent mushroom spawn at 20 g	5.00 c
luminescent mushroom spawn at 30 g	4.00 c
luminescent mushroom spawn at 40 g	2.00 c
luminescent mushroom spawn at 50 g	12.25 b
luminescent mushroom spawn at 100 g	22.50a
untreated	4.25 c
F-test	**
C.V.(%)	30.80

Means followed by the same letter are not significant different (P>0.01, DMRT).

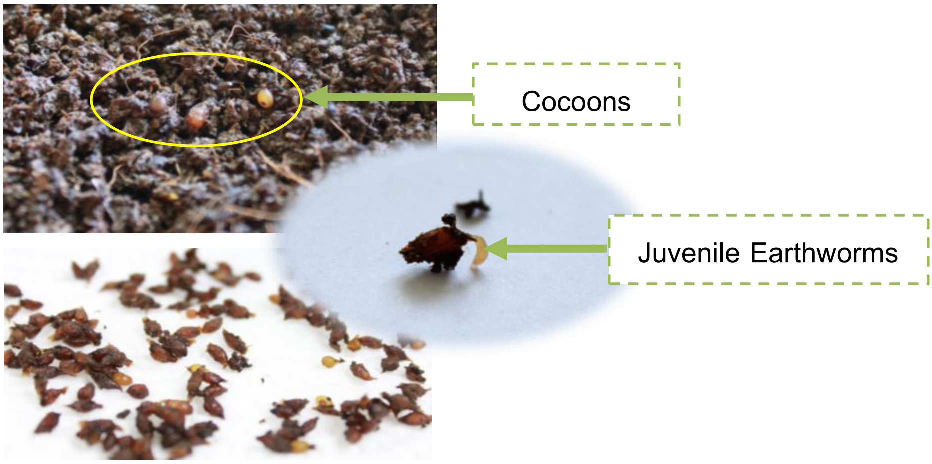


Figure 1 Egg capsules (cocoons) of earthworm treated with mycelium from spawn of *Neonothopanus nambi* isolate PW2 were evaluated at 30 days after treatment

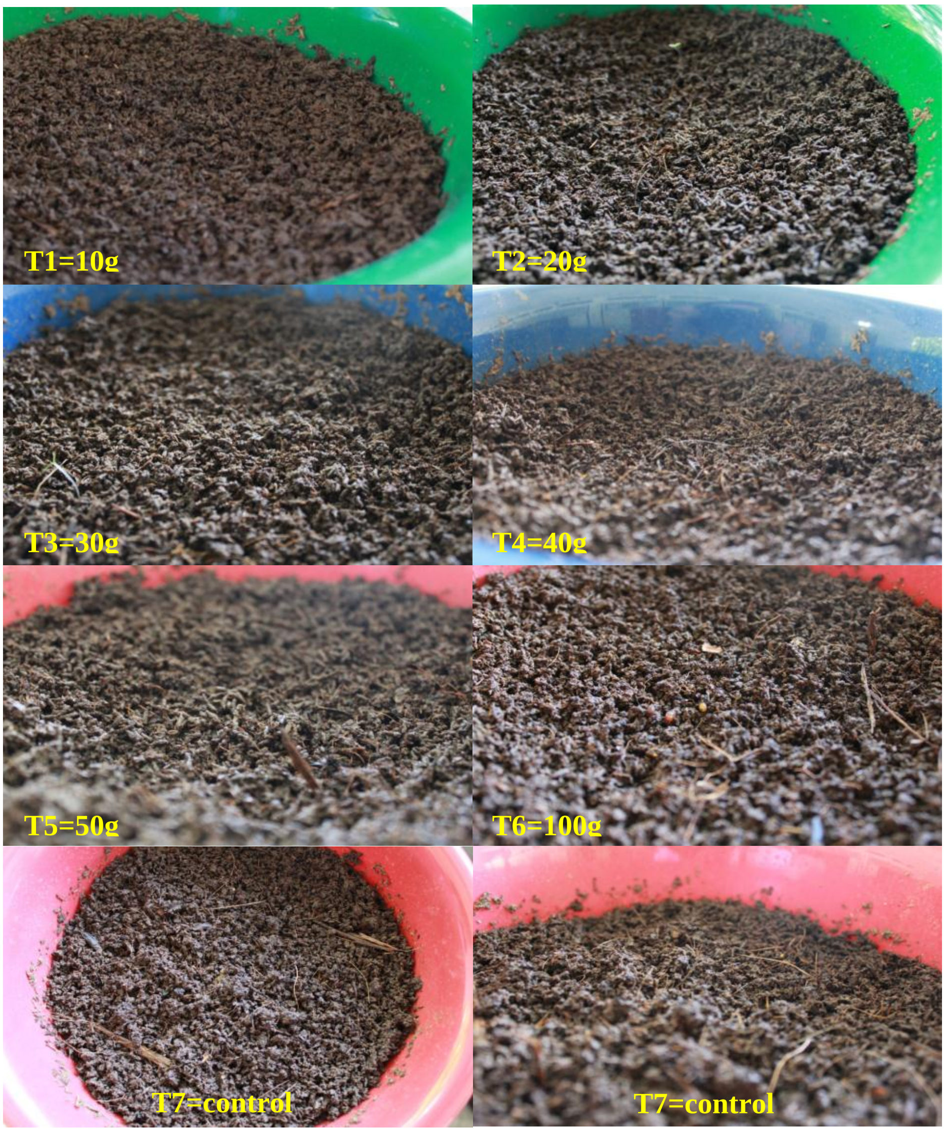


Figure 2 Vermicompost of earthworm treated with mycelium from spawn of *Neonothopanus nambi* isolate PW2 at 10, 20, 30, 40 and 100 g were evaluated at 30 days after treatment

สรุป

สาร aurisin A เมื่อทำการป้อนสารทดสอบกับหนูแรทสายพันธุ์ Wistar ในปริมาณความเข้มข้นที่จำกัด 4 ระดับ คือ 5, 50, 300 และ 2,000 mg/kg(BW) พบว่า สาร aurisin A ทุกความเข้มข้นไม่ทำให้หนูทดลองตาย และหนูไม่แสดงอาการเป็นพิษหลังจากได้รับสาร aurisin A ภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อสังเกตอาการต่อเนื่อง 14 วัน ก็ไม่พบหนูทดลองตาย และไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักตัวและเมื่อสิ้นสุดการทดลองหลังทำการผ่าพิสูจน์ซากหาความผิดปกติของอวัยวะภายในด้วยตาเปล่า (Gross necropsy) ก็ไม่พบความผิดปกติที่อวัยวะใด

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากเห็ดเรืองแสง ในหนูแรท เพศเมีย สายพันธุ์ Wistar ตาม OECD 423 พบว่า สาร aurisin A ทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อหนูทดลอง และไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักตัว เมื่อสิ้นสุดการทดลองหลังทำการผ่าพิสูจน์ซากหาความผิดปกติของอวัยวะภายในด้วยตาเปล่า ก็ไม่พบความผิดปกติที่อวัยวะใด ส่วนการทดสอบสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสงต่อไส้เดือน ด้วยการผสมก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสง

ใน Bedding อัตรา 10, 20, 30, 40, 50 และ 100 กรัม พบว่าทุกอัตราที่ใส่ก้อนเชื้อเห็ดเรืองแสงไม่มีผลต่อการตายหรือการดำรงชีวิตของไส้เดือนเลย นอกจากนี้ในกรรมวิธีที่ใส่เห็ดเรืองแสงมากสุด สามารถสร้างมูลได้เยอะและมูลที่ได้มีความละเอียด มีสีดำออกน้ำตาล โปร่งเบา มีความพรุนระบายน้ำ และอากาศได้ดี

จากการศึกษาชี้ให้เห็นถึงความปลอดภัยของสาร aurisin A ของเห็ดเรืองแสง *N. nambi* ในแง่ของการไม่มีผลต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมทั้งสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ อย่างไส้เดือนดิน นอกจากนี้ยังมองเห็นแนวทางการนำเห็ดเรืองแสงมาผสมกับปุ๋ยหมักเพื่อเป็นที่อยู่สำหรับไส้เดือนดิน นอกจากจะได้ปุ๋ยจากไส้เดือนดินแล้ว ยังอาจจะมีสารที่สามารถควบคุมโรคพืชได้อีกด้วย ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบ ผศ.ดร. สุเทพ เรืองวิเศษ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำชี้แนะการทดสอบ acute ในหนูทดลอง รศ.ดร. สมชัย จันทร์สว่าง ที่ให้ความอนุเคราะห์ไส้เดือนดิน และขอขอบคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2541. **ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช.** สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

สุรีย์พร บัวอาจ. 2550. **ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนไรโบโซมอลดีเอ็นเอของเห็ดเรืองแสง และผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเห็ดต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood).** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 126 หน้า

สุรีย์พร บัวอาจ. 2554. **ผลของสารออกฤทธิ์จากเห็ดเรืองแสง (*Neonothopanus nambi* Speg.) ต่อไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita* Chitwood) และสิ่งที่มีชีวิตนอกเป้าหมาย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 75 หน้า

Bua-art, S., W. Saksirirat, A. Hiransalee, S. Kanokmedhakul and R. Lekphrom. 2010. Nematicidal property of bioactive compound, Aurisin A derived from luminescent mushroom (*Neonothopanus nambi*) on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and its effect on non-target organisms. **1st International Conference of Bio-Processing and Application of Microbial Biotechnology in Agriculture**, November 1-2, 2010, Cairo , Egypt.

Bua-art, B. Udomsak, N. Tangchitsomkid, W. Saksirirak, S. Kanokmedhakul, and R. Lekprom. 2012. Characterization and Effect of Bioactive Compounds from Luminescent Mushroom, *Neonothopanus nambi* Speg. on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita* Chitwood) of Vegetables. **Biocontrol of Plant Pathogens in Sustainable Agriculture**. 24-27 June 2012, Reims Champagne Ardennes University, Reims, France.

Mayer, A., H. Anke, and O. Sterner. 1997. Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from *Omphalotus olearius* I. Fermentation and biological activity. **Natural Product Letters** 10: 25-32.

OECD (2002). OECD Guideline for Testing of Chemicals: **Acute Toxic Class Method (No.** 423). OECD, Paris.

Saksirirat, W., N. Sanoamuang, K. Thomma, J. Kamkajorn, S. Komain, and S. Saepaisan. 2003. A new record of luminesecent mushroom (*Omphalotus* sp.) in Thailand and studies on its cultivation and application. Pp.251-257 in: **Proceeding of Medicinal Mushroom & Biodiversity and Bioactive compound**. BIOTEC, PEACH Pattaya, Chon Buri, Thailand.

Sterner, O., W. Etzel, A. Mayer, and H. Anke. 1997. Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from *Omphalotus olearius* I. Fermentation and biological activity. **Natural Product Letters** 10: 33-38.

สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์

Subject: Architecture and Engineering

ภาคบรรยาย

Oral Presentation

การออกแบบเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์

A Design of Mechanism for Opening the Contained Bags for Fired Seabass Skin Using Pneumatic Systems

อรุณ สุขแก้ว[1*] ธีรพงษ์ อยู่สุข[1] ธีรวัฒน์ สุขลิ้ม[1] และ ธรรมรัตน์ ไชยวิจิตร[1]

Arun Sukkaew[1*], Theerapong Yoosuk[1], Theerawat Suklim[1] and Thammarat Chaiwijit[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการออกแบบและสร้างเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ เพื่อเปรียบเทียบตัวแปรที่มีผลต่อปัจจัยในการผลิต เป็นการประยุกต์ใช้ระบบควบคุมการทำงานด้วยโปรแกรมเมเบิลลอจิกคอนโทรลเลอร์ ซึ่งส่วนประกอบของเครื่องมีอยู่ 3 ส่วนด้วยกัน คือ ส่วนแยกถุงพลาสติก ส่วนทำลายสุญญากาศ และส่วนเปิดปากถุงพลาสติก ได้ทดลองเพื่อหาความเหมาะสมสำหรับการเปิดปากถุง โดยใช้ความดันลมตั้งแต่ระดับ 5 bar, 6 bar, 7 bar และ 8 bar จากการศึกษาการทำลายสุญญากาศของถุงและการเปิดปากถุงในจำนวน 40 ถุง พบว่า ใช้ความดันลมที่ 7 bar จะมีอัตราการทำลายสุญญากาศ 30% ในกรณีที่ถุงพลาสติกที่ผ่านการทำลายสุญญากาศแล้ว ความดันลมที่ 7 bar สามารถเปิดปากถุงได้กว้างในระดับที่ต้องการ 36 ถุง เป็นค่าที่ดีที่สุด นำไปใช้กับการเปิดปากถุงพลาสติกได้ คิดเป็นร้อยละ 90 ทั้งนี้การเปิดปากถุงพลาสติกแต่ละใบจะใช้ความดันลมไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับความเหนียวและความคงทนต่อการเสียรูปของถุงพลาสติก

ABSTRACT

This research deals with the study, design and construct of the mechanism for opening the contained bags for fired seabass skin using pneumatic systems to compare variables that affect factors in production. These are controlled by programmable logic controller (PLC). The study and design, the machine is constructed as components composed of separate plastic bags, the destroyed parts of vacuum and open plastic bags. This research attempted to find appropriate for open mouth bags, using the pressure consisted of 5, 6, 7 and 8 bars, respectively, and the study of machine, vacuum bags are destroyed, and the open mouth bags in which 40 pieces of bags. The results show that the pressure with 7 bars have destruction rate of vacuum 30 %. In the case of the plastic bag with vacuum destruction, pressure 7 bar is the best value, the machine can open the mouth wide bag at the desired level in the amount of 36 bag. This approach can be applied to open plastic bags 90 %. In addition, the method of the bags opening depends on the strength and deformation resistance of plastic bag.

Key words: pneumatic systems, fired seabass skin, opening the contained bags

*Corresponding author; e-mail address: **arun.s@rmutsv.ac.th**

[1]สาขาวิชาวิศวกรรมแมคคาทรอนิกส์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลา 90000

[1]Faculty of industrial Education and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Songkhla 90000

คำนำ

ในปี พ.ศ. 2512 กรมประมงได้เข้ามาส่งเสริมการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง ชาวเกาะยอได้ยึดอาชีพการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังที่ใหญ่และอร่อยที่สุดในประเทศไทย เนื่องจากปลากะพงขาวที่ถูกเลี้ยงอยู่โดยรอบบริเวณเกาะยอเป็นปลา 3 น้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำเค็มและน้ำกร่อย เป็นที่นิยมของทั้งชาวไทยและมาเลเซีย รวมทั้งโรงงานอุตสาหกรรมแช่เย็นนำปลากะพงขาวที่เลี้ยงมาชำแหละเนื้อปลาส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่น ทำให้มีเศษเหลือจากโรงงานเป็นจำนวนมาก ส่วนหนึ่งของเนื้อปลาที่ได้ คือ หนังปลากะพงขาว ทางกลุ่มเกาะยอ ที.เอ็ม.พี. โปรดักส์ เห็นความสำคัญของหนังปลากะพงขาวดังกล่าว จึงได้นำมาทำเป็นหนังปลากะพงขาวปรุงรสจำหน่ายในท้องถิ่น จนได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ (แหล่งข้อมูลสินค้าโอทอป, 2559; ของที่ระลึกภูมิปัญญาไทย, 2559)

ในกระบวนการผลิตหนังปลากะพงขาวทอดกรอบของกลุ่ม “เกาะยอ ที.เอ็ม.พี. โปรดักส์” มีขั้นตอนการผลิตหลัก ๆ อยู่ 10 ขั้นตอนดังนี้ จัดหาวัตถุดิบ ตกแต่งและทำความสะอาด หมักเครื่องปรุง ตากแห้ง ตัดหนังปลา ทอดหนังปลา คลุกเคล้าผงปรุงรสกับหนังปลาทอดกรอบ สะเด็ดน้ำมัน อบหนังปลาทอดกรอบ และบรรจุหีบห่อส่งออกจำหน่าย จากขั้นตอนการผลิตข้างต้น ถึงแม้จะมีกระบวนการหลายขั้นตอนที่ทางกลุ่มเกาะยอ ที.เอ็ม.พี. โปรดักส์ ประสบปัญหาในกระบวนการผลิต แต่จากการสอบถามความต้องการของกลุ่มผู้ผลิตหนังปลากะพงขาวปรุงรส คือ กระบวนการบรรจุหีบห่อ เนื่องจากปัญหาดังกล่าวนั้นยังไม่มีระบบอัตโนมัติ เข้ามาช่วยในการบรรจุ (Figure 1) การบรรจุผลิตภัณฑ์เริ่มจากการเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงขาวที่คลุกเคล้าพร้อมส่งจำหน่าย ต้องใช้คนงานในการเปิดปากถุงด้วยมือเปล่า ซึ่งเป็นกระบวนการที่ทำให้เสียเวลาพอสมควร ในส่วนของถุงบรรจุที่เปิดเสร็จเรียบร้อย ไม่สามารถที่จะทำทีละมากๆ ได้ เนื่องจากมีพื้นที่ในการทำงานที่จำกัด

Figure 1 Management problems system of fired seabass Skin filling process

กลุ่มผู้วิจัยจึงเล็งเห็นว่าการเปิดปากถุงในจำนวนที่เพียงพอนั้น สามารถออกแบบเครื่องจักรให้เป็นระบบอัตโนมัติโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ควบคุมด้วยโปรแกรมเมเบิลลอจิกคอนโทรลเลอร์ (PLC) ที่สามารถสั่งการเปิดปากถุงตามจำนวนที่ต้องการและรวดเร็วกว่าการเปิดปากถุงด้วยมือเปล่า อีกทั้งยังลดพื้นที่ในการจัดเก็บถุงที่เปิดปากเรียบร้อยแล้ว ซึ่งช่วยลดเวลาในส่วนของการบรรจุหีบห่อได้อีกกระบวนการหนึ่ง

ดังนั้นบทความนี้จึงได้นำเสนอการออกแบบเครื่องโดยทำการศึกษาจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (ชลชัย และคณะ, 2551; สมจินต์ และวสันต์, 2555) สำหรับการเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ ที่สามารถเปิดปากถุงได้โดยอัตโนมัติโดยใช้ระบบนิวเมติกส์และควบคุมด้วย PLC เพื่อช่วยให้ไม่ต้องเสียเวลาและลดพื้นที่ในการจัดเก็บถุงที่เปิดไว้ก่อนใช้งาน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้วิธีการเปิดปากถุงด้วยระบบนิวเมติกส์ โดยใช้ความดันลมเป็นปัจจัยหลักที่นำมาพิจารณา

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ถุงพลาสติกพอลิโพรพิลิน

พอลิโพรพิลินเป็นเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic) คือพอลิเมอร์พลาสติกที่สามารถขึ้นรูปโดยใช้ความร้อนซ้ำๆ ได้หลายครั้ง พอลิโพรไพลีนเป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรงประกอบด้วยโมโนเมอร์ของ propylene (C3H6) หลายๆ ตัว เกิดจากปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของก๊าซ propylene โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นสารประกอบพวกโลหะ เช่น ไทเทเนียมคลอไรด์ การใช้ชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยาและสภาวะของการเกิดปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน ทำให้ได้พอลิโพรพิลินที่มีการจัดเรียงโครงสร้างต่างกัน 3 ชนิดคือ isotactic syndiotactic และ atactic ขึ้นอยู่กับทิศทางการจับของหมู่เมธิลกับอะตอมคาร์บอน

1. การใช้งานพอลิโพรพิลิน

ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากพอลิโพรพิลินที่พบเสมอ คือ กล่องเครื่องมือ กระเป๋า ปกแฟ้มเอกสาร กล่องและตลับเครื่องสำอาง เครื่องใช้ในครัวเรือน กล่องบรรจุอาหาร อุปกรณ์ของรถยนต์ อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ วัสดุบรรจุภัณฑ์ในอุตสาหกรรม อุปกรณ์ทางการแพทย์ ขวดใส่สารเคมี กระป๋องน้ำมันเครื่อง กระสอบข้าวและถุงบรรจุปุ๋ย ซึ่งมีข้อดี คือ ทนต่อความร้อนสูงได้สามารถนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดความดัน เมื่อทำเป็นภาชนะบรรจุอาหารก็สามารถนำเข้าเครื่องล้างจานอัตโนมัติและภาชนะบรรจุอาหารสำหรับไมโครเวฟได้

2. คุณสมบัติของถุงพลาสติกพอลิโพรพิลิน

2.1 มีผิวแข็ง ทนทานต่อการขีดข่วน คงตัวไม่เสียรูปง่าย

2.2 สามารถทำเป็นบานพับในตัว มีความทนทานมาก

2.3 เป็นฉนวนกันไฟฟ้าที่ดีมาก แม้ที่อุณหภูมิสูง

2.4 ทนทานต่อสารเคมีส่วนมาก แต่สารเคมีบางชนิดอาจทำให้พองตัว หรืออ่อนนิ่มได้

2.5 มีความเหนียวที่อุณหภูมิตั้งแต่ 105 องศาฟาเรนไฮต์ ถึง 15 องศาฟาเรนไฮต์ (40 องศาเซลเซียส ถึง -10 องศาเซลเซียส) แต่ที่ 0 องศาฟาเรนไฮต์ จะเปราะ

2.6 มีความต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำและก๊าซได้ดี

2.7 สามารถทนอุณหภูมิสูงที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ (Sterilization: 100□ C) ได้

2.8 ผสมสีได้ง่ายทั้งลักษณะโปร่งแสงและทึบแสง

หลักจี เอ็ม พี (GMP) ในการผลิตอาหาร

จี เอ็ม พี (GMP) เป็นหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตอาหาร มาจากภาษาอังกฤษที่ว่า General Principle of Food Hygiene หรือเดิมที่เรารู้จักกันในนาม Good Manufacturing Practice ซึ่งเป็นเกณฑ์หรือข้อกำหนดขั้นพื้นฐานที่จำเป็นในการผลิตและการควบคุม เพื่อให้ผู้ผลิตปฏิบัติตามและทำให้สามารถผลิตอาหารได้อย่างปลอดภัย เกณฑ์ดังกล่าวมาจากการทดลองปฏิบัติและพิสูจน์แล้วจากกลุ่มนักวิชาการด้านอาหารทั่วโลกว่าถ้าสามารถผลิตอาหารได้ตามเกณฑ์นี้จะทำให้อาหารนั้นเกิดความปลอดภัยและเป็นที่เชื่อถือยอมรับจากผู้บริโภค (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา)

บทความที่นำเสนอนี้จะทำการออกแบบ เครื่องมือ เครื่องจักร หรืออุปกรณ์ ที่ใช้ในพื้นที่การผลิต ต้องเป็นแบบที่สามารถสัมผัสอาหารได้อย่างปลอดภัยและถูกสุขลักษณะตามหลัก จี.เอ็ม.พี ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ (สุวิมล, 2550)

- ทำด้วยวัสดุที่ทำความสะอาด และฆ่าเชื้อได้ง่าย

- ทำจากวัสดุที่ไม่มีการกัดกร่อนหรือขึ้นสนิม เช่น สแตนเลส, พลาสติก เป็นต้น
- ทำด้วยวัสดุที่ไม่ดูดซับน้ำ (ไม่ทำด้วยไม้)
- ไม่มีส่วนที่เป็นแก้ว
- ควรมีผิวเรียบ ไม่มีรอยแตก ไม่ควรมีรอยต่อมาก กรณีที่มีรอยต่อส่วนนั้นต้องเรียบและเชื่อมต่อกันสนิท
- ต้องถอดล้าง ทำความสะอาดง่าย
- การจัดวางเครื่องจักรและอุปกรณ์ ต้องจัดวางให้สะดวกต่อการผลิต และให้สามารถทำความสะอาดได้ง่าย

หลักการของระบบนิวเมติกส์

หลักการของระบบนิวเมติกส์ คือ การอัดอากาศให้มีความดันสูงด้วยเครื่องอัดอากาศ แล้วนำลมอัดที่ได้มาเก็บไว้ที่ถังเก็บลมอัด โดยลมอัดที่ได้จะมีความดันลมอัดที่สูงและมีละอองน้ำ ตลอดสิ่งสกปรกปนเปื้อนมากับลมอัด จึงต้องผ่านชุดควบคุมคุณภาพลมอัด สุดท้ายก็นำลมอัดที่สะอาดไปใช้ในระบบนิวเมติกส์ต่อไป

ระบบนิวเมติกส์ หมายถึง ระบบส่งถ่ายกำลังโดยอาศัยความดันลมเป็นตัวกลางในการส่งถ่ายกำลัง โดยมีอุปกรณ์ เช่น กระบอกสูบ ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงพลังงานลมเป็นพลังงานกล แรงที่ได้จากกระบอกสูบจะขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกระบอกสูบและความดันลม (ณรงค์, 2557)

การหาขนาดของกระบอกสูบ

$$A = \frac{P}{F}$$

และ

$$A = \pi \frac{D^2}{4}$$

เมื่อ $A =$ พื้นที่หน้าตัดของกระบอกสูบ (mm²)

$F =$ แรงที่กระบอกสูบต้อง*รับภาระ* (N)

$P =$ ความดันลมอัด (N/mm²)

$D =$ เส้นผ่านศูนย์กลางของกระบอกสูบ (mm²)

การหาแรงของกระบอกสูบ (Air Cylinder Thrust) กระบอกสูบ 2 ทิศทางได้งานหรือได้แรงใน 2 ลักษณะ คือ แรงจังหวะดันออก (Force Push) และแรงจังหวะดึงเข้า (Force Pull)

$$F_1 = \frac{\pi}{4} D^2 \times P \times \mu_1$$

และ

$$F_2 = \frac{\pi}{4} (D^2 - d^2) \times P \times \mu_2$$

เมื่อ $F_1 =$ แรงดันของกระบอกสูบในจังหวะดัน(N)

$F_2 =$ แรงดันของกระบอกสูบในจังหวะดึง(N)

$P =$ ความดันลมอัด (N/mm²)

$D =$ เส้นผ่านศูนย์กลางของกระบอกสูบ (mm²)

$d =$ เส้นผ่านศูนย์กลางของก้านสูบ (mm²)

$\mu_1 =$ สัมประสิทธิ์ความเสียดทานในจังหวะดัง

$\mu_2 =$ สัมประสิทธิ์ความเสียดทานในจังหวะดึง

ลูกยางดูดชิ้นงาน (Suction Pads)

ลูกยางดูดชิ้นงานในระบบสุญญากาศเป็นส่วนสำคัญที่ต้องพิจารณาอย่างรอบคอบ (Figure 2) มีลักษณะงานที่ใช้ระบบสุญญากาศได้ดังนี้

1. งานที่ใช้ยกแผ่นต่างๆ ที่วางซ้อนกันที่ละแผ่นตามลำดับบนลงมาด้านล่าง การทำงานจะไม่ได้ผลดีสำหรับการยกกระดาษแผ่นบาง แผ่นพีวีซีบาง แผ่นโลหะบางที่เปื้อนน้ำมัน และวัสดุที่ให้อากาศซึมผ่านได้

2. งานที่ใส่ชิ้นส่วนและชิ้นส่วนภายในเข้ากับผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป เนื่องจากลูกยางดูดทำจากยางจึงทำให้การสัมผัสหน้าของชิ้นงานไม่มีรอยตำหนิ

3. เมื่อต้องการกำจัดงานการยกของด้วยลวดสลิง การใช้ระบบลูกยางดูดจะให้ความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ

4. งานการขนย้ายสินค้าสามารถใช้ระบบสุญญากาศได้อย่างกว้างขวาง (ณรงค์, 2557)

Figure 2 Suction Pads

การหาขนาดลูกยางดูดสุญญากาศ

$$\emptyset D = \sqrt{\frac{4}{3.14} \times \frac{760}{P' \times 1.033} \times \frac{W'}{n} \times t \times 100}$$

และ

$$\emptyset D = \sqrt{\frac{4}{3.14} \times \frac{1}{P} \times \frac{W'}{n} \times t \times 1000}$$

เมื่อ $\emptyset D$ = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลูกยางดูดสุญญากาศ(mm)

W' = น้ำหนักที่ต้องการยก(N)

n = จำนวนลูกยางดูดสุญญากาศที่ใช้

P = ค่าสุญญากาศที่ใช้ (kPa)

P' = ค่าสุญญากาศที่ใช้ (mmHg)

t = ค่าเผื่อสำหรับความปลอดภัย มีดังนี้

หน้าสัมผัสลูกยางในแนวนอน : ≥ 4 (เคลื่อนที่) ; ≥ 2 (อยู่กับที่)

หน้าสัมผัสลูกยางในแนวตั้ง : ≥ 8 (เคลื่อนที่) ; ≥ 4 (อยู่กับที่)

การสร้างและประเมินเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรส

การดำเนินการวิจัย การออกแบบและสร้างเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรส ได้มีแนวคิดจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (C. Antonio, 1992) และ (Olivia V, 2015) ในการสร้างเครื่องและถุงบรรจุภัณฑ์ผสมผสานกับกระบวนการเปิดปากถุงของกลุ่ม “เกาะยอ ที.เอ็ม.พี. โปรดักส์ต้องใช้คนงานในการเปิดปากถุงด้วยมือเปล่า ซึ่งเป็นกระบวนการที่ทำให้เสียเวลาพอสมควร ในส่วนของถุงบรรจุที่เปิดเสร็จเรียบร้อย ไม่สามารถที่จะทำทีละมากๆ ได้ เนื่องจากมีพื้นที่ในการทำงานที่จำกัด ดังนั้นจึงมีแนวคิดการออกแบบและสร้างเครื่องเปิดปาก

ถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรส โดยระบบนิวเมติกส์ ได้แบ่งการออกแบบและสร้างส่วนประกอบของเครื่องออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

ส่วนแยกถุงและทำลายสุญญากาศ

ส่วนแยกถุงและทำลายสุญญากาศ จะทำหน้าที่แยกถุงออกจากกันที่ละถุงและทำลายสุญญากาศภายในถุงก่อนเพื่อให้ง่ายต่อการเปิดปากถุง ซึ่งจะประกอบไปด้วยถาดบรรจุถุงพลาสติกที่สามารถบรรจุถุงได้ครั้งละประมาณ 500 ถุง มีขนาด 210 mm. x 150 mm. x 650 mm. มีบอลสกรูเป็นตัวดันถุงขึ้นไปทีละ 1 ถุง ขับเคลื่อนด้วยสเต็ปปิ้งมอเตอร์ (Stepping Motor) ใช้ตัวสร้างสุญญากาศ (Vacuum Ejectors) ดูดแยกถุงออกจากกันเพื่อลำเลียงไปยังสายพาน และทำลายสุญญากาศโดยใช้ลมดูดปากถุงพลาสติกแล้วปล่อยจะทำให้เกิดการทำลายสุญญากาศที่ปากถุงพลาสติกเพื่อลดกระบวนการทำงานของเครื่อง (Figure 3) (ชัยวัฒน์, 2551)

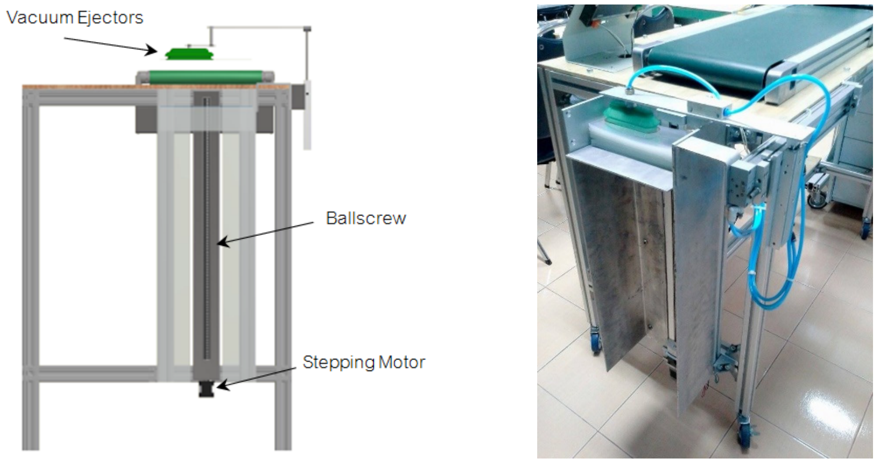


Figure 3 The separate and destroy vacuum bags

ส่วนสายพานลำเลียงถุง

ส่วนสายพานลำเลียงถุง จะทำหน้าที่ลำเลียงถุงที่แยกออกจากกันและทำลายสุญญากาศแล้วไปสู่กระบวนการเปิดปากถุง มีขนาด 250 mm. x 800 mm. x 55 mm. โดยใช้มอเตอร์ไฟฟ้ากระแสตรงควบคุมความเร็วในการลำเลียงของสายพาน สายพานที่ใช้ในการลำเลียงเป็นชนิด PVC มีผิวสัมผัสหนืด ทนต่อความร้อน ทนต่อสารเคมี ความเร็วในการลำเลียงถุงพลาสติกนั้นจะขึ้นอยู่กับกระบวนการเปิดปากถุงพลาสติก โดยจะมีความเร็วอยู่ระหว่าง 0 ถึง 5 เมตรต่อนาที (Figure 4)

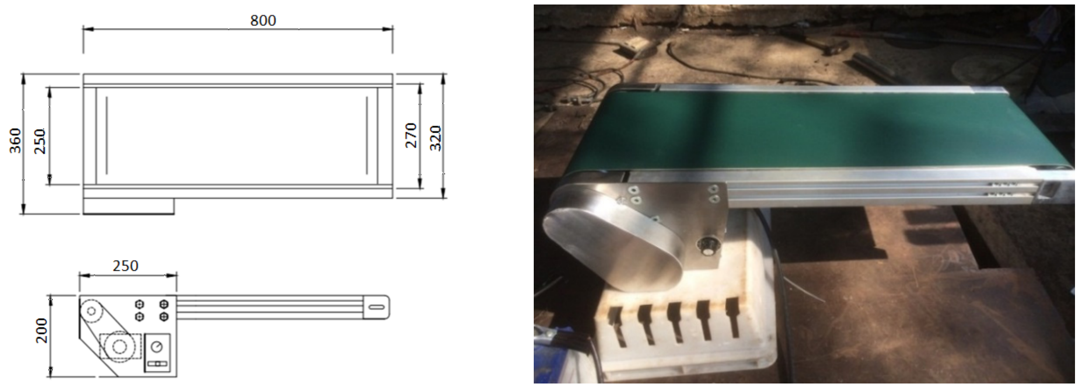


Figure 4 Conveyor

ส่วนเปิดปากถุงพลาสติกด้วยระบบอัดสุญญากาศ

ส่วนเปิดปากถุงจะมีถาดสำหรับรองรับถุงพลาสติกจากสายพานลำเลียง ประกอบไปด้วยตัวสร้างสุญญากาศ (Vacuum Ejectors) และลูกยางดูดชิ้นงาน (Suction Pads) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 mm. ยึดจับไว้ด้านบน 1 ชุด และด้านล่าง 1 ชุด ใช้กระบอกสูบนิวเมติกส์ (Air Cylinder) ระยะชัก 100 มม. สำหรับดึงให้ถุงพลาสติกเปิดปาก กระบอกสูบนิวเมติกส์ระยะชัก 100 mm. สำหรับจัดทรงถุงโดยใช้ระบบเป่าลมจัดทรงให้กับถุงพลาสติกพร้อมทั้งเป่าถุงไปเก็บในตะกร้า โดยการออกแบบส่วนเปิดปากถุงและจัดทรงถุงพลาสติกนั้นได้คำนึงถึงคุณลักษณะของวัสดุที่นำมาใช้กับอาหารเป็นหลัก (Figure 5)

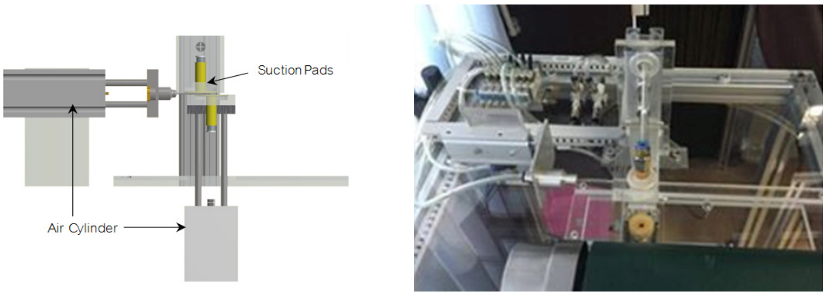


Figure 5 Opened bag mechanism with compressed vacuum

ผลการทดลองและวิจารณ์

ในการออกแบบและสร้างเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ เพื่อใช้ในงานอุตสาหกรรมการผลิตหนังปลากะพงปรุงรส และเปรียบเทียบตัวแปรที่มีผลต่อปัจจัยในการผลิตได้มีแนวคิดจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (F.-J. Wang, 1999) ระดับความดันในระบบนิวเมติกส์และการยึดเกาะ เครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ ซึ่งมีผลการดำเนินงานดังนี้

ผลการออกแบบและสร้างเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์

การออกแบบและสร้างเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ เพื่อให้เกิดความสวยงามของรูปลักษณ์ภายนอกและความลงตัวต่อการใช้งานที่สะดวกสบาย รวมทั้งปกป้องระบบการควบคุมอุปกรณ์ต่าง ๆ โดยมีสายพานลำเลียงเพื่อจะได้สามารถพัฒนาให้มีเครื่องติดสติ๊กเกอร์ต่อไป และใช้จอทัชสกรีน (Touch Screen) ในระบบควบคุมเพื่อลดอุปกรณ์อินพุต เอาท์พุตเป็นการประหยัดพื้นที่หน่วยอินพุตและหน่วยเอาท์พุตของโปรแกรมเมเบิลลอจิกคอนโทรลเลอร์ (PLC) โดยได้ผลของการออกแบบและสร้างเครื่องในภาพรวมจากชิ้นงานจริง โดยมีขนาด 60 cm. x 120 cm. x 80 cm. (Figure 6) (มานพ, 2540)

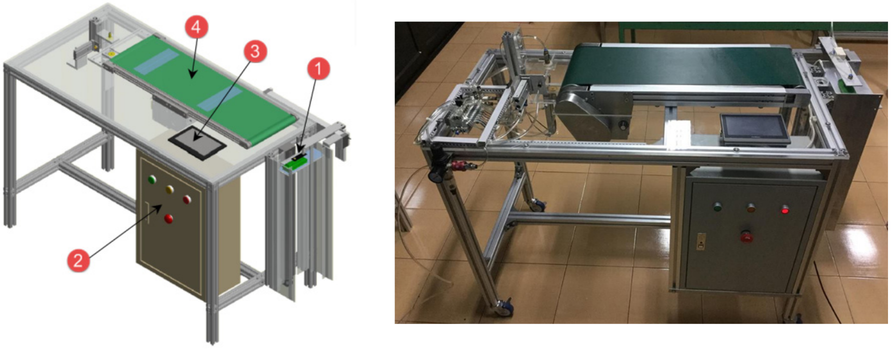


Figure 6 Mechanism for fired seabass skin filling system

การทำงานของเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์

1. นำถุงพลาสติกที่จะเปิดใส่ลงในช่องบรรจุที่จะแยกถุงและทำลายสุญญากาศ
2. เปิดสวิตซ์เปิดเครื่องควบคุมระบบไฟฟ้า
3. ปรับตั้งจำนวนถุงที่เปิดผ่านหน้าจอทัชสกรีน และสวิตซ์เริ่มต้นการทำงานของเครื่อง
4. เครื่องจะทำงานอัตโนมัติ โดยมีรายละเอียดในการทำงานดังนี้
    - ชุดแยกถุงและทำลายสุญญากาศจะนำถุงมาวางไว้บนสายพานที่ละถุง
    - สายพานจะลำเลียงถุงไปยังส่วนเปิดปากถุงพลาสติก
    - ชุดเปิดปากถุงจะเปิดปากถุงโดยการเป่าลมอัดเข้าไปในถุงแล้วเป่าถุงไปยังตะกร้า

ผลการทดสอบประสิทธิภาพ

การทดลองแยกถุงพลาสติกและทำลายสุญญากาศของเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์นั้น ได้เลือกถุงพลาสติกที่ใช้สำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสจำนวน 40 ถุง ในการทดลองนี้ได้ใช้ตัวสร้างสุญญากาศ (Vacuum Ejectors) ความดันลมที่ 5 bar, 6 bar, 7 bar และ 8 bar

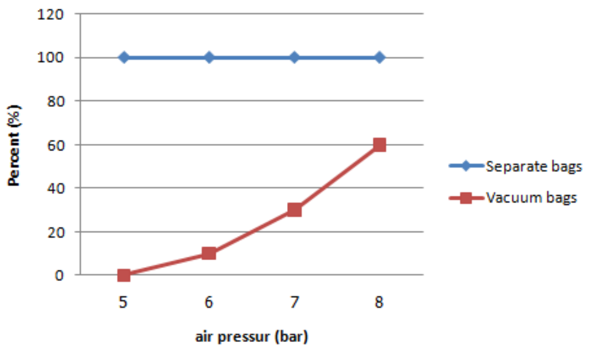


Figure 7 Percentage of separating and destroying vacuum bags

ผลการทดลองแยกถุงพลาสติกและทำลายสุญญากาศ (Figure 7) พบว่า อัตราการแยกถุงด้วยตัวสร้างสุญญากาศ (Vacuum Ejectors) ความดันลมที่ 6 bar จะมีอัตราการทำลายสุญญากาศ 10% ที่ 7 bar จะมีอัตราการทำลายสุญญากาศ 30% และ ที่ 8 bar จะมีอัตราการทำลายสุญญากาศ 60%

การทดลองเปิดปากถุงและจัดทรงถุงด้วยระบบสุญญากาศ ซึ่งถุงพลาสติกจะต้องผ่านกระบวนการทำลายสุญญากาศมาก่อนแล้ว

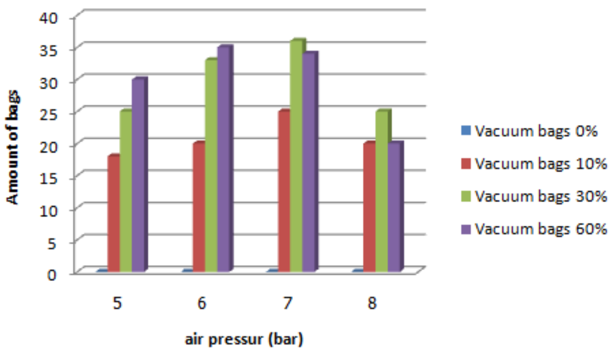


Figure 8 Measuring results of the bags opened with compressed vacuum

การทดลองการเปิดปากถุงพลาสติกที่ผ่านกระบวนการทำลายสุญญากาศ (Figure 8) พบว่า ถุงพลาสติกที่ผ่านการทำลายสุญญากาศ Vacuum Ejector ความดันลมที่ 5 bar สามารถเปิดปากกว้างในระดับที่ต้องการสูงสุดได้ 30 ถุง ที่ 6 bar สามารถเปิดปากกว้างในระดับที่ต้องการสูงสุดได้ 35 ถุง และที่ 7 bar สามารถเปิดปากกว้างในระดับที่ต้องการสูงสุดได้ 36 ถุง (Figure 9) เป็นค่าที่ดีที่สุดสามารถนำไปใช้กับการเปิดปากถุงพลาสติกได้ คิดเป็นร้อยละ 90

Figure 9 Accepted shape of the bags opened with compressed vacuum

ผลการนำไปทดลองใช้

จากการทดลองใช้งานเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ เป็นการพัฒนางานอุตสาหกรรมการผลิตหนังปลากะพงปรุงรส เพิ่มกำลังการผลิตให้กับกลุ่มเกาะยอ ที.เอ็ม.พี. โปรดักส์ สามารถนำเครื่องไปใช้ในกระบวนผลิตภัณฑ์หนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ในการเปิดปากถุงพลาสติกพอลิโพรพิลิน (P.P. พับข้างชนิดใสพิเศษ) ขนาด 5 in. x 8 in. บรรจุ 500 g. สามารถบรรจุถุงได้ครั้งละ 500 ถุง ใช้เวลาในการปเปิดปากถุง 20 ถุง/นาที เป็นการลดภาระในการผลิต ส่งเสริมการพัฒนางานอุตสาหกรรมการผลิตหนังปลากะพงปรุงรสแบบอัตโนมัติ จากการประเมินของกลุ่มเกาะยอ ที.เอ็ม.พี. โปรดักส์โดยการทดลองใช้งานเครื่องและผลที่ได้จากการทดลองเป็นที่พอใจมาก เพราะสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในระยะเวลาที่รวดเร็วโดยไม่ต้องแรงงานคนในเปิดปากถุงพลาสติกรอไว้ก่อนการบรรจุ ช่วยให้ไม่ต้องเสียเวลาและลดพื้นที่ในการจัดเก็บถุงที่เปิดไว้ก่อนใช้งาน (Figure 10)

Figure 10 Field operation of the machine

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาและการออกแบบสำหรับสร้างเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ในเชิงการทดลองและทดสอบ พบว่าเครื่องสามารถทำงานได้จริง มีประโยชน์ต่อการใช้งาน สามารถใช้แทนแรงงานคนได้ ใช้งานได้อย่างต่อเนื่อง

ด้านประสิทธิภาพในการทำงานของเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ โดยการนำถุงพลาสติกที่ใช้สำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสจำนวน 40 ถุง เครื่องจักรทำงานได้ในสภาวะที่เหมาะสมในการแยกถุงพลาสติกและทำลายสุญญากาศโดยใช้ความดันลมที่ 7 bar จะมีอัตราการแยกถุงพลาสติกได้ 100% และอัตราการทำลายสุญญากาศ 30% ในส่วนการเปิดปากถุงและจัดทรงถุงด้วยระบบสุญญากาศใช้ความดันลมที่ 7 bar เปิดปากกว้างในระดับที่ต้องการสูงสุดได้ 36 ถุง เป็นค่าที่ดีที่สุดสามารถนำไปใช้กับการเครื่องเปิดปากถุงสำหรับบรรจุหนังปลากะพงปรุงรสโดยใช้ระบบนิวเมติกส์ได้ คิดเป็นร้อยละ 90

เอกสารอ้างอิง

ของที่ระลึก ภูมิปัญญาไทย. **ภูมิปัญญาหนังปลากะพงทอดกรอบ.** แหล่งที่มา: https://souvenirbuu.wordpress.com, 23 กันยายน 2559.

ชลชัย เก่งการเรือ ณัฐวุฒิ กาญจนลักษณ์ และมยุรี มานะ. 2551. เครื่องทำขนมโดนัทอัตโนมัติ. **มหาวิทยาลัยบูรพา.**

ชัยวัฒน์ เผ่าสันทัดพาณิชย์. 2551. **ออกแบบพัฒนาเครื่องบดแห้งทุเรียน.** สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม, กรมวิชาการเกษตร.

ณรงค์ ตันชีวะวงศ์. 2557. **ระบบนิวแมติกส์และรวมวงจร.** บริษัท ซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด(มหาชน), กรุงเทพฯ.

มานพ ตันตระบัณฑิตย์. 2540. **การออกแบบชิ้นส่วนเครื่องจักรกล 1.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี(ไทย – ญี่ปุ่น), กรุงเทพฯ.

สมจินต์ อักษรธรรม และวสันต์ ลีลาธนาฤกษ. 2555. การลดการสูญเสียและเพิ่มประสิทธิภาพการตัดดินน้ำมันโดยการใช้ระบบอัตโนมัติ. **การประชุมวิชาการข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหการ.**

สุวิมล กีรติพิบูล. 2550. **GMP ระบบการจัดการและควบคุมการผลิตอาหารให้ปลอดภัย.** พิมพ์ครั้งที่ 7. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น), กรุงเทพฯ .

แหล่งข้อมูลสินค้าโอทอป. **เกาะยอ ที.เอ็ม.พี โปรดักส์.** แหล่งที่มา: http://www.thaitambon.com/tambon/900106, 22 กันยายน 2559.

C. Antonio. 1992. **Machine for extracting juice from citrus fruit, particularly oranges.** U.S. Patent No. 5, 097, 757. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

F.-J. Wang, J.-X. Zhu, J.M. Beeckmans. 1999. **Pressure gradient and particle adhesion in the pneumatic transport of cohesive fine powders.** International Journal of Multiphase Flow 26 (2000) 245-265.

Olivia V. López, Luciana A. Castillo, M. Alejandra García, Marcelo A. Villar, Silvia E. Barbosa. 2015. **Food packaging bags based on thermoplastic corn starch reinforced with talc nanoparticles.** Food Hydrocolloids, Volume 43, Pages 18-24.

การหาค่าที่เหมาะสมของการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับเหล็กกล้าชนิดแผ่นเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบ SGCD1

Optimization of Resistance Spot Welding Process Parameters for SGCD1 Hot-dipped Zinc-coated Steel Sheets

โยธิน จันทร์ทอง[1] ภูเมศวร์ แสงระยับ[2] และ กรรณชัย กัลยาศิริ[3*]

Yotin Janthong[1], Phoometh Sangrayub[2] and Kannachai Kanlayasiri[3*]

บทคัดย่อ

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับเหล็กกล้าชนิดแผ่นเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบ SGCD1 โดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken) และฟังก์ชันความพึงพอใจ (Desirability function) โดยผลตอบในการศึกษานี้ คือ ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุด สำหรับปัจจัยที่ทำการศึกษามี 5 ปัจจัย ได้แก่ ความดันลมของขั้วอิเล็กโทรดที่ใช้กดลงบนชิ้นงานขณะทำการเชื่อม เวลากดชิ้นงานสองชิ้นให้ติดกัน กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อม เวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อม และเวลากดแช่ชิ้นงานหลังจากการเชื่อม ซึ่งผลการศึกษาพบว่าปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญและค่าระดับของปัจจัยที่เหมาะสมที่ทำให้ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุด คือ ความดันลมของขั้วอิเล็กโทรดที่ใช้กดลงบนชิ้นงานขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 0.2 MPa กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 11,900 A และเวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อมเท่ากับ 25 Cycles โดยได้ค่าเฉลี่ยของแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อม เท่ากับ 19.06 kN ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน JIS Z 3140

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the optimal welding condition for resistance spot welding of SGCD1 hot-dipped zinc-coated steel sheets. In this study, Box-Behnken design was employed as the experimental strategy, and desirability function was used as the optimization tool. The response of this research was the maximum tensile shear load of the welded parts. There were five welding parameters investigated in this research including air pressure, squeeze time, weld current, weld time, and hold time. The significant parameters and optimal welding condition obtained from this study were 0.2 MPa of air pressure, 11,900 A of weld current and 25 cycles of weld time, and the corresponding tensile shear load was 19.06 kN that met the JIS Z 3140 standard.

Key words : Automotive parts, Resistance spot welding, Box-Behnken design, Optimization, Desirability function

*Corresponding author; e-mail address: kannachai.ka@kmitl.ac.th

[1]บริษัทยานภัณฑ์ จำกัด (มหาชน)

[2]สาขาวิชาเทคโนโลยีวิศวกรรมอุตสาหการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ วิทยาเขตวังไกลกังวล

[3]ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทนำ

ในปัจจุบันกลุ่มอุตสาหกรรมยานยนต์มีการขยายตัวอย่างรวดเร็วและมีการแข่งขันกันมากทั้งทางด้านการเพิ่มกำลังการผลิตและการส่งมอบสินค้าให้ทันเวลาเพื่อตอบสนองความต้องการของลูกค้า ดังนั้นผู้ผลิตชิ้นส่วนยานยนต์ต้องพยายามหากลยุทธ์ในการพัฒนาองค์กรเพื่อเพิ่มศักยภาพในกระบวนการผลิตให้สามารถแข่งขันกับคู่แข่งขันรายอื่นๆ ได้ และโดยส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปที่กิจกรรมลดต้นทุนหรือลดของเสียในกระบวนการผลิต กระบวนการเชื่อมความต้านทานทางไฟฟ้า (Resistance welding) นับว่ามีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อภาคอุตสาหกรรมยานยนต์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเชื่อมความต้านทานแบบจุด (Resistance spot welding) ที่มีใช้กันอย่างแพร่หลายในกระบวนการผลิตชิ้นส่วนตัวถังรถยนต์ (ประสิทธิ์ และ ฉัตร, 2554) ซึ่งในการเชื่อมความต้านทานแบบจุดจะต้องมีการปรับตั้งค่าระดับของปัจจัยในการเชื่อมให้เหมาะสม เพื่อให้ได้คุณภาพการเชื่อมที่สมบูรณ์ สามารถรับแรงดึงเฉือนได้สูงโดยไม่หลุดในระหว่างกระบวนการประกอบในสายการผลิตรถยนต์

ในอดีตที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเชื่อมความต้านทานทางไฟฟ้ามาพอสมควร เช่น Kim et al. (2005) ได้ทำการศึกษาเพื่อหาระดับปัจจัยที่เหมาะสมในการเชื่อมความต้านทานแบบจุดในโลหะผสมเกรด TRIP ซึ่งปัจจัยในการศึกษาประกอบด้วย กระแสไฟฟ้า เวลาในการปล่อยกระแสไฟเชื่อม และแรงกดระหว่างชิ้นงาน โดยพบว่าปัจจัยทั้งหมดมีอิทธิพลต่อการรับแรงดึงเฉือนอย่างมีนัยสำคัญ Kaya และ Kahraman (2011) ได้ทำการ ศึกษาผลกระทบของปัจจัยในการเชื่อมความต้านทานแบบจุดที่มีต่อการรับแรงดึงเฉือนโดยมีปัจจัยในการศึกษา คือ แรงกดของอิเล็กโทรด กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อม และเวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อม ผลการศึกษาพบว่า ปัจจัยที่ทำให้ค่าความแข็งแรงดึงเฉือนที่ดีที่สุด คือ แรงกดของอิเล็กโทรดที่ระดับ 6 kN กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อมที่ระดับ 7 kA และเวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อมที่ระดับ 30 Cycles ในขณะที่ Qiu et al. (2011) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยในการเชื่อมความต้านทานแบบจุดที่มีต่อค่าแรงดึงเฉือนของจุดเชื่อมโดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษา คือ กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อม เวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อม แรงกดของอิเล็กโทรด และเวลาหน่วงหลังการเชื่อม ผลการศึกษาพบว่าแรงกดของอิเล็กโทรดมีอิทธิพลต่อค่าความแข็งแรงดึงเฉือนของจุดเชื่อมมากที่สุด ปรัชญา (2550) ได้ทำการศึกษาหาช่วงเวลาในการปล่อยกระแสไฟเชื่อมที่เหมาะสมสำหรับการเชื่อมความต้านทานทางไฟฟ้า พบว่าช่วงเวลาในการปล่อยกระแสไฟฟ้าในการเชื่อมที่เหมาะสมอยู่ที่ 8 ถึง 10 Cycles ซึ่งให้ค่าแรงดึงเฉือนอยู่ในเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน JIS Z 3140 นราธิป และ บรรเจิด (2550) ได้ทำการศึกษาปัจจัยการเชื่อมความต้านทานแบบจุดบนเหล็กกล้ารีดเย็นเกรด SPCD โดยปัจจัยที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ แรงกดระหว่างชิ้นงาน กระแสไฟฟ้า เวลาในการกดระหว่างชิ้นงาน และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวเชื่อม ในการศึกษานี้ใช้หลักการออกแบบการทดลองทางสถิติชนิด 2^k พบว่าปัจจัยต่างๆ ข้างต้นมีผลต่อค่าความแข็งแรงดึงเฉือนอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $\alpha = 0.05$ และได้ทำการวิเคราะห์ผลการทดลองอีกครั้งโดยใช้วิธีพื้นผิวผลตอบสนอง (Response surface methodology) ให้ได้ค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมออกมา

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับเหล็กกล้าชนิดแผ่นเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบ SGCD1 ที่ใช้ในกลุ่มอุตสาหกรรมผลิตชิ้นส่วนยานยนต์ โดยผลตอบสนองในการศึกษานี้ คือ ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุด ภายใต้มาตรฐาน JIS Z 3140 คือ ต้องสามารถรับแรงได้มากกว่า 10.1 kN ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเชื่อมประกอบไปด้วย ความดันลมของขั้ว

อิเล็กโทรดที่ใช้กดลงบนชิ้นงานขณะทำการเชื่อม (Air pressure) เวลากดชิ้นงานสองชิ้นให้ติดกัน (Squeeze time) กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อม (Weld current) เวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อม (Weld time) และเวลากดแช่ชิ้นงานหลังจากการเชื่อม (Hold time) โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken) และฟังก์ชันความพึงพอใจ (Desirability function) ในการหาค่าที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ค่าแรงดึงเฉือนของการเชื่อมสูงสุด

วิธีการดำเนินงานวิจัย

วัสดุและวิธีการทดลอง

วัสดุที่ใช้ในการทดลองเป็นเหล็กกล้าชนิดแผ่นเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบ SGCD1 (JIS G3302) มีความหนา 1.8 mm. และมีส่วนผสมทางเคมีดังนี้ C 0.040 % Max, Mn 0.180 % Max, P 0.014 % Max, S 0.011 % Max และ ที่เหลือเป็น Fe โดยขนาดของชิ้นงานทดสอบมีความกว้าง 40 ยาว 125 mm. นำมาต่อเกยในระยะ 40 mm. อ้างอิงตามมาตรฐาน JIS Z 3136 (ณรัณ และ ศุภอัษฎ์, 2550) และทำการเชื่อมโดยใช้เครื่องเชื่อมความต้านทานแบบจุดยี่ห้อ Panasonic รุ่น YR-500S มีพิกัดกำลังอยู่ที่ 50 kVA โดยใช้อิเล็กโทรดทองแดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 mm. สำหรับเครื่องที่ใช้ในการทดสอบแรงดึงเฉือน คือ SHIMADZU รุ่น AG-13ZSFL รับแรงดึงสูงสุดได้ 50 kN และใช้ความเร็วในการดึงทดสอบที่ 10 mm/s.

การออกแบบการทดลอง

การออกแบบการทดลองในงานวิจัยนี้เป็นการออกแบบการทดลองด้วยวิธีบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken) เพื่อหาค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุด โดยใช้ปัจจัยในการศึกษา 5 ปัจจัย ได้แก่ ความดันลมของขั้วอิเล็กโทรดที่ใช้กดลงบนชิ้นงานขณะทำการเชื่อม 0.15 - 0.25 MPa เวลากดชิ้นงานสองชิ้นให้ติดกัน 20 – 30 Cycle กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อม 11,000 – 12,000 A เวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อม 20 – 26 Cycle และเวลากดแช่ชิ้นงานหลังจากการเชื่อม 15 – 25 Cycle ซึ่งปัจจัยและค่าของปัจจัยเหล่านี้ได้ข้อมูลมาจากกระบวนการผลิตจริงในปัจจุบันของโรงงานผลิตชิ้นส่วนยานยนต์แห่งหนึ่ง ดังนั้นจึงนำปัจจัยและระดับการทดลองดังแสดงใน Table 1 มาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยในการทดลองมีการจัดลำดับการทดลองแบบสุ่มเพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดจากปัจจัยที่ไม่ได้ทำการควบคุม

Table 1 Welding parameters for resistance spot welding.

Parameters	Unit	Levels		
		1	2	3
Air Pressure (A)	MPa	0.15	0.20	0.25
Squeeze Time (B)	Cycle	20	25	30
Weld Current (C)	Ampere	11,000	11,500	12,000
Weld Time (D)	Cycle	20	23	26
Hold Time (E)	Cycle	15	20	25

เครื่องมือที่ใช้ในการหาค่าที่เหมาะสมสำหรับงานวิจัยนี้ คือ ฟังก์ชันความพึงพอใจ (Desirability function) เพื่อหาเงื่อนไขในการเชื่อมที่ให้ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุด ถ้าให้ $Y_i(x)$ เป็นค่าผลตอบ (Response value) ของเงื่อนไขการเชื่อม x และ $d_i(Y_i)$ คือ ฟังก์ชันความพึงพอใจของ Y_i ในช่วง 0-1 ของฟังก์ชันความพึงพอใจ ค่า $d_i(Y_i) = 0$ คือ ค่าความพึงพอใจที่น้อยที่สุด และ $d_i(Y_i) = 1$ คือ ค่าความพึงพอใจที่มากที่สุด และในทางปฏิบัติจะใช้ค่าทำนาย $\hat{Y}_i$ แทน Y_i และค่าความพึงพอใจรวม D สามารถหาได้จากค่ามัชฌิมเรขาคณิต (Geometric mean) ของความพึงพอใจของแต่ละผลตอบ ดังแสดงในสมการที่ (1)

$$D = \left(\prod_{i=1}^{k} d_i(\hat{Y}_i) \right)^{1/k} \quad (1)$$

เมื่อ k คือ จำนวนของผลตอบ โดยที่ค่าผลตอบ $\hat{Y}_i$ สามารถแปลงเป็นค่าความพึงพอใจได้โดยใช้วิธีของ Derringer และ Suich (1980) ในกรณีที่ต้องการผลตอบที่น้อยที่สุด ฟังก์ชันความพึงพอใจสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2)

$$d_i(\hat{Y}_i) = \begin{cases} 1 & if \quad \hat{Y}_i(x) < T_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - U_i}{T_i - U_i} \right)^r & if \quad T_i \le \hat{Y}_i(x) \le U_i \\ 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) > U_i \end{cases} \quad (2)$$

เมื่อ U_i คือ ขีดจำกัดบน (Upper limit) ของผลตอบ r คือ ค่าน้ำหนักของฟังก์ชัน และ T_i คือ ค่าเป้าหมาย (Taget) ของผลตอบ ในกรณีที่ต้องการผลตอบที่มากที่สุด ฟังก์ชันความพึงพอใจสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (3)

$$d_i(\hat{Y}_i) = \begin{cases} 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) < L_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - L_i}{T_i - L_i} \right)^r & if \quad L_i \le \hat{Y}_i(x) \le T_i \\ 1 & if \quad \hat{Y}_i(x) > T_i \end{cases} \quad (3)$$

เมื่อ L_i คือ ขีดจำกัดล่าง (Lower limit) ของผลตอบ และในกรณีที่ต้องการผลตอบที่ใกล้เคียงกับค่าเป้าหมายมากที่สุด ฟังก์ชันความพึงพอใจสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (4)

$$d_i(\hat{Y}_i) = \begin{cases} 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) < L_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - L_i}{T_i - L_i} \right)^s & if \quad L_i \le \hat{Y}_i(x) \le T_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - U_i}{T_i - U_i} \right)^t & if \quad T_i \le \hat{Y}_i(x) \le U_i \\ 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) > U_i \end{cases} \quad (4)$$

เมื่อ s และ t คือ ค่าน้ำหนักของฟังก์ชัน

ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์เพื่อตรวจสอบแหล่งผันแปรของแบบจำลองในเทอมต่าง ๆ ของปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือน สำหรับเหล็กกล้าชุบเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบเกรด SGCD1 ที่ผ่านการเชื่อมความต้านทานแบบจุด ที่ระดับนัยสำคัญ $\alpha = 0.05$ พบว่า ปัจจัยหลัก A, C, D และอันตรกิริยาระหว่าง A*A, C*C และ D*D มีค่า p-value น้อยกว่า 0.05 ซึ่งทำให้ปัจจัยดังกล่าวมีผลกระทบต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับปัจจัย B และ E พบว่าไม่มีผลกระทบต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนในทางสถิติ (p-value > 0.05) ดังนั้นจึงถูกตัดออกจากแบบจำลอง Table 2 แสดงค่าสัมประสิทธิ์โดยใช้ตัวแปรเข้ารหัสหลังจากการปรับปรุงแบบจำลอง ซึ่งแบบจำลองที่ได้มีค่า R-Sq = 93.36 % และ R-Sq (adj) = 92.89 % โดยมีค่า p-value ของการทดสอบ Lack-of-fit เท่ากับ 0.134 จากนั้นทำการตรวจสอบสมมติฐานของแบบจำลองจากส่วนตกค้างของข้อมูล ซึ่งพบว่าไม่มีการละเมิดสมมติฐานใดๆ

Table 2 Estimated regression coefficients using data in coded units.

Term	Coeff	SE Coeff	T	P
Constant	19.1064	0.1097	174.105	<0.001
A	0.7791	0.1027	7.589	<0.001
C	1.4791	0.1027	14.408	<0.001
D	0.5909	0.1027	5.757	<0.001
A*A	-3.8979	0.1306	-29.842	<0.001
C*C	-0.8920	0.1306	-6.829	<0.001
D*D	-0.4962	0.1306	-3.799	<0.001

เมื่อนำค่าสัมประสิทธิ์ของเทอมต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อมไปทำการเขียนสมการทำนายค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อม ซึ่งจะได้สมการทำนายที่ 5 เมื่อ $\hat{Y}_t$ คือ ค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อม และค่าปัจจัยทั้งสามในสมการแทนด้วยตัวแปรถูกเข้ารหัส คือ

$$\hat{Y}_t = 19.255 + 0.7791(A) + 1.4791(C) + 0.5909\,(D) - 3.9535\,(A*A) - 0.9477(C*C) - 0.5519\,(D*D) \quad (5)$$

การหาค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อมโดยการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับเหล็กกล้าชุบเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบเกรด SGCD1 โดยใช้ฟังก์ชัน Response Optimizer ในโปรแกรม MINITAB ผู้วิจัยเลือกกำหนดค่าเป้าหมายของผลตอบสนอง (Goal) เป็นค่ามากที่สุดของผลตอบสนอง (Maximum) เนื่องจากต้องการให้ได้ค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนของจุดเชื่อมสูงสุด ในการกำหนดค่าระดับต่ำของผลตอบสนอง (Lower) ได้กำหนดให้เท่ากับ 10.1 kN.

อ้างอิงตามมาตรฐาน JIS Z 3140 โดยได้ค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อม ดังแสดงตาม Table 3

Table 3 Response optimization for tensile maximum goal.

Response Optimization						
Parameters						
	Goal	Lower	Target	Upper	Weight	Import
Tensile	Maximum	10.1	19	19	1	1
Global Solution						
	A = 0.204545					
	C = 11,919.2					
	D = 24.7879					
Predicted Responses						
Tensile = 19.9340, desirability = 1.000000						
Composite Desirability = 1.000000						

ค่าปัจจัยที่เหมาะสมจากการคำนวณของโปรแกรมสำหรับชุดการทดลองนี้ คือ ความดันลมของขั้วอิเล็กโทรดที่ใช้กดลงบนชิ้นงานขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 0.2045 MPa กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 11,919.2 A และเวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อมเท่ากับ 24.7879 Cycles โดยได้ค่าการทำนายแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อม (Predicted Response) เท่ากับ 19.9340 kN. ในการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับชิ้นงานเหล็กกล้าชุบเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบเกรด SGCD1 และได้ค่าความพึงพอใจโดยรวมเท่ากับ 1.000

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองเพื่อยืนยันผลเป็นการทดลองบนค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนสูงสุด จากการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับชิ้นงานเหล็กกล้าชุบเคลือบสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบเกรด SGCD1 ที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูล โดยทำการปรับค่าปัจจัยต่างๆ บนเครื่องเชื่อมให้ได้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าที่เหมาะสมที่หามาได้ การปรับค่าความดันลมของขั้วอิเล็กโทรดที่ใช้กดลงบนชิ้นงานขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 0.20 MPa กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 11,900 A เวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อมเท่ากับ 25 Cycles ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่น ในการทดลองเพื่อยืนยันผลจะเห็นได้ว่ามี 2 ปัจจัย คือ เวลากดชิ้นงานสองชิ้นให้ติดกัน และเวลากดแช่ชิ้นงานหลังจากการเชื่อม จากการศึกษาพบว่า ไม่มีผลกระทบต่อค่าความแข็งแรงในการรับแรงดึงเฉือนของจุดเชื่อม แต่ก็ไม่สามารถตัดปัจจัยทั้งสองนี้ออกจากกระบวนการเชื่อมความต้านทานแบบจุดได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้กำหนดค่าระดับของปัจจัยทั้งสองไว้ที่ระดับ 25 Cycles และ 20 Cycles ตามลำดับ โดยอ้างอิงมาจากคู่มือการเชื่อมความต้านทานแบบจุดของผู้ผลิตเครื่องเชื่อม และค่าระดับปัจจัยที่กำหนดนี้เป็นค่าระดับของปัจจัยที่เคยทำการทดลองมาแล้ว ซึ่งไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อเครื่องเชื่อมและต่อชิ้นงานทดสอบ

จากผลการทดลองเพื่อยืนยันผล 5 ครั้ง ได้ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อมโดยเฉลี่ยเท่ากับ 19.06 kN. ดังแสดงใน Table 4 ซึ่งเมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากการทำนายใน Table 3 คือ 19.934 kN. ปรากฏว่าผลการทดลองเพื่อยืนยันผลได้ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อมน้อยกว่าค่าทำนายประมาณ 4.38 % เนื่องจากในการทดลองเพื่อยืนยันผลใช้ค่าระดับของปัจจัย C คือ กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อมต่ำกว่าค่าที่เหมาะสมจากการคำนวณเล็กน้อย เนื่องจากไม่สามารถปรับค่าของตัวเครื่องได้ตรงกับค่าที่เหมาะสมที่หามาได้ อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับค่าตามมาตรฐาน JIS Z 3140 คือ 10.10 kN พบว่า ค่าที่ได้จากการทดลองยืนยันผลผ่านมาตรฐาน JIS Z 3140

จากการตรวจสอบวิเคราะห์โครงสร้างมหภาคของจุดเชื่อมเพื่อตรวจสอบลักษณะความสมบูรณ์ของจุดเชื่อม ลักษณะความบกพร่องของจุดเชื่อม รวมทั้งหาขนาดและอัตราการซึมลึกของจุดเชื่อม พบว่าจากการทดลองด้วยค่าที่เหมาะสมที่สุด จุดเชื่อมมีความสมบูรณ์ ไม่พบความบกพร่องของจุดเชื่อม โดยขนาดของจุดเชื่อมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.37 mm. และอัตราการซึมลึกของจุดเชื่อมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 63.90 % ของความหนาชิ้นงานทดสอบ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรมของประเทศญี่ปุ่น JIS Z 3140 ที่ระบุไว้ว่า ขนาดของจุดเชื่อมต้องมากกว่า 5.70 mm. และอัตราการซึมลึกต้องมากกว่า 20 % ของความหนาชิ้นงาน ดังแสดงใน Table 4 และจะเห็นได้ว่าช่วงความเชื่อมั่น 95% ของผลการทดลองยืนยันผล ผ่านมาตรฐาน JIS Z 3140 ทั้งหมด รวมทั้งค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ของการผันแปรของการทดลองยืนยันผลที่มีค่าต่ำ เป็นการเพิ่มความเชื่อมั่นของการทดลองยืนยันผลนี้ ดังแสดงใน Table 5

Table 4 Confirmation tests on the optimal spot welding process parameters for tensile shear load, nugget and penetration.

Run No	Factor (Unit)					Tensile shear load (kN)	Nugget (mm.)	Penetration (%)
	A (MPa)	B (Cycle)	C (Ampere)	D (Cycle)	E (Cycle)			
1	0.20	25	11900	25	20	19.11	8.28	60.47
2	0.20	25	11900	25	20	19.01	8.28	67.24
3	0.20	25	11900	25	20	19.15	8.30	62.27
4	0.20	25	11900	25	20	19.02	8.21	65.26
5	0.20	25	11900	25	20	19.04	8.79	64.27
Average						19.06	8.37	63.90

Table 5 95% CI, SD and CV of tensile shear load, nugget and penetration.

Output	Average	95% CI	Standard deviation (%)	Coefficient of variation
Tensile shear (kN)	19.06	18.99 - 19.14	0.06	0.31
Nugget (mm)	8.37	8.07 - 8.67	0.24	2.87
Penetration (%)	63.90	60.64 - 67.16	2.63	4.12

สรุป

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับเหล็กกล้าชนิดแผ่นเคลือบโลหะผสมสังกะสีแบบจุ่มร้อนและอบ SGCD1 โดยผลตอบในการศึกษานี้ คือ ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุด โดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบนเคน และฟังก์ชันความพึงพอใจ เพื่อหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการเชื่อมความต้านทานแบบจุด ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ปัจจัย และค่าระดับของปัจจัยที่เหมาะสมที่ให้ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุด คือ ความดันลมของขั้วอิเล็กโทรดที่ใช้กดลงบนชิ้นงานขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 0.2 MPa กระแสไฟฟ้าขณะทำการเชื่อมเท่ากับ 11,900 A และเวลาในการปล่อยกระแสไฟขณะเชื่อมเท่ากับ 25 Cycles โดยได้ค่าแรงดึงเฉือนสูงสุดของจุดเชื่อมโดยเฉลี่ยเท่ากับ 19.06 kN ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน JIS Z 3140

เอกสารอ้างอิง

ประสิทธิ์ เวียงแก้ว และ ฉัตร ลาภรังสิรัตน์. 2554. **คู่มืองานเหล็ก**. ซีเอ็ดยูเคชั่น, กรุงเทพฯ. หน้า 104-105.

T. Kim, H. Park, and S. Rhee. 2005. Optimization of welding parameters for resistance spot welding of TRIP steel with response surface methodology. International Journal of Production Research 43: 4643-4657.

Y. Kaya and N. Kahraman. 2011. The effects of electrode force, welding current and welding time on the resistance spot weld ability of pure titanium. International Journal of Advanced Manufacturing Technology. 60:127–134.

R. Qiu, Z. Zhan, K. Zhang, H. Shi, and G. Ding. 2011. Influence of Welding Parameters on the Tensile Shear Strength of Aluminum Alloy Joint Welded by Resistance Spot Welding. Materials Engineering and Performance. 20: 355-358.

ปรัชญา เพียสุระ 2550. การหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการปล่อยกระแสไฟฟ้าในการเชื่อมความต้านทานชนิดจุดโดยการทดสอบสมบัติทางกลและทางโลหะวิทยา. **การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีนิวเคลียร์**. ครั้งที่ 10 .กรุงเทพฯ. สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ, 16 –17 สิงหาคม 2550.

นราธิป แสงซ้าย และ บรรเจิด ดอนเนตรงาน. 2550. การศึกษาคุณสมบัติด้านความแข็งแรงในการเชื่อมความต้านทานแบบจุดสำหรับเหล็กกล้ารีดเย็น SPCD (JIS G 3141) โดยการออกแบบการทดลอง.**การประชุมวิชาการข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหการ.** ครั้งที่ 16. ภูเก็ต. หน้า 856-860.

ณรัณ ศิรสันติสัมฤทธิ์ และ ศุภอัชฎ์ พันศิริพัฒน์. 2550 การสร้างตัวแบบทางสถิติเพื่อการพัฒนากระบวนการเชื่อมแบบจุด. **การประชุมวิชาการข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหการ.** ครั้งที่ 16. ภูเก็ต. หน้า 625-632.

G. Derringer, and R. Suich. 1980. Simultaneous Optimization of several response variables. Journal of Quality Technology. 12: 4. 214-219.

การหาค่าที่เหมาะสมของการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE429

Optimization of Gas Metal Arc Welding Process for JFE429 Ferritic Stainless Steel

<u>ภูเมศวร์ แสงระยับ</u>[1] ธีรวุฒิ เขื่อนแก้ว[2] พชรพล ตัณฑวิรุฬห์[2] และ กรรณชัย กัลยาศิริ[2*]

<u>Phoometh Sangrayub</u>[1], Teerawut Khuenkaew[2], Phacharaphon Tunthawiroon[2] and Kannachai Kanlayasiri[2*]

บทคัดย่อ

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE 429 ด้วยลวดเชื่อม Mig 430NbI โดยผลการศึกษานี้ คือ ระยะซึมลึกของรอยเชื่อม ภายใต้มาตรฐานของโรงงานผลิตรถยนต์แห่งหนึ่ง คือ ต้องมีระยะซึมลึกไม่น้อยกว่า 1.0 mm โดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken) และฟังก์ชันความพึงพอใจ (Desirability function) เพื่อหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุม สำหรับปัจจัยที่ทำการศึกษามี 5 ปัจจัย ได้แก่ กระแสไฟฟ้าเชื่อม แรงดันไฟฟ้าเชื่อม มุมของหัวเชื่อม ช่องว่างระหว่างชิ้นงานเชื่อม และอัตราการไหลของแก๊สคลุม ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญและค่าระดับของปัจจัยที่เหมาะสมที่ทำให้ระยะซึมลึกสูงสุด คือ กระแสไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 210 A แรงดันไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 20.8 V มุมของหัวเชื่อมเท่ากับ 62 degree โดยได้ค่าเฉลี่ยของระยะซึมลึก เท่ากับ 1.1 mm ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานที่ต้องการ

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the optimal welding condition for gas metal arc welding of JFE429 ferritic stainless steel. The result of this study was the penetration depth of the weld. The requirement of the penetration depth was specified by an automobile manufacturer not less than 1.00 mm. In this research, Box-Behnken design was employed as the experimental strategy, and desirability function was used as the optimization tool. There were five welding parameters investigated including welding current, welding voltage, welding angle, clearance, and gas flow rate. The significant parameters and optimal welding condition obtained were at 210 A of welding current, 20.8 V of welding voltage and 62 degrees of welding angle, and the corresponding penetration depth was 1.1 mm that reached the customer's requirement.

Key words: Gas metal arc welding, Box-Behnken design, Optimization, Desirability function

*Corresponding author; e-mail address: kannachai.ka@kmitl.ac.th

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีวิศวกรรมอุตสาหการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ วิทยาเขตวังไกลกังวล

[2]ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทนำ

ประเทศไทยมีการพัฒนาด้านอุตสาหกรรมยานยนต์อย่างรวดเร็วและได้นำเทคโนโลยีที่ทันสมัยเข้ามาใช้งาน การเชื่อมโลหะมีบทบาทสำคัญในการผลิตชิ้นส่วนยานยนต์หลายชนิด ในปัจจุบันวิธีการเชื่อมโลหะมีหลายวิธี ซึ่งวิธีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางวิธีหนึ่ง คือ การเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุม (Gas metal arc welding: GMAW) เนื่องจากสามารถเชื่อมวัสดุได้หลายชนิด และหลายขนาด ตั้งแต่ชิ้นงานที่หนามากๆ จนถึงโลหะแผ่นบาง (มานะศิษฏ์, 2551) การเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมให้ความแข็งแรงของรอยเชื่อมสูง และเป็นกระบวนการเชื่อมที่สามารถประยุกต์ใช้กับระบบหุ่นยนต์งานเชื่อมแบบอัตโนมัติได้ง่าย ทำให้สามารถเชื่อมชิ้นงานได้อย่างรวดเร็ว มีความแม่นยำสูง และให้คุณภาพงานเชื่อมที่ดี (มานะศิษฏ์, 2551; คะเน, 2534)

ในการผลิตชิ้นส่วนยานยนต์โดยเฉพาะอย่างยิ่งชิ้นส่วนที่ต้องสัมผัสกับความร้อนจากเครื่องยนต์ และสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรงมีความจำเป็นต้องผลิตจากเหล็กกล้าไร้สนิม และอาจจะต้องอาศัยการเชื่อมให้ติดเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งโดยส่วนมากเป็นการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมที่ประยุกต์ใช้กับหุ่นยนต์งานเชื่อมอัตโนมัติ ในการเชื่อมชิ้นงานเหล็กกล้าไร้สนิมด้วยหุ่นยนต์งานเชื่อมอัตโนมัติจะต้องทำการปรับตั้งค่าปัจจัยต่างๆสำหรับงานเชื่อมหลายค่า ซึ่งผู้ปฏิบัติมักจะปรับตั้งค่าโดยอาศัยประสบการณ์ หรือการลองผิดลองถูก นอกจากนี้ค่าปัจจัยที่ระบุมาจากผู้ผลิตหุ่นยนต์งานเชื่อม และผู้ผลิตลวดเชื่อมมักจะเป็นค่าโดยประมาณ ดังนั้นคุณภาพของงานเชื่อมที่ออกมาจึงไม่ดีเท่าที่ควร เช่น มีค่าความแข็งแรงต่ำจากที่กำหนด ทำให้เกิดความเสียหาย เช่น เกิดการแตกร้าวบริเวณรอยเชื่อม และชิ้นงาน (คะเน, 2534)

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า มีการศึกษาเกี่ยวกับการหาค่าที่เหมาะสมของการเชื่อมโลหะด้วยวิธีต่างๆ เช่น Kim et al. (2005) ได้ทำการศึกษาเพื่อหาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับวิธีการเชื่อมโลหะด้วยไฟฟ้าแบบใช้แก๊สคลุมโดยวิธี Control random search มีปัจจัยนำเข้า คือ อัตราการป้อนลวด แรงดันไฟฟ้า และความเร็วในการเชื่อม โดยมีตัวแปรผลตอบสนอง คือ ความสูง ความกว้างของรอยเชื่อม และการซึมลึกของแนวเชื่อม อนุสิทธิ์ (2548) ศึกษาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมของการเชื่อมอัตโนมัติแบบลวดเชื่อมแกนฟลักซ์สำหรับเหล็กกล้า ST37 เพื่อให้ได้ค่าแรงดึงของรอยเชื่อมสูงสุด โดยใช้การทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน เพื่อหาผลตอบที่เหมาะสม โดยมีพารามิเตอร์ในการศึกษา ได้แก่ กระแสไฟ แรงดันไฟเชื่อม ระยะโผล่ลวดเชื่อม และมุมหัวเชื่อม สมหมาย (2550) ใช้การทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคน (Box-Behnken) ทำการวิเคราะห์เพื่อลดเปอร์เซ็นต์การแตกหักจากการเชื่อมแบบทังสเตนอาร์คสำหรับเหล็กกล้าเครื่องมือเย็น SKD11 โดยมีปัจจัยที่ศึกษา คือ กระแสไฟฟ้า ความเร็วในการเชื่อม มุมแกนลวดทังสเตนอิเล็กโทรด และอุณหภูมิอุ่นชิ้นงานก่อนการเชื่อม อนุสิทธิ์ และคณะ (2551) หาค่าที่เหมาะสมของเงื่อนไขการเชื่อมแบบแม็กเอ็ม เพื่อให้ได้ค่าแรงดึงของรอยเชื่อมสูงสุด โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบห์นเคนในการหาผลตอบที่เหมาะสม โดยมีปัจจัยในการศึกษา ได้แก่ กระแสไฟฟ้า แรงดันไฟฟ้า ความเร็วเชื่อม มุมหัวเชื่อม ระยะโผล่ลวดเชื่อม และแก๊สคลุม พิคิด (2549) ได้ใช้การทดลองแบบส่วนประสมกลาง (Central composite design) ในการวิเคราะห์หาผลตอบที่เหมาะสมสำหรับวิธีการเชื่อมโลหะด้วยไฟฟ้าแบบใช้แก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้า ST37 เพื่อให้ได้ค่าแรงดึงของรอยเชื่อมสูงสุด โดยมีปัจจัยที่ศึกษา คือ กระแสไฟฟ้า แรงดันไฟฟ้า ความเร็วในการเชื่อม และปริมาณแก๊สคลุม

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุม สำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE 429 โดยใช้ลวดเชื่อม Mig 430NbI และผลตอบสนองในการศึกษานี้ คือ ระยะซึมลึก ซึ่ง

ภายใต้มาตรฐานของโรงงานผลิตรถยนต์แห่งหนึ่ง จะต้องมีระยะซึมลึกไม่น้อยกว่า 1.0 mm โดยปัจจัยที่ศึกษาในกระบวนการเชื่อมประกอบไปด้วย กระแสไฟฟ้าเชื่อม แรงดันไฟฟ้าเชื่อม มุมของหัวเชื่อม ช่องว่างระหว่างชิ้นงานเชื่อม และอัตราการไหลของแก๊สคลุม โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken) และฟังก์ชันความพึงพอใจ (Desirability function) ในการหาค่าที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ระยะซึมลึกที่ผ่านมาตรฐานของลูกค้า

วิธีการดำเนินงานวิจัย

วัสดุและวิธีการทดลอง

วัสดุที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นเหล็กกล้าไร้สนิมชนิดเฟอร์ริติก (Ferritic stainless steel) เกรด JFE429 (JFE Stainless Steels) ความหนา 1.5 mm มีส่วนผสมทางเคมี ดังนี้ Cr 13 % -16 %, Si 1.5 % Max, Mn 1 % Max, Nb 0.3 % - 0.7 %, P 0.04 % Max, S 0.030 % Max นำไปตัดเป็นแผ่นสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดของชิ้นงานทดสอบอ้างอิงตามมาตรฐาน ASTM (D1002 – 01) วางต่อเกยแสดงดัง Figure 1 โดยกำหนดช่องว่างระหว่างชิ้นงานกับชิ้นงานตามการออกแบบการทดลองใน Table 1

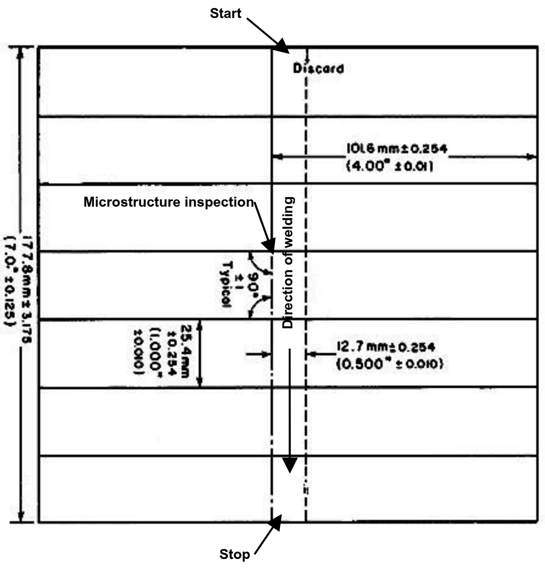


Figure 1 Test specimen

การเตรียมชิ้นงานทดสอบจะทำโดยการเชื่อมยึด (Tack weld) ส่วนปลายชิ้นงานให้ติดกันก่อนจะนำชิ้นงานทดสอบนั้นวางบนอุปกรณ์จับยึดเพื่อทำการเชื่อมด้วยหุ่นยนต์งานเชื่อมอัตโนมัติยี่ห้อ Panasonic รุ่น TA1600 โดยใช้ลวดเชื่อม Mig 430NbI ของบริษัท Nippon Welding Rod ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 mm ซึ่งมีส่วนผสมทางเคมี ดังนี้ Cr 16.6%, Si 0.31 % Max, Mn 0.40 % Max, C 0.06 % Max แก๊สคลุมที่ใช้เป็นแก๊สผสมระหว่างแก๊สอาร์กอน (Ar) กับแก๊สออกซิเจน (O_2) ที่มีส่วนผสมแก๊สอาร์กอนร้อยละ 97 และแก๊สออกซิเจนมีร้อยละ 3 โดยปริมาตร จากนั้นกำหนดระดับปัจจัยที่ใช้ในการเชื่อมตาม Table 1 ทำการทดลองเชื่อมตามลำดับการสุ่มที่ได้นำชิ้นงานที่ผ่านการเชื่อมไปทำการตรวจสอบโครงสร้างมหภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์ดิจิตอลยี่ห้อ KEYENCE รุ่น VHX – 600 เพื่อศึกษาระยะซึมลึกของรอยเชื่อม โดยตามข้อกำหนดของลูกค้า (โรงงานผลิตรถยนต์แห่งหนึ่ง) ระยะซึมลึกของรอยเชื่อมจะต้องไม่น้อยกว่า 1.00 mm

การออกแบบการทดลอง

การออกแบบการทดลองในงานวิจัยนี้เป็นการออกแบบการทดลองด้วยวิธีบ็อกซ์-เบนเคน (Box-Behnken) เพื่อหาค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อม โดยใช้ปัจจัยในการศึกษา 5 ปัจจัย ได้แก่ กระแสไฟฟ้าเชื่อม 160 – 210 A แรงดันไฟฟ้าเชื่อม 18 - 23 V มุมของหัวเชื่อม 45- 75 degree ช่องว่างระหว่างชิ้นงานเชื่อม 0.0 – 1.2 mm และอัตราการไหลของแก๊สคลุม 11.0 – 16.0 l/min ซึ่งปัจจัยและค่าของปัจจัยเหล่านี้ได้ข้อมูลมาจากกระบวนการผลิตจริงในปัจจุบันของโรงงานผลิตชิ้นส่วนยานยนต์แห่งหนึ่ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้นำปัจจัยเหล่านี้มาใช้ในการออกแบบการทดลองดังแสดงใน Table 1 โดยการทดลองมีการจัดลำดับการทดลองแบบสุ่มเพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดจากปัจจัยที่ไม่ได้ทำการควบคุม

Table 1 Welding variables and their levels.

Parameter	Unit	Levels		
		1	2	3
Welding current (A)	Ampere	160	180	210
Welding voltage (B)	Volt	18	21	23
Welding angle (C)	degree	45	60	75
Clearance (D)	mm	0.0	0.6	1.2
Gas flow rate (E)	l/min	11.0	13.5	16.0

เครื่องมือที่ใช้ในการหาค่าที่เหมาะสมสำหรับงานวิจัยนี้ คือ ฟังก์ชันความพึงพอใจ (Desirability function) เพื่อหาเงื่อนไขในการเชื่อมที่ให้ระยะซึมลึกสูงสุด ถ้าให้ $Y_i(x)$ เป็นค่าผลตอบ (Response value) ของเงื่อนไขการเชื่อม x และ $d_i(Y_i)$ คือ ฟังก์ชันความพึงพอใจของ Y_i ในช่วง 0-1 ของฟังก์ชันความพึงพอใจ ค่า $d_i(Y_i) = 0$ คือ ค่าความพึงพอใจที่น้อยที่สุด และ $d_i(Y_i) = 1$ คือ ค่าความพึงพอใจที่มากที่สุด และในทางปฏิบัติจะใช้ค่าทำนาย $\hat{Y}_i$ แทน Y_i และค่าความพึงพอใจรวม D สามารถหาได้จากค่ามัชฌิมเรขาคณิต (Geometric mean) ของความพึงพอใจของแต่ละผลตอบ ดังแสดงในสมการที่ (1)

$$D = \left(\prod_{i=1}^{k} d_i(\hat{Y}_i) \right)^{1/k} \tag{1}$$

เมื่อ k คือ จำนวนของผลตอบ โดยที่ค่าผลตอบ $\hat{Y}_i$ สามารถแปลงเป็นค่าความพึงพอใจได้โดยใช้วิธีของ Derringer และ Suich (1980) ในกรณีที่ต้องการผลตอบที่น้อยที่สุด ฟังก์ชันความพึงพอใจสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2)

$$d_i(\hat{Y}_i) = \begin{cases} 1 & if \quad \hat{Y}_i(x) < T_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - U_i}{T_i - U_i} \right)^r & if \quad T_i \le \hat{Y}_i(x) \le U_i \\ 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) > U_i \end{cases} \tag{2}$$

เมื่อ U_i คือ ขีดจำกัดบน (Upper limit) ของผลตอบ r คือ ค่าน้ำหนักของฟังก์ชัน และ T_i คือ ค่าเป้าหมาย (Taget) ของผลตอบ ในกรณีที่ต้องการผลตอบที่มากที่สุด ฟังก์ชันความพึงพอใจสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (3)

$$d_i(\hat{Y}_i) = \begin{cases} 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) < L_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - L_i}{T_i - L_i}\right)^r & if \quad L_i \le \hat{Y}_i(x) \le T_i \\ 1 & if \quad \hat{Y}_i(x) > T_i \end{cases} \tag{3}$$

เมื่อ L_i คือ ขีดจำกัดล่าง (Lower limit) ของผลตอบ และในกรณีที่ต้องการผลตอบที่ใกล้เคียงกับค่าเป้าหมายมากที่สุด ฟังก์ชันความพึงพอใจสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (4)

$$d_i(\hat{Y}_i) = \begin{cases} 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) < L_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - L_i}{T_i - L_i}\right)^s & if \quad L_i \le \hat{Y}_i(x) \le T_i \\ \left(\dfrac{\hat{Y}_i(x) - U_i}{T_i - U_i}\right)^t & if \quad T_i \le \hat{Y}_i(x) \le U_i \\ 0 & if \quad \hat{Y}_i(x) > U_i \end{cases} \tag{4}$$

เมื่อ s และ t คือ ค่าน้ำหนักของฟังก์ชัน

ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์เพื่อตรวจสอบแหล่งผันแปรของแบบจำลองในเทอมต่าง ๆ ของปัจจัยที่มีผลต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อมในการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE429 ที่ระดับนัยสำคัญ α = 0.05 พบว่า ปัจจัยหลัก A , B , C และอันตรกิริยาระหว่าง A*A มีค่า p-value น้อยกว่า 0.05 ซึ่งทำให้ปัจจัยดังกล่าวมีผลกระทบต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปัจจัยหลัก D และ E พบว่าไม่มีผลกระทบต่อระยะซึมลึกในทางสถิติ (p-value > 0.05) ดังนั้นจึงได้นำออกจากแบบจำลอง Table 2 แสดงค่าสัมประสิทธิ์หลังจากการปรับปรุงแบบจำลอง ซึ่งแบบจำลองที่ได้มีค่า R-Sq = 85.55 % และ R-Sq (adj) = 84.14 % โดยมีค่า p-value ของการทดสอบ Lack-of-fit เท่ากับ 0.295 จากนั้นทำการตรวจสอบสมมติฐานของแบบจำลองจากส่วนตกค้างของข้อมูล ซึ่งพบว่าไม่มีการละเมิดสมมติฐานใดๆ

Table 2 Estimated regression coefficients.

Term	Coeff	SE Coeff	T	P
Constant	-11.4122	0.1097	174.105	<0.001
A	0.0917	0.1027	7.589	<0.001
B	0.1270	0.1027	14.408	<0.001
C	0.0083	0.1027	5.757	<0.001
A*A	-2.2366×10^{-04}	0.1306	-29.842	<0.001

เมื่อนำค่าสัมประสิทธิ์ของแต่ละเทอมต่าง ๆ ทุกเทอมที่มีผลต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อมในการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE429 ที่ได้ ไปทำการเขียนสมการทำนายระยะซึมลึกของรอยเชื่อม ซึ่งจะได้สมการทำนายดังสมการที่ 5 เมื่อ $\hat{P}$ คือ ระยะซึมลึกของรอยเชื่อม

$$\hat{P} = -11.4122 + 0.0917(A) + 0.1270(B) + 0.0083(C) -2.2366 \times 10^{-04} (A*A) \quad (5)$$

การหาค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อมในการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE429 โดยใช้ฟังก์ชัน Response Optimizer ในโปรแกรม MINITAB ซึ่งเป็นฟังก์ชันที่ใช้ในการหาค่าที่เหมาะที่สุดของปัจจัย ผู้วิจัยเลือกกำหนดค่าเป้าหมายของผลตอบ (Goal) เป็นค่าเป้าหมาย (Target) ซึ่งกำหนดไว้ที่ 1.1 mm เนื่องจากผู้ผลิตต้องการให้ได้ระยะซึมลึกของรอยเชื่อมมากกว่ามาตรฐานของลูกค้า 10% และกำหนดค่าระดับต่ำของผลตอบ (Lower) เท่ากับ 1.00 mm ตามมาตรฐานของโรงงานผลิตรถยนต์ที่เป็นลูกค้า ซึ่งต้องได้ไม่น้อยกว่า 1.00 mm และกำหนดค่าระดับสูงของผลตอบ (Upper) เท่ากับ 1.20 mm โดยได้ค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อม ดังแสดงตาม Table 3

Table 3 Response optimization for penetration depth of the weld.

Response Optimization						
Parameters						
	Goal	Lower	Target	Upper	Weight	Import
Penetration	Target	1.0	1.1	1.2	1	1
Global Solution						
Ampere (A)	= 210					
Voltage (B)	= 20.8271					
Angle (C)	= 62.0062					
Predicted Responses						
Penetration = 1.1 , desirability = 1.000000						
Composite Desirability = 1.000000						

ดังนั้นในการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE429 ค่าปัจจัยที่เหมาะสมที่ได้จากฟังก์ชันความพึงพอใจ คือ กระแสไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 210 A แรงดันไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 20.8271 V มุมของหัวเชื่อมเท่ากับ 62.0062 degree สำหรับช่องว่างระหว่างชิ้นงานเชื่อม และอัตราการไหลของแก๊สคลุมเป็นปัจจัยที่ไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อม โดยได้ค่าการทำนายระยะซึมลึกของรอยเชื่อม (Predicted Response) เท่ากับ 1.1 mm และได้ค่าความพึงพอใจโดยรวมเท่ากับ 1.000

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองเพื่อยืนยันผล เป็นการทดลองด้วยค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อมในการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE429 โดยทำการปรับค่าปัจจัยต่างๆ

บนเครื่องเชื่อมให้ได้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าที่เหมาะสมที่หามาได้ดังนี้ กระแสไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 210 A แรงดันไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 20.8 V มุมของหัวเชื่อมเท่ากับ 62 degree และเนื่องจากช่องว่างระหว่างชิ้นงานเชื่อม และอัตราการไหลของแก๊สคลุมเป็นปัจจัยที่ไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อระยะซึมลึกของรอยเชื่อม แต่ก็ไม่สามารถตัดปัจจัยทั้งสองนี้ออกจากกระบวนการเชื่อมได้ จึงทำการตั้งค่าไว้ที่ค่าต่ำสุดของทั้งสองปัจจัย คือ 0 mm และ 11 l/min ตามลำดับ โดยทำการอ้างอิงมาจากคู่มือการเชื่อม (มานะศิษฏ์, 2551) และค่าระดับปัจจัยที่กำหนดนี้เป็นค่าระดับของปัจจัยที่เคยทำการทดลองมาแล้ว ซึ่งไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อเครื่องเชื่อมและชิ้นงาน โดยในการทดลองยืนยันผลได้ทำซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่น

จากผลการทดลองเพื่อยืนยันผล 5 ครั้ง ได้ระยะซึมลึกของรอยเชื่อมโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.1 mm ดังแสดงใน Table 4 ซึ่งเท่ากับค่าที่ได้จากการทำนายใน Table 3 และเมื่อเทียบกับค่าตามมาตรฐานของลูกค้า คือ 1.00 mm พบว่าค่าที่ได้จากการทดลองยืนยันผลผ่านมาตรฐานของลูกค้า นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการตรวจสอบลักษณะอื่นๆของรอยเชื่อม ได้แก่ ความสูงและความกว้างของรอยเชื่อม พบว่าผ่านมาตรฐานของลูกค้าเช่นเดียวกัน ซึ่งมาตรฐานของโรงงานผลิตรถยนต์ที่เป็นลูกค้ากำหนดไว้ว่า ความสูงของรอยเชื่อมต้องไม่น้อยกว่า 1.05 mm และความกว้างต้องไม่น้อยกว่า 1.20 mm Figure 2 แสดงองค์ประกอบของรูปร่างรอยเชื่อม เมื่อ p คือระยะซึมลึกของรอยเชื่อม t คือ ความสูงของรอยเชื่อม และ l คือ ความกว้างของรอยเชื่อม และจาก Table 4 จะเห็นได้ว่าช่วงความเชื่อมั่น 95% ของผลการทดลองยืนยันผล ผ่านมาตรฐานของลูกค้าทั้งหมด เป็นการเพิ่มความเชื่อมั่นของการเชื่อมด้วยค่าที่เหมาะสมของปัจจัยที่หาได้

Table 4 Confirmation tests based on the optimal welding condition.

Run No	Penetration depth (mm)	Bead height (mm)	Bead width (mm)
1	1.13	2.19	5.95
2	1.03	2.19	6.28
3	1.06	2.22	6.46
4	1.19	2.17	6.51
5	1.08	2.03	6.22
Average	1.10	2.16	6.28
95%CI	1.02-1.18	2.07-2.25	6.01-6.56

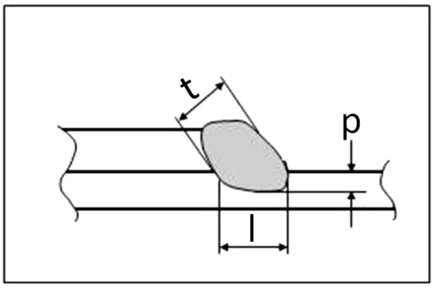


Figure 2 Weld bead characteristics.

สรุป

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าไร้สนิม JFE 429 ด้วยลวดเชื่อม Mig 430NbI โดยผลตอบในการศึกษานี้ คือ ระยะซึมลึกของรอยเชื่อม โดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบบ็อกซ์-เบนเคน และฟังก์ชันความพึงพอใจ เพื่อหาค่าระดับปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการเชื่อมอาร์คโลหะแก๊สคลุม ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ปัจจัย และค่าระดับของปัจจัยที่เหมาะสมที่ให้ระยะซึมลึกของรอยเชื่อมตามที่ต้องการ คือ กระแสไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 210 A แรงดันไฟฟ้าเชื่อมเท่ากับ 20.8 V มุมของหัวเชื่อมเท่ากับ 62 degree โดยได้ระยะซึมลึกของรอยเชื่อมโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.1 mm ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานของลูกค้า

เอกสารอ้างอิง

มานะศิษฏ์ พิมพ์สาร. 2551. **คู่มือการเชื่อมมิก-แม็ก**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : เอ็มแอนด์อี.

คะเน วรรณโท. 2534. **การเชื่อมโลหะในระบบ** GMAW. กรุงเทพมหานคร : ที พี พริ้น.

Kim, D., M. Kong and S. Rhee. 2005. Determination of optimal welding conditions with a controlled random search procedure. **Welding Journal**, August, pp.125s-130s.

อนุสิทธิ์ อ่ำไพบูลย์. 2548. พารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่สุดของการเชื่อมอัตโนมัติแบบลวดเชื่อมแกนฟลักซ์สำหรับเหล็กกล้า เอสที 37. **วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต** สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหการ บัณฑิตวิทยาลั มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมหมาย สารมาท. 2550. การวิเคราะห์เพื่อกำหนดวิธีปฏิบัติในการเชื่อมแบบทังสเตนอาร์คเพื่อลดการแตกร้าวสำหรับเหล็กกล้าเครื่องมือเย็น เอสเคดี 11. **วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต** สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหการ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อนุสิทธิ์ อ่ำไพบูลย์ และคณะ 2551. การหาสภาวะที่เหมาะสมของเงื่อนไขการเชื่อมแบบแม็กเอ็มโดยใช้เทคนิคการออกแบบการทดลอง. **การประชุมวิชาการด้านการวิจัยดำเนินงานแห่งชาติ**. หน้า 270-274.

พิคิด ดวงมาลา, 2549. “การหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับวิธีการเชื่อมโลหะด้วยไฟฟ้าแบบใช้แก๊สคลุมสำหรับเหล็กกล้าเอสที 37 โดยวิธีพื้นผิวผลตอบ.” **วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต** สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหการ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

JFE Steel Corporation. **JFE Stainless Steels.** Internet: http://www.jfe-steel.co.jp/en/.

ASTM D1002–01.2001. Standard Test Method for Apparent Shear Strength of Single-Lap-Joint Adhesively Bonded Metal Specimens by Tension Loading (Metal-to-Metal). **ASTM International**, United States

Nippon Welding Rod. “**Chemical composition of wire**” Internet: http://www.nihonwel.co.jp.

Derringer G, R. Suich. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology.** 12: 214-219.

การเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ OTOP ของที่ระลึกพวงกุญแจรูปฝักมะขามด้วยวิธีการชุบอโนไดซ์

Value Added OTOP Products of Tamarind Metal Souvenir Keychains with Anodizing

สุวิมล เทียกทุม[1*] และ ธรรม์ณชาติ วันแต่ง[1]

Suwimon Theakthum[1*] and Tannachart Wantang[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่หาปัจจัยที่เหมาะสมในการชุบเคลือบผิวอลูมิเนียมพวงกุญแจรูปฝักมะขามด้วยการทำอโนไดซ์ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์สินค้า OTOP ของกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ตำบลสักหลง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ และทำการประเมินความพึงพอใจกับสมาชิกในกลุ่มดังกล่าว จากผลการทดลองพบว่าการใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 12 โวลต์และเวลาในการชุบ 20 นาที เป็นปัจจัยที่เหมาะสมชิ้นงานจะมีลักษณะทางกายภาพที่ความสมบูรณ์และมีความสวยงามมากที่สุด และจากแบบสอบถามเพื่อประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์กับสมาชิกในกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง จำนวน 50 คน พบว่ามีค่าความพึงพอใจเฉลี่ยรวมเท่ากับ 4.56 ซึ่งอยู่ในระดับดีมาก โดยเฉพาะความพึงพอใจต่อรูปร่างของผลิตภัณฑ์และผลิตภัณฑ์มีความคงทนใช้งานได้นาน จากข้อมูลดังกล่าวสามารถเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ได้จริง และได้นำไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีกับชุมชนเป้าหมายต่อไป

ABSTRACT

This research aimed to study of optimal factor in anodizing of OTOP products as the tamarind metal souvenir keychains in Satri-Kawna group, Lomsak district, Phetchabun province for value added products and to evaluate the satisfaction survey of new products. The result indicated that the factors of voltage 12 Volt and time 20 min were the optimal factors in anodizing of tamarind metal souvenir keychains. These factors provided the most attractive appearances of physical characteristics of the tamarind metal souvenir keychains. From questionnaires to assess the satisfaction of the new products by Satri-Kawna group (50 person), It was found that the evaluation of overall satisfaction at level 4.56, which was very good, especially for the shape and durability of the new products. The results showed that products could be value added and leading to workshops of technology transfer to the next target communities.

Key word: anodizing, tamarind metal souvenir keychains, value added OTOP products

*Corresponding author; e-mail address: **mapheangvan@gmail.com**

[1]สาขาวิชาวิศวกรรมการผลิตและการจัดการ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ เพชรบูรณ์ 67000

[1]Department of Production Engineering and management, Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun 67000

คำนำ

จากยุทธศาสตร์การพัฒนาจังหวัดเพชรบูรณ์ พ.ศ. 2558-2561 ได้มุ่งเน้นส่งเสริมและยกระดับผลิตภัณฑ์สินค้าหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (OTOP) ให้มีมูลค่าเพิ่ม ด้วยการเร่งให้ความรู้และสนับสนุนการผลิต ปรับปรุงรูปแบบผลิตภัณฑ์ สร้างตราสินค้าและบรรจุภัณฑ์ ตลอดจนประชาสัมพันธ์และเพิ่มช่องทางการตลาด โดยสินค้าในปัจจุบัน ได้แก่ การทำพวงกุญแจนักษัตรของกลุ่มส่งเสริมอาชีพบ้านไร่ การทำกระติบข้าวของกลุ่มจักสารบ้านไทรหย่อน การทำไม้กวาดดอกหญ้าของกลุ่มไม้กวาดหมู่ 6 การทำเครื่องนอนผ้าห่มของกลุ่มอาชีพเสริมการตัดเย็บเสื้อผ้าบ้านโป่งค่าง และการทำพวงกุญแจผ้ารูปฝักมะขามของกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง เป็นต้น จากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นผู้ผลิตสินค้า OTOP ต้องการความรู้และสนับสนุนการผลิตเพื่อให้สินค้ามีจุดเด่นแตกต่างจากคู่แข่ง มียอดจำหน่ายเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง บ้านหนองบัว หมู่ 2 ตำบลสักหลง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ ผู้ผลิตสินค้า OTOP ที่เกี่ยวกับของที่ระลึกรูปทรงมะขามซึ่งเป็นสัญลักษณ์ของจังหวัดเพชรบูรณ์ จากการศึกษาข้อมูลพบว่าได้มีการปรับปรุงรูปแบบผลิตภัณฑ์และพัฒนากระบวนการผลิตพวงกุญแจโลหะรูปฝักมะขามโดยการใช้แม่พิมพ์ปั๊มโลหะ และได้มีการพัฒนาต่อยอดเพื่อเพิ่มมูลค่าโดยการทำเป็นต้นไม้มะขามมงคล (ธรรม์ณชาติ, 2558) และจากข้อมูลประธานกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง นางสมสวย วงษา ต้องการต่อยอดสินค้าเพิ่มขึ้นเพื่อจำหน่ายในตลาดเฉพาะกลุ่ม (Niche market) หนทางสู่ความสำเร็จของธุรกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (ฉัตรชัย, 2554) เช่น ของมงคลที่ระลึกสำหรับผู้ใหญ่ ของที่ระลึกในพิธีมงคล หรือของชำร่วยในงานต่างๆ โดยประธานกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลงได้เสนอแนวคิด เช่น การทำต้นมะขามเงินและต้นมะขามทองในโหลแก้ว การทำมะขามทอง การทำของชำร่วยเป็นสีชมพูในช่วงเทศกาล เป็นต้น ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้นำแนวคิดนี้มาพัฒนาผลิตภัณฑ์สินค้า OTOP ของกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ให้มีจุดเด่นเป็นที่ครองใจของกลุ่มผู้ซื้อเพิ่มมูลค่าราคาขายให้กับสินค้า และสร้างเอกลักษณ์ให้ยอมรับจดจำ โดยยังคงเอกลักษณ์ทางพื้นที่มาประยุกต์ใช้ในการออกแบบเป็นผลิตภัณฑ์ของที่ระลึก (ปานฉัตท์, 2557) โดยนำผลิตภัณฑ์พวงกุญแจรูปฝักมะขามมาชุบเคลือบผิวและย้อมสีด้วยการทำอโนไดซ์ ทำการทดลองหาปัจจัยที่เหมาะสมในการชุบเคลือบผิว ได้แก่ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าและเวลาในการชุบที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสวยงาม และหลังจากนั้นทำการประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์กับกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง เพื่อเพิ่มมูลค่าและสร้างจุดเด่นให้กับสินค้า OTOP และนำความรู้ทางด้านวิชาการไปจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีกับกลุ่มเป้าหมายต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ส่วนประกอบของชุดทดลอง

ในการออกแบบเคลือบผิวแบบชุดอโนไดซ์จะดำเนินการออกแบบเพื่อสามารถให้เคลื่อนย้ายได้สะดวกเพื่อนำไปใช้งานกับกลุ่มผู้ผลิตสินค้า OTOP ชุดทดลองมีความปลอดภัย และในการทดลองต้องมีอุปกรณ์ป้องกันภัยส่วนบุคคลที่ครบถ้วน โดยส่วนประกอบของชุดทดลอง มีดังนี้

1) ปากคีบสายไฟ ทำหน้าที่เอาไว้คีบลวดอลูมิเนียมที่มัดติดกับชิ้นงานที่จะนำไปแขวนกับแท่งอลูมิเนียมที่เป็นสะพานไฟฟ้าให้แน่น เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้ากระแสไฟฟ้าจะวิ่งเข้าหาชิ้นงานได้เต็มที่

2) ลวดอลูมิเนียม ทำหน้าที่เป็นสะพานไฟนำไฟฟ้าเข้าชิ้นงานและสำหรับนำไปแขวนบนแท่งอลูมิเนียมในบ่ออโนไดซ์

3) แท่งอลูมิเนียม มีหน้าที่เป็นคานสำหรับแขวนชิ้นงานและเป็นสะพานไฟฟ้านำไฟฟ้าไปยังชิ้นงานที่ถูกแขวนลอยอยู่ในบ่ออโนไดซ์

4) แผ่นตะกั่วบริสุทธิ์ มีหน้าที่เป็นขั้วไฟฟ้าตรงข้าม (Counter electrode)

5) ภาชนะพลาสติก มีหน้าที่เอาไว้เป็นบ่อสารเคมีต่างๆ ในการทำอโนไดซ์

6) เทอร์โมมิเตอร์ มีหน้าที่สำหรับวัดอุณหภูมิในบ่อขณะทำการอโนไดซ์ และเป็นตัวกำหนดในการควบคุมอุณหภูมิในบ่อให้มีค่าไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส เพราะจะทำให้เกิดรอยไหม้และหมอง

7) กรดซัลฟิวริก มีหน้าที่เป็นสารละลายอิเล็กโตรไลด์

8) โซดาไฟ มีหน้าที่ขจัดคราบสิ่งสกปรกที่อยู่บนชิ้นงาน

9) กรดไนตริค มีหน้าที่ล้างคราบดำที่เกิดจากโซดาไฟ

10) หม้อแปลงไฟฟ้า มีหน้าที่จ่ายกระไฟฟ้าไปยังชิ้นงานและแผ่นตะกั่วบริสุทธิ์ สามารถปรับค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าได้ และมีปริมาณกระแสไฟฟ้า 30 แอมแปร์

11) สี มีหน้าที่เอาไว้ชุบชิ้นงานและเข้าไปแทรกอยู่ในผิวอลูมิเนียมเมื่อรูพื้นผิวถูกเปิดออกหลังจากกระบวนการทางไฟฟ้า สีที่ชุบนี้จะช่วยเพิ่มความสวยงามให้กับชิ้นงาน

12) เตาให้ความร้อน มีหน้าที่ต้มน้ำให้มีอุณหภูมิประมาณ 90-95 องศา เพื่อปิดรูพื้นผิวที่เกิดจากการอโนไดซ์

การศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการชุบเคลือบผิวอลูมิเนียมพวงกุญแจรูปฝักมะขาม

ในการทดลองเพื่อศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการชุบเคลือบผิวอลูมิเนียมพวงกุญแจรูปฝักมะขามด้วยการทำอโนไดซ์ สำหรับผลิตภัณฑ์ OTOP กลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ตำบลสักหลงอำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยการออกแบบการทดลองเป็นแบบประเมินความสมบูรณ์ทางกายภาพของชิ้นงานที่ชุบเคลือบผิว ปัจจัยที่ทำการศึกษามี 2 ปัจจัย ได้แก่ ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า (โวลต์) และระยะเวลา (นาที) ในแต่ละปัจจัยการทดลองจะมี 3 ระดับ ได้แก่ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าประกอบด้วย 10, 12 และ14 โวลต์ ระยะเวลาการชุบประกอบด้วย 20, 30 และ 40 นาที ทำการศึกษาตัวแปลที่ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพการเคลือบผิวมีความสมบูรณ์ทั้งชิ้นงานและมีความสวยงาม ประเมินโดยผู้เชียวชาญด้านการเคลือบผิวชิ้นงานและผู้เชียวชาญด้านงานออกแบบผลิตภัณฑ์ จำนวน 5 ท่าน มีตัวแปรควบคุม คือ อุณหภูมิในสารละลายต้องมีค่าไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส สารเคมีปริมาณที่เท่ากัน วัตถุดิบอลูมิเนียมเกรด 1100 อัตราส่วนผสมในบ่อโซดาไฟประกอบด้วยโซดาไฟ 50 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร อัตราส่วนผสมในบ่อกรดไนตริคประกอบด้วยกรดไนตริค 200 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร อัตราส่วนผสมในบ่อซัลฟลูลิคประกอบด้วยซัลฟลูลิค 100 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร อุปกรณ์ตวงสารและอุปกรณ์ช่างน้ำหนักชนิดเดียวกัน โดยขั้นตอนการทดลอง มีดังนี้

1) นำชิ้นงานไปมัดกับลวดอลูมิเนียมให้แน่นแล้วนำไปล้างคราบไขมันออกโดยใช้น้ำยาล้างจานหรือผงซักฟอกแล้วจึงนำไปล้างน้ำให้สะอาด โดยเมื่อล้างเสร็จแล้วห้ามนำมือไปจับชิ้นงานเด็ดขาด

2) นำชิ้นงานไปแช่ในบ่อโซดาไฟเพื่อล้างสิ่งสกปรกที่ติดกันชิ้นงานออกโดยแช่ประมาณ 1 นาที แล้วนำไปล้างน้ำให้สะอาด (อัตราส่วนผสมโซดาไฟ 50 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร)

3) หลังจากนั้นนำชิ้นงานไปแช่ในกรดไนตริคเพื่อล้างคราบดำของโซดาไฟออก แช่ประมาณ 1 นาที แล้วนำไปล้างน้ำให้สะอาด (อัตราส่วนผสมกรดไนตริค 200 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร)

4) เสร็จแล้วนำชิ้นงานไปแช่ในบ่อซัลฟลูลิคโดยต้องตรวจสอบปากคีบสายไฟให้คีบติดกับแท่งอลูมิเนียมให้แน่น (Figure 1 A) (อัตราส่วนผสมซัลฟลูลิค 100 ซีซีต่อน้ำ 1 ลิตร)

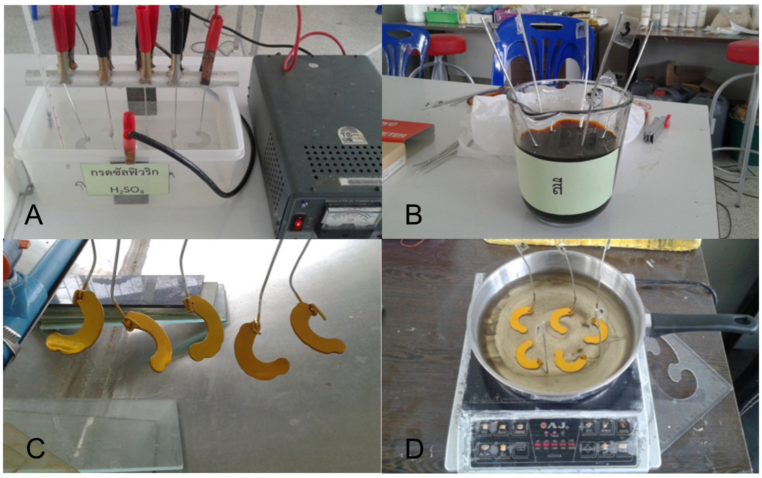


Figure 1 Anodize process.

5) จากนั้นให้ต่อขั้วบวกจากหม้อแปลงไฟฟ้าเข้ากับชิ้นงานและขั้วลบเข้ากับแผ่นตะกั่วบริสุทธิ์ แล้วทำการเปิดสวิตช์หม้อแปลงไฟฟ้า จะทำการทดลองในขั้นตอนนี้โดยตัวแปรที่ใช้ในการทดลองคือค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าและเวลาในการชุบ เสร็จแล้วนำชิ้นงานไปล้างน้ำให้สะอาดทิ้งไว้ให้แห้ง

6) แล้วนำชิ้นงานไปแช่สีที่เตรียมไว้ ประมาณ 10-15 นาที (Figure 1 B) สีที่ใช้สามารถใช้สีสำหรับเครื่องปริ้นเตอร์หรือสีที่ใช้เฉพาะการทำอโนไดซ์ก็ได้

7) เสร็จแล้วนำชิ้นงานไปล้างน้ำให้สะอาดทิ้งไว้ให้แห้ง (Figure 1 C)

8) ต้มน้ำให้มีอุณหภูมิประมาณ 90-95 องศา แล้วนำชิ้นงานที่แห้งมาแช่ประมาณ 5-10 นาที เพื่อปิดท่ออโนไดซ์ไม่ให้สีหลุดออกมาและสามารถใช้งานได้ยาวนานขึ้น (Figure 1 D)

การทดลองเพื่อประเมินความพึงพอใจผลิตภัณฑ์

ในด้านการประเมินความพึงพอใจด้วยแบบสอบถามในผลิตภัณฑ์ (Figure 2) ใช้เกณฑ์การให้คะแนนความคิดเห็นของแบบสอบถามเป็นแบบมาตรส่วนประมาณค่า (Rating scale) และนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ความคิดเห็นโดยมาตราวัดเจตคติแบบลิเคิร์ทสเกล (Likert scale) ส่วนการคัดเลือกประชากรในการตอบแบบสอบถามจะใช้แบบเฉพาะเจาะจง (Purposive selection) กับสมาชิกในกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ตำบลสักหลง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 50 คน

Figure 2 Products of tamarind metal souvenir keychains with anodizing.

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาหาปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการชุบเคลือบผิวอลูมิเนียมพวงกุญแจรูปฝักมะขาม

จากผลการทดลองปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการชุบเคลือบผิวอลูมิเนียมพวงกุญแจรูปฝักมะขามด้วยการทำอโนไดซ์ (Table 1) พบว่าการใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 12 โวลต์และระยะเวลาในการชุบเคลือบผิวที่ 20 นาที จะให้ผลความพึงพอใจด้านกายภาพจากผู้เชี่ยวชาญมากที่สุด จึงเหมาะสมกับการนำข้อมูลดังกล่าวไปใช้ในการชุบเคลือบผิวอลูมิเนียมพวงกุญแจรูปฝักมะขามด้วยการทำอโนไดซ์สำหรับผลิตภัณฑ์ OTOP กลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ตำบลสักหลง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์และนำข้อมูลการค้นพบดังกล่าวไปจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีกับชุมชนเป้าหมายต่อไป

Table 1 Result summary of evaluate the satisfaction survey in good surface finishes.

Electric potential (Volt)	Time (min)		
	20	30	40
10	✓	✕	✕
12	✓✓	✓	✕
14	✕	⊗	⊗

✓✓ Good and bright surface finishes.

✓ Good surface finishes.

✕ Dark color finishes.

⊗ burn surface area

ผลการทดลองเพื่อประเมินความพึงพอใจผลิตภัณฑ์

จากผลการทดลองเพื่อประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์โดยการตอบแบบประเมินความพึงพอใจกับกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ตำบลสักหลง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ ผลการทดลองพบว่าความพึงพอใจรวมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.56 (Table 2) ซึ่งอยู่ในระดับความพึงพอใจมากที่สุด ส่วนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.61 แสดงว่ามีความแตกต่างของข้อมูลอยู่ในระดับที่น่าพอใจ เมื่อแยกพิจารณารายข้อพบว่า ความพึงพอใจต่อรูปร่างของผลิตภัณฑ์ได้ระดับคะแนนความพึงพอใจเฉลี่ย 4.72 มีคะแนนความพึงพอใจสูงสุด และรองลงมาคือผลิตภัณฑ์มีความคงทนใช้งานได้นานสีที่เคลือบไม่หลุดหลอก, ผู้ตอบแบบสอบถามจะแนะนำผลิตภัณฑ์นี้กับผู้อื่น, ผู้ตอบแบบสอบถามอยากซื้อผลิตภัณฑ์นี้ และผลิตภัณฑ์นี้สื่อถึงผลิตภัณฑ์ OTOP กลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลงตามลำดับ ส่วนด้านข้อเสนอแนะอื่นๆ ได้แก่ สารเคมีมีความเหม็นมาก ขอสื่อวิธีการชุบเพื่อความง่ายต่อความเข้าใจมากขึ้น เป็นต้น และหลังจากนั้นได้ดำเนินการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีกับกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ตำบลสักหลง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ (Figure 3)

Table 2 The satisfaction survey of products in Satri Kawna Group, Lomsak District, Phetchabun Province.

Question	($\bar{x}$)	S.D	Satisfaction scale
1. Product design	4.72	0.72	Strongly agree
2. Indicative of OTOP products in Satri Kawna Group, Lomsak District, Phetchabun Province.	4.54	0.61	Strongly agree
3. Colorful and attractive	4.42	0.57	Agree
4. Durable	4.68	0.52	Strongly agree
5. Add value to your products	4.46	0.61	Agree
6. Modern and innovative	4.48	0.58	Agree
7. You want to buy this product	4.56	0.63	Strongly agree
8. Would you recommend this product to others.	4.62	0.68	Strongly agree
Overall satisfaction level	4.56	0.61	Strongly agree

Figure 3 The workshop of anodizing in Satri Kawna Group, Lomsak District, Phetchabun Province.

สรุปผลและเสนอแนะ

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 12 โวลต์และใช้เวลาในการชุบ 20 นาที ในการชุบอโนไดซ์ผลิตภัณฑ์ OTOP ของที่ระลึกพวงกุญแจรูปฝักมะขาม วัตถุดิบอลูมิเนียมเกรด 1100 จะมีลักษณะทางกายภาพของชิ้นงานที่ผ่านการชุบเคลือบสมบูรณ์และสวยงามมากที่สุด และจากแบบสอบถามเพื่อประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์จากการสุ่มกลุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจงกับกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลง ตำบลสักหลง อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 50 คน ผลการประเมินประสิทธิภาพพบว่ามีค่าความพึงพอใจเฉลี่ยรวม

เท่ากับ 4.56 ซึ่งอยู่ในระดับดีมากหรือมีความพึงพอใจอย่างยิ่ง และการดำเนินการจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีกับกลุ่มสตรีก้าวหน้าสักหลงสำเร็จลุล่วงด้วยดี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ฉัตรชัย อินทสังข์. 2554. ตลาดเฉพาะกลุ่มหนทางสู่ความสำเร็จของธุรกิจขนาดกลางและขนาดย่อม. **วารสารปัญญาภิวัฒน์** 2(2): 42-49.

ตยาภรณ์ ไทยตรง. 2556. **ชุดปฏิบัติการอโนไดน์**. สารนิพนธ์เทคโนโลยีบัณฑิต. เพชรบูรณ์: มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

ธรรม์ณชาติ วันแต่ง, หทัยนุช จันทร์ชัยภูมิ และสุวิมล เทียกทุม. 2558. การออกแบบและสร้างแม่พิมพ์ปั๊มโลหะเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตสินค้าของที่ระลึกพวงกุญแจโลหะรูปฝักมะขามกลุ่มสตรีก้าวหน้า อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์ และสำรวจความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์. **วารสารวิชาการคณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง** 8(1): 24-33.

ปริญญา ศรีสัตยกุล. 2553. **เครื่องเคลือบสีอลูมิเนียมด้วยวิธีการทำอโนไดซ์**. ปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนยีราชมงคลกรุงเทพ.

ปานฉัตท์ อินทร์คง. 2557. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ระลึกชนเผ่าภาคเหนือเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงเศรษฐกิจสร้างสรรค์: กรณีศึกษาชนเผ่าเย้า. **วารสารศิลปกรรมศาสตร์วิชาการวิจัยและงานสร้างสรรค์** 1(2): 21-41.

เยาวภา เลาหทวีโชค. 2544. **การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการชุบอลูมิเนียม**. วิทยานิพนธ์วิชาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

สมร หิรัญประดิษฐกุล. 2537. **การเตรียมและการศึกษาคุณสมบัติผิวเคลือบอโนไดซ์แบบแข็งบนผิว**. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สิทธิพร อารักษ์วรกุล. 2553. **การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการบวนการอโนไดซ์พิสตันวาล์วด้วยวิธีการออกแบบและวิเคราะห์การทดลอง**. ปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

กรณีศึกษาในการนำโปรแกรมแบบจำลองสารสนเทศทางอาคารมาใช้ในการประมาณราคาส่วนงานระบบไฟฟ้าและสื่อสาร

A Case Study of the Building Information Modeling Application (BIM) in Electrical System Estimation

เกียรติศักดิ์ ทองอ่อน[1*] และ เชาว์ ชมภูอินไหว[1]

Kiattisak Tongon[1*] and Chow Chompoo-inwai[1]

บทคัดย่อ

บทความนี้เป็นการนำเทคโนโลยีแบบจำลองสารสนเทศทางอาคาร (BIM) มาใช้ในการจัดทำแบบก่อสร้างงานระบบไฟฟ้าประกอบอาคารกรณีศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการประมาณราคางานระบบไฟฟ้าและสื่อสารและเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจสอบแบบโดยใช้แบบจำลอง 3 มิติเป็นตัวช่วย ซึ่งพบว่าปริมาณท่อ Electrical Metallic tubing (EMT) ขนาด 16 มม.และ 21 มม. ของระบบไฟฟ้าและสื่อสาร มีปริมาณน้อยกว่าการใช้กำลังคนถอดปริมาณแบบดั้งเดิมเป็นผลให้ราคางานท่อลดลงเป็นเงิน 662,854.46 บาทหรือ 14% โดยสรุปการนำ BIM มาใช้เหมาะสมในการประยุกต์ใช้สำหรับแบบ Design drawing ระบบไฟฟ้าและสื่อสาร โดยจะช่วยให้ลดปัญหาที่เกิดจากการถอดปริมาณด้วยคนได้แก่ การเผื่อปริมาณที่มากเกินไปในการถอดความยาวท่อ และตำแหน่งอุปกรณ์ที่ใช้ถอดปริมาณเป็นตำแหน่งโดยสังเขปยังไม่ใช่ตำแหน่งติดตั้งจริง ดังนั้น BIM จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการประมาณราคาให้ถูกต้องและแม่นยำขึ้นด้วย

ABSTRACT

This article describes a concept of Building Information Modeling (BIM) as a tool supporting information for electrical estimating to increase efficiency in cost estimation and reading construction drawing. The results showed that the number of conduits size 16 mm. and 21 mm. in taking off quantity by BIM method less than taking off quantity by traditional method. Therefore, this study aims to expand the concept of BIM used in design drawing to reduce error of human in estimating the electrical cost and gaining the correctness and accuracy in electrical system estimation.

Key Words : Construction, BIM, Electrical engineering, Estimation

*Corresponding author; e-mail address: ple_102256@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520

[1]Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology LadKrabang, Bangkok 10520

บทนำ

ปัจจุบันเทคโนโลยีสารสนเทศได้เข้ามามีบทบาทมากขึ้น ทั้งในแง่เทคโนโลยี ขั้นตอนการออกแบบ ก่อสร้างและกระบวนการทางธุรกิจอันได้แก่ Building Information Modeling (BIM) แปลเป็นไทยว่า แบบจำลองสารสนเทศทางอาคาร สามารถใส่รายละเอียดในวัตถุที่กำลังเขียนแบบขึ้นได้หลายอย่างและยังสามารถสร้างวัตถุขึ้นมาใหม่พร้อมเก็บไว้ใช้ครั้งต่อไปได้อีกด้วย (ทรงพล ยมนาค, 2553) BIM เป็นเครื่องมือบริหารจัดการสถานที่ตลอดวัฎจักรชีวิตอาคารตั้งแต่ระยะก่อนการก่อสร้าง กำลังก่อสร้างและหลังก่อสร้างเสร็จ (Haiyan Xie *et al*, 2011) การนำ BIM มาช่วยในการออกแบบฐานรากและโครงสร้างอาคารซักรีด ของโรงพยาบาลหลักชื่อ Funchal ประเทศโปรตุเกสมีข้อดีหลายข้ออาทิเช่น สามารถใส่รายละเอียดในวัตถุที่กำลังเขียนแบบขึ้นได้หลายอย่างและยังสามารถสร้างวัตถุขึ้นมาใหม่พร้อมเก็บไว้ใช้ครั้งต่อไปได้อีกด้วย ในขั้นตอนการออกแบบเรายังนำ BIM มาช่วยลดปัญหาการชนกันของท่องานระบบ MEP ทั้งในส่วนระยะติดตั้งและระดับติดตั้ง ซึ่งข้อดีที่ได้จากการผสานแบบแนวท่อ จะได้พื้นที่ใช้งานด้านล่างท่อถึงพื้นสำเร็จเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการแก้ไขงานหากท่อเกิดชนกันในขณะกำลังก่อสร้างด้วย (Jun Wang *et al*, 2016) อีกกรณีการใช้ BIM แก้ปัญหาการชนกันของแนวท่อ MEP เป็นโครงการก่อสร้างบริษัทผลิตยาในประเทศอเมริกา ใช้การประสานงาน 2 รูปแบบคือ 1.แบบทีละขั้นตอนแก้ปัญหาแบบทีละขั้นและ 2.แบบซ้อนทับแนวท่องานระบบ MEP ไปทุกระบบในคราวเดียวกันซึ่งพบว่าแบบที่2จะช่วยแก้ปัญหาการชนกันได้เร็วกว่าแบบที่1ถึง 3.6 เท่า (Ghang Lee and Jonghoon“Walter”Kim, 2014) ประโยชน์ของ BIM หากมุ่งเป้าไปในด้านการประมาณราคาจะมีหลายงานวิจัยที่ได้ศึกษาการใช้ BIM มาประมาณราคาในงานก่อสร้างส่วนขั้นตอนการออกแบบอาคาร การใช้ฐานข้อมูลของ BIM มาใช้ในกระบวนการถอดปริมาณเพื่อจัดทำเป็น Bill Of Quantity (BOQ) สำหรับงานโครงสร้างเพื่อช่วยให้ความถูกต้องของข้อมูลและวิธีการคำนวณราคาดีเพิ่มมากขึ้นโดยใช้โปรแกรม Autodesk Revit สร้างโมเดลและ InsightBIM-QTO ใช้ประมาณราคา Jungsik Choi *et al*, 2015) หรือการใช้หลัก ontology มาใช้ในการประมาณราคาสำหรับงานปูกระเบื้องทำให้ได้ราคาที่ถูกต้องและลดความผิดพลาดต่างๆที่เกิดจากมนุษย์เป็นคนประมาณราคา (Seul-Ki Lee *et al*, 2014) การใช้ BIM มาช่วยงานด้านประมาณราคางานโครงสร้างและสถาปัตยกรรมมีงานวิจัยที่ศึกษาบ้างแล้วแต่สำหรับการประมาณราคางานระบบ MEP ยังมีการศึกษาไม่มากนัก งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการนำ BIM มาเป็นเครื่องมือช่วยประมาณราคางานระบบไฟฟ้าและสื่อสารแล้วเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับการประมาณราคาโดยใช้คนทำแบบดั้งเดิม การใช้ฐานข้อมูลของ BIM มาใช้ในกระบวนการถอดปริมาณเพื่อจัดทำเป็น BOQ สำหรับงานโครงสร้างเพื่อช่วยให้ข้อมูลและวิธีการคำนวณราคา มีความถูกต้องแม่นยำเพิ่มมากขึ้นโดยผู้ศึกษาได้เลือกโปรแกรม Autodesk Revit version 2015 เป็นเครื่องมือช่วยในการสร้างแบบจำลองเพื่อประมาณราคางานระบบไฟฟ้าของโครงการ กรณีศึกษา

หลักการและทฤษฎีที่ใช้ในงานวิจัย

2.1. Building Information Modeling (BIM)

BIM คือการสร้างแบบจำลองอิเล็กทรอนิกส์เพื่อบริหารจัดการสารสนเทศอาคารซึ่งมีจุดประสงค์ช่วยให้มองเห็นภาพ การวิเคราะห์ทางวิศวกรรม การสร้างฐานข้อมูลและอื่นๆ แบ่งขอบเขตของ บิม(BIM) เป็น 3 ประเภทคือ

1.BIM เป็นผลผลิตที่ทันสมัย ซึ่งบรรจุไปด้วยข้อมูลสารสนเทศเกี่ยวกับอาคาร

2.BIM เป็นกระบวนการทำงานร่วมกัน (Collaborative Process) ครอบคลุมกระบวนการทางธุรกิจการก่อสร้าง วิศวกรรม เทคโนโลยีทางสถาปัตยกรรมและการบริหารดังแสดงตามรูปที่ 1

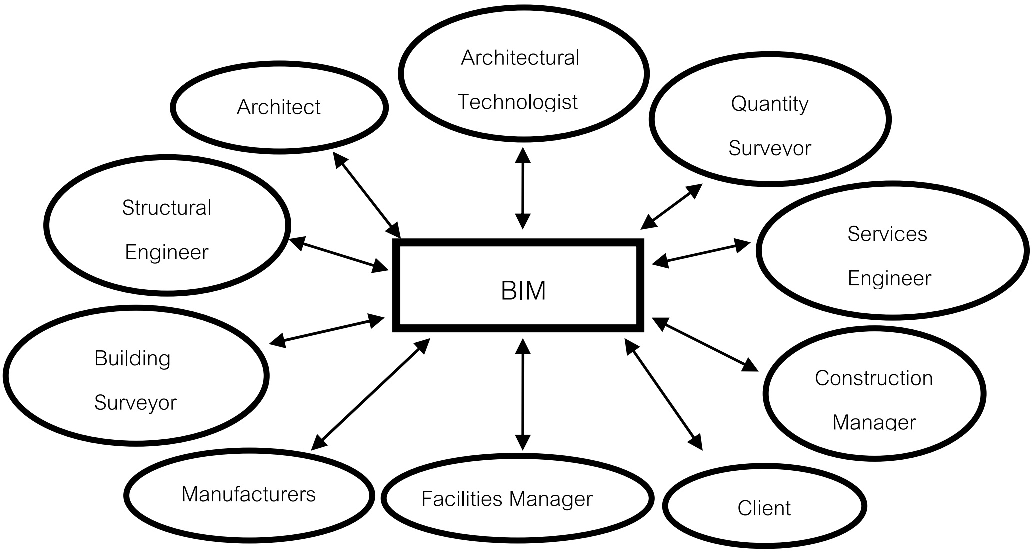


Figure 1 Collaborative Process

3.BIM เป็นเครื่องมือบริหารตลอดวัฏจักรชีวิตอาคาร (Facility Lifecycle Management Tool)

2.1.1 โปรแกรมต่าง ๆที่เกี่ยวข้องกับ BIM

ArchiCAD ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาบนพื้นฐานของเทคโนโลยี BIM โดยสามารถสร้างอาคาร 3 มิติในหลากหลายรูปแบบได้โดยง่ายและครบถ้วนทุกองค์ประกอบในอาคาร สามารถสร้างแบบให้โดยอัตโนมัติทั้งแปลน รูปด้าน รูปตัดและทุกด้านที่ต้องการ

Autodesk Revit เป็นโปรแกรมออกแบบของ Autodesk ที่เป็นโปรแกรมช่วยออกแบบงานด้านสถาปัตยกรรมและงานระบบประกอบอาคารโดยเฉพาะ สามารถสร้างแบบจำลองอาคารพร้อมกับใส่รายละเอียดวัสดุได้อีกด้วย ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกโปรแกรม Autodesk Revit ใช้สำหรับสร้างแบบจำลองข้อมูลอาคาร 3 มิติ โดยส่วนติดต่อผู้ใช้งานโปรแกรมแสดงได้ดังรูปที่ 2

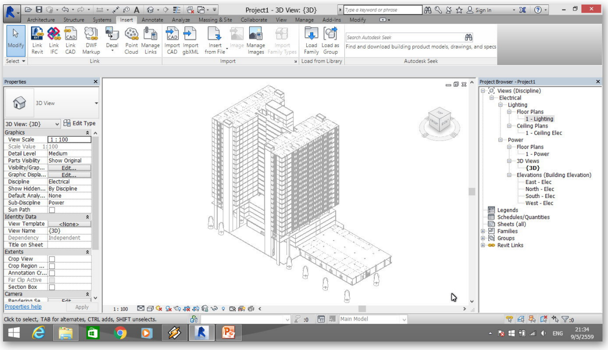


Figure 2 Autodesk Revit MEP.2015

2.2. การติดตั้งระบบไฟฟ้าและสื่อสาร

ระบบไฟฟ้าเป็นระบบสาธารณูปโภคที่มีความสำคัญ โดยส่งจ่ายกระแสไฟฟ้าจากแหล่งกำเนิดไปยังผู้ใช้ไฟฟ้า ตามประเภทการใช้งาน โดยระบบไฟฟ้าอาจแยกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆคือ

1.ระบบไฟฟ้ากำลัง ได้แก่ ระบบการจ่ายกำลังไฟฟ้า ระบบไฟฟ้าแสงสว่าง

2.ระบบไฟฟ้าสื่อสาร ได้แก่ ระบบโทรศัพท์ ระบบสัญญาณแจ้งเหตุเพลิงไหม้ ส่วนการติดตั้งตามแบบที่ถูกต้องและครบถ้วนนั้นต้องทำตามมาตรฐานการติดตั้งทางไฟฟ้าสำหรับประเทศไทย (ประสิทธิ์ พิทยพัฒน์, 2558)

วิธีการศึกษา

ในการใช้ BIM สร้างแบบจำลอง3มิติเพื่อประมาณราคาจะแสดงตามแผนผัง (Flow chart) ดังรูปที่ 3

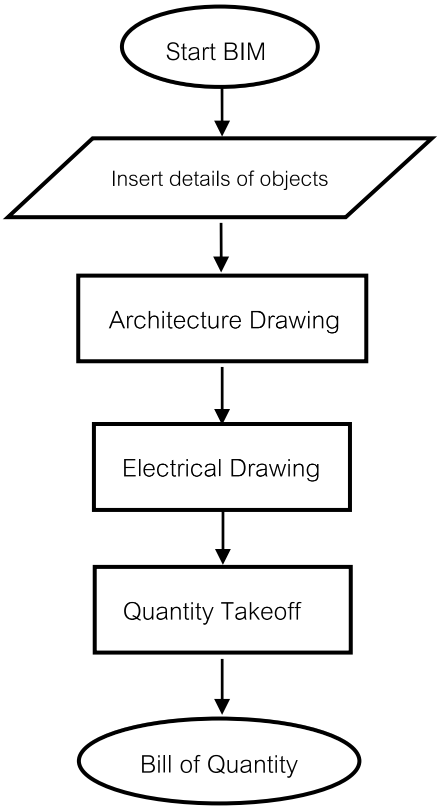


Figure 3 Flow chart of BIM in research

การสร้างแบบจำลองจะแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ 1.การสร้างแบบจำลอง 3 มิติส่วนโครงสร้างและสถาปัตยกรรม 2. การสร้างแบบจำลอง 3 มิติส่วนระบบไฟฟ้า โดยมีขั้นตอนในแต่ละส่วนดังนี้

3.1.การสร้างแบบจำลอง 3 มิติส่วนโครงสร้างและสถาปัตยกรรม

เริ่มต้นจากการศึกษารายละเอียดของแบบก่อสร้างจริง(As-built Drawing) โครงสร้างและสถาปัตยกรรม พบว่าเป็นอาคารคอนกรีตเสริมเหล็กมีจำนวน 22 ชั้นในแต่ละชั้นมีห้องทั้งหมด 30 ห้อง ประกอบด้วยแบบห้อง 5 รูปแบบ หลังจากศึกษาแบบและข้อกำหนดวัสดุต่างๆแล้วจึงเริ่มเขียนกำหนดขอบเขตโครงการด้วยเส้น Gridline และทำการกำหนด Level ให้ครบตั้งแต่ชั้นที่ 1ถึงชั้นดาดฟ้าดังรูปที่ 4,5. แล้วจึงทำการกำหนดค่าพารามิเตอร์วัสดุพื้น เสา ผนังก่ออิฐ ผนังคอนกรีต ผนังห้องน้ำ ฝ้าเพดาน

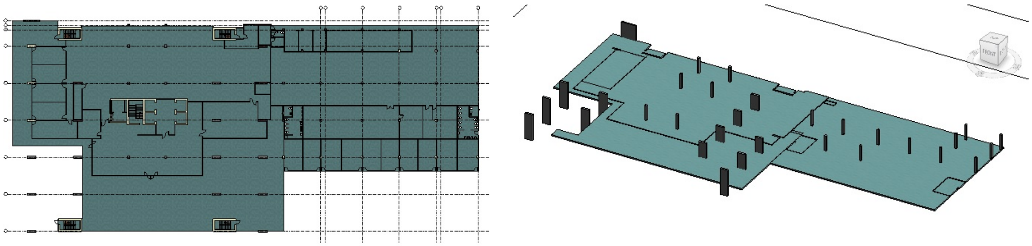


Figure 4.5 Architecture drawing 1st Floor Plan and 3D view

การเขียนแบบควรเขียนในมุมมอง 2 มิติสาเหตุเพื่อให้ง่ายในการเขียนแบบแทนที่จะเขียนในมุมมอง 3 มิติ เมื่อเขียนแบบห้องพักชนิด 1A, 2A, 1BR, 1BR/1, S2 ครบทั้งหมดต้องกำหนดระดับความสูงของแต่ละพื้นที่ให้ถูกต้องด้วย หลังจากเขียนแบบเสร็จทุกขั้นตอนจนเสร็จทั้งโครงการแล้วแสดงได้ดังรูปที่ 6

Figure 6 3D view show as 1st floor to roof floor

3.2.การสร้างแบบจำลอง 3 มิติส่วนระบบไฟฟ้า

ขั้นตอนแรกต้องทำการกำหนดค่าพารามิเตอร์ของวัตถุทั้งหมดก่อนเมื่อกำหนดค่าเสร็จแล้วก็เริ่มเขียนแบบระบบไฟฟ้าแสงสว่างโดยขั้นตอนแรก ต้องวางตำแหน่งโคมไฟและสวิตซ์แต่ละชนิดให้ถูกต้องตามแบบแล้วจึงมาทำการเขียนแบบแนวเดินท่อ หลังจากนั้นจึงเขียนแบบระบบอื่นๆทั้งหมดจนเสร็จทั้งชั้นที่ 6 จนถึงชั้นที่ 22 ดังรูปที่ 7,8,9

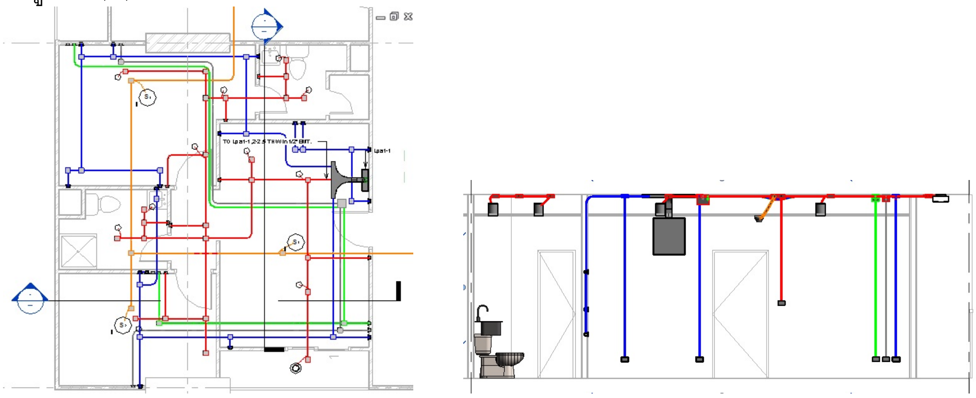
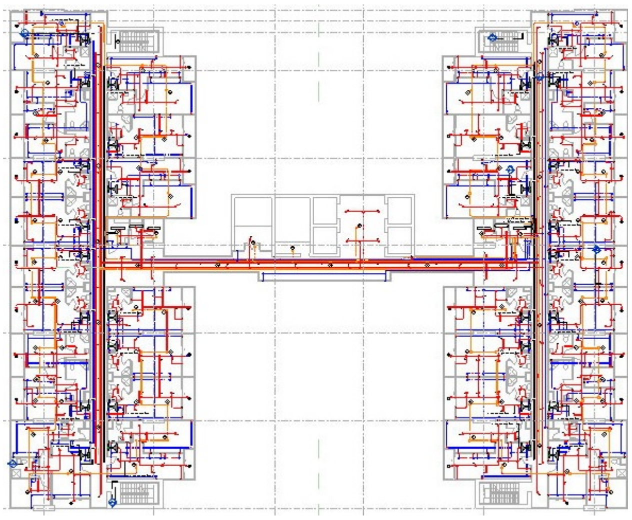
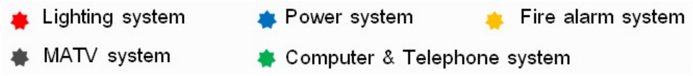


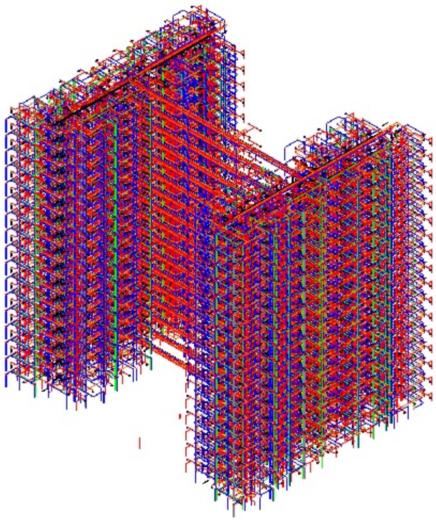
Figure 7 Electrical drawing show as room type 2A

รูปที่ 7 แสดงลักษณะการเขียนแบบระบบไฟฟ้าทุกระบบภายในห้องพักแบบ 2A และทำการเขียนแบบระบบไฟฟ้าเสร็จทั้งชั้นที่ 6





Figue 8 Electrical drawing show as 6th floor plan



Figue 9 3D view show as 6th-22th floor

3.3.การถอดปริมาณท่อเพื่อประมาณราคาด้วยโปรแกรม

สิ่งสำคัญในการประมาณราคางานท่อสายระบบไฟฟ้านั้นจำเป็นต้องมาจากการถอดปริมาณที่มีความแม่นยำ ดังนั้นการใช้โปรแกรม Autodesk Revit จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ได้และสามารถแสดงการถอดปริมาณท่อไฟฟ้าตามตารางที่ 1 และสามารถเปรียบเทียบช่วงเวลาที่ใช้ทำงานระหว่างใช้โปรแกรมเปรียบเทียบกับใช้คนถอดแบบเดิมตามตารางที่ 2

TABLE 1,2 Quantity take off conduits by software “Autodesk Revit” and period of process

<Conduit Schedule>

A	B	C
Description	Size	Length(m)
CCTV	16 mmø	717.73
Computer&Tele	16 mmø	5269.12
Computer&Tele	21 mmø	2761.78
FireAlarm	16 mmø	7119.98
FireAlarm	21 mmø	358.22
FireAlarm	27 mmø	1910.59
Lighting	16 mmø	17536.67
MATV	16 mmø	6075.62
MATV	21 mmø	255.00
MATV	27 mmø	30.94
Power	16 mmø	21865.12
Power	21 mmø	1769.66

Unit : MAN-HOUR

Item	Description	Software(Hour)	Human(Hour)	Diff.
1	Quantity Takeoff	130	103	27
2	BOQ	6	16	-10
	Total	136	119	17

ตามตารางที่ 1 พบว่าโปรแกรมสามารถถอดปริมาณท่อแยกตามขนาดและระบบตามที่กำหนดได้อย่างถูกต้อง โดยสามารถกำหนดให้แสดงความยาวเป็นช่วงๆหรือให้คำนวณความยาวรวมทั้งหมดก็ได้ หลังจากได้ปริมาณท่อแล้วจึงนำข้อมูลมาประมาณราคา การถอดปริมาณท่อจะยึดถือชนิดท่อในแบบได้กำหนดไว้ เมื่อได้ปริมาณท่อระบบต่างๆทั้งที่ใช้โปรแกรม Autodesk Revit และใช้กำลังคนถอดแบบดั้งเดิมแล้วจึงนำมาเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในด้านปริมาณและระยะเวลา

TABLE 3 Comparison of BOQ between software and human estimating

ITEM	DESCRIPTION	UNIT	Quantity take off		Different	%error	UNIT	(BATH)
			Human	Autodesk Revit				
			Quantity(A)	Quantity(B)	(A-B)	(A-B)	COST	
1	Lighting & Power System							
1.1	EMT Conduit							
	- Dia 16 mm. (1/2")	m	37,876.00	39,401.79	-1,525.79	-4.03	58.00	-88,495.82
	- Dia 21 mm. (3/4")	m	4,148.00	1,769.66	2,378.34	57.34	80.00	190,267.20
2	Fire alarm system							
2.1	EMT Conduit							
	- Dia 16 mm. (1/2")	m	8,330.00	7,120.00	1,210.00	14.53	58.00	70,180.00
	- Dia 21 mm. (3/4")	m	366.00	358.00	8.00	2.19	80.00	640.00
	- 27 มม.(Dia.1")	m	179.00	1,911.00	-1,732.00	-967.60	107.00	-185,324.00
3	MATV system							
3.1	EMT Conduit							
	- Dia 16 mm. (1/2")	m	5,525.00	6,076.00	-551.00	-9.97	58.00	-31,958.00
	- Dia 21 mm. (3/4")	m	3,315.00	255.00	3,060.00	92.31	80.00	244,800.00
	- Dia 27 mm. (1")	m	0.00	30.94	-30.94		107.00	-3,310.58
4	CCTV system							
4.1	EMT Conduit							
	- Dia 16 mm. (1/2")	m	3,825.00	717.73	3,107.27	81.24	58.00	180,221.66
5	Computer&Telephone system							
5.1	EMT Conduit							
	- Dia 16 mm. (1/2")	m	6,222.00	5,269.00	953.00	15.32	58.00	55,274.00
	- Dia 21 mm. (3/4")	m	5,644.00	2,762.00	2,882.00	51.06	80.00	230,560.00
6	Grand total (Cost reduce of conduits)							662,854.46

จากตารางที่ 3 จะพบว่ามูลค่างานท่อระบบแจ้งเหตุเพลิงไหม้ระบบเดียวที่การถอดปริมาณด้วยคนมีค่าน้อยกว่าการถอดด้วยโปรแกรมสาเหตุเนื่องมาจากคนถอดปริมาณท่อขนาด 27 มม. (1”) ไม่ครบซึ่งก็เป็นความผิดพลาดที่เกิดขึ้นได้เนื่องจากใช้คนถอด หากมีประสบการณ์น้อยอาจจะผิดพลาดได้ง่าย ส่วนระบบอื่นๆ มูลค่างานท่อไฟฟ้าที่ถอดด้วยซอฟต์แวร์ทั้งหมดมีมูลค่าเท่ากับ 4,017,262.54 บาท จะน้อยกว่าการใช้คนถอดที่มีมูลค่าเท่ากับ 4,680,117.00 บาท เป็นเงิน 662,854.46 บาทหรือลดลง 14%

สรุปผลการศึกษา

การสร้างแบบจำลอง 3 มิติตามเทคโนโลยี BIM โดยใช้โปรแกรม Autodesk Revit MEP เวอร์ชั่นปี 2015 มีความเหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้ทำแบบ Design drawing เพื่อใช้สำหรับประมาณราคาในการประมูลงานรับเหมาก่อสร้าง เนื่องจากสามารถใส่รายละเอียด ชนิด ตำแหน่งติดตั้งและราคาของวัตถุเพื่อถอดปริมาณทำ BOQ ได้เลย ส่วนในกรณีศึกษาเป็นการใช้โปรแกรม Autodesk Revit ทำตามแบบก่อสร้างจริงของอาคารกรณีศึกษาซึ่งสร้างเสร็จแล้วและนำมาเปรียบเทียบปริมาณกับข้อมูลการถอดปริมาณเพื่อประมูลราคารับเหมาก่อสร้างซึ่งใช้คนถอดแบบดั้งเดิม ซึ่งได้ผลสรุปการถอดปริมาณท่อไฟฟ้าจากแบบจำลองอาคาร 3 มิติที่สร้างโดยใช้โปรแกรม Autodesk Revit มีปริมาณน้อยกว่าการถอดปริมาณโดยใช้คนแบบดั้งเดิม เป็นผลให้ช่วยประหยัดงบประมาณในการก่อสร้างด้านงานท่อไฟฟ้าเท่ากับ 662,854.46 บาท หรือเท่ากับ 14% ส่วนระยะเวลาการถอดปริมาณด้วยโปรแกรมจะใช้เวลามากกว่าการถอดปริมาณด้วยคนแบบดั้งเดิมเท่ากับ 17 แรง-ชั่วโมง (MAN-HOUR) ในกรณีใช้คนเพียง 1 คนเท่ากันตามตารางที่ 2 ถึงแม้ว่าจะใช้เวลารวมทั้งหมดในการประมาณราคามากกว่าการใช้คนถอดแบบดั้งเดิมก็ตามแต่คุ้มค่าเมื่อพิจารณาในด้านประโยชน์ที่ได้รับคือ 1.ราคาท่อที่ลดลงเป็นผลให้ต้นทุนในการก่อสร้างลดลง 2.ใส่รายละเอียดให้กับวัตถุทุกชิ้นในแบบได้เลย 3.ตรวจพบบริเวณที่เกิดการซ้อนทับกันของแนวท่อและอุปกรณ์ 4.ได้แบบก่อสร้างจริงที่มีทั้งแปลนพื้นที่ รูปด้านต่างๆและแบบจำลอง 3 มิติ

เอกสารอ้างอิง

ทรงพล ยมนาค. 2553, Building Information Modeling สำหรับงานออกแบบ ก่อสร้าง. **บทความวิชาการในโครงการประชุมวิชาการระดับบัณฑิตศึกษาคณะสถาปัตยกรรมศาสตร์** , หน้า 14-26.

ประสิทธิ์ พิทยพัฒน์. 2558, **การออกแบบระบบไฟฟ้า**. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ห้างหุ้นส่วนจำกัด โชติอนันต์ ครีเอชั่น

Ghang Lee, Jonghoon"Walter"Kim, 2014, "Parallel vs. Sequential Cascading MEP Coordination Strategies: A Pharmaceutical Building Case Study," **Automation in Construction** 43 170 – 179.

Haiyan Xie, James Michael Tramel, Wei Shi,2011, Building Information Modeling and simulation for the mechanical, electrical, and plumbing systems, **Computer Science and Automation Engineering (CSAE)**, 77 – 80

Jun Wang, Xiangyu Wang, Jun Guo, Heap-Yin Chong, 2016, "Building information modeling-based integration of MEP layout designs and constructability," **Automation in Construction 61**, 134 – 146.

Jungsik Choi, Hansaem Kim, Inhan Kim, 2015, "Open BIM-based quantity take-off system for schematic estimation of building frame in early design stage," **Computational Design and Engineering 2**, 16 – 25.

Seul-Ki Lee, Ka-Ram Kim, Jung-Ho Yu, 2014, BIM and ontology-based approach for building cost estimation, **Automation in Construction 41**, 96 – 105

การกำจัดฮิวมิคด้วยกระบวนการโอโซเนชันที่มี TiO_2 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

Humic Removal by Catalytic Ozonation Using TiO_2

จิดาภา โสภาประดิษฐ์[1*] และ ภัชราภรณ์ สุวรรณวิทยา[1]

Jidapa Sopapradit[1*] and Patcharaporn Suwanvitaya[1]

บทคัดย่อ

ฮิวมิคเป็นสารอินทรีย์ที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ เป็นสารตั้งต้นของสารกลุ่ม Trihalomethane โอโซนเป็นสารออกซิแดนท์ที่มีประสิทธิภาพสูงโดยเฉพาะในสภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา การศึกษานี้เปรียบเทียบการกำจัดฮิวมิคในสภาวะที่ใช้โอโซนอย่างเดียว และใช้โอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา TiO_2 ที่เคลือบบนเม็ดลูกแก้ว โดยใช้น้ำสังเคราะห์ที่มีฮิวมิค 10 มก./ล. ทำการทดลองแบบ batch ด้วยโอโซน 213.99 มก./ล. จากการทดลองพบว่าการใช้โอโซนอย่างเดียวสามารถกำจัดฮิวมิค ซึ่งตรวจวัดในรูปของการดูดกลืนแสงค่า UV_{254} ค่า VIS_{400} และค่า fluorescent excitation-emission matrix (FEEM) ได้ 35.63 64.29 และ 31.20% ตามลำดับ ในขณะที่การใช้โอโซนร่วมกับTiO_2 มีประสิทธิภาพดีกว่า กำจัดฮิวมิคได้ 66.88 78.33 และ 56.62% ตามลำดับ ทั้งนี้คาร์บอนในสารอินทรีย์ (Dissolved organic carbon) ลดลงน้อยกว่าการลดของฮิวมิค แสดงว่าฮิวมิคถูกออกซิไดซ์อย่างไม่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามการใช้โอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา TiO_2 มีผลให้ค่า DOC ลดลงได้มากกว่าใช้โอโซนอย่างเดียว (54.29 และ 36.32% ตามลำดับ)

ABSTRACT

Humic substance, an organic matter found in natural water body, is a precursor of Trihalomethane. Ozone is an efficient oxidant especially in the presence of catalyst. This study was to compare the removal of humic by ozone and ozone with catalyst (TiO_2 coated on glass beads). Synthetic water sample was prepared to contain humic at 10 mg/l. The batch experiment was conducted with ozone supplied at 213.99 mg/l. It was found that using ozone only, humic determined by the absorbance of UV_{254} VIS_{400} and fluorescent excitation-emission matrix (FEEM), was reduced by 35.63 64.29 and 31.20%, respectively. Ozone with TiO_2 catalsyt yielded superior removal results, humic was reduced by 66.88 78.33 and 56.62%, respectively. Reduction in DOC (dissolved organic carbon) was less than that of humic under both conditions, indicating that humic was not completely oxidized. However, catalytic ozonation with TiO_2 resulted in higher DOC removal (54.29%) than ozonation only (36.32%).

Key Words: Humic removal, Ozone, Catalytic ozonation, Titanium dioxide

*Corresponding author; e-mail address: dew.jidapa1991@gmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

น้ำดิบสำหรับผลิตน้ำประปามักได้จากแหล่งน้ำผิวดินซึ่งมีสี ความขุ่น สารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ทั้งที่อยู่ในรูปละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ และอาจมีจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรค และไม่ก่อให้เกิดโรคปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำ ซึ่งสิ่งปนเปื้อนเหล่านี้จะส่งผลกระทบโดยตรงต่อคุณภาพน้ำดิบ โดยเฉพาะสารอินทรีย์ในกลุ่มของสารอินทรีย์ละลายน้ำ (dissolved organic matter, DOM) ที่มีองค์ประกอบของสารกลุ่มฮิวมิค (Humic substance) ร้อยละ 45-65 (Martin-Mousset *et al.*, 1997) เนื่องจากฮิวมิคเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีมวลโมเลกุลสูง และมีโครงสร้างที่ซับซ้อน ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของฮิวมิคเมื่อรวมตัวกับฮาโลเจน เช่น คลอรีนในกระบวนการฆ่าเชื้อ จะได้เป็นสารกลุ่มไตรฮาโลมีเทน (Trihalomethane, THMs) ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ การกำจัดฮิวมิคในน้ำจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง วิธีการที่นิยมใช้ทั่วไปคือวิธีการออกซิเดชัน (Chemical Oxidation) ซึ่งสารออกซิแดนท์ (Oxidizing agent) ได้แก่ คลอรีน คลอรีนไดออกไซด์ โอโซน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โพแทสเซียมเปอร์มังกาเนต และรังสีอุลตร้าไวโอเลต จะสามารถออกซิไดซ์สารประกอบที่คงทน และยากต่อการย่อยสลาย ในปัจจุบันโอโซนเป็นสารออกซิแดนท์อีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากโอโซนเป็นสารออกซิแดนท์ที่รุนแรง สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนให้กลายเป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนน้อยลง (Farvardin and Collins, 1989) มีผลให้สารอินทรีย์บางชนิดลดความเป็นพิษ หรือ มีผลเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้ (Bose and Reckhow, 2007) อย่างไรก็ตามกระบวนการออกซิเดชันด้วยโอโซนในบางกรณีอาจเกิดปฏิกิริยาที่ไม่สมบูรณ์ จึงมีการนำตัวเร่งปฏิกิริยาเข้ามาประยุกต์ใช้ร่วมกับโอโซนเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของโอโซน ซึ่งการใช้โอโซนร่วมกับ ZnO NiO และ CuO พบว่าได้ผลดีในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ที่คงทน และยากต่อการย่อยสลายโดยกระบวนการทางชีวภาพ (Hewess and Davinson, 1972; Andreozzi *et al.*, 1992; Mok and Nam, 2004) TiO_2 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอีกชนิดหนึ่งที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของโอโซน ในการออกซิไดซ์สารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ฮิวมิค และไม่ก่อพิษในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว (Gracia *et al.*, 1996)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการกำจัดฮิวมิคในน้ำระหว่างการใช้โอโซนและการใช้โอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา โดยเลือกใช้ TiO_2 เคลือบบน glass bead เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียสังเคราะห์จากสารสกัดจากฮิวมิค

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองการกำจัดฮิวมิคด้วยโอโซนในสภาวะที่มีและไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ทำในถังปฏิกิริยาแบบ batch ซึ่งมีองค์ประกอบดังแสดงใน Figure 1 ใช้เครื่องกำเนิดโอโซน (Ozone generator - FAC OZONIZER รุ่น FAC-250) ที่มีอัตราการผลิตโอโซนเท่ากับ 8.02 มิลลิกรัมต่อนาที โอโซนส่วนที่เหลือจากการละลายน้ำถูกดักจับด้วยสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2% เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโอโซนตามวิธี

Standard Method Number 2350E (APHA&AWWA) การทดลองการกำจัดฮิวมิคด้วยโอโซนและตัวเร่งปฏิกิริยามีขั้นตอนการศึกษาดังนี้

1. การเตรียมน้ำตัวอย่าง

เตรียมน้ำตัวอย่างจากสารสกัดจากฮิวมิค (Humo-F65 Humic Organic Fertilizer and Soil Conditioner) ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากฮิวมิคเป็นสารอินทรีย์ละลายน้ำ (dissolved organic matter, DOM) ชนิดหนึ่งที่มีรูปร่างไม่แน่นอน และโครงสร้างที่ซับซ้อนมาก การวิเคราะห์ปริมาณฮิวมิคจึงมักใช้ดัชนีในการอธิบายคุณลักษณะโดยใช้พารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ ultraviolet absorbance at wavelength-254nm (UV_{254}) absorbance at wavelength-400 nm (VIS_{400}) และ fluorescent excitation-emission matrix (FEEM) และติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนในสารอินทรีย์ส่วนที่ละลายน้ำ dissolved organic carbon (DOC) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนในสารอินทรีย์ (Total Organic Carbon Analyzer – TOC, Shimadzu) โดยน้ำตัวอย่างตั้งต้นมีค่า UV_{254} 0.160 cm^{-1} ค่า VIS_{400} 0.042 cm^{-1} ค่า DOC 2.45 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า pH 7.62

2. การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา

ในชุดการทดลองที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา เลือกใช้ TiO_2 เนื่องจาก TiO_2 มีราคาไม่แพง ไม่เป็นพิษ และสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของโอโซนในการออกซิไดซ์โมเลกุลของสารอินทรีย์ได้ดี โดยใช้ TiO_2 เคลือบบนตัวกลาง คือ เม็ดลูกแก้ว (glass bead) ตามวิธีการทดลองของ Gracia *et al.* (1996) โดยนำ glass bead ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร แช่ในกรด HF (เพื่อช่วยให้เคลือบติดได้ง่ายขึ้น) แล้วล้างทำความสะอาดด้วย acetone และ isopropanol ในเครื่อง sonicator ผึ่งให้แห้ง ก่อนนำไปแช่ในสารละลาย TiO_2 Degussa P-25 ความเข้มข้น 3% w/v เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (ขั้นตอนแช่สารละลาย TiO_2 และเผาทำซ้ำ 3 รอบ) หลังการเคลือบพบว่ามี TiO_2 เคลือบอยู่บน glass bead 6.02 %(w/w) ในการทดลองในชุดที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ใช้ glass bead 40 กรัมต่อลิตรของน้ำตัวอย่าง

3. การทดลองกำจัดฮิวมิค

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ การเติมโอโซนแบบไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา และการเติมโอโซนแบบมีตัวเร่งปฏิกิริยา ใช้น้ำตัวอย่างปริมาตร 1 ลิตร เติมโอโซนให้กับน้ำตัวอย่างเป็นเวลา 30 นาที คิดเป็นปริมาณโอโซนทั้งหมด 240.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บตัวอย่างทุกๆ 5 นาทีตลอดระยะเวลาการเติมโอโซนเพื่อนำไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ชี้บ่งการเปลี่ยนแปลงของฮิวมิคตามวิธีมาตรฐานของ APHA, AWWA และWEF (2005) รายละเอียดแสดงดัง Table1

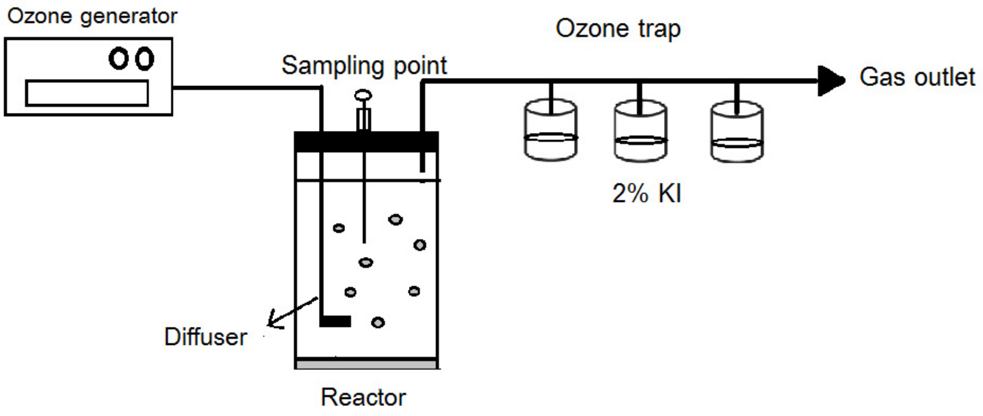


Figure 1 Schematic diagram of ozonation system

Table 1 Analytical methods for parameter representing humic substance

Parameter	Analytical	Standard method (APHA, AWWA and WEF)
UV_{254}	Ultraviolet absorption method	5910B
VIS_{400}	Ultraviolet absorption method	5910B
DOC	Combustion method	5310B
FEEM	Direct measurement	-

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

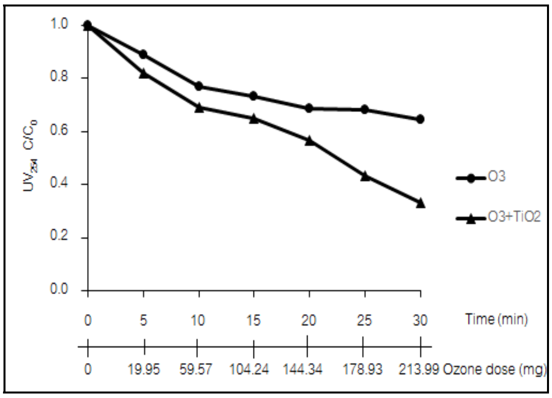
งานวิจัยนี้ทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการกำจัดฮิวมิคในน้ำระหว่างการใช้โอโซน และการใช้โอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา โดยฮิวมิคที่ใช้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเติมโอโซนให้กับน้ำตัวอย่างเป็นเวลา 30 นาที โดยมีปริมาณโอโซนในช่วง 213.99-240.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (กำลังผลิตแปรผันตามความชื้นในอากาศ ณ วันที่ทำการทดลอง) มีผลการทดลองดังนี้

การกำจัดฮิวมิคด้วยโอโซนและตัวเร่งปฏิกิริยา (TiO_2)

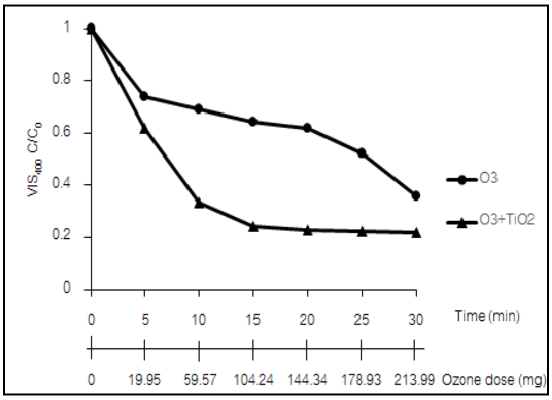
สารอินทรีย์หลายชนิดโดยเฉพาะสารกลุ่มที่มีโครงสร้างแบบวงแหวน aromatic สามารถดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสง UV_{254} จึงใช้เป็นพารามิเตอร์ชี้บ่งปริมาณของฮิวมิคซึ่งมีสาร aromatic เป็นองค์ประกอบ (Edzwald *et al*., 1985) จากผลการทดลองพบว่าการใช้โอโซนร่วมกับTiO_2 สามารถกำจัดฮิวมิค (ที่วัดในรูปของค่า UV_{254}) ได้ดีกว่าการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว (Figure 2a) โดยในสภาวะที่มีการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว ฮิวมิคลดได้ดีในช่วง 10 นาทีแรก จากนั้นลดลงได้อีกเพียงเล็กน้อย เมื่อเติมโอโซนเป็นเวลา 30 นาที เท่ากับปริมาณโอโซน 213.99 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณฮิวมิคในรูปของค่า UV_{254} ลดลงจาก

0.160 cm^{-1} เหลือ 0.103 cm^{-1} มีสัดส่วนฮิวมิคคงเหลือ 0.64 คิดเป็นประสิทธิภาพในการกำจัดฮิวมิค 35.63 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ในสภาวะที่มีการเติมโอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา สามารถกำจัดฮิวมิคได้ดีกว่า ฮิวมิคลดลงอย่างรวดเร็วกว่า และลดลงอย่างต่อเนื่อง ฮิวมิคในรูปของค่า UV_{254} ลดลงเหลือ 0.053 cm^{-1} มีสัดส่วนฮิวมิคคงเหลือเท่ากับ 0.33 คิดเป็นประสิทธิภาพในการกำจัดฮิวมิคเท่ากับ 66.88 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่า UV_{254} ที่ลดลงแสดงถึงการที่สารอินทรีย์ โดยเฉพาะกลุ่ม aromatic ถูกกำจัดหรือมีการเปลี่ยนรูปไป

เนื่องจากฮิวมิคเป็นองค์ประกอบที่มีสี จึงสามารถติดตามด้วยค่า VIS_{400} จากผลการทดลองพบว่าการเปลี่ยนแปลงของสีมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับค่า UV_{254} โดยลดลงตามเวลาที่เติมโอโซน และการใช้โอโซนร่วมกับ TiO_2 สามารถกำจัดฮิวมิคในรูปของค่า VIS_{400} ได้ดีกว่าการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว โดยในสภาวะที่มีการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว เมื่อเติมโอโซนเป็นเวลา 30 นาที เท่ากับปริมาณโอโซน 213.99 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณฮิวมิคในรูปของค่า VIS_{400} ลดลงจาก 0.042 cm^{-1} เหลือ 0.015 cm^{-1} สัดส่วนฮิวมิคคงเหลือ 0.36 คิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดเท่ากับ 64.29 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ในสภาวะที่มีการเติมโอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ปริมาณฮิวมิคในรูปของค่า VIS_{400} ลดลงจาก 0.042 cm^{-1} เหลือ 0.009 cm^{-1} สัดส่วนฮิวมิคคงเหลือ 0.22 คิดเป็นประสิทธิภาพในการกำจัดฮิวมิคเท่ากับ 78.33 เปอร์เซ็นต์ ดัง Figure 2b ผลการตรวจวัดค่า UV_{254} และค่า VIS_{400} เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ทั้งนี้จะเห็นว่าค่า VIS_{400} ให้ผลการกำจัดที่ดีกว่า เนื่องจากค่า VIS_{400} มีความเฉพาะเจาะจงกับสารที่มีสี ในขณะที่ค่า UV_{254} มีความเฉพาะเจาะจงน้อยกว่า สามารถตรวจวัดสารอินทรีย์ได้หลายกลุ่มกว่า ในการศึกษานี้จึงใช้เทคนิค FEEM เปรียบเทียบด้วย



(a)



(b)

Figure 2 Degradation of humic in terms of UV_{254} (a) and VIS_{400} (b) in ozonation and catalytic ozonation process.

การตรวจวัดฮิวมิค ด้วยเทคนิค Fluorescent Excitation Emission Matrix (FEEM)

จากการตรวจวัดน้ำตัวอย่างจากการทดลองในทั้ง 2 สภาวะด้วย FEEM สามารถตรวจพบว่ามีค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent peaks) ค่อนข้างสูงอยู่ในตำแหน่งเดียวกัน โดยตำแหน่งที่ตรวจพบอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 250 nm_{Ex}/410-430 nm_{Em} และเมื่อนำค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนต์ ณ ตำแหน่ง

ที่ตรวจพบมาเปรียบเทียบกับขอบเขตความยาวคลื่นตามผลการศึกษาของ Chen *et al.* (2003) พบว่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนต์ ณ ตำแหน่งดังกล่าวคือสารกลุ่มของ humic acid-like substances

Figure 3 แสดงผลการตรวจวัดน้ำตัวอย่างก่อนการบำบัด (a- ozonation only และ c- catalytic ozonation) และหลังการบำบัด (b- ozonation only และ d- catalytic ozonation) จะเห็นได้ว่าเมื่อเติมโอโซนให้กับตัวอย่างเป็นเวลา 30 นาที ขนาดของพีคและความเข้มแสงจะลดลงจากค่าตั้งต้น และพบว่าการใช้โอโซนร่วมกับTiO_2 ทำให้ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent peaks) ลดลงได้มากกว่าการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว คิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดเท่ากับ 56.62 และ 31.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลการวิเคราะห์ฮิวมิคด้วยเทคนิค FEEM มีความสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันกับผลการวิเคราะห์ค่า UV_{254} และค่า VIS_{400} ในข้างต้น อย่างไรก็ตามเทคนิค FEEM ที่ใช้ในงานนี้ไม่ใช่การวิเคราะห์ในเชิงปริมาณ

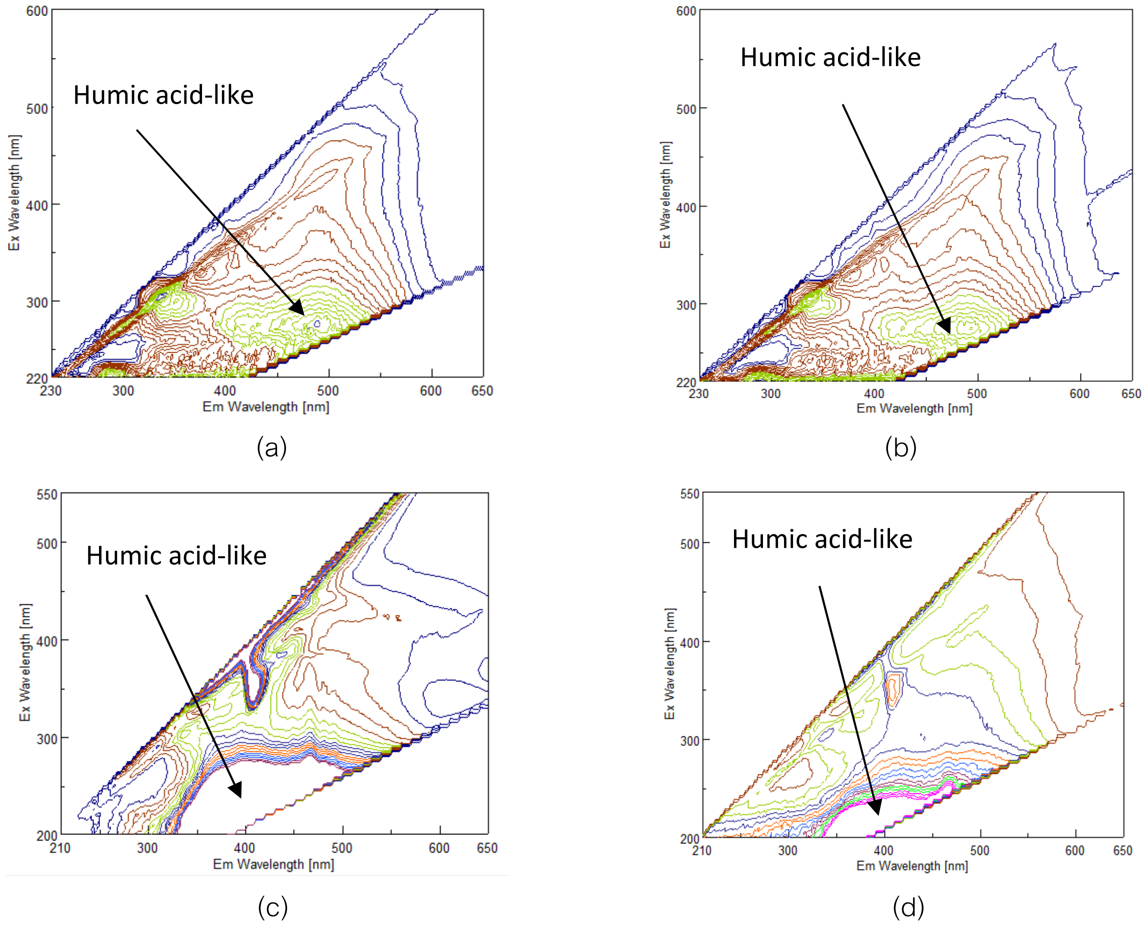


Figure 3 3D-EEM fluorescence spectrum obtained from ozonation process of humic (a) at 0 min ozonation, (b) at 30 min ozonation, (c) at 0 min catalytic ozonation and (d) at 30 min catalytic ozonation.

กำจัดฮิวมิคในรูปของ DOC ด้วยโอโซนและตัวเร่งปฏิกิริยา (TiO_2)

Dissolved Organic Carbon (DOC) เป็นการตรวจวัดปริมาณคาร์บอนในสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำ เป็นค่าที่บอกถึงปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมด โดยไม่เฉพาะเจาะจงกลุ่ม การลดลงของค่า DOC หมายถึงการที่สารอินทรีย์ถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์โดยคาร์บอนเปลี่ยนไปเป็นสารอนินทรีย์ ในการศึกษานี้นอกจากการ

ติดตามฮิวมิคในรูปของค่า UV $_{254}$ ค่า VIS_{400} และค่า FEEM แล้วยังได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า DOC ด้วย ผลแสดงดังใน Figure 4 พบว่า ค่าDOC เปลี่ยนแปลงด้วยแนวโน้มเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของฮิวมิค คือ ลดลงตามเวลา หรือ ปริมาณโอโซน โดยที่การใช้โอโซนร่วมกับ TiO_2 สามารถกำจัดค่า DOC ได้ดีกว่าการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว โดยในสภาวะที่มีการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว เมื่อเติมโอโซนเป็นเวลา 30 นาที เท่ากับปริมาณโอโซน 213.99 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ DOC ลดลงจาก 2.45 เหลือ 1.56 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสัดส่วน DOC ที่คงเหลือ 0.64 คิดเป็นประสิทธิภาพในการกำจัด 36.32 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ในสภาวะที่มีการเติมโอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ปริมาณ DOC ลดลงเหลือ 1.12 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสัดส่วน DOC คงเหลือ 0.46 คิดเป็นประสิทธิภาพในการกำจัดเท่ากับ 54.29 เปอร์เซ็นต์

Figure 5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดฮิวมิคและสารอินทรีย์ในรูปของค่า UV_{254} ค่า VIS_{400} และค่า DOC จะเห็นได้ว่าในชุดการทดลองที่มี และไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ในขณะที่ฮิวมิค (ตรวจวัดด้วยค่า VIS_{400}) ลดลง 78.33 และ 64.29 เปอร์เซ็นต์ ค่า DOC ลดลง 54.29 และ 36.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงว่าฮิวมิคที่ถูกกำจัด ไม่ได้เกิดการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ แต่เพียงเปลี่ยนรูปไปเป็นสารอินทรีย์ตัวอื่น มีงานวิจัยหลายงานที่พบว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยโอโซนเกิดอย่างไม่สมบูรณ์ เช่น การทดลองของ Gracia *et al*. (1998) พบว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างโอโซน และฮิวมิคได้สารผลิตภัณฑ์ในกลุ่มของ Phthalates และ Organic acid อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าในสภาวะที่มีการใช้โอโซนร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา TiO_2 ค่า DOC ลดลงได้มากกว่าการใช้โอโซนอย่างเดียว นั่นคือ ตัวเร่งปฏิกิริยา TiO_2 มีผลให้ฮิวมิคเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สมบูรณ์ได้มากขึ้น

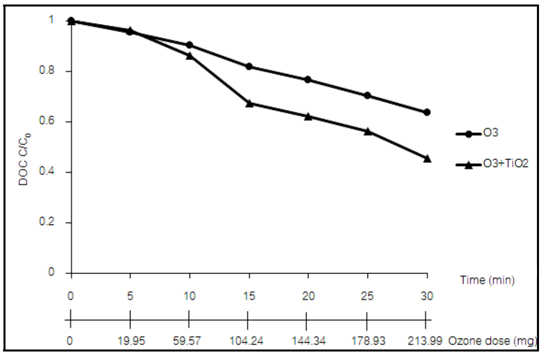


Figure 4 DOC removal by ozone and ozone with TiO_2.

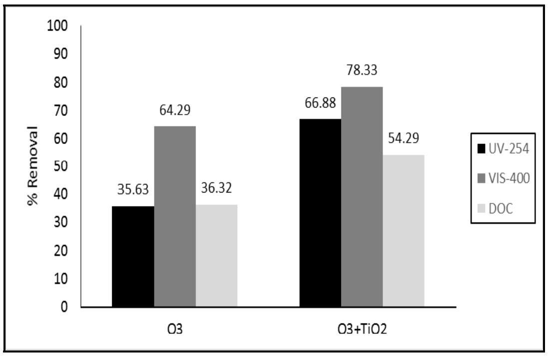


Figure 5 Humic removal in terms of reduction in absorbance of UV_{254} and VIS_{400} and DOC by ozone and ozone with TiO_2.

สรุป

จากการทดลองกำจัดฮิวมิคในน้ำสังเคราะห์ที่มีฮิวมิค 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมโอโซน 30 นาที เท่ากับปริมาณโอโซน 213.99 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการใช้โอโซนในสภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยาTiO_2 มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว โดยฮิวมิคตรวจวัดด้วยค่า VIS_{400} ลดลง 78.33 และ 64.29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาจากการลดลงของค่า DOC ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการย่อยสลายที่สมบูรณ์ พบว่าการใช้ TiO_2 ส่งผลให้ค่า DOC ลดลงได้ 54.29 เปอร์เซ็นต์ มากกว่า 36.32 เปอร์เซ็นต์ จากการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียว

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสภาวิจัยแห่งชาติ ภายใต้โครงการวิจัยเรื่องการอนุรักษ์และฟื้นฟูสภาพแวดล้อมทางน้ำในเขตเมืองของภูมิภาคเอเชีย

เอกสารอ้างอิง

Andreozzi, R., A. Insolar, V. Caprio and M.G. D'Amore. 1992. The Kineticsof Mn(II)-Catalysed Ozonation of Oxalic Acid in Aqueous Solution. **Wat. Res** 26: 917.

APHA, AWWA and WEF. 2005. **Standard Method for the Examination of Water and Wastewater**. 20th edition, Wasington D.C: American Public Heath Association.

Bose, P. and D. Reckhow. 2007. The effect of ozonation on natural organic mater removal by alum coagulation. **Water Research** 41: 1516-1524.

Chen, W., P. Westerhoff, J.A. Leenheer and K. Booksh. 2003. Fluorescence excitation emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. **Environmental Science and Technology** 37: 5701-5710.

Farvardin, M.R. and A.G. Collins. 1989. Preozonation as an aid in the coagulation of humic substances-optimum preozonation dose. **Water Research** 23(3): 307-316.

Gracia, R., S. Cortés, J. Sarasa , P. Ormad and J. L. Ovelleiro. 1999. Heterogeneous Catalytic Ozonation with Supported Titanium Dioxide in Model and Natural Waters**. Ozone: Science & Engineering** 22 (5): 461-471.

Gracia, R., J. L. Aragues and and J. L. Ovelleiro. 1998. Mn(II)-cataylsed ozonation of raw ebro river water and its oznation by-product**. Wat. Res** 32: 57-62.

Hewes, C.G. and R.R. Davinson. 1972. Renovation of Wastewater by Ozonation. **AIChE Symposium Seires** 69: 71.

Martin-Mousset, B., J.P. Croue, E. Lefebvre and B. Legube.1997. Distribution and charization of dissolved organic matter of surface waters. **Water Research** 31: 541-553.

Mok, Y. S. and I. S. Nam. 2004. Reduction of Nitrogen Oxides by Ozonation-Catalysis Hybrid Process. **Korena J. Chem. Eng** 21: 976.

Ozge Turkay, Hatice Inan and Anatoli Dimoglo. 2014. Experimental study of humic acid degradation and theoretical modelling of catalytic ozonation. **Environ Sci Pollut Res** 22: 202–210.

การพัฒนาโปรแกรมออกแบบระบบดับเพลิงด้วยก๊าซเฉื่อยด้วย MICROSOFT EXCEL
DEVELOPMENT OF INERT GAS FIRE EXTINGUISHING SYSTEMS DESIGN SOFTWARE USING MICROSOFT EXCEL

ถนอมศักดิ์ เชาวน์เสริมสุข[1*] และ สุภัทร พัฒน์วิชัยโชติ[2]

Thanomsak Chaosermsuk[1*] and Supat patvichaichod[2]

บทคัดย่อ

ปัจจุบันไนโตรเจน (ก๊าซเฉื่อย) เป็นสารสะอาดดับเพลิง ที่ได้รับความนิยมกันอย่างมาก ในงานด้านการป้องกันอัคคีภัย แต่โปรแกรมที่ใช้ในการคำนวณมีราคาแพงและยังเสียค่าลิขสิทธิ์ต่อปี จึงเห็นว่าควรที่จะพัฒนาโปรแกรม Microsoft Excel ขึ้นเพื่อช่วยออกแบบระบบดับเพลิงเบื้องต้นและยังสามารถใช้คำนวณได้กับสินค้าทุก ๆ ยี่ห้อ (Brand) โดยคงหลักการตามมาตรฐานของ NFPA 2001 และได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบการคำนวณกับโปรแกรมของ SIEX ซึ่งเป็นโปรแกรมที่นำเข้าจากต่างประเทศ ผลจากการคำนวณเปรียบเทียบมีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก โดยค่าปริมาณสารดับเพลิงมีความคลาดเคลื่อนเท่ากับ 0.99 % และ ค่าแรงดันของหัวฉีด มีความคลาดเคลื่อนเท่ากับ 14.39% ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า โปรแกรมคำนวณ สามารถใช้งานได้จริง และยังสามารถใช้ในการศึกษา เพื่อพัฒนาโปรแกรมออกแบบระบบสารสะอาดดับเพลิงต่อไปได้

ABSTRACT

Currently, Nitrogen (inert gas) is a clean agent of fire extinguishing systems, has become to the most popular. In the fire protection field. The program used to calculate is expensive and have to pay license free per year. Assent to be developed microsoft excel program to help design fire protection system and also can calculate with all other products (Brand). By develop program under NFPA 2001 condition and tests calculation compared with the SIEX program which is ordered from international. The result of calculations, compared with a similar average cost of extinguishing the error is 0.99% and the pressure of the nozzle is inaccurate as 14.39%. Therefore it is concluded that the calculation program actually works. It can also be further used in education to develop a clean agent fire suppression system.

Key Words: development, inert gas, design software, microsoft excel

*Corresponding author; e-mail address: thanomsak.nu@gmail.com, Tel. 085-4070333

[1]สาขาวิชาภาควิศวกรรมป้องกันอัคคีภัย คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพ 10903

[1]Fire Protection Engineering, Faculty of Engineering Program, Kasetsart University, Bangkok 10903, Thailand.

[2]สาขาวิชาภาควิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ ศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ชลบุรี 20230

[2]Mechanical Engineering Department Faculty of Engineering, Kasetsart University, Chonburi 20230

คำนำ

ปัจจุบันการออกแบบระบบสารสะอาดดับเพลิงด้วย ไนโตรเจน (ก๊าซเฉื่อย) เป็นที่นิยมกันอย่างมากในสังคมเมืองไทย ซึ่งเป็นสารดับเพลิงมีพิษเล็กน้อยต่อบุคคลที่อาศัยอยู่ในพื้นที่และไม่ทำลายชั้นบรรยากาศ ที่สำคัญระบบสารสะอาดดับเพลิง ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุปกรณ์ไฟฟ้าอิเล็กทรอนิกส์ที่มีมูลค่าสูง เช่น ห้องคอมพิวเตอร์ ห้องควบคุมระบบโทรคมนาคม และ ห้องเก็บสินค้า เช่น พิพิธภัณฑ์ ฯลฯ ระบบสารสะอาดดับเพลิงเป็นระบบฉีดแบบครอบคลุมทั้งห้อง (Total Flooding System) เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของสารไนโตรเจนไว้ในห้องตามที่มาตรฐานกำหนด และยังต้องระวังเรื่องปริมาณสารดับเพลิงที่สูงเกินไป เพราะอาจจะทำให้ ออกซิเจนภายในห้องลดต่ำ จนทำให้เป็นอัตรายต่อผู้อยู่อาศัยภายในห้อง เนื่องจาก ไนโตรเจน (Nitrogen N_2) ทำหน้าที่เจือจางความเข้มข้นของ อากาศออกซิเจน และ กลุ่มของสารก๊าซเฉื่อย (Inert Gas Agent) มีองค์ประกอบหลักอย่างน้อยหนึ่งสารหรือมากกว่า ของก๊าซเหล่านี้ คือ ฮีเลียม นีออน อาร์กอน ไนโตรเจน โดยสามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นก๊าซผสม เพื่อเป็นสารองค์ประกอบรองได้ ผู้ที่จะทำการออกแบบระบบดับเพลิง จะต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับมาตรฐาน และ ข้อกำหนด ต่าง ๆ เป็นอย่างดี มาตรฐานการป้องกันอัคคีภัยที่มีความสำคัญและได้รับการยอมรับเป็นอย่างมากคือมาตรฐานของ National Fire Protection Association (NFPA) หมายเลข NFPA 2001 (Standard for Clean Agent Fire Extinguishing Systems) ซึ่งมีการระบุข้อกำหนด รายละเอียดอุปกรณ์และวิธีการออกแบบเอาไว้อย่างชัดเจน จึงได้มีการริเริ่มที่จะทำโปรแกรมคำนวณด้วย Microsoft Excel เพื่อหาปริมาณสารดับเพลิง และคำนวณหาอัตราการไหลภายในท่อ รวมถึง แรงดันที่ หัวฉีดและแรงดันใน ท่อดับเพลิง การดำเนินการวิจัยจะรวมข้อมูลจากหลาย ๆแหล่งข้อมูลเช่น SIEX Fire Protection Products, SIEMEN Fire Protection Products, SRI Fire Protection Products, TYCO Fire Protection Products ซึ่งเป็นข้อมูลของแต่ละสินค้าที่ได้การรับรองจากมาฐาน Vertrauen durch Sicherheit(Vds Standard) และมาฐาน NFPA 2001

งานวิจัยครั้งนี้ มีแนวคิดที่จะพัฒนาความสามารถของโปรแกรมออกแบบระบบดับเพลิงด้วยก๊าซเฉื่อยด้วย Microsoft Excel ขึ้นมาเพื่อช่วยลดเวลาและลดความผิดพลาดในการออกแบบระบบดับเพลิงด้วยมือให้น้อยลง มีความถูกต้องแม่นยำสูงขึ้น เป็นไปตามมาตรฐานสากลที่ยอมรับ และยังสามารถเผยแพร่ ให้บุคคลทั่วไปนำไปใช้งานได้โดยที่ไม่ต้องเสียลิขสิทธิ์

อุปกรณ์

1. Computer CPU Intel Core i5-3317U 1.70GHz, Hard Disk ขนาด 500 GB หน่วยประมวลผล 4 GB
2. โปรแกรม Microsoft Excel สำหรับ ใช้สร้างโปรแกรมคำนวณ ออกแบบระบบดับเพลิงด้วยก๊าซเฉื่อย
3. โปรแกรม Siex เป็นโปรแกรมการคำนวณระบบ ไนโตรเจน ของต่างประเทศที่ได้รับการยอมรับจากมาตราฐานสากล (Vds.) สำหรับใช้ในการทดสอบเปรียบเทียบกับ โปรแกรม Microsoft Excel
4. มาตราฐาน NFPA 2001 (Standard for Clean Agent Fire Extinguishing Systems) ใช้สำหรับอ้างอิงในการออกแบบการคำนวณระบบดับเพลิงด้วย โปรแกรม Microsoft Excel.
5. คู่มือการออกแบบระบบดับเพลิงของ Siex Product, Siement Products, Siement Products, SRI Products

ข้อกำหนดในการออกแบบ

การดับเพลิง คือการหยุดการสันดาปของเชื้อเพลิง โดยพิจารณาการเกิดไฟเป็นหลัก และนำทฤษฎีดังกล่าวมาคัดแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นเพื่อควบคุมปริมาณการเผาไหม้หรือทำให้การเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ ทำให้ไฟดับ กลไกการดับเพลิง (Extinguishment Mechanisms) เน้นการตัดองค์ประกอบที่สามารถทำให้เกิดการลุกไหม้ของไฟ มี 4 องค์ประกอบ ดังนี้

1. การลดความร้อน (Heat Reduction)
2. การกั้นออกซิเจน (Oxygen Deprivation)
3. การตัดเชื้อเพลิงออก (Fuel Removal)
4. การตัดปฏิกิริยาลูกโซ่ (Breaking of Combustion Chain)

ระบบดับเพลิงด้วยก๊าซเฉื่อย (Inert Gas)จะทำหน้าที่ในการลด ออกซเจน (Oxygen) ในชั้นบรรยากาศมีออกซิเจน 21% แต่ต้องการ 12% < O_2 < 16% ที่ทำให้ไฟดับและไม่มีอันตรายต่อชีวิตคน O_2 < 12% คนสามารถอาศัยอยู่ได้ 5 นาที O_2 < 10.1% คนสามารถอาศัยอยู่ได้ 3 นาที O_2 < 8.0% คนสามารถอาศัยอยู่ได้ 30 วินาที

กำหนดความเข้มข้นของสารสะอาด

โดยการใช้สารดับเพลิงที่กำหนดในมาตรฐาน NFPA 2001 ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อบุคคลที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้นจะต้องใช้ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นมีอยู่ 2 ชนิดคือ

- Low Observable Adverse Effect Level (LOAEL) 52% หมายถึงค่าต่ำสุดของระดับความเข้มข้นของสารซึ่งจะมีผลกระทบต่อร่างกายมนุษย์

- No Observable Adverse Effect Level (NOAEL) 43% หมายถึงค่าสูงสุดของระดับความ เข้มข้นของสารซึ่งจะยังไม่มีผลกระทบต่อร่างกายมนุษย์

สมการที่สำคัญในการคำนวณระบบดับเพลิง

1. คำนวณหาปริมาณสารที่ใช้ในการดับเพลิง ของกลุ่มก๊าซเฉื่อย (Inert Gas Agent)

$$X = 2.303 \times \frac{V_S}{S} \mathrm{Log}\left[\frac{100}{100-C}\right] = \frac{V_S}{S} \ln\left[\frac{100}{100-C}\right] \quad (1)$$

$$S = k_1 + k_2 (T) \quad (2)$$

โดยที่

X = ปริมาตรสารก๊าซเฉื่อย (ที่ 14.7 psia) ต่อปริมาตรพื้นที่ป้องกัน(m^3/m^3)

V_S = Specific Volume ของ N_2 ที่ 21°C ณ ความดัน 1.013bar (m^3 /kg)

T = อุณหภูมิภายในห้องที่ป้องกัน (°C)

S = ปริมาตรจำเพาะของสารกลุ่มก๊าซเฉื่อยที่ไอดง (superheat) (m^3/kg)

C = ความเข้มข้นของสารกลุ่มก๊าซเฉื่อย (% โดยปริมาตร)

k = ค่าคงที่ปริมาตรจำเพาะ ของสารสะอาดดับเพลิง (k_1 และ k_2)

2. ทำการคำนวณ อัตราการไหล ในท่อ

$$Q = \rho V D \quad (3)$$

อัตราการไหลเข้า (Q_1) = อัตราการไหลออก (Q_2)

3. สมการพลังงานที่ใช้วิเคราะห์สำหรับการไหลผ่านท่อ

$$\frac{P_1}{\rho g}+\frac{\alpha_1 V_1^2}{2g}+Z_1=\frac{P_2}{\rho g}+\frac{\alpha_2 V_2^2}{2g}+Z_2+f\frac{LV^2}{2Dg}+K\frac{V^2}{2g} \quad (4)$$

4. สมการเฮดสูญเสียรวมในท่อ (Total head loss, $h_{loss,t}$)

$$h_{loss,t} = h_{loss,f} + h_{loss,m} \quad (5)$$

5. สมการเฮดสูญเสียหลัก (Major head loss, $h_{loss,f}$)

$$h_{loss,f} = f\frac{LV^2}{2Dg} \quad (6)$$

6. สมการเฮดสูญเสียรอง (Minor head loss, $h_{loss,m}$)

$$h_{loss,m} = f\frac{L_e V^2}{2Dg} = K\frac{V^2}{2g} \quad (7)$$

โดยที่

f = ตัวประกอบความเสียดทานสำหรับการไหลแบบปั่นป่วนเต็มท่อ

L = ความยาวของท่อ ที่มีการไหล (m)

L_e = ความยาวสมมูล (Equivalent length) (m)

V = ความเร็วเฉลี่ยของการไหล (m/s)

D = คือเส้นผ่านศูนย์กลางภายในของท่อ (m)

K = ค่าสัมประสิทธิ์การสูญเสียของ Fitting.

วิธีการและขั้นตอน

1. ป้อนข้อมูลรายละเอียดโครงการ ผู้ติดต่อ ผู้ออกแบบ และกำหนดข้อมูลในการออกแบบที่ใช้ในการคำนวณของโปรแกรมออกแบบสารสะอาดดับเพลิง
2. กำหนดระยะเวลาในการทำงานของระบบที่ใช้ต้องไม่เกิน 60 วินาทีสำหรับ Class B และ ไม่เกิน 120 วินาที สำหรับ Class A และ Class C และกำหนดความสูงของระดับน้ำทะเล
3. กำหนดอุณหภูมิของห้องที่ทำการออกแบบและค่าความเข้มข้นของสารในการดับเพลิง ให้เป็นไปตามที่มาตราฐานกำหนด หรือ ข้อกำหนดของผลิตภัณฑ์ โดยเลือกสารดับเพลิงให้เหมาะสมกับพื้นที่ในการเกิดเหตุ

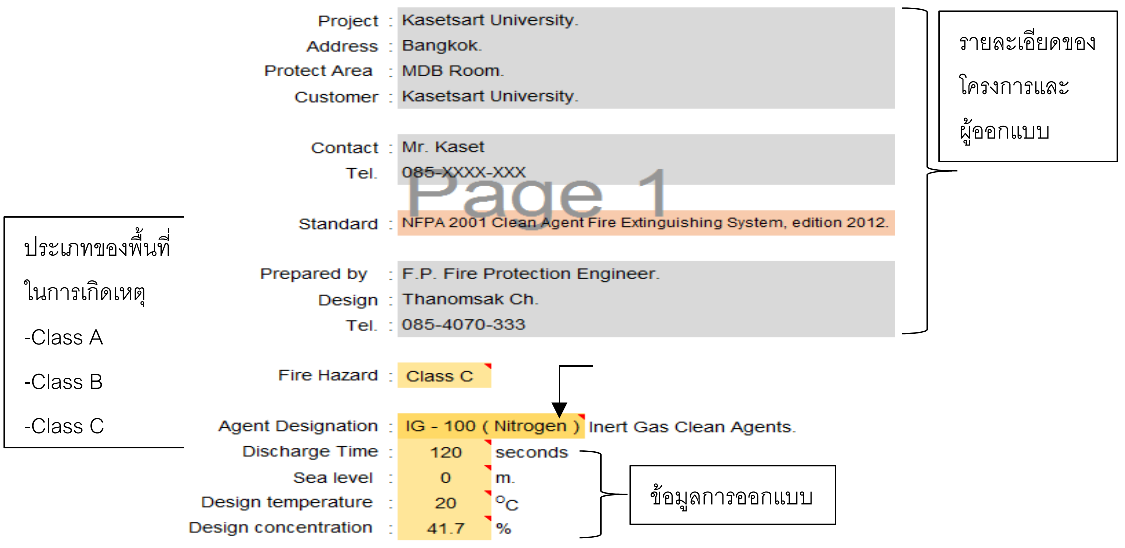


Figure 1 Recording the details of the project and the details of the design.

4. ป้อนข้อมูลขนาด กว้าง x ยาว x ความสูง และพื้นที่ส่วนเกินของห้องที่ไม่สามารถทำการฉีดสารดับเพลิงได้ เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาตรของห้อง

No.		In-Room	Ceiling	Raised Floor	Areas Except
1	: Width (m)	10.00			0.00
2	: Length (m)	10.00			0.00
3	: Area (sq.m)	100.00			0.00
4	: Height (m.)	3.10	0.00	0.00	0.00
5	: Room Volume (m^3)	310.00	0.00	0.00	0.00
	: Total of Room Volume	**310.00**	**(m^3)**	0	**(m^3)**

Figure 2 Recording the details of the Information for Side Room.

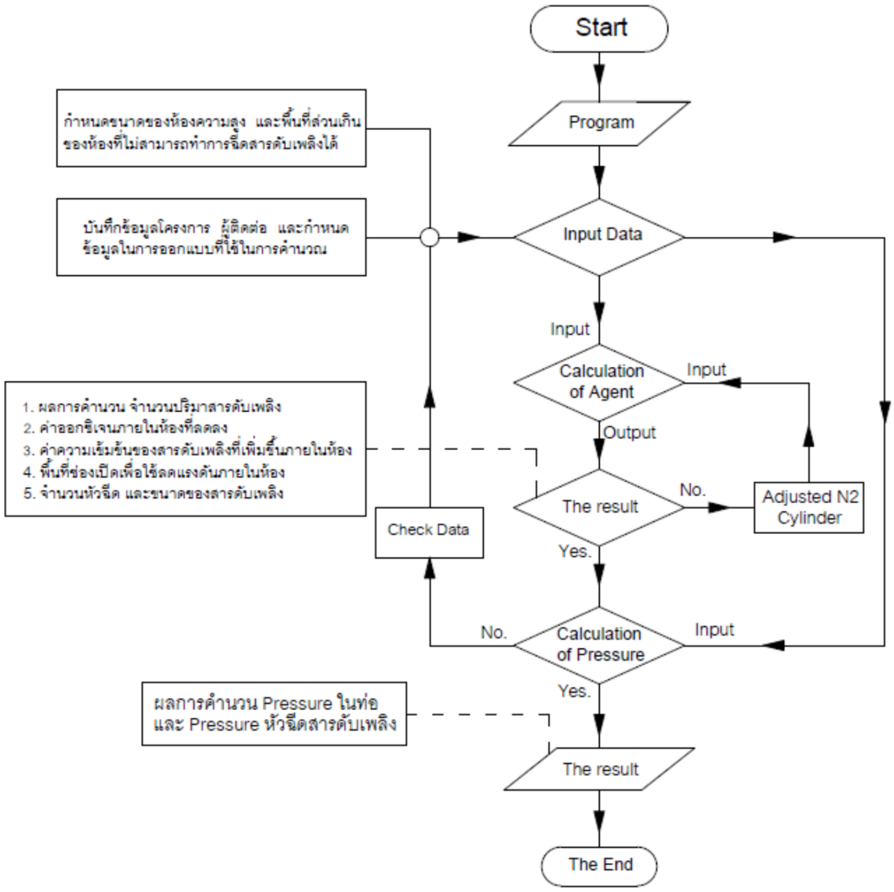


Figure 3 Flowchart of the program calculation.

ผลการทดลอง

การทดสอบ โปรแกรมการคำนวณระบบสารสะอาดดับเพลิง กำหนดให้เป็นพื้นที่ของห้อง MDB โดยมีขนาดของห้องเท่ากับ กว้าง 10 เมตร ยาว 10 เมตร และ ความสูงของห้องเท่ากับ 3.1 เมตร และปริมาตรของห้องเท่ากับ 310 ลูกบาศก์เมตร เลือกการดับเพลิงด้วยสาร ไนโตรเจน (IG-100) กำหนดให้ค่าความเข้มข้นในการออกแบบของสาร ไนโตรเจน (IG-100) เท่ากับ 41.7% เป็นพื้นที่อันตราย Class C Fire Hazard .

ผลการทดสอบของโปรแกรมการคำนวณ ปริมาณ สารไนโตรเจน (IG-100) ต้องการ เท่ากับ 167.25 m^3 หรือ 196.74 kg , จะได้จำนวณถังดับเพลิงทั้งหมด 7.96 ถัง หรือ ประมาณ 8 ถังโดยสารที่บรรจุต่อ 1 ถังมีค่าเท่ากับ 21 m^3 หรือ 24.7 kg. แต่ในการทดลองกำหนดให้ถังดับเพลิงเท่ากับ 10 ถัง เวลาในการฉีดสารดับเพลิง 120 วินาที จะมีปริมาณสารไนโตรเจน (IG-100) เท่ากับ 210 m^3 หรือ 247 kg ทำให้ค่าความเข้มข้นของสารไนโตรเจน (IG-100) ที่ฉีดเข้าไปภายในห้องเพิ่มขึ้น เท่ากับ 49.21 % ค่าความเข้มข้นของ อากาศออกซิเจน(O_2) ลดต่ำลง จาก 21% เหลือ 10.67 % และต้องติดตั้งช่องระบายแรงดันเพื่อควบคุมแรงดันในห้อง เพื่อไม่ให้ โครงสร้างของห้องได้รับความเสียหาย มีขนาด เท่ากับ 0.2074 m^2 ผลจากการคำนวณแรงดันของหัวฉีด หัวที่ไกลที่สุด มีค่าเท่ากับ 57.59 bar และกำหนดให้ แรงดันที่ไหลผ่าน รูออริฟิต (Orifice) มีค่าเท่า กับ 60 bar ตามมาตรฐาน NPFA 2001 กำหนด

6	: Classification	IG-100(Nitrogen)	
	: Design Temperature	20	°C
	: Discharge Time	120	Seconds.
	: Design concentration	41.7	%
	: The Actual Concentration	49.21	%
	C_{OX}	10.67	%
	Relief Damper	0.2074	m^2
	Specific Vapor Volume @ 21°C	0.8582	(m^3/kg)

Sea level	0	m.
ACF	1.000	

Physiological Effects	No Effect Level	
C_{OX}	Warning (10.1%≤O2 < 12%)	
Living	5	minute.

7	Inert Gas		Total Flooding Factor		K1	K2	N2 agent Required	
	3	IG - 100	0.5395	(m^3/m^3)	0.7997	0.00293	167.25	(m^3.)

9	: Total N2 agent Required			167.25	(m^3)
10	: Quantity N_2 Cylinder,	21	(m^3.)	7.96	Cylinder.
11	: Adjusted N2 Cylinder			10.00	Cylinder. ***
12	: Total N_2 agent			210.00	(m^3) ***

	Cylinder.
N2 Cylinder	10

Figure 4 The result of the calculations for program.

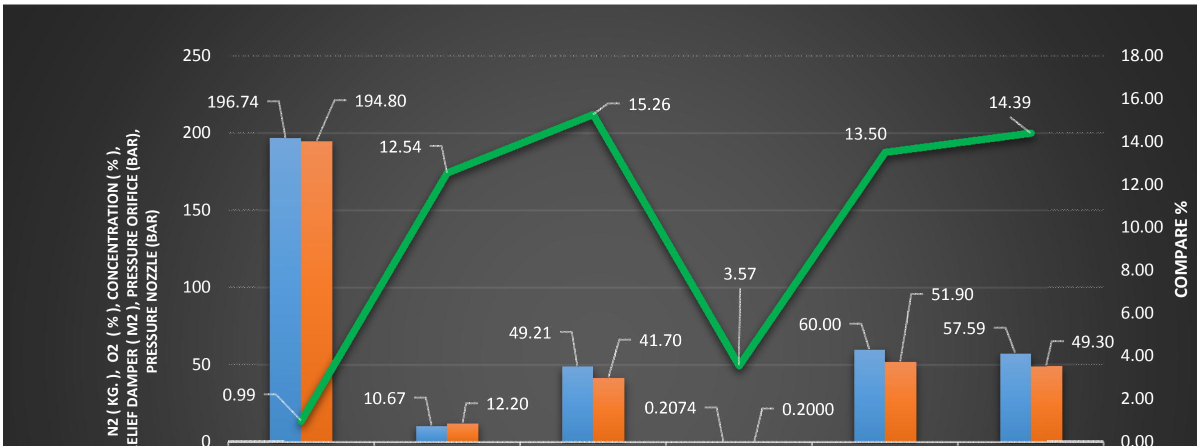
NO	Input Information					DI.	Nozzle	Fitting			Flow Rate		Nozzle	Pressure	
	Start	End	Length	Height	----	mm.		Fitting R	Elbow	Tee	m^3/s.	kg/s	Flow Rate	bar	Flow Rate
1	0	1	2		Manifold						0.088	0.103		300	
2	1	2	2.5		Orifice	40	0	0	0	0	1.663	1.955	---	60.00	
3	2	3	0.6	0	E	40	0	0	302	0	1.663	1.955	---	59.19	0.00
4	3	4	2.8	2.8	U	40	0	0	302	0	1.663	1.955	---	58.78	0.00
5	4	5	3.77	0	N	40	0	0	0	401	0.831	0.978	---	58.75	49.88
6	5	6	2.15	0	W	40	0	0	302	0	0.831	0.978	---	58.72	0.00
7	6	7	1.98	0	N	40	0	0	0	401	0.416	0.489	---	58.72	24.94
8	7	8	0.1	-0.1	D	20	1101	0	0	0	0.416	0.489	24.94	58.72	0.00
9	7	9	4.3	0	N	20	0	0	301	0	0.416	0.489	---	58.47	0.00
10	9	10	0.1	-0.1	D	20	1101	0	0	0	0.416	0.489	24.94	58.48	0.00
11	5	11	4.15	0	E	40	0	0	302	0	0.416	0.489	---	58.47	0.00
12	11	12	1.98	0	N	40	0	0	0	401	0.831	0.978	---	58.44	49.88
13	12	13	0.1	-0.1	D	20	1101	0	0	0	0.416	0.489	24.94	58.45	0.00
14	12	14	4.3	0	N	20	0	0	301	0	0.831	0.978	---	57.54	0.00
15	14	15	0.1	-0.1	D	20	1101	0	0	0	0.416	0.489	24.94	57.59	0.00

Figure 5 The result of the calculations pressure drops for pipe and nozzle.

สรุปผลการทดลอง

จากการเปรียบเทียบการคำนวณระหว่างโปรแกรม Microsoft Excel กับ โปรแกรม SIEX ค่าปริมาณสารดับเพลิงที่ต้องการใช้ เมื่อเทียบกับปริมาตรของห้อง มีค่าความคลาดเคลื่อนของโปรแกรม เท่ากับ 0.99 %, และความเข้นข้นของอากาศออกซิเจน (O_2) หลังการฉีดสาร ไนโตรเจน (IG–100) ผลจากการคำนวณจะลดต่ำลงจาก 21 % เหลือออกซิเจน (O_2) ภายในห้องมีค่าเท่ากับ 10.67 % เนื่องจากค่าความเข้นข้นของสารดับเพลิงไนโตรเจนที่ฉีดเข้าไปในห้องมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 41.7 % เป็น 49.27 % เทียบกับโปรแกรม SIEX คำนวณค่า อากาศออกซิเจน (O_2) ลดต่ำลงจาก 21 % เป็น 12.2 % และ การคำนวณช่องเปิดเพื่อใช้ลดแรงดันภายในห้องหลังการฉีดสารดับเพลิงเพื่อป้องกันความเสียหายต่อโครงสร้างของห้อง จากโปรแกรม Microsoft Excel คำนวณค่าได้เท่ากับ 0.2074 m^2 เทียบกับโปรแกรม SIEX ค่าช่องเปิดเท่ากับ 0.20 m^2 ทำให้มีค่าความคลาดเคลื่อนของโปรแกรมเท่ากับ 3.57 %, และ การคำนวณหาแรงดันที่หัวฉีดของสารดับเพลิง โดยโปรแกรม Microsoft Excel ได้กำหนดแรงดันที่ไหลผ่าน รูออริฟิตจาก 200 - 300 bar ให้เหลือแรงดันภายในท่อท่อเริ่มต้นเท่ากับ 60 bar ให้เป็นไปตามมาตรฐาน NFPA 2001 กำหนด และโปรแกรมคำนวณค่าแรงดันที่หัวฉีดได้เท่ากับ 57.59 bar เทียบกับโปรแกรม SIEX ที่คำนวณแรงดันภายในท่อเริ่มต้นเท่ากับ 51.90 bar ค่าแรงดันที่หัวฉีดได้เท่ากับ 49.30 bar ทำให้มีค่าความคลาดเคลื่อนของโปรแกรมเท่ากับ 14.39 % ความคลาดเคลื่อนในส่วนนี้ขึ้นอยู่กับการกำหนดแรงดันที่ รูออริฟิต ที่ท่อ Manifold

จากการทดสอบโปรแกรมการคำนวณสารสะอาดดับเพลิงมีค่าใกล้เคียงกับโปรแกรมมาตรฐานสากล ที่ได้รับการรับรอง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า โปรแกรมการคำนวณนี้สามารถที่จะใช้งานได้จริง



	N2 (Kg.)	O2 (%)	Concentration (%)	Relief Damper (m2)	Pressure Orifice (bar)	Pressure Nozzle (bar)
Microsoft Excel	196.74	10.67	49.21	0.2074	60.00	57.59
Siex Program	194.80	12.20	41.70	0.2000	51.90	49.30
Compare %	0.99	12.54	15.26	3.57	13.50	14.39

Figure 6 The result of the graph comparing for program.

วิจารณ์

การเปรียบเทียบผลการทดลอง โปรแกรมการคำนวณด้วย Microsoft Excel ยังมีความแตกต่างกับโปรแกรม Siex อยู่เล็กน้อย อาจเกิดจากปัจจัยดังต่อไปนี้

1. จำนวณปริมาณการบรรจุสารไนโตรเจน ในถังดับเพลิงแต่ละ สินค้า (Brand) ไม่เท่ากัน
2. ข้อมูลการคำนวณที่แตกต่างกัน เช่น ค่าสัมประสิทธิ์การสูญเสีย ในท่อ และ Fitting, ค่าความเข้มข้นสารในการดับเพลิง ซึ่งแต่ละ Products มีค่าไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับผู้ผลิตกำหนดและ ทดสอบ
3. ค่าออกซิเจนในห้องที่ลดต่ำลงหลังการฉีดสารดับเพลิงมีค่าที่ต่างกันเนื่องจากโปรแกรม Siex กำหนดให้ค่าความเข้มข้นของสารดับเพลิงภายในห้องมีค่าเท่ากับ 41.7 % คิดเป็นที่ 100 % ของจำนวนสารที่ห้องต้องการจริง ส่วนเกินไม่ได้นำมาคิด
4. ค่าแรงดันที่หัวฉีดมีค่าต่างกันเนื่องจากโปรแกรม Siex มีการคำนวณลดแรงดันที่หัวถัง ซึ่งอาจจะมีค่าไม่คงที่ขึ้นอยู่กับผู้ใช้โปรแกรมกำหนด แต่มีค่าไม่เกิน 60 bar ส่วน โปรแกรมที่คำนวนจาก Microsoft Excel ลดแรงดันที่ รูออริฟิต โดยได้กำหนดให้การลดแรงดัน จาก 200 - 300 bar เหลือ 60 bar เป็นค่าคงที่
5. การสร้างโปรแกรมการคำนวณด้วย Microsoft Excel อาจจะมีข้อจำกัดในการใช้งาน ของโปรแกรม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมป้องกันอัคคีภัยทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปและ ขอขอบพระคุณผู้สนับสนุน บริษัท ไฟร์วิคเตอร์ จำกัด มหาชน ช่วยจัดหาโปรแกรม Siex เพื่อทำการทดสอบเปรียบเทียบกับ โปรแกรมการคำนวณด้วย Microsoft Excel

เอกสารอ้างอิง

ดุลยโชติ ชลศึกษ์,2555. **การออกแบบระบบท่อทางวิศวกรรมฉบับปรับปรุง** .2559, ภาควิชวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ธัญดร ออกวลา. 2553. **กลศาสตร์ของไหล**, ภาควิชาวิศวกรรมชลประทานคณะวิศวกรรมศาสตร์กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

รองศาสตราจารย์มนตรี พิรุณเกษตร. 2557. **กลศาสตร์ของไหล** (Fluid Mechanics). โรงพิมพ์ บริษัทพิมพ์ดีการพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพ ฯ

ศาสตราจารย์กิตติคุณ ดร. วริทธิ์ อึ๊งภากรณ์. **คู่มือการออกแบบระบบดับเพลิงก๊าซไนโตรเจน** N2 , สมาคมวิศวกรรมปรับอากาศแห่งประเทศไทย.

NFPA 2001: Standard on Clean Agent Fire Extinguishing Systems, 2012 Edition.

Siement Products. 200, Cerexen N2 / Ar Automatic extinguishing Systems description and design manual.

Siex Fire Protection Products. 2014, DESIGN MANUAL INERT-SIEX 200-300 bar, IG-100.

SRI Products. 2006, INERT GAS FIRE SUPPRESSION SYSTEMS ENGINEERING MANUAL.

TYCO Products. 2015. iFLOW 200/300 bar total flood fire extinguishing systems design and installation manual, Hygood Inergen.

การออกแบบและพัฒนาเครื่องใส่ปุ๋ยแบบสะพายหลังสำหรับพืชที่ปลูกแบบเป็นแถว

Design and Development of A Knapsack Fertilizer for Row-crop Planting

นุสรา สุภาษิ[1*] เกรียงไกร แก้วตระกูลพงษ์[1] และ สมพงษ์ เจษฎาธรรมสถิต[1]

Nussara Suphasi[1*], Kriengkri Kaewtrakulpong[1] and Somphong Jedsadathumsathit[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการออกแบบและพัฒนาเครื่องใส่ปุ๋ยแบบสะพายหลังสำหรับพืชที่ปลูกแบบเป็นแถว เพื่อช่วยในการปรับปรุงความสามารถในการทำงานเชิงไร่ของกระบวนการใส่ปุ๋ยตามแนวร่องปลูกพืช ซึ่งจากการสำรวจกระบวนการใส่ปุ๋ยตามแนวของการปลูกขิง พบว่าเกษตรกรจะใช้เวลาในกระบวนการดังกล่าวค่อนข้างมาก เนื่องจากเกษตรกรต้องเดินและก้มลงโรยปุ๋ยที่โคนต้น โดยผลการทดสอบพบว่าความสามารถในการทำงานเชิงไร่โดยใช้แรงคนมีค่าเท่ากับ 0.19 ไร่ต่อชั่วโมง อัตราการใส่ปุ๋ยเท่ากับ 118.30 กิโลกรัมต่อชั่วโมง และความเร็วในการเดินทำงานเท่ากับ 0.2374 เมตรต่อวินาที

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการออกแบบเครื่องใส่ปุ๋ยแบบสะพายหลังโดยใช้อุปกรณ์จ่ายปุ๋ยเป็นแบบล้อเซาะร่องรูปทรงกระบอกขนาด สามารถบรรจุปุ๋ยเท่ากับ 18.43 กรัมต่อการหมุน 1 รอบ ถังใส่ปุ๋ยบรรจุปุ๋ยได้ 15 กิโลกรัม จึงได้ออกแบบให้ด้านฐานของถังใส่ปุ๋ยเป็นรูปพีระมิดผ่าครึ่ง ตัดยอด มุมกองพื้นเท่ากับ 30 องศา

จากการนำเครื่องใส่ปุ๋ยที่ได้ออกแบบพัฒนามาทำการทดสอบ พบว่าผลการทดสอบการเดินใส่ปุ๋ย พบว่าเครื่องใส่ปุ๋ยที่พัฒนามีความสามารถในการทำงาน 0.78 ไร่ต่อชั่วโมง เร็วขึ้นเป็น 3 เท่าของการใส่ปุ๋ยโดยเกษตรกร น้ำหนักปุ๋ยที่ใช้เท่ากับ 114.59 กิโลกรัมต่อไร่ และความเร็วในการเดินใส่ปุ๋ย 0.9963 เมตรต่อวินาที

ABSTRACT

In this research, knapsack fertilizer for row – crop planting was designed and developed in order to improve the field capacity of row-crop fertilizer process. Field survey found that the farmer spent long time for this process because the farmer had to walk and drilled down the fertilizer. The testing results showed that the field capacity operated by farmer was 0.19 rai per hour, application rate of fertilizer was 118.30 kilograms per hour and walking speed of farmer while operating was 0.2374 meters per second.

Then fertilizer distributor of knapsack fertilizer was designed based on fluted roller. Its mass was 18.43 grams per one rotation. The capacity of tank was 15 kilograms having a half of pyramid hopper with 30 degrees of reposed angle. The results of laboratory testing showed that when the field capacity of the designed knapsack fertilizer was 0.78 rai per hour. The application rate was 114.59 kg/rai and operation speed was 0.9963 meters per second.

Key Words: knapsack fertilizer, fluted roller, field capacity, operation speed, application rate

*Corresponding author; e-mail address: **nussara.sup@ku.th**

[1]ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Farm Mechanic, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ขิงเป็นพืชที่มีลำต้นใต้ดินสะสมอาหารลักษณะคล้ายนิ้วมือเรียกว่าแง่งขิง ขิงเป็นพืชที่นำมาบริโภคได้ทั้งในรูปผลผลิตสดและแปรรูป โดยเฉพาะอย่างยิ่งขิงดอง ซึ่งได้กลายเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย สามารถนำรายได้เข้าประเทศปีละประมาณ 700 – 1,000 ล้านบาท แหล่งผลิตที่สำคัญของประเทศไทยได้แก่ เชียงราย พะเยา เลย เพชรบูรณ์ และศรีสะเกษ (กรมส่งเสริมวิชาการ,2544)

การดูแลรักษาและการบำรุงขิงอายุ 2 เดือนโดยการการใส่ปุ๋ยขิง ด้วยสูตร 15-15-15 ผสมกับสูตร 13-13-21 ให้ปุ๋ยโดยการโรยโคนต้นขิง ต้องระวังไม่ให้ปุ๋ยค้างหรือติดอยู่ตามลำต้นหรือตามซอกใบขิง จะทำให้เกิดการใบไหม้และขิงหยุดการเจริญเติบโต ปุ๋ยค้างหรือติดอยู่ตามลำต้นหรือตามซอกใบขิง เนื่องจากขิงต้นสูงเหนือพื้นดินประมาณ 30-50 เซนติเมตร ในการให้ปุ๋ยคนที่ให้ต้องก้มแล้วสอดมือไปที่โคนต้นขิงทำให้เกิดการเมื่อยล้า และเวลาที่สะพายปุ๋ยที่ยังเต็มถังอยู่การก้มตัวก็จะยากขึ้น ทำให้ปุ๋ยค้างหรือติดอยู่ตามลำต้นหรือตามซอกใบขิง (คำนึง คำอุดม, 2531 และ วิเชียร ชาญูสตบุตร, 2534)

อุปกรณ์และวิธีการ

การออกแบบและสร้างเครื่องใส่ปุ๋ยมีแนวคิดเบื้องต้นคือ ลดความเมื่อยล้าในการที่เกษตรกรก้มลงสอดเข้าไปโคนต้น ดังนั้นเครื่องใส่ปุ๋ยควรมีน้ำหนักรวมไม่มาก สามารถแบกเข้าแปลงได้ ขณะเดียวกันอัตราการใส่ปุ๋ยต้องใกล้เคียงกับที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่สามารถปรับอัตราการใส่ปุ๋ยได้ เครื่องใส่ปุ๋ยที่ออกแบบนี้จะใช้อุปกรณ์และวิธีการออกแบบประกอบด้วย

อุปกรณ์จ่ายปุ๋ยมีลักษณะเป็นแบบล้อเซาะร่อง (Fluted roller)(Harris, Muckle, Shaw., 1974) (**Figure 1**) เพื่อให้ปุ๋ยหล่นสม่ำเสมอและสามารถปรับอัตราการใส่ปุ๋ยได้ โดยล้อเซาะร่องต่อเข้ากับมอเตอร์ที่สามารถปรับความเร็วรอบได้ เมื่อรอบหมุนเร็วขึ้นอัตราการใส่ปุ๋ยก็เพิ่มมากขึ้น ทำให้สามารถปรับอัตราการใส่ปุ๋ยสัมพันธ์กับความเร็วในการเดินของผู้ปฏิบัติงาน วัสดุที่ใช้แท่งพลาสติก (Superlene) สามารถนำมากัดเซาะให้เป็นรูปร่างได้ง่าย อุปกรณ์จ่ายปุ๋ยจะติดอยู่ด้านฐานของถังใส่ปุ๋ย ซึ่งที่ฐานของถังใส่ปุ๋ยต้องทำมุมมากกว่าหรือเท่ากับมุมกองพื้น มุมกองพื้นหาได้จากการนำปุ๋ยไปวางบนแท่นแล้วค่อยๆหมุนยกด้านที่มีปุ๋ยขึ้นวัดมุมกองพื้นที่เม็ดปุ๋ยไหลหล่นลงมา

$$\text{อัตราการใส่ปุ๋ย (L)} = \frac{M}{4.57\,S} \tag{1}$$

$$\text{อัตราการปล่อยปุ๋ย (R)} = \frac{3.6M}{T} \tag{2}$$

$$\text{ความสามารถในการทำงาน (N)} = \frac{6.429S}{T} \tag{3}$$

กำหนดให้ L = อัตราการใส่ปุ๋ย (กิโลกรัมต่อไร่)

R = อัตราการปล่อยปุ๋ย (กิโลกรัมต่อชั่วโมง) N = ความสามารถในการทำงาน (ไร่ต่อชั่วโมง)

M = น้ำหนักปุ๋ย (กรัม) T = เวลา (วินาที) S = ระยะทาง (เมตร)

หมายเหตุ ระยะห่างระหว่างร่องขิงเท่ากับ 35 เซนติเมตร

การคำนวณการอัตราใส่ปุ๋ยของเครื่องใส่ปุ๋ย

เพื่อการคำนวณหาปริมาณปุ๋ยสำหรับเครื่องใส่ปุ๋ย โดยมีวิธีการ

1) หาความหนาแน่นของปุ๋ย
2) หาปริมาตรของปุ๋ยทั้งหมดที่เกษตรกรใช้ต่อชั่วโมง
3) หาจำนวนรอบที่หมุนของมอเตอร์ต่อชั่วโมง
4) หาปริมาตรปุ๋ยใน 1 รอบ
5) เซาะร่องแท่งพลาสติก

1) หาความหนาแน่นของปุ๋ย ความหนาแน่นของปุ๋ย $\rho = \frac{m}{V}$ (4)

กำหนดให้ ρ = ความหนาแน่นของปุ๋ย (กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)

m = น้ำหนักปุ๋ย (กิโลกรัม)

V = ปริมาตร 1 ลิตร เท่ากับ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2) หาปริมาตรของปุ๋ยทั้งหมดที่เกษตรกรใช้ต่อชั่วโมง

คิดจากสูตร $X = \frac{1{,}000R}{\rho}$ (5)

กำหนดให้ X = ปริมาตรของปุ๋ยที่เกษตรกรใช้ต่อชั่วโมง (ลูกบาศก์เซนติเมตร)

หมายเหตุ ปริมาณปุ๋ยที่เกษตรกรใช้ แต่การเดินเครื่องใส่ปุ๋ยทำงานเร็วกว่าแรงงานคน(คนมีการก้มเงย) จึงออกแบบเครื่องใส่ปุ๋ยโดยเพิ่มปริมาณปุ๋ยที่ใช้เป็น 2 เท่า

3) หาจำนวนรอบที่หมุนของมอเตอร์ต่อชั่วโมง

ในการทดลองครั้งนี้ใช้มอเตอร์กระแสตรงเฟืองทดความเร็ว 60 รอบต่อนาที แต่ในการคำนวณจะมีค่าคาดเคลื่อนดังนั้นคิดความเร็ว 40 รอบต่อนาที (จากข้อมูลปริมาณการปล่อยปุ๋ยของเกษตรกร)
ดังนั้น 1 ชั่วโมง เท่ากับ 2,400 รอบ

4) หาปริมาตรปุ๋ยใน 1 รอบ

เนื่องจากความเร็วรอบของมอเตอร์ใน 1 ชั่วโมง หมุนเท่ากับ 2,400 รอบ ต้องได้ปริมาณปุ๋ย X ลูกบาศก์เซนติเมตร

ดังนั้นมอเตอร์หมุน 1 รอบ ต้องได้ปริมาณปุ๋ย $\frac{X}{2{,}400}$ = W ลูกบาศก์เซนติเมตร

5) เซาะร่องแท่งพลาสติก

เพื่อให้ปริมาตรของร่องสัมพันธ์กับปริมาณปุ๋ยต่อ 1 รอบของมอเตอร์ โดยมีวิธีการดังนี้

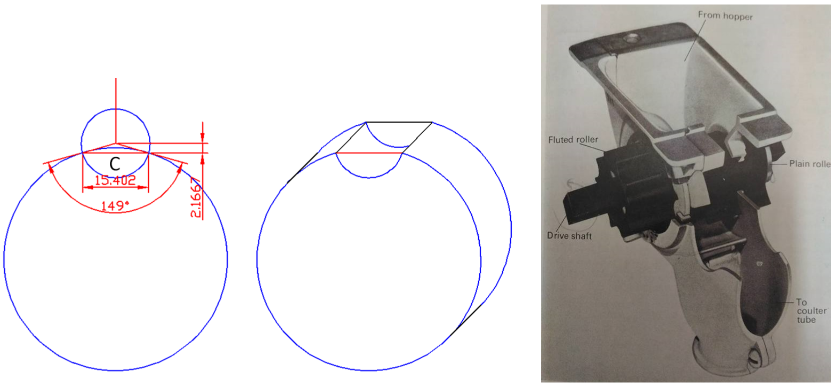


Figure 1 Design fluted roller.

ในการทดลองครั้งนี้เลือกมอเตอร์กระแสตรงเฟืองทดความเร็ว 60 รอบต่อนาที ความต่างศักย์ 12 โวลต์ เพื่อต่อเข้ากับแบตเตอรี่แบบพกพาได้ และเลือกตัวปรับรอบมอเตอร์ ใช้แผงวงจรสำเร็จสำหรับปรับรอบมอเตอร์

ถังบรรจุปุ๋ยวัสดุที่ใช้คือสังกะสี เนื่องจากสามารถตัดและพับได้ง่าย ทาสีเพื่อลดการกัดกร่อน ถังบรรจุปุ๋ยสามารถบรรจุปุ๋ยได้ประมาณ 15 กิโลกรัม เพื่อไม่ให้มีน้ำหนักมากและการเติมปุ๋ยตลอดการทำงาน และถังบรรจุปุ๋ยมีท่อนำปุ๋ยทำจากสายยางใส 1 นิ้วต่อเข้ากับท่อพีวีซี เพื่อให้สามารถใส่ปุ๋ยโคนต้นและไม่ให้ปุ๋ยค้างบนลำต้นและซอกใบ ด้านหลังติดสายสะพายคล้องไหล่

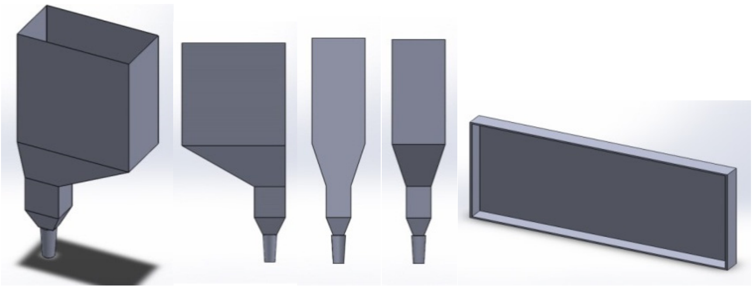


Figure 2 Design tank and tank lid.

- ทดสอบอัตราการใส่ปุ๋ยในความเร็วรอบต่างกัน

วิธีการ

1) เดินเครื่องใส่ปุ๋ยวัดความเร็วรอบของอุปกรณ์จ่ายปุ๋ยโดยเครื่องวัดความเร็วรอบ (Tachometer) จากนั้นทำเครื่องหมายไว้ที่แผงวงจรที่ความเร็วรอบ 60, 50, 40, 30, 20 และ 10 รอบต่อนาที

2) ใส่ปุ๋ยในถัง เดินเครื่องทำงานที่ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที จับเวลา 1 นาที

3) วัดความเร็วรอบ ชั่งน้ำหนักปุ๋ย คำนวณหาอัตราการใส่ปุ๋ย จากสมการที่ (3) ทำการทดลองความเร็วรอบละ 3 ครั้ง

4) เปลี่ยนความเร็วรอบเป็น 50, 40, 30, 20 และ 10 รอบต่อนาที

จากนั้น นำผลการการทดสอบมาคำนวณอัตราการใส่ปุ๋ยจากสูตร

อัตราการปล่อยปุ๋ย (R) ที่ความเร็วรอบ (J) = $60Q$ (6)

กำหนดให้ R = อัตราการปล่อยปุ๋ย (กิโลกรัมต่อชั่วโมง)

J = ความเร็วรอบมอเตอร์ (รอบต่อนาที) Q = น้ำหนักปุ๋ย (กิโลกรัมต่อนาที)

- ทดสอบผลกระทบของปริมาณปุ๋ยที่มีอยู่ในถัง ที่มีผลต่อการใส่ปุ๋ย

วิธีการ

1) ใส่ปุ๋ยในถังจำนวน 8 กิโลกรัม เดินเครื่องทำงานที่ความเร็วรอบคงที่ จับเวลา 1 นาที

2) ชั่งน้ำหนักปุ๋ย คำนวณหาอัตราการใส่ปุ๋ย (สมการที่ 6) ทำการทดลองปริมาณปุ๋ยในถังละ 3 ครั้ง

3) เปลี่ยนปริมาณปุ๋ยในถังเป็น 4 และ1 กิโลกรัม

- ทดสอบอัตราการใส่ปุ๋ยในขณะปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1) ใส่ปุ๋ยในถัง ผู้ทดสอบสะพายเครื่องใส่ปุ๋ย เดินใส่ปุ๋ยระยะทาง 10 เมตร จับเวลา และวัดปริมาณปุ๋ย ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ในการทดลองใช้ความเร็วรอบสูงสุด

2 เมตร	10 เมตร	2 เมตร
เดินก่อนเปิดเครื่อง 2 เมตร	วัดที่ความเร็วคงที่ 10 เมตร	ปิดเครื่องแล้วเดินต่อ 2 เมตร

Figure 3 Walking fertilizer plans.

2) คำนวณหาอัตราการใส่ปุ๋ย ตามสมการที่ (1), (2) และ (6)

ผลการทดลองและวิจารณ์

- ผลของการออกแบบอุปกรณ์จ่ายปุ๋ยและ Hopper ได้ดังรูป

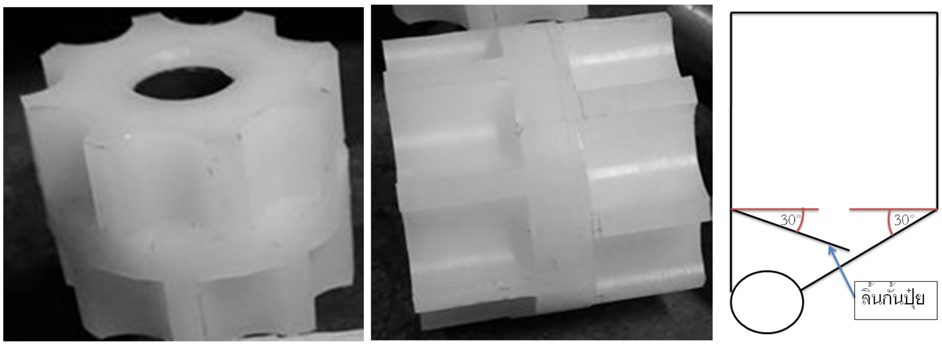


Figure 4 Fluted roller, design hopper and valve fertilizer*

*ลิ้นกั้นปุ๋ยเป็นอุปกรณ์ที่ช่วยชะลอปุ๋ยลงมาที่อุปกรณ์จ่ายปุ๋ย (เพื่อไม่ให้ปุ๋ยมาตันอยู่ที่อุปกรณ์จ่ายปุ๋ย)

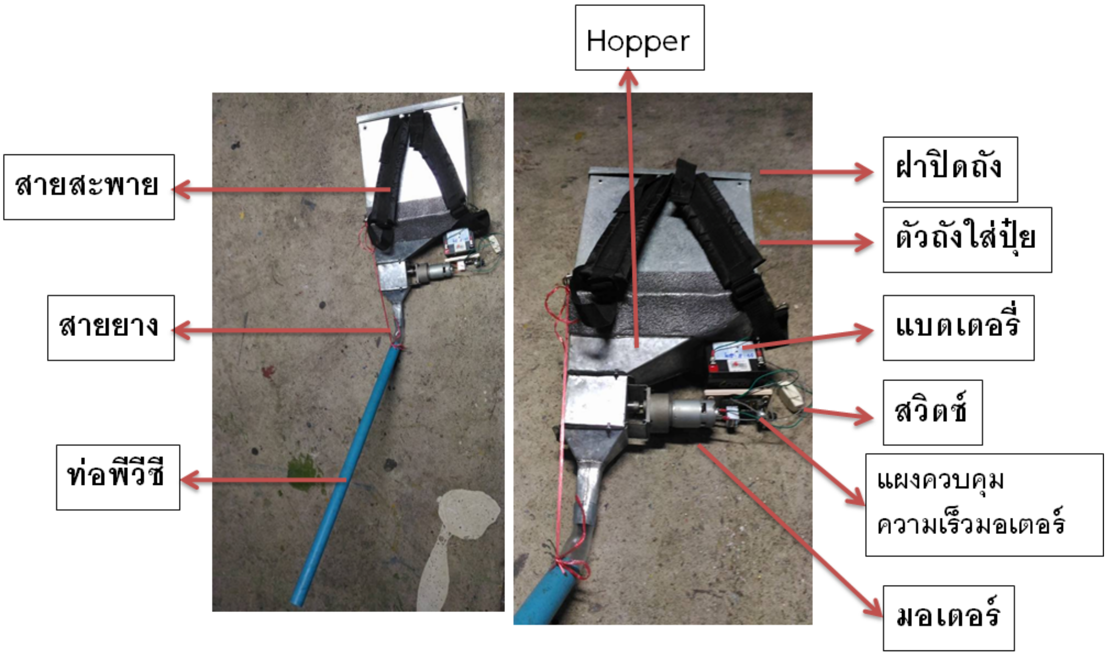


Figure 5 Ingredient of A Knapsack Fertilizer for Row-crop Planting.

- ผลการทดสอบอัตราการใส่ปุ๋ยในความเร็วรอบต่างกัน ได้ผลดังตารางที่ 1

Table 1 Test result of the rate of fertilization for difference speed motor.

ความเร็วรอบเริ่มต้น (รอบต่อนาที)	ความเร็วรอบขณะทำงาน(รอบต่อนาที)	อัตราการใส่ปุ๋ย (กิโลกรัมต่อนาที)	ค่าเฉลี่ยอัตราการใส่ปุ๋ย (กิโลกรัมต่อนาที)
60	55	1.5	1.5
	55	1.5	
	55	1.5	
50	45	1.2	1.2
	45	1.2	
	45	1.2	
40	30	0.9	0.9
	30	0.9	
	30	0.9	
30	20	0.7	0.683
	20	0.65	
	20	0.7	
20	10	0.42	0.44
	10	0.45	
	10	0.45	
10	เพลาไม่หมุนที่ปริมาณปุ๋ยในถังที่ 4 กิโลกรัม		

จากผลการทดสอบที่ความเร็วรอบเริ่มต้น 60,50,40,30 และ 20 รอบต่อนาที ขณะเครื่องใส่ปุ๋ยทำงาน ความเร็วรอบลดลงเหลือ 55,45,30,20 และ 10 รอบต่อนาทีตามลำดับ มีอัตราการใส่ปุ๋ยเท่ากับ 90,72,54,40.98 และ 26.40 กิโลกรัมต่อชั่วโมงตามลำดับ และความเร็วรอบเริ่มต้น 10 รอบต่อนาทีเมื่อเปิดเครื่องให้ทำงาน มอเตอร์จะไม่หมุน ดังนั้นเมื่อความเร็วรอบต่างกันจะทำให้ได้อัตราการใส่ปุ๋ยต่างกัน

ความเร็วในการเดินใส่ปุ๋ย เมื่อให้ได้น้ำหนักปุ๋ยเท่ากับ 118.30 กิโลกรัมต่อไร่ สามารถหาได้จากสูตร

ความเร็วในการเดินใส่ปุ๋ย(เมตรต่อวินาที) = $0.01074R$ (7)

Table 2 Test result of operation speed.

ความเร็วรอบเริ่มต้น (รอบต่อนาที)	ค่าเฉลี่ยอัตราการใส่ปุ๋ย (กิโลกรัมต่อนาที)	ความเร็วในการเดินใส่ปุ๋ย (เมตรต่อวินาที)
60	1.5	0.9660
50	1.2	0.7729
40	0.9	0.5796
30	0.683	0.4399
20	0.44	0.2834

- ผลการทดสอบผลกระทบของปริมาณปุ๋ยที่มีอยู่ในถัง ที่มีผลต่ออัตราการใส่ปุ๋ย ที่ความเร็วรอบ 22 รอบต่อนาที ได้ผลดังตารางที่ 3

Table 3 The effect of quantity in tank affects the rate of fertilization.

ปริมาณปุ๋ยในถัง (กิโลกรัม)	อัตราการใส่ปุ๋ย (กิโลกรัมต่อนาที)	ค่าเฉลี่ยอัตราการใส่ปุ๋ย (กิโลกรัมต่อนาที)
8	0.7	0.7
	0.7	
	0.7	
4	0.7	0.7
	0.7	
	0.7	
1	0.7	0.7
	0.7	
	0.7	

จากผลการทดสอบใช้ความเร็วรอบคงที่ที่ 22 รอบต่อนาที เนื่องจากจะได้ปริมาณปุ๋ยใกล้เคียงกับเกษตรกรใช้ และผลการทดสอบปริมาณปุ๋ยที่มีอยู่ในถัง 8, 4 และ 1 กิโลกรัมมีอัตราการใส่ปุ๋ยเท่ากันเท่ากับ 42 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ดังนั้นที่ความเร็วรอบคงที่ปริมาณปุ๋ยที่มีอยู่ในถัง ไม่มีผลกระทบต่ออัตราการใส่ปุ๋ย

- ผลการทดสอบอัตราการใส่ปุ๋ยในขณะปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ ที่ความเร็วรอบเริ่มต้น 60 รอบต่อนาที ได้ผลดังตารางที่ 4

Table 4 The field test of the designed knapsack fertilizer.

การทดลองที่	เวลาที่ใช้(วินาทีต่อ10เมตร)	น้ำหนักปุ๋ย (กรัม)	ความเร็วในการเดินใส่ปุ๋ย (เมตรต่อวินาที)	อัตราการใส่ปุ๋ย(กิโลกรัมต่อชั่วโมง)
1	10.21	260.00	0.9794	91.67
2	9.92	244.00	1.0081	88.55
3	9.98	248.00	1.0020	89.46
ค่าเฉลี่ย	10.04	250.67	0.9964	89.91

จากผลการทดสอบอัตราการใส่ปุ๋ยในขณะปฏิบัติงาน ได้อัตราการใส่ปุ๋ยเฉลี่ยเท่ากับ 89.91 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ในขณะที่การทดสอบในขณะหยุดเท่ากับ 90 กิโลกรัมต่อชั่วโมง จากการวิเคราะห์ทางสถิติอัตราการใส่ปุ๋ยในขณะปฏิบัติงานกับอัตราการใส่ปุ๋ยขณะหยุดไม่มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่น 99 % p-value เท่ากับ 0.919

สรุป

การออกแบบเครื่องใส่ปุ๋ย กำหนดอุปกรณ์จ่ายปุ๋ยเป็นแบบล้อเซาะร่อง สามารถบรรจุปุ๋ยต่อการหมุน 1 รอบเท่ากับ 19.88 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ความเร็วรอบของอุปกรณ์จ่ายปุ๋ยที่ความเร็วรอบ 40 รอบต่อนาที จะจ่ายปุ๋ยคิดเป็นน้ำหนักเท่ากับ 44.24 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ถังใส่ปุ๋ยใช้สังกะสีพับขึ้นรูปมีปริมาตร 15,689.7 ลูกบาศก์เซนติเมตร สามารถบรรจุปุ๋ยได้ 15 กิโลกรัม ฐานล่างเป็น Hopper รูปพีระมิดฐานสี่เหลี่ยมผ่าครึ่งตามแนวตั้ง ตัดยอด มุมเอียงของ Hopper และลิ้นกั้นปุ๋ยทำมุม 30 องศากับแนวนอน ภายในติดตั้งอุปกรณ์จ่ายปุ๋ยที่ต่อเข้ากับแกนเพลา และต่อมอเตอร์กระแสตรงความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที ความต่างศักย์ 12 โวลต์ ใช้แบตเตอรี่เป็นแหล่งจ่ายไฟต่อเข้ากับตัวปรับรอบสามารถปรับความเร็วรอบได้ตั้งแต่ 0 – 60 รอบต่อนาที ทางออกของปุ๋ยต่อเข้ากับสายยางใสขนาด 1 นิ้วและต่อเข้ากับท่อพีวีซีขนาด 1 นิ้ว ด้านหลังติดสายสะพายคล้องไหล่

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมวิชาการ. 2544. **คำแนะนำที่ 24 เรื่องการปลูกขิง**. พิมพ์ครั้งที่ 7. ฝ่ายเอกสารคำแนะนำ กองเกษตรสัมพันธ์, กรุงเทพฯ.

คำนึง คำอุดม. 2531. **ขิง**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สหมิตรออฟเซท, กรุงเทพฯ.

วิเชียร ชาญสตบุตร. 2534. **คู่มือเกษตรกรเรื่องการปลูกขิง.** โรงพิมพ์แสงดาว, เชียงใหม่.

Harris, Muckle, Shaw. 1974. **Farm Machinery.** Second Edition. Hazell Watson & Viney Ltd., Aylesbury, Bucks. 177-190 p.

การศึกษาการทำความสะอาดเซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรนที่อุดตันจากอนาม็อกแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์แบบซีเควนซิ่งแบตช์

A Cleaning Study of Ceramic Microfiltration Membrane by Fouled of Anammox Bacteria in Sequencing Batch Reactor

ฤชา วงษ์เนตร[1*] ศิริพร ลาภเกียรติถาวร[2] สุวิชภรณ์ วิชกูล[3] และ พงศ์ศักดิ์ หนูพันธ์[1]

Rucha Wongnet[1*], Siriporn Larpkiattaworn[2], Suwitchaporn Witchakul[3] and Pongsak (Lek) Noophan[1]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการตรวจวัดการใช้งาน หาระยะเวลาการอุดตันของเมมเบรนจากถังปฏิกรณ์อนาม็อก และค่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำความสะอาดเมมเบรนโดยทำการออกแบบการทดลองด้วยวิธี Central Composite Design และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วย Response Surface Methodology การตรวจวัดระยะเวลาการอุดตันของเมมเบรนทำโดยการวัดค่าฟลักซ์ และค่าความดันทรานเมมเบรน (Transmembrane Pressure , TMP) ที่ระยะเวลากรอง 0-60 นาที พบว่าเมื่อค่า TMP เพิ่มขึ้นที่ 0.6 บาร์ และระยะเวลาการกรอง 60 นาที ส่งผลให้ค่าฟลักซ์ลดลงไปจากตั้งต้น 54.6% จากนั้นทำการตรวจวัดสภาวะที่เหมาะสม ในการทำความสะอาดเมมเบรนที่ความเข้มข้น 0.5, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์เผาที่อุณหภูมิ 150, 350 และ 550 องศาเซลเซียส และระยะเวลาการเผา 10, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ นำข้อมูลที่วัดได้มาทำการวิเคราะห์ผลการทดลองด้วย Response Surface Methodology พบว่าค่าสภาวะที่เหมาะสมในการทำความสะอาดเมมเบรนหลังการอุดตัน คือ ล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.17 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิการเผา 652 องศาเซลเซียส ระยะเวลาเผา 3.18 นาที เมื่อนำข้อมูลมาทำการคำนวณจะได้ค่า Flux Recovery Ratio มากกว่า 98.67% ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ABSTRACT

This work is to study the performance of membrane by observing the fouling time in anammox reactor and identified the optimal condition to clean the membrane by using Central Composite Design and then analysis with Response Surface Methodology. In this investigation, the water flux was measured with two parameters of transmembrane pressure (TMP), and filtration time in the range of 0-60 min. The result performed that at filtration time 60 min, TMP had increased to 0.6 bar, the water flux was decreased down to 54.6 % of the start value. NaOH solution with concentration of 0.5%, 0.75% and 1% were used to clean the used membrane with various burning temperature (150, 350 , 550°C) and time (10, 20 and 30 min). The optimal condition of membrane cleaning was analyzed by using Response Surface Methodology. It was found that at 1.17% NaOH with burning temperature and time of 652°C and 3.18 min respectively, the Flux Recovery Ratio was shown more than 98.67% at the confidential level of 95%.

Key Words: Ceramic microfiltration membrane, Cleaning membrane, Anammox culture.

*Corresponding author; e-mail address: big.rucha@gmail.com

[1]ภาควิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900 Thailand

[2]สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่ง ประเทศไทย (วว.) เทคโนธานี อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

[2]Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Pathum Thani 12120 Thailand

[3]ภาควิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[3]Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900 Thailand

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการขยายตัวทางเศรษฐกิจและสังคม ส่งผลให้เกิดการพัฒนาทั้งภาคเกษตรกรรม อุตสาหกรรม และชุมชน ด้วยเหตุนี้ทำให้เกิดปัญหามากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาน้ำเสีย แต่ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียส่วนมากมุ่งเน้นในการบำบัดเฉพาะบีโอดีไม่สนใจการกำจัดไนโตรเจนมากเท่าใดนัก เนื่องจากไนโตรเจนถือว่าเป็นสารมลพิษ (pollutant) หากการกำจัดมิได้คำนึงถึงปริมาณไนโตรเจนที่ปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำ ผลที่เกิดขึ้นอาจส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อสภาพแหล่งรับน้ำและสิ่งมีชีวิตในน้ำ (ธงชัย, 2545) และในปัจจุบันการใช้ระบบเยื่อกรอง (Membrane Filtration) ในการพัฒนาคุณภาพน้ำกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก จึงได้มีการนำระบบนี้มาใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบซีเควนซิ่งแบตซ์ (Sequencing batch reactor ,(SBR,เอสบีอาร์)) ที่ใช้เชื้ออนาม็อก ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มออโทโทรฟิก ที่สามารถเปลี่ยนแอมโมเนียมให้กลายเป็นก๊าซไนโตรเจนในสภาวะไร้อากาศ โดย ไนไตรท์เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Mulder *et al.*, 1995) แต่แบคทีเรียกลุ่มนี้มีการเจริญเติบโตช้า (Jetten *et al.*, 1999) ดังนั้นการกักเก็บตะกอนในระบบจึงมีความสำคัญเพื่อที่จะให้ระบบนั้นมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำได้ดี โดยที่ปริมาณของเอ็มเอลวีเอสเอสจะแปรผันตรงกับอัตราการกำจัดแอมโมเนีย (ศิริพร, 2551)

งานวิจัยครั้งนี้จึงได้มีการประยุกต์ใช้เซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรน (Ceramic Microfiltration Membrane) ในถังปฏิกรณ์แอนแอโรบิกซีเควนซิ่งแบตซ์ โดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์แขวนลอย เพื่อใช้ในการกรองน้ำเสียที่ได้ทำการบำบัดโดยกลุ่มจุลินทรีย์อนาม็อกก่อนปล่อยออกจากระบบ จึงทำให้เซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรนมีการอุดตันเกิดขึ้น ข้อมูลการศึกษานี้ยังมีค่อนข้างน้อย Yin *et al.* (2013) ได้ทำความสะอาดเซรามิกเมมเบรนที่เกิดจากการอุดตันจากการกรองเพื่อกำจัดซัลเฟตออกจากน้ำ โดยได้ใช้เซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.05 ไมโครเมตร ทำให้ทราบว่า 1 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ + 0.5 เปอร์เซ็นของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ที่เวลา 120 นาที อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถใช้ในการฟื้นกลับมาของฟลักซ์(Flux recovery) 98.9% วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการเปรียบเทียบการกำจัดไนโตรเจนและการกักเก็บปริมาณตะกอนจุลินทรีย์กลุ่มอนาม็อกภายใต้ถังปฏิกรณ์เอสบีอาร์แบบมีเซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรนและถังปฏิกรณ์เอสบีอาร์แบบไม่มีเมมเบรน และการใช้สถิติเพื่อศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการทำความสะอาดเมมเบรน หลังจากสภาวะการอุดตันของแบคทีเรียกลุ่มอนาม็อก

อุปกรณ์และวิธีการ

การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แอนแอโรบิกแอมโมเนียมออกซิเดชัน (Anaerobic ammonium oxidation, Anammox)

การเริ่มต้นเดินระบบโดยเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอนาม็อกในถังปฏิกรณ์แบบแอนแอโรบิกเอสบีอาร์ขนาด 7 ลิตร เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอนาม็อก โดยกำหนดให้ 1 วัฏจักรที่ใช้ในการเดินระบบเท่ากับ 24 ชั่วโมง หลังจากครบ 24 ชั่วโมง ทิ้งให้ตะกอนจุลินทรีย์ตกตะกอน 15 นาที ระบายน้ำออก 3.5 ลิตร ผ่านเซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรน ความยาว 15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.3 เซนติเมตร ขนาดรูพรุน 4 ไมโครเมตร ซึ่งสารอาหารที่ทำการเพาะเลี้ยง คือน้ำเสียสังเคราะห์ ปริมาตร 7 ลิตร เป่าก๊าซ 95% AR/5%CO2 เป็นเวลา 5 นาที โดยทำการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และป้องกันการรบกวนจากแสงด้วยการคลุมถุงพลาสติกสีดำ หลังจากนั้นก็ทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอนาม็อกทุกวัน โดยควบคุมอัตราส่วนความเข้มข้นของแอมโมเนียมและไนไตรต์ที่ 1:1.3 จนอยู่ในสภาวะคงตัวที่มีประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนมากกว่า 95%

การวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ และประสิทธิภาพของระบบ

การวิเคราะห์แอมโมเนียใช้เทคนิค Titrimetric การวิเคราะห์ไนไตร์ตใช้เทคนิค Colorimetric การวิเคราะห์ปริมาจุลินทรีย์ด้วยเอ็มแอลเอสเอส และเอ็มแอลวีเอสเอส ที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส และ 550 องศาเซลเซียส (APHA, AWWA and WEF) โดยการหาเปอร์เซนการลดลงของแอมโมเนียมและไนไตรต์

การทำความสะอาดเมมเบรน

โดยนำเซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรนที่เกิดการอุดตันโดยการวัดค่าความดันทรานเมมเบรน(transmembrane pressure ,TMP) เมื่อมีค่า 0.5 บาร์ (Weerasekan, 2014) นำมาทำการล้างย้อนด้วยสารเคมีที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันประกอบด้วย 0.5, 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้เวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำเซรามิกเมมเบรนที่ผ่านการล้างย้อนนำมาเผาที่อุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกัน โดยใช้อุณหภูมิ 150, 350 และ 550 องศาเซลเซียส และใช้เวลา 10, 20 และ 30 นาที ในการเผาตามลำดับ โดยได้มีการออกแบบการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Central Composite Design

การส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะของผิวด้านนอกของเมมเบรนก่อนการอุดตัน หลังอุดตัน และหลังจากการทำความสะอาด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

การวัดอัตราการกู้คืนของฟลักซ์ (Flux Recovery Ratio)

$$\text{Flux} = Q/A$$

$$\text{Flux Recovery Ratio} = (J_1/J_0) \times 100\%$$

โดยที่ Q คือ ปริมาณน้ำที่ผ่านเมมเบรน (ลิตร/ชั่วโมง)

A คือ พื้นผิวของเมมเบรน (ตารางเมตร)

J_0 คือ ฟลักของเมมเบรนที่ยังไม่มีการอุดตัน (ลิตร/ตารางเมตร·ชั่วโมง)

J_1 คือ ฟลักของเมมเบรนเมื่อได้มีการทำความสะอาดเมมเบรนแล้ว (ลิตร/ตารางเมตร·ชั่วโมง)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ประสิทธิภาพของระบบ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของระบบแสดงผลดังภาพที่ 1 (a, b) พบว่าอัตราการกำจัดความเข้มข้นแอมโมเนียมของถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 คือ 74.4% และ 77.8% และอัตราการกำจัดความเข้มข้นไนไตรต์ของถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 คือ 99.8% และ 100% ภายในระยะเวลา 7 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ Sarichewee *et al.* (2010) ที่พบว่าอัตราการกำจัดแอมโมเนียมและไนไตรต์ถูกใช้หมดภายใน 8 ชั่วโมง อย่างไรก็ดีการวิเคราะห์ปริมาณตะกอนจุลิทรีย์กลุ่มอนาม็อกของถังปฏิกรณ์ที่ 1 และ 2 คือ 930 และ 1430 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณตะกอนจุลิทรีย์ในถังปฏิกรณ์ที่ 2 มีปริมาณตะกอนจุลินทรีย์กลุ่มอนาม็อกมากกว่าถังปฏิกรณ์ที่ 1 ดังนั้นการเพิ่มเมมเบรนเข้าไปในระบบของถังปฏิกรณ์เป็นวิธีการที่สามารถกักเก็บเชื้อจุลินทรีย์อนาม็อกได้ดีกว่าในถังปฏิกรณ์แบบไม่มีเมมเบรน ซึ่งจากรายงานวิจัยของ ศิริพร (2551) พบว่าปริมาณตะกอนจุลิทรีย์กลุ่มอนาม็อกแปรผันตามอัตราการกำจัดแอมโมเนียม

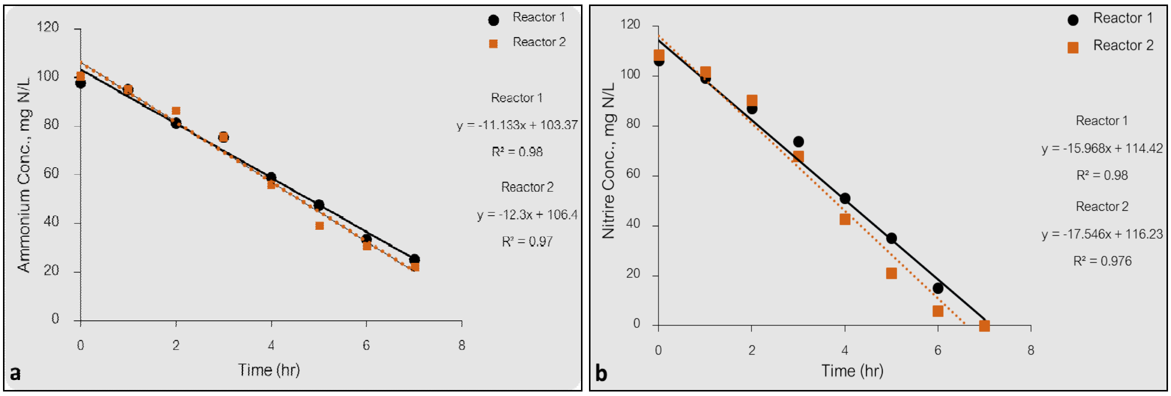


Figure 1 Comparisons ammonium (a) and nitrite (b) removal rate of both reactors (without and with membrane inside reactor)

ระยะเวลาในการอุดตันของเมมเบรน

การทดลองครั้งนี้มีค่าฟลักซ์เริ่มต้น คือ 2,693.87 ลิตร/ตารางเมตร ชั่วโมง และค่า TMP เริ่มต้น 0.1 บาร์ เมื่อค่า TMP เพิ่มขึ้นที่ 0.6 บาร์ ส่งผลให้ค่าฟลักซ์ลดลงเหลือ 1,224.48 ลิตร/ตารางเมตร·ชั่วโมง แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์เมื่อค่า TMP เพิ่มขึ้น จากการทดลองของ Weerasekan *et al.* (2014) ทำความสะอาดเมมเบรน เมื่อค่า TMP เพิ่มขึ้นเป็น 0.5 บาร์ ซึ่งพบว่าค่าฟลักซ์ลดลงถึง 50% ถึงอย่างไรก็ดีในการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่าเมื่อค่า TMP เพิ่มขึ้นเป็น 0.6 บาร์ ทำให้ค่าฟลักซ์ลดลงเป็น 54.6 % ซึ่งมากกว่าในงานวิจัยก่อนหน้านี้ เนื่องจากกระบวนการกรองของเมมเบรนภายในระบบ ต้องนำน้ำที่ผ่านการกรองออกมาจากระบบทุกๆ วัน วันละ 3.5 ลิตร โดยที่ในช่วงสุดท้ายของการกรองปริมาณ 3.5 ลิตร พบว่าค่าฟลักซ์ลดลงมากกว่า 50% แต่น้ำในระบบยังคงทำการกรองไม่เสร็จจึงต้องดำเนินระบบต่อเนื่องให้เสร็จสิ้น ส่งผลให้ค่า TMP สูงขึ้น และค่า ฟลักซ์ลดลงในหนึ่งวัฏจักรของระบบเอสบีอาร์ การปล่อยน้ำเสียออกผ่านเมมเบรนที่ปริมาตร 3.5 ลิตร ใช้ระยะเวลาในวัฏจักรแรก 15 นาที และเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 20 และ 25 นาที ในวัฏจักรที่ 2 และ 3 เมื่อมีค่า TMP เพิ่มขึ้น ที่ระยะเวลา 60 นาทีซึ่งเป็นระยะเวลาที่รวมกันของทั้ง 3 วัฏจักร มีความสอดคล้องกับค่า TMP ที่ 0.6 บาร์ แสดงดังภาพที่ 2

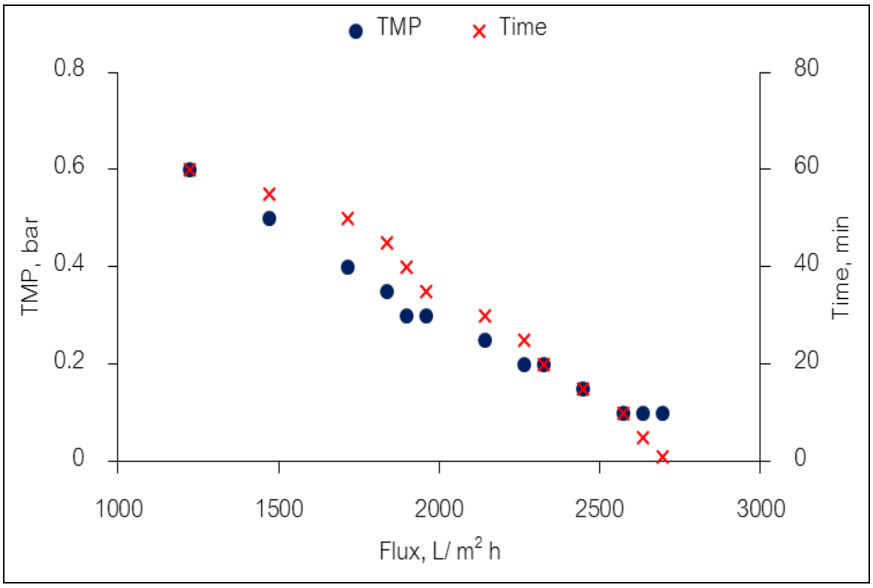


Figure 2 The relationship of TMP, Flux and time in reactor with membrane

การทำความสะอาดเมมเบรน

ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 1

Table 1 Central Composite Design with three factors and the responses.

Order	เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์	Temperature (□c)	Burning time (min.)	Flux Recovery Ratio	Order	เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์	Temperature (□c)	Burning time (min.)	Flux Recovery Ratio
1	0.75	350.00	20.00	95.24	11	1.00	550.00	10.00	97.73
2	0.75	350.00	20.00	90.48	12	0.50	550.00	10.00	90.91
3	0.75	350.00	3.18	69.77	13	0.75	686.36	20.00	95.45
4	0.50	550.00	30.00	75.00	14	1.00	150.00	10.00	81.82
5	0.75	350.00	20.00	81.82	15	0.75	350.00	36.82	90.91
6	1.00	550.00	30.00	100.00	16	0.75	350.00	20.00	61.90
7	1.17	350.00	20.00	83.72	17	0.50	150.00	30.00	66.67
8	0.75	13.64	20.00	26.32	18	0.33	350.00	20.00	95.45
9	0.50	150.00	10.00	54.55	19	1.00	150.00	30.00	50.00
10	0.75	350.00	20.00	75.00	20	0.75	350.00	20.00	72.73

จากนั้นจึงสร้างสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (x_1), อุณหภูมิการเผา (x_2) และเวลาในการเผา (x_3)ต่อ Flux recovery ratio (y) ดังสมการที่ (I)

$$y = -25.1 + 36x_1 + 0.383x_2 + 4.79x_3 + 57.9x_1^2 - 0.000163x_2^2 + 0.0035x_3^2 - 0.258x_1x_2 - 6.72x_1x_3 - 0.01127x_2x_3 + 0.01553x_1x_2x_3 \quad (I)$$

นำสมการที่ (I) ไปตรวจสอบความเหมาะสมว่ารูปแบบสมการเหมาะสมหรือไม่ต่อการวิเคราะห์พารามิเตอร์ที่เหมาะสม โดยการตรวจสอบสมมติฐานดังต่อไปนี้

1.ค่าความผิดพลาด มีการแจกแจงปกติ ดังแสดงในภาพที่ 3a ซึ่งค่า P-value เท่ากับ 0.877 มากกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05

2.ค่าเฉลี่ยของค่าความผิดพลาดมีค่าเท่ากับศูนย์ แสดงดังภาพที่ 3b

3.ความแปรปรวนของค่าความผิดพลาดมีค่าคงที่ แสดงดังภาพที่ 3b กราฟจะมีการกระจายตัวของค่าความผิดพลาดเป็นแบบสุ่มอย่างสมดุลและไม่มีลักษณะของลำโพงปลายเปิดหรือปลายปิด

4.ค่าความผิดพลาดเป็นอิสระต่อกัน แสดงดังภาพที่ 3c ค่าความผิดพลาดมีการกระจายแบบสุ่มไม่มีรูปแบบหรือแนวโน้มใดๆ

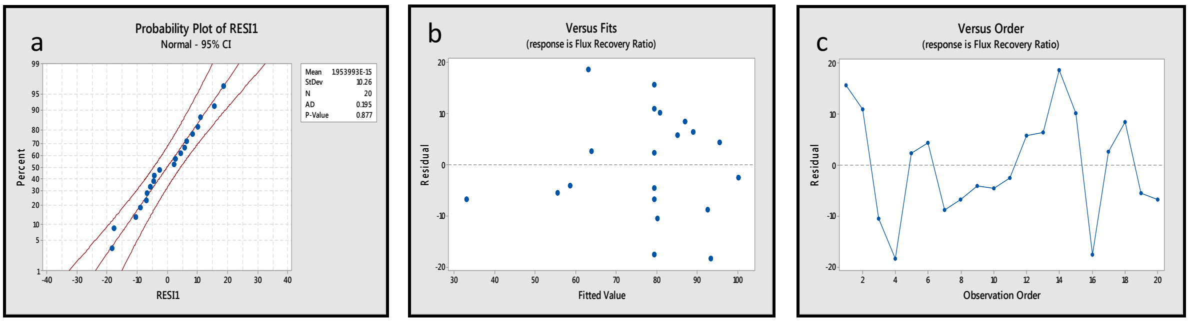


Figure 3 Residual Plots for Flux Recovery Ratio

ทำการหาอนุพันธ์ลำดับที่ 2 ของสมการที่ 1 เพื่อวิเคราะห์ค่า x_1, x_2, x_3 ที่ทำให้ค่า y มีค่ามากที่สุด แสดงดังภาพที่ 4

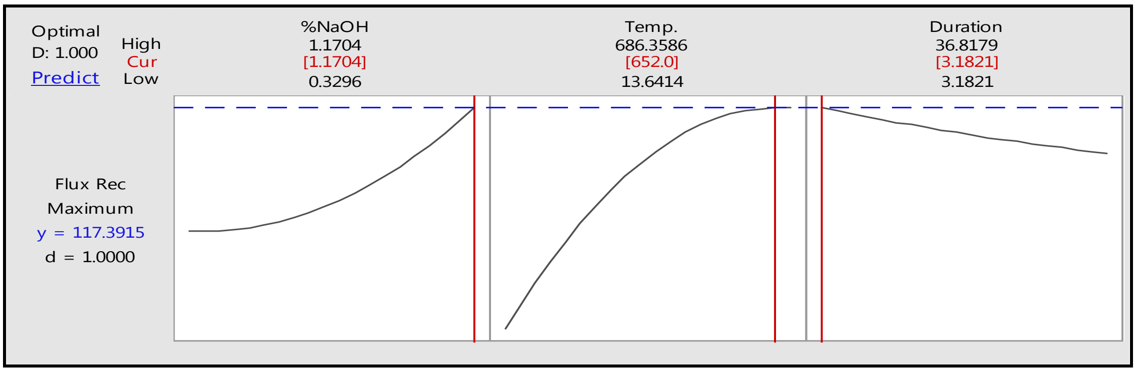


Figure 4 The graphs plot optimal parameter of the Flux Recovery Ratio by Minitab 17

ภาพที่ 4 อธิบายถึงพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดคือ ทีเปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1.17 % อุณหภูมิที่ใช้ในการเผา 652.0 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการเผา 3.18 นาที สำหรับค่า Flux Recovery Ratio ที่ทำได้มากที่สุดอยู่ที่ 117.39 และค่าความพึงพอใจอยู่ที่ 1 (100%) ซึ่งค่า Flux Recovery Ratio ได้มากกว่าค่าเป้าหมาย เมื่อได้ค่าที่เหมาะสมจึงได้นำมาทำการทดลองอีก 20 รอบ เพื่อยืนยันพารามิเตอร์ที่ได้ แสดงผลดังภาพที่ 5

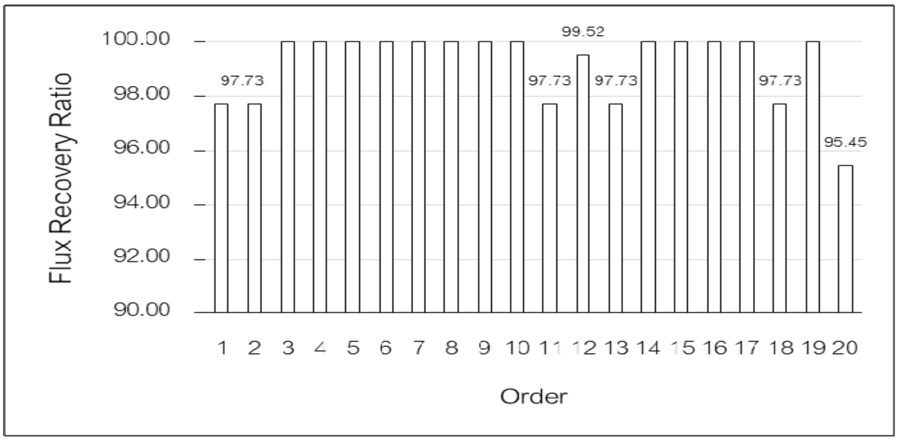


Figure 5 Result of optimal parameters

จากภาพที่ 5 เมื่อนำค่า Flux Recovery Ratio มาหาค่าช่วงความเชื่อมั่นทางเดียวด้านล่างด้วยโปรแกรม Minitab 17 ได้ดังตารางที่ 2

Table 2 One-Sample T: Flux.

Variable	N	Mean	St Dev	SE Mean	95% Lower Bound
Flux	20	99.181	1.324	0.296	98.669

จากตารางที่ 2 ได้นำเอาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมไปทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลอง และที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ทำให้ได้ค่าเฉลี่ยของ Flux recovery Ratio มากกว่า 98.67% ซึ่งหมายความว่าถ้าทำการทดลองที่พารามิเตอร์เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 1.17 % อุณหภูมิที่ใช้ในการเผา 652 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการเผา

3.18 นาที ทำให้ได้ค่า Flux Recovery Ratio มากกว่า 98.67% เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Yin *et al.* (2013) ที่ทำการทดลองใช้เซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรน ขนาดรูพรุน 0.05 ไมโครเมตร และทำความสะอาดเซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรน หลังเกิดการอุดตันจากการกรองเพื่อกำจัดซัลเฟตออกจากน้ำ โดยทำการล้างย้อนด้วยสารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์+ 0.5 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ที่มีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลาระยะ 120 นาที ให้ค่า Flux Recovery Ratio เฉลี่ยเท่ากับ 98.90% ในขณะที่การล้างย้อนด้วยสารละลาย 1.17 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วทำการเผาที่อุณหภูมิ 652 องศาเซลเซียส ช่วยลดระยะเวลาการทำความสะอาดเมมเบรนเป็นอย่างมากเหลือเพียง 3.18 นาที ขณะที่ค่า Flux Recovery Ratio มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 99.181% ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของงานวิจัยของ Yin *et al.* (2013) ในทางกลับกันการที่มีการเพิ่มอุณหภูมิที่มากกว่าเดิมมีผลทำให้มีค่าใช้จ่ายในด้านของค่าไฟฟ้าที่เพิ่มมากขึ้นซึ่งจะทำการศึกษาด้านต้นทุนต่อไป

การวิเคราะห์พื้นผิวเมมเบรนด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)

การส่องกล้องแบบ SEM เพื่อวิเคราะห์พื้นผิวของเมมเบรนที่ยังไม่ผ่านการใช้งาน พบว่าลักษณะของเมมเบรนเห็นรูพรุนอย่างชัดเจน แสดงดังภาพที่ 6a ส่วนเมมเบรนที่ผ่านการใช้งานและมีการอุดตันเกิดขึ้นของแบคทีเรียเข้าไปอุดตันภายในรูพรุนจนเต็มพื้นผิวของเมมเบรน ซึ่งการอุดตันดังกล่าวของแบคทีเรียส่งผลทำให้ค่าฟลักซ์ในการทดลองครั้งนี้ลดลงอย่างเห็นชัด แสดงดังภาพที่ 6b และจากภาพที่ 6c แสดงพื้นผิวและรูพรุนหลังจากการล้างเมมเบรนที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยสารละลาย 1.17 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิ 652 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3.18 นาที ทำให้เห็นพื้นผิวและรูพรุนของเมมเบรนชัดเจนมากขึ้นคล้ายคลึงพื้นผิวของเมมเบรนที่ยังไม่ผ่านการใช้งานดังภาพที่ 7a แต่ก็ยังคงมีแบคทีเรียเกาะติดอยู่บ้างบางส่วนตามที่ได้วงกลมไว้ในภาพที่ 7c

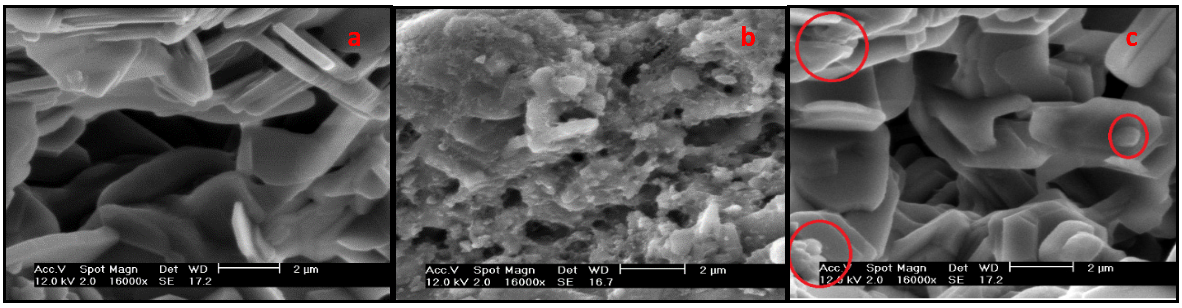


Figure 6 Structures of ceramic membrane surface (a) new membrane (b) fouling membrane (c) after cleaning by SEM (16000x)

สรุป

จากการศึกษาเปรียบเทียบการกำจัดไนโตรเจนและการกักเก็บปริมาณตะกอนจุลินทรีย์กลุ่มอนาม็อก ภายใต้ถังปฏิกรณ์เอสบีอาร์แบบมีเซรามิกไมโครฟิลเตรชันเมมเบรน มีประสิทธิภาพดีกว่าถังปฏิกรณ์เอสบีอาร์แบบไม่มีเมมเบรน ส่วนระยะเวลาในการอุดตันของเมมเบรนของระบบที่ 60 นาที มีค่า TMP เพิ่มขึ้นเป็น 0.6 บาร์ และค่าฟลักซ์ลดลง 54.6% ทั้งนี้การทำความสะอาดหลังจากสภาวะอุดตันด้วยสารละลาย 1.17 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิ 652 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3.18 นาที ให้ค่า Flux Recovery Ratio มากกว่า 98.67% ซึ่งเงื่อนไขถูกทดสอบหาความเหมาะสมด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Response Surface Methodology ที่ความเชื่อมั่น 95%

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KURDI) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่ง ประเทศไทย (วว.) และภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (บางเขน)

เอกสารอ้างอิง

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2545. **การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ.** สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ศิริพร ศรีพิบูลย์. 2551. **การศึกษาเพื่อคัดเลือกเชื้อจุลิทรีย์ด้วยกระบวนการออกซิเดชันแอมโมเนียในสภาพไร้อากาศ (อนาม็อก)**. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

APHA, AWWA and WEF. 2005. **Standard Method for the Examination of Water and Wastewater.** 21sted. American Public Health Association, Washington, DC., USA

Jetten, M.S.M., M. Strous, K.T. van de Ps-Schoonen, J. Schalk, U.G.J.M. van Dongen, A.A. van de Graaf, S. Logemann, G. Muyzer, M.C.M. van Loosdrecht and J.G. Kuenen. 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. **FEMS Microbiology Reviews** 22(5): 421-37.

Mulder, A., A.A. van de Graaf, L.A. Robertson and J.G. Kuenen. 1995. Anaerobic Ammonium Oxidation Discovered in a Denitrifying Fluidized Bed Reactor. **FEMS Microbiology Ecology** 16: 177-184.

Saricheewin, K., S. Sirivithayapakorn, P.L. Noophan, C. Wantawin, S. Techkarnjanaruk and J. M. Munakata. 2010. Nitrogen removal of anammox cultures under different enrichment conditions. **Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering** 45(14): 1832-1838.

Weerasekan, N. A., K.H. Choo and C.H. Lee. 2014. Hybridization of physical cleaning and quorum quenching to minimize membrane biofouling and energy consumption in a membrane bioreactor. **Water Research** 67:1-10.

Yin, N., Z. Zhong and W. Xing. 2013. Ceramic membrane fouling and cleaning in ultrafiltration of desulfurization wastewater. **Desalination** 319: 92–98.

การตรวจสอบค่า PFD_{avg} ของฟังก์ชันนิรภัยที่มีเงื่อนไขการทำงานโดยใช้เซตส่วนตัดขั้นต่ำ

PFD_{avg} Verification of the Conditional Safety Function based on Minimal Cut Set

ณัฐวดี เทียมธรรมวงศ์[1*] ทวิช ชูเมือง[2] วิทยา ทิพย์สุวรรณพร[1] และ อาจินต์ น่วมสำราญ[1]

Nattawadee Thiemthummawong[1*], Twitch Chumuang[2], Vittaya Tipsuwanporn[1] and Arjin Numsomran[1]

บทคัดย่อ

ค่าเฉลี่ยความผิดพลาดอันตรายเมื่อต้องการใช้งานหรือ PFD_{avg} มีบทบาทสำคัญต่อความน่าเชื่อถือและความปลอดภัยของระบบนิรภัย การตรวจสอบค่า PFD_{avg} ในการศึกษาก่อนหน้านี้มีข้อจำกัดในการประยุกต์ใช้กับการทำงานของฟังก์ชันนิรภัยที่มีเงื่อนไข ทำให้ผลลัพธ์จากการคำนวณมีค่าไม่เป็นจริงด้วยสาเหตุจากการวิเคราะห์เงื่อนไขทำงานที่ไม่ถูกต้อง งานวิจัยฉบับนี้นำเสนอวิธีการคำนวณค่า PFD_{avg} ที่สอดคล้องกับมาตรฐาน IEC 61508-6 และครอบคลุมการทำงานที่มีเงื่อนไขโดยใช้เซตส่วนตัดขั้นต่ำที่พิจารณาตามเงื่อนไขการทำงานจริงของฟังก์ชันนิรภัย ส่งผลให้วิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถประยุกต์ใช้ได้กับทุกรูปแบบการจัดวาง รวมไปถึงสามารถอธิบายการทำงานของฟังก์ชันที่มีเงื่อนไขและให้ค่า PFD_{avg} ที่มีความถูกต้องกว่าวิธีการอื่น

ABSTRACT

Average probability of dangerous failure on demand or PFD_{avg} plays a key role in reliability and safety of SIS. However, in the previous studies, PFD_{avg} verification had a limitation to apply with conditional safety function and the studies result calculated the estimated PFDavg value that was not a realistic value due to the error of conditional analysis. Therefore, this research presented the PFD_{avg} calculation which complied with IEC 61508-6 and covered safety condition by using minimal cut set determined by each requirement of safety instrumented function. So the proposed new method can be applied with all architectures of the safety function. In conclusion, this developed method provides the solution for the conditional safety function problems and gives more accuracy PFD_{avg} value than the other methods.

Key Words: average probability of dangerous failure on demand, safety instrumented function, minimal cut set, safety condition, nonrandom failure, reliability, IEC 61508

*Corresponding author; e-mail address: nattawadee.th@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมการวัดคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Instrument Engineering, Faculty of Engineering, KMITL, Bangkok 10520

[2]รองธุรกิจวิศวกรรม บริษัท พีทีที เมนเทนแนนซ์ แอนด์ เอนจิเนียริ่ง จำกัด ระยอง 21150

[2]Deputy Engineering Business, PTT Maintenance and Engineering Co.,Ltd., Rayong 21150

คำนำ

ระบบวัดคุมนิรภัย (Safety instrumented system; SIS) มีบทบาทสำคัญต่อความน่าเชื่อถือและความปลอดภัยของกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม เนื่องจากประกอบไปด้วยฟังก์ชันนิรภัย (Safety instrumented function; SIF) หลายฟังก์ชันทำหน้าที่ป้องกันการเกิดเหตุการณ์อันตรายที่ส่งผลกระทบต่อคน ทรัพย์สิน อุปกรณ์และสิ่งแวดล้อม โดยแต่ละฟังก์ชันสามารถลดความเสี่ยงของแต่ละส่วนของกระบวนการให้ไปสู่ความปลอดภัยหรือความเสี่ยงที่ยอมรับได้ด้วยการทำงานตามเงื่อนไข ซึ่งมีระดับความปลอดภัย (Safety integrity level; SIL) เป็นตัวชี้วัดถึงความพร้อมหรือความน่าเชื่อถือในการทำงานของฟังชันก์เมื่อมีความต้องการใช้งาน

การปรับปรุง SIL ของฟังก์ชันนิรภัยให้ดีขึ้นสามารถทำได้โดยการกำหนดรูปแบบการจัดวาง (Architecture) ของการทำงานแบบซ้ำซ้อน (Redundant) แล้วตรวจสอบ SIL ในรูปค่าเฉลี่ยความผิดพลาดอันตรายเมื่อต้องการใช้งาน (Average probability of dangerous failure on demand; PFD_{avg}) ที่ขึ้นกับโหมดการทำงานของระบบตามมาตรฐาน IEC 61508/61511 (2010/2003) โหมดการทำงานมีทั้งหมด 2 โหมดคือ โหมดความต้องการต่ำ (Low demand mode) และโหมดความต้องการสูง (High demand mode) แต่อย่างไรก็ตามระบบในกระบวนการผลิตทั่วไปมักอยู่ในโหมดความต้องการต่ำ เนื่องจากมีความถี่ที่ต้องการใช้งานระบบ SIS น้อยกว่าหนึ่งครั้งต่อปีหรือ 2 เท่าของช่วงเวลาในการทดสอบ

มาตรฐาน IEC 61508-6 (2010) นำเสนอการตรวจสอบ SIL ของกลุ่มอุปกรณ์ซ้ำซ้อนโดยกำหนดสูตรในการคำนวณ PFD_{avg} ที่มีการจัดวางแบบ KooN (K out of N) พื้นฐานคือ 1oo1, 1oo2, 1oo3, 2oo2 และ 2oo3 ซึ่งเป็นการจัดวางที่พบได้ทั่วไปในกระบวนการทางอุตสาหกรรม โดยในรูปแบบการจัดวางที่นอกเหนือจากนี้ยังมีการนำเสนอด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น การวิเคราะห์แขนงความผิดพลาด (Fault tree analysis) (ISA-TR84.00.02, 2002) และรูปแบบมาร์คอฟ (Markov model) (Zhang *et al.*, 2003) แต่ผลลัพธ์ที่ได้ไม่สอดคล้องกับสูตรตาม IEC 61508-6 และถึงแม้ว่าการใช้การลดระดับของระบบ (System degradation) (Ding *et al.*, 2014) และสูตรทั่วไปของการจัดวางแบบ KooN (Innal, 2008; Rausand, 2014; Jahanian, 2015) ในการคำนวณ PFD_{avg} จะให้ผลลัพธ์ตรงกับมาตรฐาน แต่ก็ยังไม่สามารถประยุกต์ใช้กับฟังก์ชันที่ไม่สุ่มความผิดพลาด (Nonrandom failure) ได้ ในปี 2011 Catelani *et al.* ศึกษาขั้นตอนอย่างง่ายในการวิเคราะห์ PFD_{avg} โดยวิธีการนี้สามารถประยุกต์ใช้กับความผิดพลาดแบบไม่สุ่ม แต่สูตรและการประยุกต์ใช้ยังนำเสนอได้ไม่ถูกต้องกับการใช้งานจริงรวมไปถึงวิธีการของ Chung (2016) ที่จัดกลุ่มอุปกรณ์ที่ทำงานร่วมกันด้วยบล็อกไดอะแกรมความน่าเชื่อถือ (Reliability block diagram; RBD) แล้วคำนวณ PFD_{avg} ด้วยสูตรตามมาตรฐาน ซึ่งเทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ความผิดพลาดแบบไม่สุ่มได้ แต่ยังไม่มีการนำเสนอวิธีการวิเคราะห์ที่ชัดเจน

บทความนี้นำเสนอถึงวิธีการวิเคราะห์และคำนวณค่า PFD_{avg} ที่พัฒนาขึ้นใหม่ด้วยการใช้เซตส่วนตัดขั้นต่ำ (Minimal cut set; MCS) ซึ่งให้ผลลัพธ์ที่สอดคล้องกับมาตรฐาน IEC 61508-6 และสามารถวิเคราะห์การทำงานของฟังก์ชันที่ไม่สุ่มการเกิดความผิดพลาดหรือมีเงื่อนไขได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เทอมและสมมติฐาน

เพื่อให้เข้าใจบทความอย่างถูกต้อง จึงมีการกำหนดความหมายของเทอมที่ใช้ในบทความดังนี้

Table 1 Terms

Abb.	Term	Abb.	Term
PFD_{avg}	Average probability of dangerous failure on demand	β	Fraction of undetected failure that have common cause
PFD_{IND}	Independent PFD_{avg}	β_D	Fraction of detected failure that have common cause
PFD_{CCF}	Common cause PFD_{avg}	t_i	The mean of i th downtime of voted group
τ	Proof test interval	t_{CE}	The mean of 1st downtime of voted group $(t_{CE} = t_1)$
MRT	Mean time to restoration	t_{GE}	The mean of 2nd downtime of voted group $(t_{GE} = t_2)$
$MTTR$	Mean repair time $(MTTR = MRT + \text{Time to detect failure})$	t_{G2E}	The mean of 3rd downtime of voted group $(t_{G2E} = t_3)$
λ_D	Dangerous failure rate $(\lambda_D = \lambda_{DD} + \lambda_{DU})$	DC	Diagnostic Coverage $(DC = \lambda_{DD}/\lambda_D)$
λ_{DD}	Detected dangerous failure rate	$1ooM$	1 out of M voted group
λ_{DU}	Undetected dangerous failure rate	$KooN$	K out of N voted group

และมีการกำหนดสมมติฐานเบื้องต้นเพื่อจำกัดขอบเขตของการคำนวณ PFD_{avg} ดังต่อไปนี้ โดยสมมติฐานนอกเหนือจากนี้สามารถอ้างอิงได้จาก Annex B ของมาตรฐาน IEC 61508-6 (2010)

a) อัตราความผิดพลาดคงที่ตลอดอายุการทำงานของระบบ

b) อุปกรณ์ทุกตัวในกลุ่มโหวตมีอัตราความผิดพลาดและความสามารถในการวินิจฉัยเท่ากัน

c) แต่ละฟังก์ชันนิรภัยจะมีการทดสอบและการซ่อมแซมที่สมบูรณ์ นั่นคือความผิดพลาดที่ตรวจจับไม่ได้จะถูกตรวจจับได้ทั้งหมดผ่านการทดสอบ

d) อุปกรณ์ทุกตัวในกลุ่มโหวตมีช่วงเวลาในการทดสอบและ MRT เท่ากัน

e) สำหรับอุปกรณ์ที่มีการวินิจฉัยตัวเอง ความผิดพลาดที่ตรวจจับไม่ได้จะถูกตรวจจับและซ่อมแซมภายในช่วงเวลา MTTR และเนื่องจากเวลาที่ใช้ในการตรวจจับมีค่าน้อยมากจึงทำให้ MTTR มีค่าประมาณ MRT

f) ความผิดพลาดของอุปกรณ์ตัวใดตัวหนึ่งไม่ส่งผลให้เกิดความผิดพลาดกับอุปกรณ์ตัวอื่นๆ ยกเว้นความผิดพลาดร่วม (Common cause failure; CCF)

2. การวิเคราะห์ PFD_{avg} สำหรับการจัดวางแบบ 1ooM

$$PFD_{avg,1ooM} = \frac{(\lambda_{DU}\tau)^M}{M+1} \quad (1)$$

สูตร PFD_{avg} อย่างง่ายสำหรับการจัดวางแบบ 1ooM (1 out of M) ได้ถูกนำเสนอโดย Rausand (2014) ดังสมการที่ (1) โดยสมมติให้อุปกรณ์แต่ละตัวในกลุ่มโหวตไม่มีการวินิจฉัยอุปกรณ์ $(\lambda_D = \lambda_{DU})$ รวมถึงไม่พิจารณาการซ่อมแซมและความผิดพลาดร่วม $(PFD_{avg,1ooM} = PFD_{IND,1ooM})$ และสามารถจัดรูปสมการใหม่ได้ดังสมการที่ (2) สังเกตว่าสมการนี้ประกอบด้วย 3 เทอมหลักคือจำนวนอุปกรณ์, อัตราความผิดพลาด และช่วงเวลาอุปกรณ์ไม่ทำงานเฉลี่ย โดยเทอมหลักนี้จะปรับเปลี่ยนรูปไปเมื่อข้อสมมติข้างต้นมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้

$$PFD_{avg,1ooM} = PFD_{IND,1ooM} = M! \times (\lambda_{DU})^M \times \prod_{i=1}^{M}\left(\frac{\tau}{i+1}\right) \quad (2)$$

2.1 การพิจารณาความสามารถในการวินิจฉัยและการซ่อมแซม ซึ่งส่งผลต่ออัตราความผิดพลาด $(\lambda_D = \lambda_{DU} + \lambda_{DD})$ และการเพิ่มช่วงเวลาอุปกรณ์ไม่ทำงาน สมการที่ (2) จึงมีการปรับเปลี่ยนไปดังนี้

$$PFD_{avg,1ooM} = PFD_{IND,1ooM} = M! \times (\lambda_{DU} + \lambda_{DD})^M \times \prod_{i=1}^{M}(t_i) \quad (3)$$

โดยที่ $t_i = \frac{\lambda_{DU}}{\lambda_D}\left(\frac{\tau}{i+1} + MRT\right) + \frac{\lambda_{DD}}{\lambda_D} MTTR$

2.2 การพิจารณาความผิดพลาดร่วม จะมีการกล่าวถึงเมื่อใช้อุปกรณ์มากกว่า 2 ตัวในกลุ่มโหวต ค่า β และ β_D แสดงความน่าจะเป็นที่กลุ่มอุปกรณ์จะเกิดความผิดพลาดร่วมซึ่งสามารถเขียนได้ดังสมการที่ (4) โดยอัตราความผิดพลาดที่ไม่รวมอยู่ในอัตราความผิดพลาดร่วมจะถูกใช้ในการคำนวณ PFD_{avg} ของความผิดพลาดอิสระดังสมการที่ (5) ดังนั้นสูตร PFD_{avg} ของการจัดวางแบบ 1ooM จึงมีการเปลี่ยนแปลงไปดังสมการที่ (6)

$$PFD_{CCF} = \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D\lambda_{DD}MTTR \quad (4)$$

$$PFD_{IND,1ooM} = M! \times ((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD})^M \times \prod_{i=1}^{M}(t_i) \quad (5)$$

$$PFD_{avg,1ooM} = PFD_{IND,1ooM} + PFD_{CCF} \quad (6)$$

3. การคำนวณค่า PFD_{avg}

การวิเคราะห์ความน่าเป็นที่อุปกรณ์ในกลุ่มโหวตเกิดความผิดพลาดสามารถนำมาใช้ในการประเมินค่า PFD_{avg} โดยกลุ่มอุปกรณ์ที่เกิดความผิดพลาดอันตรายที่ตรวจจับไม่ได้พร้อมกันแล้วทำให้ฟังก์ชันไม่พร้อมทำงานเรียกว่าเซตส่วนตัด (Cut Set) ส่วนเซตส่วนตัดที่ลดอุปกรณ์แล้วฟังก์ชันยังสามารถทำงานได้เรียกว่าเซตส่วนตัดขั้นต่ำ (Rausand and Høyland, 2004) การวิเคราะห์เซตส่วนตัดขั้นต่ำของการจัดวางแบบพื้นฐานจะได้ผลลัพธ์ดัง Table 2 ซึ่งสมมติให้ตัวเลขภายในเซตบ่งบอกถึงหมายเลขของอุปกรณ์

Table 2 Minimal cut set of basic architecture

Architecture	Hardware Fault Tolerance (HFT)	Minimal Cut Set
1oo1	None	{1}
2oo2	None	{1}, {2}
1oo2	1	{1, 2}
1oo3	2	{1, 2, 3}
2oo3	1	{1, 2}, {1, 3}, {2, 3}

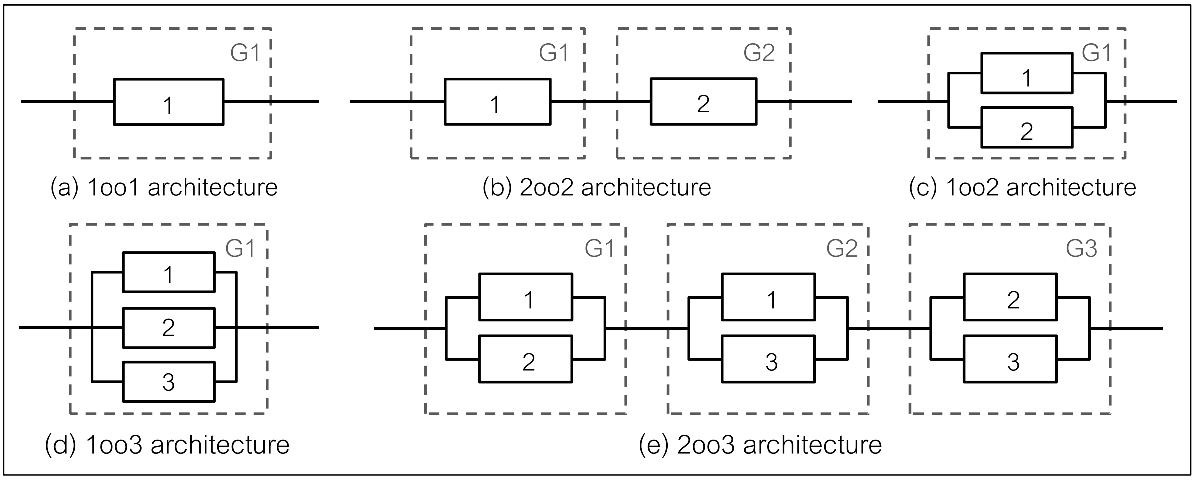


Figure 1 Reliability block diagrams from minimal cut set analysis

เซตส่วนตัดขั้นต่ำข้างต้นสามารถเขียนเป็น RBD (Figure 1) โดยบล็อกของอุปกรณ์ที่อยู่ในเซตเดียวกันจะต่อแบบขนาน ในขณะที่บล็อกของเซตที่อยู่ในการจัดวางเดียวกันจะต่อแบบอนุกรม ซึ่งสูตร PFD_{avg} ของการจัดวางแบบพื้นฐานสามารถสร้างจาก RBD ได้ดังสมการที่ (7) ถึง (11)

Table 3 PFD_{avg} equation of basic architecture

Architecture	Average probability of dangerous failure on demand (PFD_{avg})
1oo1 (No CCF effect)	$= PFD_{IND,G1} + PFD_{CCF} = PFD_{IND,1oo1} + PFD_{CCF}$ $= (\lambda_{DU} + \lambda_{DD}) t_{CE}$ (7)
2oo2 (No CCF effect)	$= PFD_{IND,G1} + PFD_{IND,G2} + PFD_{CCF} = 2\,PFD_{IND,1oo1} + PFD_{CCF}$ $= 2(\lambda_{DU} + \lambda_{DD}) t_{CE}$ (8)
1oo2	$= PFD_{IND,G1} + PFD_{CCF} = PFD_{IND,1oo2} + PFD_{CCF}$ $= 2\,((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD})^2 t_{CE} t_{GE} + \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D \lambda_{DD} MTTR$ (9)
1oo3	$= PFD_{IND,G1} + PFD_{CCF} = PFD_{IND,1oo3} + PFD_{CCF}$ $= 6\,((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD})^3 t_{CE} t_{GE} t_{G2E} + \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D \lambda_{DD} MTTR$ (10)
2oo3	$= PFD_{IND,G1} + PFD_{IND,G2} + PFD_{IND,G3} + PFD_{CCF} = 3\,PFD_{IND,1oo2} + PFD_{CCF}$ $= 6\,((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD})^2 t_{CE} t_{GE} + \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D \lambda_{DD} MTTR$ (11)

4. การประยุกต์ใช้งานกับกรณีศึกษาที่มีเงื่อนไขการทำงาน

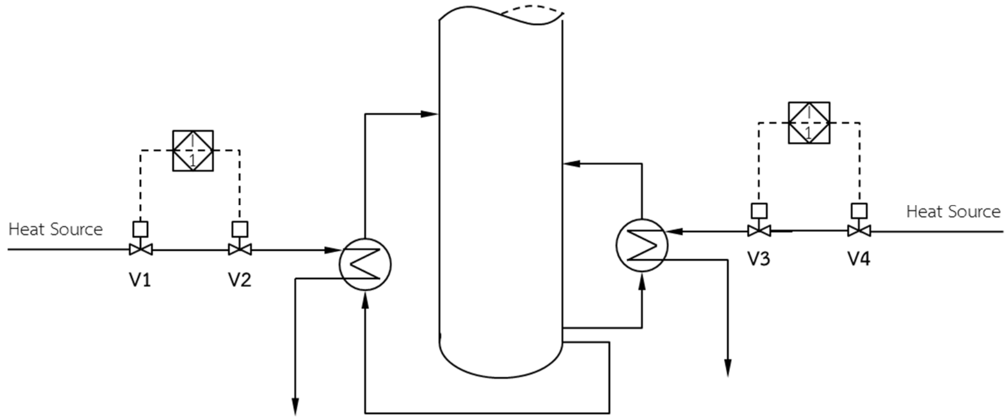


Figure 2 Heat source cutting system of two reboilers for distillation column

กรณีนี้ศึกษาการตรวจสอบ PFD_{avg} ของอุปกรณ์สุดท้ายนั่นคือวาล์วนิรภัย จากกระบวนการ (Figure 2) มีเครื่องต้มซ้ำ 2 ตัวทำหน้าที่เพิ่มอุณหภูมิและย้อนกลับ (Reflux) สารผลิตภัณฑ์เข้าหอกลั่น โดยใช้วาล์วนิรภัยตัดแหล่งให้ความร้อนเมื่อเงื่อนไขกระบวนการ (Process Condition) ผิดปกติ ซึ่งวาล์วจะปิดพร้อมกันด้วยคำสั่ง I-1 ดังนั้นระบบการตัดแหล่งให้ความร้อนจะพร้อมทำงานก็ต่อเมื่อมีวาล์วอย่างน้อย 2 จาก 4 ตัวพร้อมทำงาน จึงสามารถวิเคราะห์ HFT ได้เท่ากับ 2 และตีความว่ากลุ่มวาล์วนิรภัยนี้มีการจัดวางแบบ 2oo4 ที่มีเซตส่วนตัดขั้นต่ำดังแถวบนของ Table 4 แต่อย่างไรก็ตามกรณีศึกษานี้ยังมีเงื่อนไขการทำงานมากกว่านั้น เนื่องจากวาล์ว 2 จาก 4 ตัวที่พร้อมทำงานต้องไม่ทำงานบนท่อสายเดียวกัน เซตส่วนตัดขั้นต่ำปรับใหม่ดังแถวล่างของ Table 4

Table 4 Minimal cut sets of heat source cutting system

Architecture	Minimal Cut Set
2oo4	{V1, V2, V3}, {V1, V2, V4}, {V1, V3, V4}, {V2, V3, V4}
2oo4 with Safety Condition	{V1, V2}, {V3, V4}

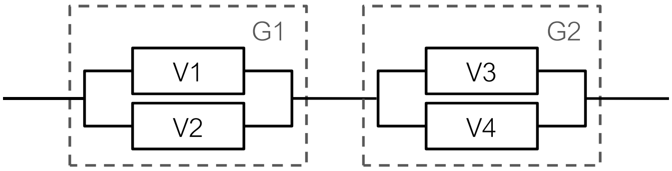


Figure 3 Reliability block diagrams of 2oo4 architecture with safety condition

เซตส่วนตัดขั้นต่ำของการจัดวางแบบ 2oo4 ที่มีเงื่อนไขถูกนำมาใช้ในการสร้าง RBD (Figure 3) ซึ่งส่งผลให้สมการ PFD_{avg} จากการวิเคราะห์ RBD และการประยุกต์ใช้สมการที่ (6) สามารถเขียนได้ดังสมการต่อไปนี้

$$PFD_{avg} = PFD_{IND,G1} + PFD_{IND,G2} + PFD_{CCF}$$

สังเกตว่ารูปแบบการจัดวางของ G1 และ G2 เป็นแบบ 1oo2 และจากสมมติฐานตามข้อ b) กับ d) จึงทำให้ $PFD_{avg,1oo2} = PFD_{IND,G1} = PFD_{IND,G2}$ ซึ่งแทนค่าในสมการข้างต้นได้ว่า

$$\begin{aligned} PFD_{avg} &= 2\,PFD_{IND,1oo2} + PFD_{CCF} \\ &= 2\left(2\left((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD}\right)^2 t_1 t_2\right) + \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D\lambda_{DD}MTTR \\ &= 4\left((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD}\right)^2 t_{CE}t_{GE} + \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D\lambda_{DD}MTTR \qquad (12) \end{aligned}$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

Table 5 Comparison of PFD_{avg} equation of case study

Method	Average probability of dangerous failure on demand (PFD_{avg})
This Paper	$4\left((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD}\right)^2 t_{CE}t_{GE} + \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D\lambda_{DD}MTTR$
IEC 61508-6 (2010)	None
Chung (2016)	$4\left((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD}\right)^2 t_{CE}t_{GE} + 2\beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + 2\beta_D\lambda_{DD}MTTR$ (13)
Jahanian (2015) (2oo4 Arcitecture)	$24\left((1-\beta)\lambda_{DU} + (1-\beta_D)\lambda_{DD}\right)^3 t_{CE}t_{GE}t_{G2E} + \beta\lambda_{DU}\left(\frac{\tau}{2} + MRT\right) + \beta_D\lambda_{DD}MTTR$ (14)

จากหัวข้อที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบสมการผลลัพธ์จากวิธีการในบทความนี้ (Table 3) กับสูตรทั่วไปตาม IEC 61508-6 (2010) พบว่าสมการทั้งสองเท่ากัน จึงสามารถกล่าวได้ว่าการคำนวณ PFD_{avg} โดยใช้เซตส่วนตัดขั้นต่ำสอดคล้องกับมาตรฐาน นอกจากนั้นวิธีการที่นำเสนอนี้ถูกประยุกต์ใช้กับกรณีศึกษาที่มีการทำงานแบบไม่สุ่มหรือมีเงื่อนไขในหัวข้อที่ 4 โดยพบว่าผลลัพธ์ที่ได้ทั้งในรูปของสมการและเชิงตัวเลขมีความแตกต่างกับวิธีการอื่นๆ

จากการเปรียบเทียบผลลัพธ์เชิงสมการ (Table 5) พบว่าไม่มีสูตรตามมาตรฐาน IEC 61508-6 ที่ครอบคลุมรูปแบบการจัดวางของกรณีศึกษานี้ และเมื่อสังเกตสมการที่ (13) พบว่ามีการคำนวณความผิดพลาดร่วมซ้ำซ้อน ซึ่งปกติความผิดพลาดร่วมจะถูกคิดเพียงแค่ครั้งเดียวเนื่องจากความผิดพลาดนี้จะส่งผลกับอุปกรณ์ทั้งหมดในกลุ่มโหวตแล้วทำให้ฟังก์ชันเกิดความผิดพลาด ด้วยเหตุนี้ PFD_{avg} จากวิธีการของ Chung (2016) จึงมีค่าสูงหรือประเมินความปลอดภัยของฟังก์ชันนิรภัยต่ำกว่าความจริง โดยอ้างอิงจากการเปรียบเทียบผลลัพธ์เชิงตัวเลข (Figure 4) ที่กำหนดอัตราความผิดพลาดอันตรายตาม Annex B ในมาตรฐาน IEC 61508-6 (2010)

$MTTR = MRT = 8$ h, $\tau = 8640$ h, $\beta = 10\%$, $\beta_D = 5\%$ and $DC = 90\%$

Figure 4 Comparison of the numerical PFD_{avg} value of case study

อีกทั้งผลลัพธ์ตามวิธีการของ Jahanian (2015) ที่เป็นการวิเคราะห์แบบสุ่มความผิดพลาดยังมีค่าต่ำหรือประเมินความปลอดภัยของฟังก์ชันนิรภัยสูงกว่าความจริง แต่อย่างไรก็ตามถ้าเลือกใช้อุปกรณ์ที่มีอัตราความผิดพลาดต่ำ จะทำให้ PFD_{avg} จากวิธีการที่พัฒนาและวิธีการของ Jahanian (2015) ใกล้เคียงกัน (Figure 4) ทั้งนี้เนื่องจาก PFD_{CCF} มีค่ามากกว่า PFD_{IND} อย่างมาก (Table 6)

Table 6 Comparison of PFD_{IND}, PFD_{CCF} and PFD_{avg} value

Dangerous Failure Rate	This Paper			Jahanian (2015)			$\left\|\frac{(2)-(1)}{(2)}\right\|$
	PFD_{IND}	PFD_{CCF}	PFD_{avg} (1)	PFD_{IND}	PFD_{CCF}	PFD_{avg} (2)	
5E-08	1.163E-09	2.182E-06	2.183E-06	7.386E-14	2.182E-06	2.182E-06	5.330E-04
2.5E-07	2.908E-08	1.091E-05	1.094E-05	9.233E-12	1.091E-05	1.091E-05	2.664E-03
5E-07	1.163E-07	2.182E-05	2.193E-05	7.386E-11	2.182E-05	2.182E-05	5.327E-03
2.5E-06	2.908E-06	1.091E-04	1.120E-04	9.233E-09	1.091E-04	1.091E-04	2.656E-02
5E-06	1.163E-05	2.182E-04	2.298E-04	7.386E-08	2.182E-04	2.183E-04	5.295E-02
2.5E-05	2.907E-04	1.091E-03	1.381E-03	9.233E-06	1.091E-03	1.100E-03	2.558E-01

สรุป

การวิเคราะห์และคำนวณค่าเฉลี่ยความผิดพลาดอันตรายเมื่อต้องการใช้งานหรือ PFD_{avg} ด้วยวิธีการเซตส่วนตัดขั้นต่ำสามารถสร้างสมการใหม่ที่สอดคล้องกับสูตรตามมาตรฐาน IEC 61508-6 และยังครอบคลุมรูปแบบการจัดวางที่ไม่มีการกำหนดสูตรในมาตรฐาน เช่น การจัดวางแบบ KooN และการจัดวางแบบมีเงื่อนไขการทำงานหรือไม่สุ่มการเกิดความผิดพลาด และเนื่องจากวิธีการที่นำเสนอนี้พิจารณาไปตามเงื่อนไขการทำงานของฟังก์ชันนิรภัย จึงสามารถประยุกต์ใช้กับทุกรูปแบบการจัดวางและให้ผลลัพธ์ที่เหมาะสมกับการทำงานจริงของฟังก์ชันมากกว่าวิธีการอื่นๆ ซึ่งให้ผลลัพธ์ที่สูงหรือต่ำเกินไปเนื่องจากการวิเคราะห์การทำงานที่ไม่ถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

Cetelani M., Ciani L. and Luongo V. 2011. A Simplified Procedure for the Analysis of Safety Instrumented Systems in the Process Industry Application. **Microeletronics Reliability** 51: 1503-1507.

Chung S., Kim S. and Yang Y. 2016. Use of Hazardous Event Frequency to Evaluate Safety Integrity Level of Subsea Blowout Preventer. **International Journal of Naval Architecture and Ocean Engineering** 8: 262-276.

Ding L., Wang H., Kang K. and Wang K. 2014. A Novel Method for SIL Verification based on System Degradation Using Reliability Block Diagram. **Reliability Engineering & System Safety** 132: 36-45.

IEC 61508. 2010. **Functional Safety of Electrical/Electronic/Programmable Electronic Safety-Related Systems.** The International Electrotechnical Commission, Geneva.

IEC 61511. 2003. **Functional Safety – Safety Instrumented Systems for the Process Industry Sector.** The International Electrotechnical Commission, Geneva.

Innal F. 2008. **Contribution to Modelling Safety Instrumented Systems and to Assessing Their Performance: Critical Analysis of IEC 61508 Standard.** Ph.D. Thesis, University of Bordeaux.

ISA-TR84.00.02-2002 – Part 3. 2002. **Safety Instrumented Functions (SIF) – Safety Integrity Level (SIL) Evaluation Techniques Part 3: Determining the SIL of a SIF via Fault Tree Analysis.** The Instrumentation, System, and Automation Society, United States of America.

Jahanian H. 2015. Generalizing PFD Formulas of IEC 61508 for KooN Configurations. **ISA Transactions** 55: 168-174.

Rausand M. 2014. **Reliability of Safety-Critical Systems: Theory and Applications.** John Wiley & Sons, New Jersey.

Rausand M. and Høyland A. 2004. **System Reliability Theory: Models, Statistical Methods and Applications.** 2^{nd} ed. John Wiley & Sons, New Jersey.

Zhang T., Long W. and Sato Y. 2003. Availability of Systems with Self-diagnostic Components – Applying Markov Model to IEC 61508-6. **Reliability Engineering & System Safety** 80: 133-141.

การศึกษามีดตีร้อนพื้นถิ่นเปรียบเทียบลักษณะการใช้งานประจำวันในท้องถิ่น

Vernacular Knife Wisdom Comparative Study of Daily Use in Local Areas

ณัฏฐกฤษฏ์ ศุภกรพินธคุปต์[1*]

Nattakrist Supakornpinthakoopt[1*]

บทคัดย่อ

มีดของมีคมที่ใช้งานในชีวิตประจำวัน ดูผิวเผินเหมือนจะไม่มีประโยชน์ใช้สอย (function) หรือการใช้งานที่ซับซ้อน นอกเหนือไปจากการตัด การหั่น การเฉือน เท่านั้น แต่เมื่อสืบค้นและลองลงพื้นที่ตามท้องถิ่นต่าง ๆ ก็ได้ประจักษ์ถึงความหลากหลายเชิงสร้างสรรค์การออกแบบมีดตีร้อน จากช่างพื้นถิ่นที่ประยุกต์ ดัดแปลง ปรับปรุงจนมีรูปแบบรูปลักษณ์เฉพาะทาง ซึ่งมีดพื้นถิ่นบางครั้งสะท้อนและบ่งบอกถึงวัฒนธรรมของท้องถิ่นนั้นได้ด้วย

ในการศึกษาเปรียบเทียบมีดตีร้อนพื้นถิ่นครั้งนี้ นอกจากจะได้หลักการและเหตุผลของการออกแบบสร้างสรรค์ที่สอดคล้องกับประโยชน์ใช้สอยตรงการใช้งานในแต่ละด้านแล้ว ยังสามารถสืบโยงไปถึงวิถีชีวิต สังคมชนบท และรากเหง้าทางวัฒนธรรมของพื้นถิ่นนั้น ๆ ถือเป็นเรื่องราวเนื้อหาที่สำคัญสามารถนำไปสู่การต่อยอดทางภูมิปัญญาด้านอื่น ๆ ได้

ABSTRACT

Knives are normally used for cutting and slashing in daily activities. The local survey and research have found variety of vernacular knife's design (interviewed with blacksmiths). Blacksmith apply their development design and workmanship to these knives. Some knives represent lifestyle and the local culture from their origin places.

This comparative study of vernacular knife wisdom reveals basic ideas that lead to effective functions. The results also connect to the local life style and the root of vernacular culture, which could enable further developed in related culture wisdom in the future.

Key Words: Knife, Knife design

*Corresponding author; e-mail address: nattakrist_s@rmutt.ac.th, wonderhui@yahoo.com

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

[1]Division of Architectural Technology Faculty of Architecture, Rajamangala University of Technology Thanyaburi Pathumthani

คำนำ

มีดพื้นถิ่นที่ใช้ตามบ้านเรือนในท้องถิ่นต่าง ๆ ถูกออกแบบโดยช่างตีมีดร้อนพื้นบ้าน ซึ่งปรับปรุงพัฒนารูปแบบจากประสบการณ์ การใช้งานจริง ลองผิดลองถูกจากรุ่นสู่รุ่น รูปทรงแหลม เพรียว หนักแน่น เส้นสายโค้ง มน เว้า ต่าง ๆ ล้วนเป็นจังหวะทางศิลปะที่ถูกสร้างสรรค์ขึ้น ตั้งแต่มือจับ (ด้าม) สู่ใบมีด และจากใบมีดสู่ปลายมีดตามหน้าที่การใช้งาน การศึกษาครั้งนี้พบมีดพื้นถิ่นที่แปลกตา ทั้งขนาด รูปร่าง รูปทรง เนื้อเหล็ก ความคม ความเว้า ความแหลม สมดุล แนวจุดศูนย์ถ่วง ซึ่งถูกเจียระไนไปพร้อม ๆ กันด้วย ศาสตร์ทางวิศวกรรมศาสตร์ทางศิลปะเป็นการบูรณาการภายใต้ภูมิปัญญา ของช่างพื้นถิ่นที่คิดค้นตามลักษณะการใช้งาน ออกแบบสร้างสรรค์อย่างตรงไปตรงมา มีเสน่ห์ และสวยงามอย่างเรียบง่าย มีดในท้องถิ่นของไทยนิยมใช้วัสดุต่าง ๆ ที่หาได้ง่าย โดยเฉพาะเหล็ก เช่นเหล็กแหนบเป็นเหล็กที่มีคุณสมบัติแข็งและเหนียว (สืบศรี 2555)

มีดปาดตาลในท้องที่ที่มีวัฒนธรรมการเก็บตาล มีลักษณะบาง น้ำหนักเบา ลับคมได้ดี เพื่อการปาดงวงตาล จึงเป็นมีดที่ได้รับการดูแลเป็นพิเศษกว่ามีดชนิดอื่น ในวัฒนธรรมการเก็บน้ำตาลจากตาลโตนด (จากการลงพื้นที่สำรวจข้อมูล อำเภอบ้านลาด เมื่อ 2556)

ที่ตำบลม่วงหวาน จังหวัดขอนแก่น เป็นแหล่งที่มีเตาตีมีดร้อนมากว่า 60 ปี จากการสัมภาษณ์ช่างเสนช่างตีมีดพบว่า ปัจจุบันเตาตีมีดในตำบลม่วงหวานมีจำนวนลดลงเนื่องจากมีช่างตีมีดลดลง แต่ปริมาณความต้องการมีดของบ้านม่วงหวานมีสูง มีพ่อค้าคนกลางเข้ามารับมีดไปขายจนไม่มีมีดค้างอยู่ที่เตาตีมีดเลย จากการสังเกตพบว่าลักษณะมีดใช้งานของตำบลม่วงหวานมีน้ำหนักมากจุดศูนย์กลางมวลของมีดอยู่ใกล้ปลายมีดการใช้งานลักษณะเหวี่ยงฟันจะให้โมเมนต์สูง เนื่องจากโมเมนต์เกิดจากแรงคูณระยะทางที่ตั้งฉากกับจุดหมุน การที่มีดมีน้ำหนักมากในการเหวี่ยงฟันจึงมีแรงเฉื่อยและโมเมนต์มาก วัสดุที่ใช้ในงานตีมาจากเหล็กแหนบ จานผานรถไถนา เหล็กบาร์เลื่อนยนต์ เหล็กตะไบ (จากการลงพื้นที่สำรวจข้อมูล ที่ตำบลม่วงหวาน เมื่อ 2556)

ในวัฒนธรรมการใช้มีดของชาวญี่ปุ่นเองก็มีการใช้มีดในการทำงานเฉพาะอย่างชัดเจน เช่น มีดสำหรับแล่เนื้อปลา มีดสำหรับหั่นเนื้อปลา มีดสำหรับหั่นเส้นโซบะ มีดสำหรับหั่นใบหม่อน (การศึกษาที่ Sakai Hamono Museum 2556)

โครงการวิจัยนี้ต้องการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะจากภูมิปัญญา ความคิดสร้างสรรค์จากช่างตีมีดพื้นถิ่นที่ดัดแปลง ปรับเปลี่ยนการออกแบบมีดตีร้อนด้วยเทคนิคเฉพาะตัวและความชำนาญ ซึ่งถือเป็นภูมิปัญญาที่ต้องผสมผสานระหว่างความสมดุลทางวิศวกรรมและความงามเชิงศิลปะ รูปแบบที่ตอบสนองการใช้งานที่ได้เป็นองค์ประกอบที่มีเสน่ห์และงดงาม สามารถนำแนวทางไปต่อยอด ประยุกต์ใช้ในการออกแบบเชิงสร้างสรรค์ด้านอื่น ๆ ได้ในอนาคต

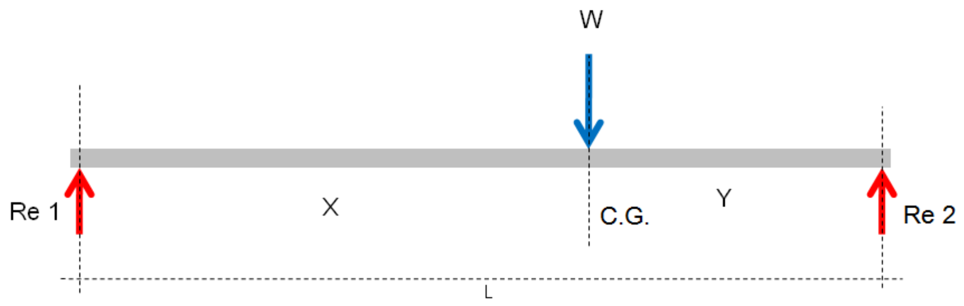
อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บข้อมูลของมีดและการหาแนวศูนย์กลางของมีด

ในงานวิจัยชิ้นนี้ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลมีดพื้นถิ่นที่ได้จากพื้นที่ต่าง ๆ ในประเทศไทย โดยเป็นมีดที่มีการใช้งานแล้วและมีดที่ขายในตลาดภายในท้องที่ต่าง ๆ ซึ่งกรณีของมีดที่มีประโยชน์ใช้สอยเฉพาะ จะทำการสอบถามและบันทึกข้อมูลจากแหล่งที่มานั้น ๆ

ลักษณะทางกายภาพของมีดนั้นจะใช้การสังเกตและบันทึกภาพจากเทคนิคและวัสดุที่เป็นองค์ต่าง ๆ ของมีด ควบคู่ไปกับการเก็บข้อมูลรูปร่างรูปทรงของมีด โดยการวัดขนาดและถ่ายภาพ นอกจากนี้ยังทำการชั่ง

น้ำหนักเพื่อบันทึกน้ำหนักของมีด รวมไปถึงการหาแนวศูนย์ถ่วงตามขวางของมีดโดยการวางมีดพาดปลายด้านใดด้านหนึ่งไว้บนตราชั่งที่ละข้างแล้วจึงนำข้อมูลน้ำหนักที่ได้ มาเปรียบเทียบกับน้ำหนักทั้งหมดของมีด ซึ่งสามารถใช้หลักการของสัดส่วนระหว่างแรงปฏิกิริยาที่ฐานทั้งสองข้างมาคำนวณหาระยะของแนวศูนย์ถ่วง



$$Re1\ (X+Y) = WY \qquad (1)$$

$$X+Y = L \qquad (2)$$

Figure 1 Concept of C.G. calculation.

Figure 2 Knife "Meed nep"

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของการทดสอบการรับกำลังวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์

ความชำนาญของช่างตีมีดร้อน ได้ประมาณน้ำหนักในตำแหน่งต่าง ๆ ตลอดความยาวของใบมีดและคำนึงถึงน้ำหนักขององค์ประกอบอื่น ๆ ที่จะเข้ามาประกอบเป็นตัวมีดภายหลัง โดยมีความสัมพันธ์กับหน้าที่และประโยชน์ใช้สอยของมีด หากพิจารณาตามแนวศูนย์ถ่วงพบว่าโดยส่วนใหญ่มีดจากทางภาคอีสานจะมีเลยแนวศูนย์ถ่วงห่างจากด้ามจับไปมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบมีดจากทางภาคเหนือซึ่งมีน้ำหนักที่มีความสมดุล นับเป็นความสามารถทางกลศาสตร์ ที่สั่งสมมาในวัฒนธรรมที่แผงในตัวช่างตีมีดพื้นถิ่น สะท้อนผ่านมีดออกมา

Table 1 Content of Knife data

No.	Black smith	Origin	Part of Thailand	Length (cm)	Range from hand grip (cm)	Proportion of range from hand grip/length	Weight (g)	Reaction force (g) at the end of knife
1		Surin	NE	54.3	27.2	50	626.8	314.4
2	Somchai	Pangmapha, Maehongson	N	48.4	24.7	51	576.2	294.2
3	Lorh	Lom Sak, Phetchabun	NE	39.5	17.6	45	463.2	206.2
4		Nongphai, Phetchabun	C	48.5	25.9	53	435.2	232.6
5		Thali, Loei	NE	54.5	32.6	60	710.2	425.2
6		Nongphai, Phetchabun	C	49.5	26.3	53	613.4	325.4
7		Nongphai, Phetchabun	C	41.5	21.2	51	338	172.6
8		Muangwhan, Khon Kaen	NE	48	28.4	59	653.4	386.6
9	Roon	Lom Sak, Phetchabun	C	42	20.5	49	392.8	191.8
10		Chiang Mai	N	44.3	22	50	389	193.4
11		Muangwhan Khon Kaen	NE	49.2	28.8	59	767	449.5

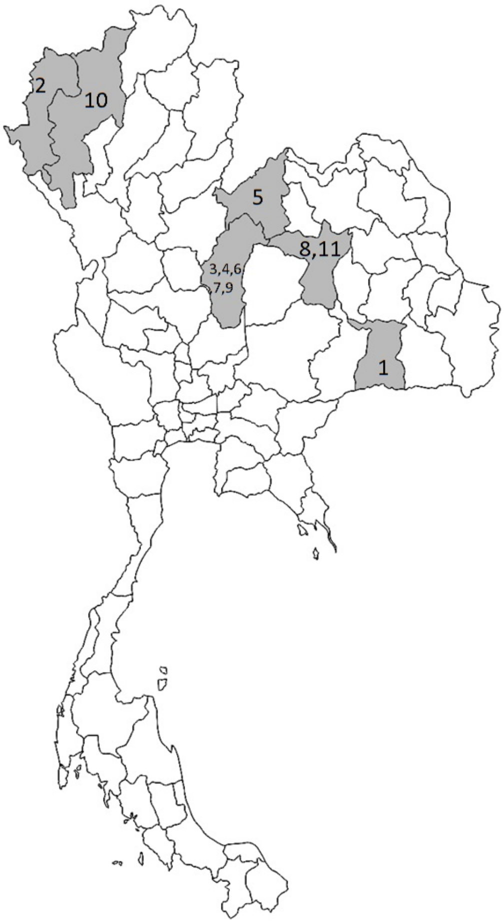


Figure 3 Map of vernacular knife sources.

Figure 4 Variety of knives.

ประเภทและลักษณะเฉพาะของมีด

1. มีดเหน็บ

จุด A ปลายแหลม

- ใช้สำหรับแทง เจาะรู ใช้กับงานล่าสัตว์ เกษตรกรรม

จุด B ใบมีดส่วนที่ป่อง

- ใช้สำหรับการตัด ฟันทุกประเภท เช่น ตัดแล่เนื้อสัตว์ ฟันไม้ ตัดฟืน ฟันเถาวัลย์พืชเนื่องจากมีความกว้าง และมีน้ำหนักมากที่สุด ทำให้มีการเหวี่ยงฟัน (Moment) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จุด C ใบมีดส่วนที่คอด

- ใช้สำหรับการเหลาไม้ ปลอกเปลือก ผ่าตอกไผ่ และงานที่ต้องการความประณีตละเอียด สามารถความคุมมีดได้ง่ายเพราะคมมีดบริเวณนี้อยู่ใกล้ด้ามมีด นอกจากนี้ส่วนคอดจะรักษาความคมได้ดีเนื่องจากไม่ค่อยเสียคมจากการใช้ตัดฟันอย่างหนัก

จุด D ด้ามมีด

- ถูกสร้างสรรค์ให้แข็งแรง และยืดหยุ่น โดยการเลือกใช้ไม้เนื้อแข็งที่มีความเหนียวหรือไม้ไผ่ ที่สามารถดูดซับแรงกระแทกที่เกิดจากการใช้งาน ทำให้ช่วยลดการสะท้านมือ และมีความยาวเพียงพอที่จับถือใช้งานได้อย่างเหมาะสม
- มีดเหน็บใช้การต่อด้ามแบบเข้า"กั่น" (กั่นคือหางมีดเรียวยาวที่เป็นชิ้นเดียวกับใบมีดใช้การเผาแล้วฝังเสียบเข้าไปในด้ามมีดยึดด้วยครั่งหรือพลาสติกที่ละลายจากการเผากั่น) ในบางสถานการณ์สามารถเคาะถอดด้ามมีดเพื่อต่อกับด้ามหรือลำไผ่ที่มีความยาว เพื่อปรับเปลี่ยนการใช้งานเป็นหอกได้

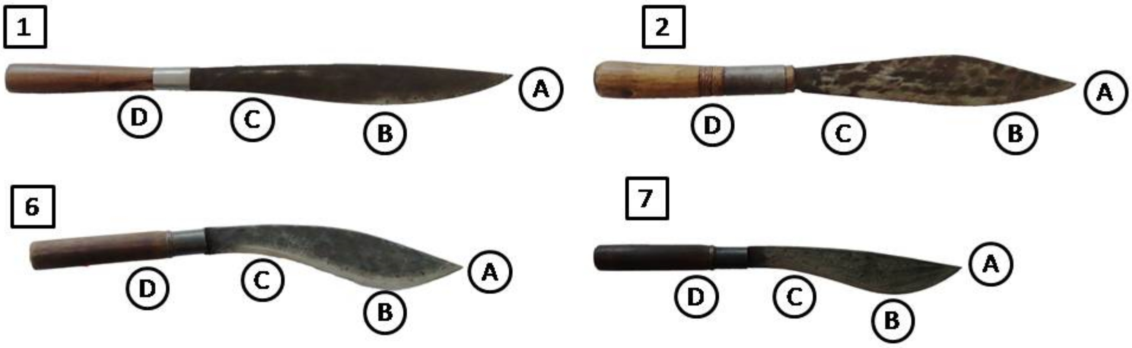


Figure 5 pictures of knife "Meed neb"

2. มีดใบตาย

จุด A B C เป็นส่วนที่ใช้งานมีดคล้ายคลึงกับมีดเหน็บ

จุด E ด้ามมีด ใช้การขึ้นรูปเป็นเนื้อเดียวกันต่อเนื่องกันกับใบมีด จึงมีคุณลักษณะ แข็งแรง ทำให้ด้ามมีดทนทานต่อการแรงกระแทกในการใช้งานหนักได้ แต่ทำให้มีการส่งแรงกระแทกจากด้ามมีดมาสู่มือผู้ใช้งานโดยตรง ทำให้เกิดการสะท้านมือมากกว่ามีดที่มีการเข้าด้ามด้วยกั่น

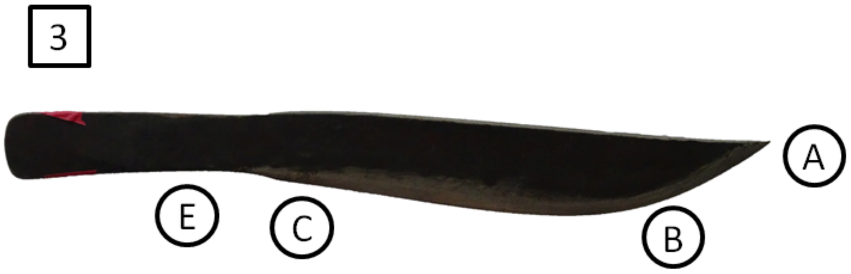


Figure 6 Pictures of fix knife

3. มีดหัวกระต่าย

จุด F ปลายมีดด้านสัน มีเหงี่ยง สำหรับใช้เกี่ยวโน้มพืชเถา หรือการเก็บเกี่ยวที่ต้องใช้โน้มกิ่ง

จุด G H ใบมีดปลายด้านคมโค้งมน G เป็นโค้งต่อเนื่องยาวถึงท้องมีด H ใช้สำหรับฟันพืชประเภทเถาที่มีลักษณะอ่อนเหนียว

Figure 7 Pictures of Hua Kratai knife (Rabbit knife)

4. มีดหัวตัด/มีดพร้า

จุด I J ใบมีดค่อนข้างยาวเริ่มจากบริเวณด้ามจับใบมีดจะแคบ และขยายกว้างขึ้นบริเวณปลายใบมีด ที่ปลายมีดมีลักษณะตัดตรงและเว้าโค้งจุด ชนิดที่ปลายเว้าโค้ง(ที่จุด I) สามารถปรับใช้ในการขุดดิน เป็นมีดที่เหมาะสำหรับตัดหญ้า ถางพง ลักษณะใบมีดจึงถูกออกแบบให้มีความยาว น้ำหนักเหมาะสมในการหวดฟันได้ดี

จุด K ด้ามมีดถูกสร้างสรรค์ออกแบบให้มีความยาว สอดคล้องกับลักษณะการใช้งานแบบหวดฟันในวงกว้าง เพื่อส่งแรงเหวี่ยงไปสู่ใบมีดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการหวดฟันและมีรัศมีกว้าง

Figure 8 Pictures of end flat knife

4. มีดม้ง

จุด ใช้เพื่อล่าสัตว์ แทงคอสัตว์ และใช้ เจาะรู ปลายแหลม L

จุด M N โดยรวมมีขนาดพอเหมาะไว้พกติดตัว และใช้งานเสมือนกลุ่มมีดเหน็บแต่การออกแบบสร้างสรรค์ รูปร่าง ส่วนป่อง ส่วนคอด และน้ำหนัก ไม่ได้เอื้อต่อการใช้งานเหมือนกลุ่มมีดเหน็บ เพียงแต่รูปร่างสามารถเก็บเข้าฝัก และพกติดตัวได้

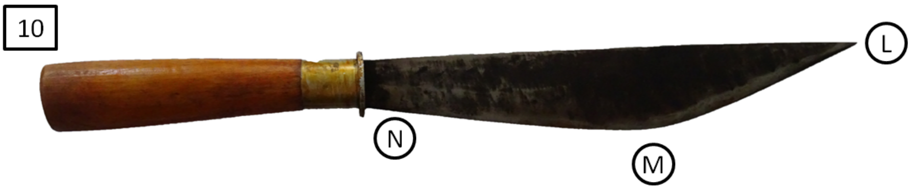


Figure 9 pictures of Hmong knife

สรุป

มีดตีร้อนพื้นถิ่น เป็นงานประดิษฐ์คิดค้นสร้างสรรค์ที่มีรายละเอียดที่มาซึ่งอธิบายการใช้สอยได้ ยิ่งสืบค้นรูปแบบและแนวคิดของการออกแบบ ยิ่งจะได้คำตอบของภูมิปัญญาช่างไทยพื้นบ้าน จากการศึกษาสามารถทราบถึงเหตุผลในการประดิษฐ์ส่วนต่าง ๆ ของมีดพื้นถิ่น ซึ่งล้วนแต่เป็นการสร้างสรรค์ เพื่อประโยชน์และการใช้งานในชีวิตประจำวัน อันเป็นที่มาของรูปทรง น้ำหนัก ความยาว ส่วนโค้ง ส่วนเว้า หัวมน หัวตัด ปลายแหลม หรือปลายมีขอเกี่ยว ฯลฯ

นอกจากนี้การสุ่มเก็บรวบรวมข้อมูลจากแหล่งต่าง ๆ ยังสามารถเชื่อมโยงไปสู่ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการประดิษฐ์ สร้างสรรค์ทางภูมิปัญญาของช่างพื้นถิ่น กล่าวคือจากการทดสอบหาจุดศูนย์ถ่วงของมีดตีร้อนพื้นถิ่น พบว่า มีดตัวอย่างจากภาคอีสาน มีจุดศูนย์ถ่วงค่อนไปทางปลายมีด ทำให้เกิดโมเมนต์ (โมเมนต์ในที่นี้คือแรงคูณระยะทางจากจุดศูนย์ถ่วงไปถึงจุดหมุนหรือด้ามมีด)มากเมื่อเหวี่ยงฟัน การออกแบบเช่นนี้ทำให้มีดทางภาคอีสานสามารถฟันไม้เนื้อแข็งได้ดี เช่น ไม้เต็งรัง ซึ่งไม้ทางภาคอีสานส่วนมากจะมีความแข็งแกร่งกว่าภูมิภาคอื่นตามสภาวะอากาศที่แล้งและแห้งกว่า

ดังนั้นผู้ศึกษาเก็บข้อมูล ถือว่าการศึกษามีดตีร้อนพื้นถิ่นในครั้งนี้ ได้รายละเอียดทางภูมิปัญญาที่ช่างท้องถิ่นได้ประดิษฐ์คิดค้น บางเรื่องสืบทอดและแก้ปัญหา ปรับปรุงเชิงการใช้สอยมาแต่อดีต บางเรื่องก็เป็นผลจากสภาพวัสดุดิบ (ไม้) ตามภูมิภาค เสมือนเป็นศิลปวิทยาการที่มีรากฐาน และวิถีทางวัฒนธรรม การดำรงชีวิตของชาวบ้านที่สืบทอดมาแต่อดีต และแฝงไปด้วยกลไลในการแก้ปัญหาอันเป็นประโยชน์ต่อการสร้างสรรค์และการออกแบบที่ดีต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์ จุลพร นันทพานิช ที่ให้คำแนะนำให้ข้อมูลการเกี่ยวกับมีดพื้นถิ่น รวมไปถึงมีความกรุณามอบมีดม้ง (หมายเลข11) ซึ่งผู้วิจัยได้นำมาใช้ประกอบเป็นข้อมูลในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

การศึกษาที่ Sakai Hamono Museum (พิพิธภัณฑ์ที่จัดแสดงการผลิตมีดแบบฉบับดั้งเดิมของเมืองซาไก) จังหวัดโอซาก้า ประเทศญี่ปุ่น วันที่ 29 พฤษภาคม 2556.

สัมภาษณ์ ช่างเสน **ตำบลม่วงหวาน** อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น 3 กุมภาพันธ์ 2556.

สำรวจพื้นที่ **อ.บ้านลาด** จ.เพชรบุรี 6 เมษายน 2556.

สืบศรี คำอุไร 2555. **เรื่องของมีด**. อินเตอร์ พับลิชชิ่ง เอ็นเตอร์ไพรส์, กรุงเทพฯ.

วัสดุพาราฟินเสริมเส้นใยสำหรับหุ่นจำลองโครงสร้าง

Fiber Reinforced Paraffin for Structural Model

ชวาน พรรณดวงเนตร[1*]

Schwan Pundoangnetr[1*]

บทคัดย่อ

การศึกษาความสามารถในการเสริมแรงของวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตอลไลน์แวกซ์ในอัตราส่วน 1:7 โดยน้ำหนัก ด้วยการหล่อผสมกับเส้นใยที่สามารถจัดวางทิศทางของแนวเส้นใยได้ทำการทดสอบในลักษณะการรับแรงของ คาน ขนาดหน้าตัด 1x2 เซนติเมตร ยาว 15 เซนติเมตร โดยเลือกเส้นใยมาทดสอบจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ไส้เทียน ไหมพรม ไหมพรมเรียบ ด้ายปัก และด้ายเย็บ ซึ่งเป็นที่หาได้ง่าย พบว่าเส้นใยช่วยเพิ่มประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับพาราฟินที่ไม่ได้เสริมแรงด้วยเส้นใยได้ โดยด้ายปักช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้สูงถึง 3.88 เท่า

ABSTRACT

The study of ability of the Paraffin with Microcrystalline wax in a ratio of 1: 7 by weight by casting mixed with long fibers that the direction can be set. The test was to measure strength of the reinforced paraffin beam size 1x2 cm and 15 cm long using five fibers which are candlewick, knitting wool, smooth knitting wool, embroidery thread, and sewing thread. The strength of reinforced paraffin improves compared to mixed paraffin without fiber. The embroidery thread improves the reinforce paraffin performance up to 3.88 times.

Key Words: fiber, reinforced paraffin, structural model

*Corresponding author; e-mail address: **schwan_p@rmutt.ac.th, schwan.p@gmail.com**

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12110

[1]Division of Architectural Technology, Faculty of Architecture, Rajamangala University of Technology Thanyaburi Pathumthani

คำนำ

พาราฟินผสมไมโครคริสตอลไลน์แวกซ์ในอัตราส่วน 1:7 โดยน้ำหนัก เป็นวัสดุที่เมื่อเกิดการวิบัติจะมีการเปลี่ยนรูปและสามารถสังเกตรอยร้าวได้ชัดเจน (ชวาน, 2557) จึงถูกนำมาใช้ในการเรียนของวิชาเทคโนโลยีโครงสร้าง คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และวิชาหลักการออกแบบโครงสร้าง โครงการอสังหาริมทรัพย์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โครงการวิจัยนี้ได้พัฒนาวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตอลไลน์แวกซ์ โดยนำมาผสมกับวัสดุประเภทเส้นใยที่สามารถจัดวางทิศทางของแนวเส้นใยได้ เพื่อหาความสามารถในการเสริมแรงของพาราฟินด้วยเส้นใย ดังการเสริมแรงวัสดุที่ใช้ในการหล่อบางประเภท เช่น การผลิตคอนกรีตบางรูปแบบจะเสริมการรับแรงด้วยเส้นใยเช่นคอนกรีตเสริมใยแก้ว (glass reinforced concrete : GRC) หรือ เป็นการผสมใยแก้วในชิ้นส่วนคอนกรีตประดับตกแต่ง ใยแก้วนั้นยังใช้เป็นส่วนผสมสำคัญในการผลิตชิ้นงานเรซิ่นไฟเบอร์ที่มีความแข็งแรงและเบา ในการขึ้นรูปเรซิ่นไฟเบอร์นั้นสามารถใช้วัสดุเส้นใยอื่นเป็นส่วนผสมได้ เช่น ผ้าอะรามิดหรือชื่อทางการค้า คือ เคฟล่า หรือในกรณีของการทดสอบนำฝุ่นเส้นใยกระดาษผสมน้ำแล้วนำไปแช่แข็งของ (Bastian, 2010) จากการทดสอบทำให้ทราบว่าฝุ่นเส้นใยกระดาษสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการรับกำลังอัดให้กับวัสดุได้ถึง 30 เท่าตัว

การนำวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตอลไลน์แวกซ์มาผสมกับวัสดุประเภทเส้นใยที่สามารถจัดวางทิศทางของแนวเส้นใยได้นั้น ก็เพื่อให้มีลักษณะคล้ายกับการรับแรงของคาน ตง อกไก่ และอเส ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่รับแรงดัดสำคัญของโครงสร้างไม้ (มนัส, 2539) เนื่องจากไม้เป็นวัสดุที่เกิดจากการเจริญเติบโตของพืช เนื้อไม้คือผนังเซลล์พืชที่ตายแล้ว ประกอบไปด้วยเซลลูโลสและลิกนิน โดยมีทิศทางของเซลล์ทอดยาวไปตามความยาวลำต้น (กวี, 2546) จึงมีทิศทางของแนวเซลล์หรือแนวเสี้ยนไม้ชัดเจน คล้ายกับลักษณะวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตอลไลน์แวกซ์มาผสมกับวัสดุประเภทเส้นใยที่สามารถจัดวางทิศทางของแนวเส้นใยได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การขึ้นรูปวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์และเส้นใย

วัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์และเส้นใยสำหรับการทดสอบใช้สัดส่วนพาราฟินต่อไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์ 7:1 โดยน้ำหนัก และใช้เส้นใยที่เป็นเส้นยาวโดยพิจารณาจากเส้นในที่หาได้ง่าย จำนวน 5 ชนิด ประกอบไปด้วย ไส้เทียน ไหมพรม ไหมพรมเรียบ ด้ายปัก ด้ายเย็บ ซึ่งเป็นเส้นใยที่สามารถดูซึมพาราฟินเหลวได้ดี ค่าการรับแรงดึงของไส้เทียนสามารถรับแรงดึงได้ 12.6 กิโลกรัม และไหมพรม ไหมพรมเรียบ ด้ายปัก ด้ายเย็บสามารถรับแรงดึงได้ 3.8, 3.4, 2.4, 1.6 กิโลกรัม ตามลำดับ ทำการหล่อโดยวางเส้นใยให้เต็มปริมาตรของแบบหล่อแล้วราดด้วยวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์เหลวเพื่อให้เส้นใยดูดซึม แล้วจึงทิ้งไว้ให้พาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์แข็งตัว โดยใช้ขนาดการทดสอบขนาด 1x2 เซนติเมตร ยาว 15 เซนติเมตร (Figure 1) โดยทำการเปรียบเทียบกับวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์ที่ไม่ได้เสริมแรงด้วยเส้นใย

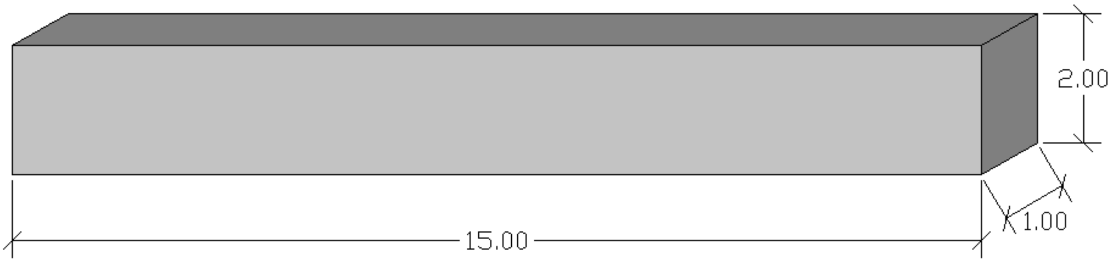


Figure 1 Form of fibers reinforced beam for testing.

การทดสอบความสามารถในการเสริมแรงของเส้นใย

การทดสอบสภาพการวิบัติเนื่องจากแรงดัดกระทำโดยการวางชิ้นทดสอบไว้บนฐานรองรับสองข้างและเพิ่มน้ำหนักแบบจุด (point load) จนเกิดการวิบัติ (ค่าการรับน้ำหนักตีกลับลดลงจากค่าสูงสุด) เพื่อให้ทราบลักษณะความวิบัติที่เกิดขึ้น เพื่อเปรียบเทียบกับวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์ที่ไม่ได้เสริมแรงด้วยเส้นใยใดว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้มากขึ้นเท่าใดและสังเกตลักษณะการวิบัติที่เกิดขึ้น

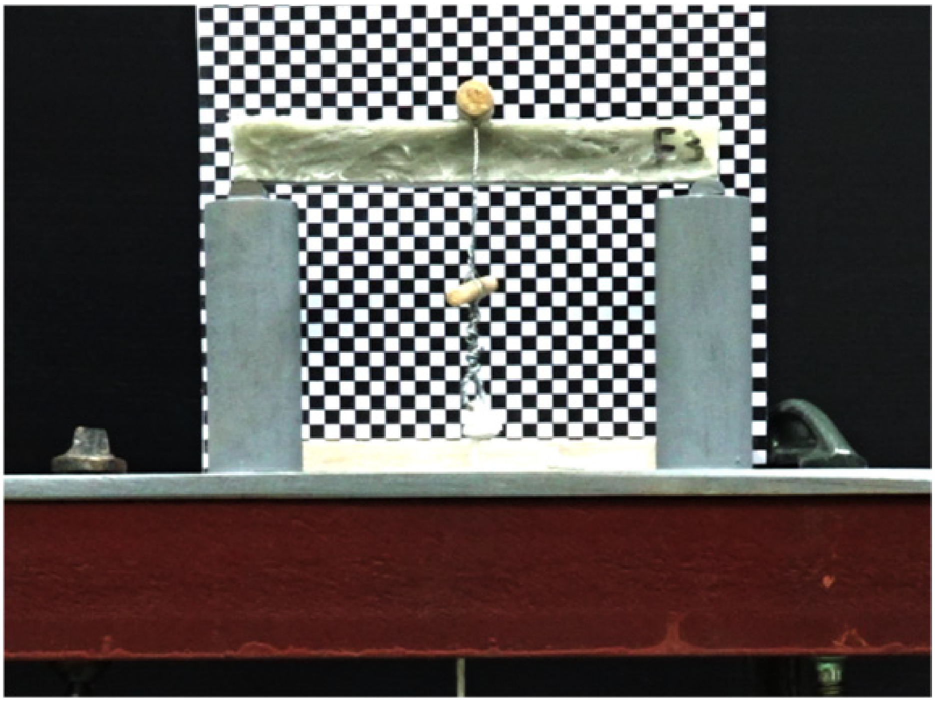


Figure 2 A setting of strength of fibers reinforced bending test.

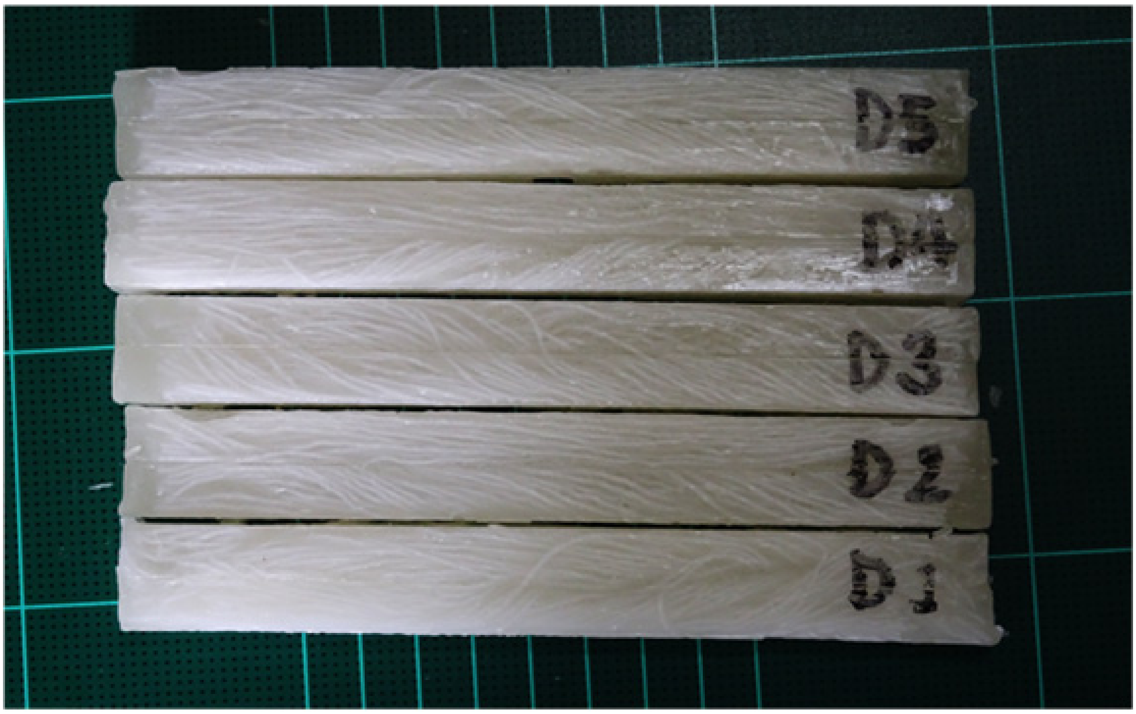


Figure 3 Pieces of fiber reinforced bending for testing.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของการทดสอบการรับกำลังวัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์

จากการทดสอบความสามารถในการเสริมแรงของวัสดุพาราฟินผสม เสริมแรงด้วยการหล่อผสมกับเส้นใยที่สามารถจัดวางทิศทางของแนวเส้นใยได้ โดยใช้อัตราส่วนพาราฟินต่อไมโครคริสตอลไลน์แวกซ์ กับ 1:7 โดยน้ำหนัก ทำการหล่อผสมกับ ไส้เทียน ไหมพรม ไหมพรมเรียบ ด้ายปัก ด้ายเย็บ พบว่าพาราฟินผสมไมโครคริสตอลไลน์แวกซ์ที่ไม่ได้ผสมเส้นใยสามารถรับน้ำหนักที่กึ่งกลางคานได้เฉลี่ย 5.54 กิโลกรัม เมื่อทดสอบวัสดุที่ทำการเสริมเส้นใยพบว่า ไส้เทียนสามารถรับน้ำหนัก 13.36 กิโลกรัม ไหมพรมสามารถรับน้ำหนัก 10.16 กิโลกรัม ไหมพรมเรียบสามารถรับน้ำหนัก 14.26 กิโลกรัม ด้ายปักสามารถรับน้ำหนัก 21.50 กิโลกรัม และด้ายเย็บสามารถรับน้ำหนัก 16.30 กิโลกรัม

Table 1 Strength of fiber reinforced bending test results

	Load (kg)						
Fibers	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	Average (kg)	Performance improved (times)
Without Fiber	5.2	5.4	5.6	5.8	5.7	5.5	1.00
Candlewick	13.2	13.7	12.7	13.8	13.4	13.4	2.41
Knitting wool	10.7	10.5	10.2	10.2	9.2	10.2	1.83
Smooth knitting wool	13.2	13.8	14.6	15.2	14.5	14.3	2.57
Embroidery thread	22.6	20.2	22.7	22.7	19.3	21.5	3.88
Sewing thread	15.9	16.7	16.7	16.7	15.5	16.3	2.94

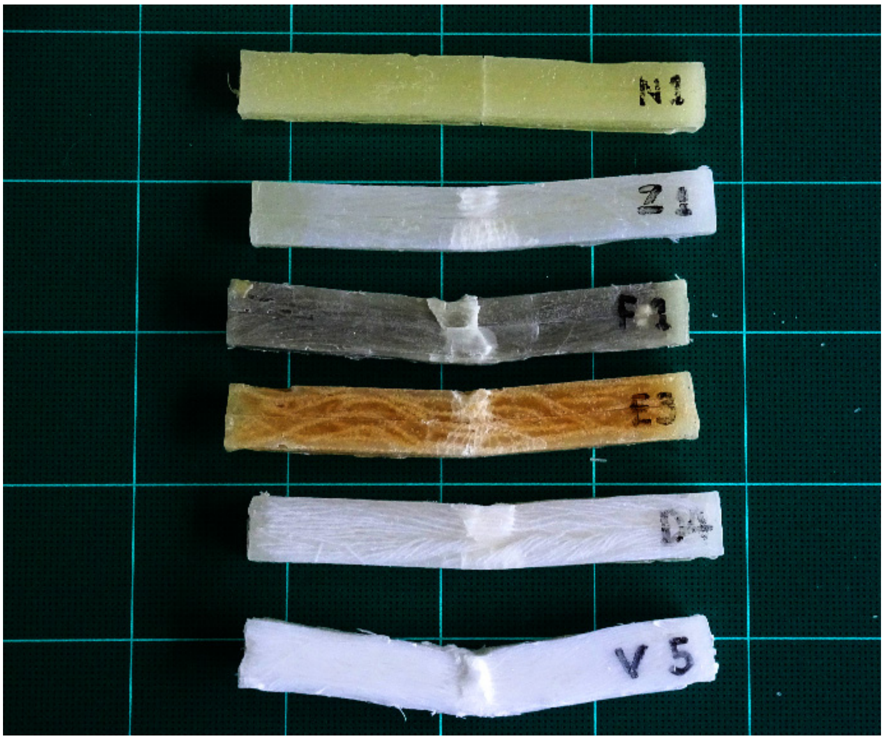


Figure 4 Pieces of fiber reinforced bending after test.

สรุป

จากการทดสอบ วัสดุพาราฟินผสมเสริมแรงด้วยด้ายปักสามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้สูงสุด 3.88 เท่า ส่วนวัสดุเส้นใยอื่น ๆ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้ โดยด้ายเย็บ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้ 2.94 เท่า ไหมพรมเรียบ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้ 2.57 เท่า ไส้เทียน ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้ 2.41 เท่า ไหมพรม ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้ 1.83 เท่า จึงสามารถใช้วัสดุเส้นใยในการเสริมแรงให้กับวัสดุพาราฟินผสมในกรณีที่ต้องการเสริมแรงได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. ดำรงศักดิ์ รินชมภู อาจารย์ประจำคณะสถาปัตยกรรมศาสตร์และการผังเมือง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำในและร่วมใช้วัสดุพาราฟินผสมไมโครคริสตัลไลน์แวกซ์ในการสอน รายวิชาวิชาหลักการออกแบบโครงสร้างโครงการอสังหาริมทรัพย์

เอกสารอ้างอิง

กวี หวังนิเวศน์กุล. 2546. **วัสดุวิศวกรรมก่อสร้าง**. ซีเอ็ดยูเคชั่น, กรุงเทพฯ

ชวาน พรรณดวงเนตร. 2558. **วัสดุพาราฟินผสมสำหรับหุ่นจำลองทางโครงสร้าง**, การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 53 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มนัสอนุศิริ. 2539. **การออกแบบโครงสร้างไม้และเหล็ก.** ซีเอ็ดยูเคชั่น, กรุงเทพฯ

Siddiqui and Andreas Bastian. 2010. The Mechanical Properties of Select Formulations of Pykrete Augmented with an Emulsifier in Uniaxial Compression. แหล่งที่มา: https://www.eliangtan.com/assets/pdfs/coursework/ib/Pykrete.pdf ตุลาคม 2558

การออกแบบและสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วย

Design and Creation of Rolling Machine for Banana Tree Fiber

<u>วิมล บุญรอด</u>[1*] ณชพร รัตนาภรณ์[1] และ วาสณา บุญส่ง[1]

<u>Wimon Boonrawd</u>[1*], Nachaporn Rattanaporn[1] and Wassana Boonsong[1]

บทคัดย่อ

การวิจัยเรื่องการออกแบบและสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วยในครั้งนี้ผู้วิจัยพบปัญหาว่าในกระบวนการจักสานผลิตภัณฑ์จากเชือกกล้วยจะมีขั้นตอนหนึ่งที่ล่าช้าเสียเวลาคือขั้นตอนการรีดเชือกกล้วยให้แบนเรียบมีความสม่ำเสมอกันทั้งเส้นและความหนาหลังการรีดต้องหนาเท่ากันทุกๆ เส้นนั้นทำได้ยากต้องใช้เวลาและแรงงานมาก ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วยเพื่องานหัตถกรรมโดยจะใช้ลูกกลิ้งหมุนเข้าหากันใช้ต้นกำลังจากมอเตอร์ปรับเปลี่ยนระยะห่างของลูกกลิ้งได้เพื่อให้ได้ความหนาตามที่ต้องการ หลังจากสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วยแล้ว ได้สาธิตการทำงานของเครื่องให้ผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 5 ท่าน ประเมินคุณภาพใน 3 ด้าน คือ ด้านโครงสร้าง ด้านการใช้งาน และด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จากการนำผลประเมินนำมาวิเคราะห์ พบว่าเครื่องรีดเชือกกล้วยมีคุณภาพอยู่ในระดับคุณภาพดีมากทั้งในภาพรวมและแต่ละด้าน การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเครื่อง สอดคล้องกับสมมติฐานที่ตั้งไว้ คือ ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์เส้นดีจากการรีดด้วยเครื่องรีดเชือกกล้วย มีค่าเท่ากับ 97.77%

ABSTRACT

This research aims to design and create the rope rolling machine, which is made from banana tree fiber. Erewhile, in the basket making process was delayed in the state of rope rolling to be flat and also consistent throughout the entire rope. In addition, the thickness must be equal with same size in each rope. Hence, this rolling process took more time to implement and needed more manpower to roll the rope made from banana tree fiber. Therefore, the machine used for rolling a banana tree fiber was designed and created by using drum rolling. The proposed rolling machine was driven by a power motor with rollers that could be adjusted for the distance depending on the thickness of banana tree fiber feed. After the proposed machine was constructed, it was evaluated by the 5 experts for its quality and performance which was divided into 3 parts; 1) structure 2) performance and 3) quality of product outcome. The finding indicated that the proposed rope rolling machine achieved the overall quality at very good level of 97.77%

Key Words: Design, Roller, Banana Tree Fiber

*Corresponding author; e-mail address: **Wimonmie@gmail.com**

[1]คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 90000

[1]Faculty of Industrial Education and Technology Rajamangala University of Technology Srivijaya 90000

คำนำ

เชือกกล้วย เป็นเส้นใยจากพืชที่สามารถนำมาทำเครื่องจักรสานได้ มีความแข็งแรงและทนทานกว่าหวาย เก็บรักษาโดยการเก็บไว้ในที่ร่ม ไม่ให้โดนแดด การนำเชือกกล้วยมาจักสานเป็นผลิตภัณฑ์ที่สร้างสรรค์จากใยกล้วย จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความเหนียว และคงทนอย่างมาก เช่น กระเป๋า ตะกร้า ถาด หมวกต่าง ๆ ปัจจุบันได้รับความนิยมอย่างมากทั้งในประเทศและในต่างประเทศ (สมชาย, 2553) กลุ่มแม่บ้านการเคหะสงขลาผลิตภัณฑ์ก้านธูปฤาษีซึ่งมีนางสมพร นกแก้ว เป็นประธานกลุ่ม ได้มีการนำเชือกกล้วยมาทำเป็นผลิตภัณฑ์จักสาน โดยกระบวนการนำเชือกกล้วยมาทำผลิตภัณฑ์นั้นจะเริ่มจากกระบวนการคัดเลือกพันธุ์กล้วยโดยกล้วยที่เลือกใช้คือกล้วยตานีเนื่องจากเส้นใยจะเหนียวไม่ขาดง่าย (วารี, 2556) จากนั้นจะตัดส่วนจากโคนของก้านใบลงมาประมาณ 15 ซม.เหลือไว้แต่เฉพาะลำต้น ลอกเอากาบของลำต้นข้างนอกที่มีสีเขียวทิ้งเอาเฉพาะสีขาว แล้วกรีดให้กว้างประมาณ 15 เซนติเมตร ออกเป็นเส้นๆ นำไปตากให้แห้งหรือจะใช้วิธีการอบก็ได้ นำไปรีดให้เป็นเส้นแบนโดยใช้ไม้กดรีดไปตามเส้น จากนั้นจึงนำไป สานขึ้นรูปตามรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (ดารณี, 2544)

จากการสำรวจงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเครื่องรีดวัตถุดิบทางด้านเกษตร เช่น การสร้างและทดสอบเครื่องรีดกล้วยตาก (ชัยยันต์และสุทธิชัย, 2544) งานวิจัยดังกล่าวเป็นการสร้างและทดสอบเครื่องรีดกล้วยตาก ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องได้แก่ 1) ลูกกลิ้งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 76.2 มิลลิเมตร (3 นิ้ว) หนา 6.35 มิลลิเมตร (1/4 นิ้ว) ยาว 30 เซนติเมตร 2 ชุด ทำด้วยท่อพีวีซี ลูกกลิ้งชุดแรกกลึงผิวเรียบให้ลึกลงไป 3 มิลลิเมตรแล้วเสริมแผ่นพีวีซีให้เป็นฟันจำนวน 6 ซี่ เพื่อช่วยในการเพิ่มแรงเสียดทานในการลำเลียงกล้วยตากและลดความหนาลงก่อนที่จะผ่านสู่ลูกกลิ้งชุดที่ 2 ซึ่งกลึงผิวเรียบให้ลึกลงไป 2 มิลลิเมตร ออกแบบให้ปรับระยะห่างได้เพื่อรีดกล้วยด้วยความหนาตามที่ต้องการ 2) ระบบถ่ายทอดกำลังใช้ระบบโซ่และเฟืองเพื่อให้ลูกกลิ้งแต่ละชุดหมุนเข้าหากันด้วยความเร็วรอบเท่ากัน และ 3) ต้นกำลังเป็นมอเตอร์ขนาด 0.19 กิโลวัตต์ ที่ 1450 รอบ/นาที ถ่ายกำลังและทดความเร็วรอบสู่ชุดลูกกลิ้งด้วยสายพานและพูลเล่ย์ การทดสอบรีดกล้วยที่ผ่านการตากอย่างดีแล้วให้ผลสรุปดังนี้ 1.ความเร็วรอบที่เหมาะสมในการรีดกล้วยคือ 50 รอบ/นาที ความสามารถในการทำงานสูงสุดในทางทฤษฎีเท่ากับ 300 ลูก/นาที (ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลูกกลิ้ง 76.2 มิลลิเมตร) 2. คุณภาพกล้วยตากจากการวัดความหนาวัดจากกล้วยตากที่ใช้เครื่องรีดใกล้เคียงกับกล้วยตากที่บรรจุขายตามท้องตลาด

ในการออกแบบและสร้างเครื่องรีดกระจูดเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีสู่ท้องถิ่น : กรณีศึกษาสำหรับชุมชนทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง (พิทยา, 2555) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการออกแบบและสร้างเครื่องมือรีดกระจูด เพื่อลดปัญหาทางการยศาสตร์ในการรีดกระจูด ขั้นตอนการดำเนินงาน เริ่มจากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้น ศึกษาปัญหาทางการยศาสตร์ ออกแบบและดำเนินการสร้างเครื่องรีดกระจูด ทดลองและประเมินผลโดยผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 5 คน จากนั้นประเมินทางการยศาสตร์โดยเปรียบเทียบการรีดด้วยแรงงานคน ผลการทดลองเครื่องรีดกระจูดที่ได้ออกแบบสร้างพบว่าเครื่องสามารถรีดกระจูดได้ดีที่สุด จำนวน 50 เส้น โดยใช้เวลา 10 นาที ส่วนในการประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญทางด้านการออกแบบโครงสร้างได้ค่าคะแนนคิดเป็น 4.25 ด้านการใช้งานของเครื่องรีดกระจูดได้ค่าคะแนนคิดเป็น 3.90 และด้านผลผลิตของกระจูดได้ค่าคะแนนคิดเป็น 4.08 สรุปผลโดยรวมทั้ง 3 ด้าน คิดเป็นค่าเฉลี่ย 4.07 ซึ่งโดยภาพรวมอยู่ในเกณฑ์ดี ในการประเมินทางการยศาสตร์ในการรีดกระจูดด้วยแรงงานคน ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี RULA พบว่าคะแนนเท่ากับ 7 ซึ่งหมายถึงว่ามีปัญหาทางการยศาสตร์ต้องปรับปรุงการทำงานโดยทันที ผลนี้สอดคล้องกับการวิเคราะห์ด้วยวิธี REBA ซึ่งพบว่าคะแนนเท่ากับ 11 ซึ่งหมายถึงการทำงาน

ที่มีความเสี่ยงสูง ซึ่งต้องการตรวจสอบและปรับเลี่ยนท่าทางการทำงานในทันที จากนั้นนำเครื่องรีดกระจูดที่ได้ออกแบบสร้างไปทดลองใช้กับกลุ่มตัวอย่างเดิม เพื่อตรวจสอบและประเมินภาวะทางการยศาสตร์อีกครั้ง ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี RULA พบว่าคะแนนลดลงเหลือ 3 โดยสอดคล้องกับการวิเคราะห์ด้วยวิธี REBA ซึ่งพบว่าคะแนนลดลงเหลือ 3 เช่นกัน จากผลคะแนนสรุปได้ว่าปัญหาทาง การยศาสตร์ ของกลุ่มตัวอย่างลดลงจากการออกแบบสร้างเครื่องรีดกระจูด ดังนั้นสรุปได้ว่าเครื่องรีดกระจูดสามารถแก้ปัญหาทางการยศาสตร์ จากการสำรวจเอกสารดังกล่าวพบว่าการสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วยสามารถอาศัยหลักการรีดด้วยลูกกลิ้งได้ ดังนั้นจึงเป็นแนวทางในการสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การออกแบบเครื่องรีดเชือกกล้วย

การออกแบบและสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วยจะใช้ลูกกลิ้งพื้นผิวเรียบจำนวนสองลูกหมุนเข้าหากันและออกแบบให้สามารถปรับช่องว่างระหว่างลูกรีด 2 ลูกได้เพื่อกำหนดความหนาของเชือกกล้วยให้ได้ตามต้องการ ต้นกำลังที่ใช้ในการขับลูกรีดจะมาจากมอเตอร์ขนาด 1/3 แรงม้า 1 เฟส ซึ่งมอเตอร์ดังกล่าวจะต่อผ่านชุดเกียร์ทด 1:40 และส่งกำลังผ่านไปยังล้อขับสายพานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5” และใช้สายพานร่องวีต่อกับล้อขับสายพานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5” ความเร็วรอบของลูกรีดสำหรับรีดเชือกกล้วยที่ได้คือความเร็วรอบของต้นกำลังที่มาจากมอเตอร์เท่ากับ 1450 รอบต่อนาทีเมื่อผ่านชุดชุดเกียร์ทด 1 ต่อ 40 ความเร็วรอบจะลดลงเหลือ 36 รอบต่อนาที และเมื่อขับผ่านล้อขับสายพานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5”ไปยังล้อขับสายพานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5” ทำให้ความเร็วรอบที่ได้เป็น 41 รอบต่อนาที (วริทธิ์และคณะ, 2544) ในส่วนของความปลอดภัยต่อผู้ใช้ได้ออกแบบให้มีช่องสำหรับใส่เชือกกล้วยที่มีการ์ดป้องกันนิ้วมือโผล่เข้าไปในลูกรีด ลักษณะของเครื่องรีดเชือกกล้วยแสดงดังรูป (Figure 1)

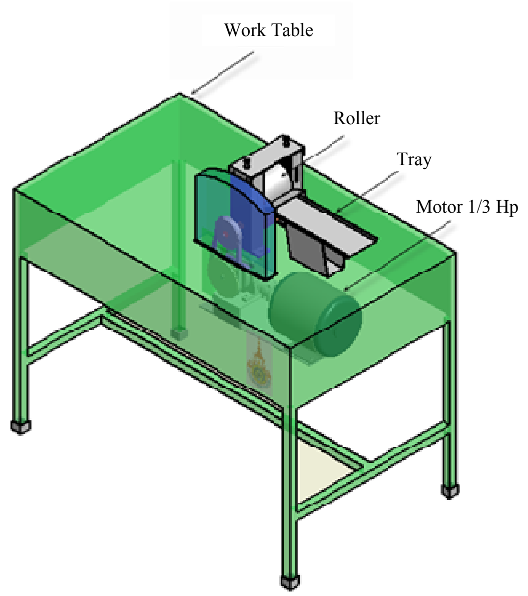


Figure 1 The proposed rope rolling machine

การสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วย

การสร้างเครื่องรีดเชือกกล้วยจะประกอบไปด้วยชิ้นส่วนหลัก ๆ ดังนี้ มอเตอร์ 1/3 แรงม้า 1 เฟส เกียร์ทด 1:40 ลูกรีดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 75 มม. 2 ลูก ทำจากสแตนเลส ล้อขับสายพานเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5” กับ 3.5” (Figure 2) ตลับลูกปืน Y-Bearing #204 สายพาน V ร่อง A 1 เส้นและสปริง ในส่วนของ ถาดรองเชือกกล้วยจะใช้แผ่นอะลูมิเนียมเนื่องจากสามารถขึ้นรูปได้ง่าย น้ำหนักเบาและไม่เป็นสนิม สำหรับเครื่องจักรที่ใช้ในการสร้างประกอบไปด้วย เครื่องกลึงยันศูนย์ เครื่องเจาะ เครื่องกัดแนวตั้งและเครื่องเชื่อมไฟฟ้า

(a) (b) (c)

(d)

Figure 2 Equipment and components used in the proposed contribution

(a) Motor 1/3 HP (b) Reduction gear (c) Roller (d) Pulley

Source : (misumi, 2016)

หลังจากนำชิ้นส่วนทั้งหมดมาประกอบเข้าด้วยกันเสร็จแล้วจะได้เครื่องรีดเชือกกล้วย (Figure 3)

Figure 3 The rope rolling machine for basket making

วิธีการทดลองและการเก็บข้อมูล

ในการทดลองรีดเชือกกล้วยด้วยเครื่องรีดเชือกกล้วยเพื่อทำการเก็บข้อมูลจะใช้กล้วยพันธุ์ตานีที่ผ่านการกรีดให้เป็นเส้นและนำไปผึ่งแดดจนแห้งดีแล้ว โดยเชือกกล้วยแต่ละเส้นจะมีความกว้าง 1.5 เซนติเมตรและมีความยาว 1.5 เมตร (Figure 4)

Figure 4 The banana tree fiber before feeding to the rope rolling macine

ในการทดลองและเก็บข้อมูลจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่ 1 เป็นการหาคุณภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วย ดำเนินการโดยสาธิตการทำงานให้ผู้เชี่ยวชาญได้พิจารณาและประเมินผลด้วยแบบประเมินที่สร้างขึ้น ส่วนที่ 2 เป็นการหาประสิทธิภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วย โดยการทดลองรีดเชือกกล้วยชุดละ 30 เส้น ทำซ้ำ 3 ครั้งแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยของเส้นดีและเส้นขาด นำผลมาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพ มีขั้นตอนการทดลองและใช้เครื่องรีดเชือกกล้วยดังนี้ (Figure 5)

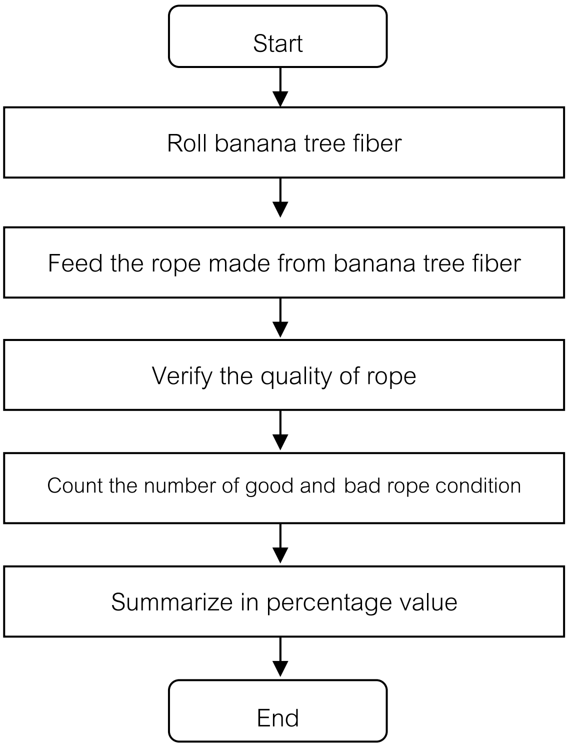


Figure 5 The flowchart of rope rolling machine process

การวิเคราะห์ข้อมูลการวิจัย แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้ ส่วนที่ 1 คุณภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วยซึ่งประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์และ แปรผลโดยใช้สถิติค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) เกณฑ์คุณภาพจะใช้เกณฑ์ที่ผ่านการประเมินในระดับต่างๆ โดยแบ่งเป็น 4 ระดับคือ ควรปรับปรุง (0-3.50) พอใช้ (3.51-4.00) ดี (4.01-4.50) และดีมาก (4.51-5.00) และถ้าคุณภาพโดยรวม จากการประเมินของผู้เชี่ยวชาญอยู่ในระดับคุณภาพดี (ค่าเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 3.50) จึงยอมรับว่าเครื่องรีดเชือกกล้วยที่สร้างขึ้นมีคุณภาพสามารถนำไปใช้งานได้

ส่วนที่ 2 การหาประสิทธิภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วยด้วยการนำผลที่ได้จากการทดลองรีดมาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพด้วยการเปรียบเทียบร้อยละของเส้นเชือกกล้วยที่ดีสมบูรณ์ไม่มีการขาด มีความหนาสม่ำเสมอเปรียบเทียบกับส่วนที่เป็นของเสียในการวัดขนาดความหนาของเชือกกล้วยจะใช้การวัดความหนาจำนวน 3 จุด คือปลายทั้งสองข้างและตรงกลางของเชือก

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองและวิเคราะห์

ผลการวิเคราะห์ การประเมินความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญเพื่อประเมินคุณภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วย โดยมีผลแต่ละด้านดังนี้

1. การประเมินด้านโครงสร้าง ซึ่งประกอบไปด้วย วัสดุโครงสร้างหาซื้อได้ง่าย การเลือกใช้วัสดุมีความเหมาะสม ขนาดและรูปร่างของเครื่องมีความเหมาะสม ความเร็วรอบของลูกรีดเหมาะสม ความเหมาะสมของต้นกำลัง ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการประเมินคุณภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วยโดยผู้เชี่ยวชาญด้านวิศวกรรม ผลประเมินจากผู้เชี่ยวชาญได้ประเมินโครงสร้างของเครื่องรีดเชือกกล้วยโดยค่าเฉลี่ยรวม 4.66 จาก 5 คะแนน ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (Figure 6) ซึ่งค่าที่สูงที่สุดคือการจัดซื้อวัสดุทำได้ง่ายและความเร็วรอบของลูกรีดมีความเหมาะสม

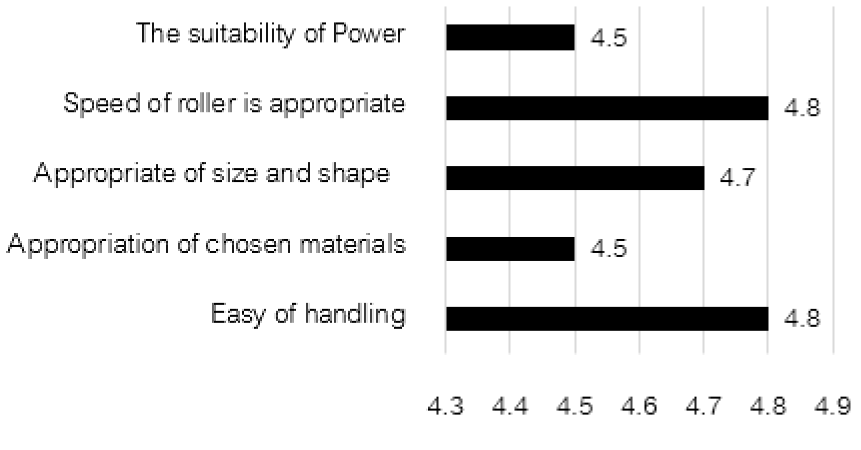


Figure 6 The structure evaluation of proposed rope rolling machine

2. การประเมินด้านการใช้งาน ซึ่งประกอบไปด้วย ซ่อมบำรุงได้ง่าย ใช้งานง่าย ไม่สลับซับซ้อน มีความปลอดภัยในการใช้งาน เสียงของเครื่องจักรขณะใช้งานไม่ดังเกินไป การปรับระยะความหนาของงานทำได้

หลากหลาย ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการประเมินคุณภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วย ด้านการใช้งานโดยผู้เชี่ยวชาญด้านวิศวกรรม ผู้เชี่ยวชาญได้ประเมินให้เครื่องรีดเชือกกล้วยสามารถรีดเชือกกล้วยให้มีผลผลิตที่มีคุณภาพและสามารถใช้งานได้สะดวกโดยได้คะแนนเฉลี่ยรวมที่ 4.8 จาก 5 คะแนน ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (Figure 7) ซึ่งด้านที่ได้คะแนนสูงสุดคือมีความแลอดภัยในการใช้งานและในขณะเดียวกันเสียงที่เกิดจากเครื่องก็ไม่ดังเกินไป

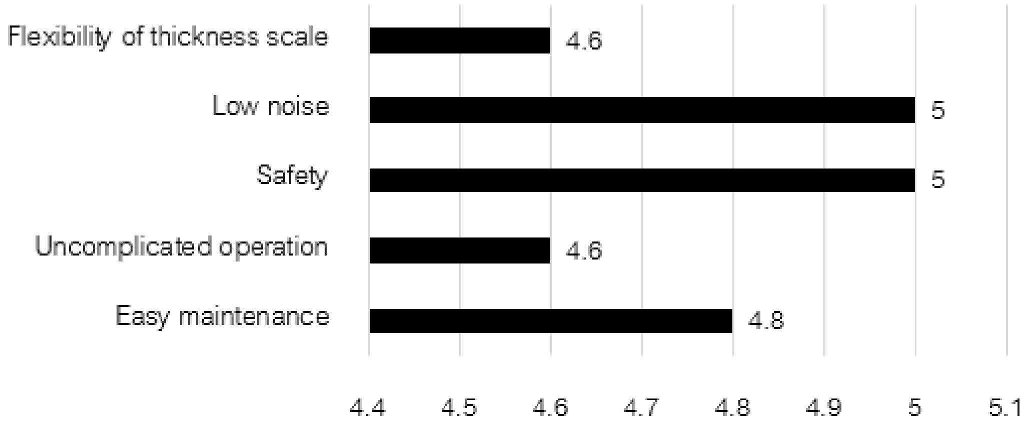


Figure 7 Usage evaluation of proposed rope rolling machine

3. การประเมินด้านคุณภาพ ซึ่งประกอบไปด้วย ความหนาของเชือกกล้วยสม่ำเสมอ รีดแล้วเชือกกล้วยไม่ขาด ลูกรีดมีความทนทาน สีสันและรูปร่างน่าใช้งาน ราคาเครื่องไม่สูงเกินไปโดยได้คะแนนเฉลี่ยรวม 4.56 จาก 5 คะแนน ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (Figure 8) ซึ่งด้านที่ได้คะแนนสูงสุดคือลูกรีดมีความทนทาน

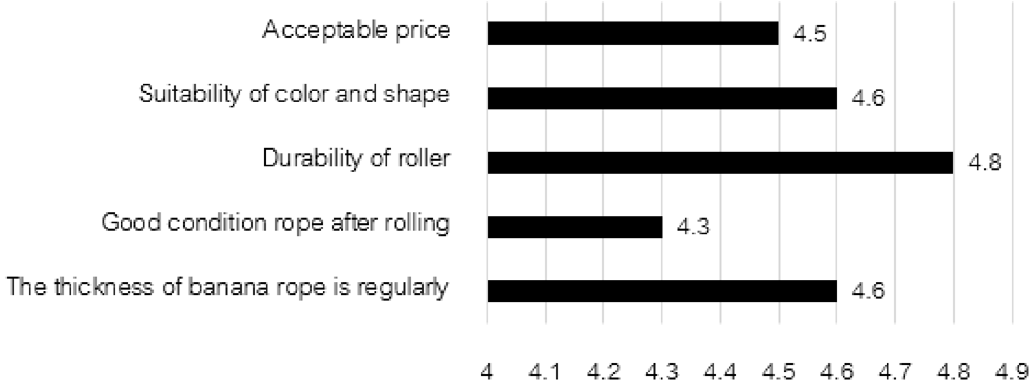


Figure 8 Overview quality of the proposed rope rolling machine

ผลจากการประเมินคุณภาพเครื่องรีดเชือกกล้วยโดยผู้เชี่ยวชาญทางด้านวิศวกรรมที่ทำการประเมินทั้ง 3 ด้านคือด้านโครงสร้าง ด้านการนำไปใช้งาน ด้านคุณภาพของเครื่องมีความเห็นโดยภาพรวมว่าเครื่องรีดเชือกกล้วยมีคุณภาพอยู่ในระดับดีมากโดยมีคะแนนเฉลี่ยรวมที่ 4.67 จาก 5 คะแนนซึ่งอยู่ในเกณฑ์ดีมาก (Figure 9)

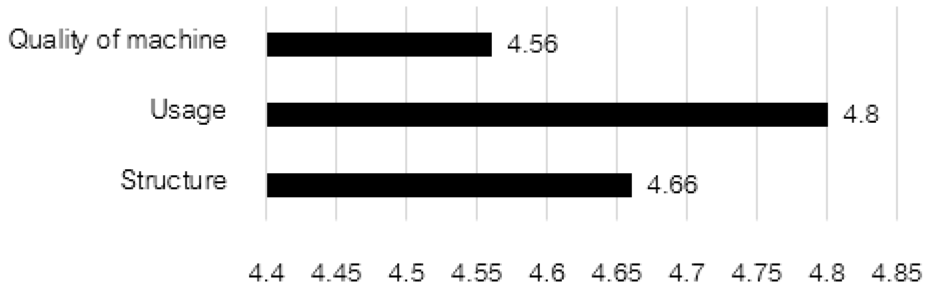


Figure 9 Average quality score of the proposed rope rolling machine

ในส่วนของการหาประสิทธิภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วยโดยรีดเชือกกล้วยจำนวน 30 เส้นและทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติมีรายละเอียดดังนี้ (Table1)

Table 1 The product output evaluation of the proposed rope rolling machine

No.	The number of banana rope	Good condition rope (%)	Bad Condition rope (%)
1	30	93.3	6.7
2	30	100	0
3	30	100	0
Average		97.77	2.23

จาก Table 1 จะเห็นว่าจากการทดลองรีดเชือกกล้วยด้วยเครื่องรีดเชือกกล้วยพบว่าจำนวนเปอร์เซ็นต์ของเส้นดีไม่ขาดสภาพสมบูรณ์พร้อมที่จะนำไปจักสานได้จะมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 97.77 ซึ่งเป็นค่าที่มากพอที่จะยอมรับได้

สรุป

จากความคิดเห็นในการประเมินคุณภาพของเครื่องรีดเชือกกล้วยทั้ง 3 ด้านคือด้านคุณภาพ ด้านโครงสร้างและด้านการนำไปใช้งานโดยผู้เชี่ยวชาญเห็นพ้องต้องกันว่าเครื่องรีดเชือกกล้วยที่สร้างขึ้นโดยใช้ลูกกลิ้ง 2 ลูกหมุนเข้าหากันในความเร็ว 41 รอบต่อนาที สามารถรีดเชือกกล้วยได้มีความหนาตามที่ต้องการมีของเสียเกิดขึ้นน้อย เครื่องรีดเชือกกล้วยที่สร้างขึ้นต้องผ่านเกณฑ์การประเมินคุณภาพจากผู้เชี่ยวชาญด้านการออกแบบและสร้างเครื่องจักร พบว่ามีคุณภาพอยู่ในระดับดีมาก(ค่าเฉลี่ย 4.75) เป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ เมื่อนำไปใช้งานกับกลุ่มแม่บ้านธูปฤาษีพบว่ากลุ่มแม่บ้านมีความพอใจในการใช้งานเครื่องรีดเชือกกล้วยเนื่องจากรีดได้เร็ว ลดความเมื่อยล้าจากการทำงาน สามารถทำงานได้ทันกับความต้องการของลูกค้า ในส่วนของข้อเสนอแนะจากกลุ่มแม่บ้านที่นำเครื่องรีดเชือกกล้วยไปใช้งานคือถ้าทำให้เครื่องดังกล่าวสามารถอบเชือกกล้วยให้แห้งแทนการตากแดดซึ่งต้องใช้เวลานานก็จะเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

ชัยยันต์ จันทร์ศิริ และสุทธิชัย เทพบุดดี. 2544. **การสร้างและทดสอบเครื่องรีดกล้วยตาก** ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ดารณี มีบุญ. 2544. **ศึกษาหัตถกรรมเชือกกล้วยบ้านหัวควาย ตำบลคูเต่า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา** วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยทักษิณ.

พิทยา ตุกเตียน . 2555. **การรออกแบบและสร้างเครื่องรีดกระจูดเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีสู่ท้องถิ่น : กรณีศึกษาสำหรับชุมชนทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง** สิ่งประดิษฐ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏ สงขลา

วริทธิ์ อึ้งภากรณ์ และชาญ ถนัดงาน. 2544. **การออกแบบเครื่องจักรกล.** กรุงเทพฯ, ซีเอ็ดยูเคชั่น.

วารี กาลศิริศิลป์. 2556. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์กระเป๋าจากเชือกกล้วยมัดย้อม**. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

สมชาย บุญพิทักษ์. 2553. ศึกษาและพัฒนาหัตถกรรมเชือกกล้วยสำหรับเป็นผลิตภัณฑ์ตกแต่งบ้านพักอาศัย **งานประชุมวิชาการนานาชาติการยกระดับคุณภาพชีวิตและภูมิปัญญาท้องถิ่นอาเซียน ครั้งที่ 2.**

misumi. 2016. Automation Components. แหล่งที่มา: http://th.misumi-ec.com. 20 พฤศจิกายน 2559

การศึกษาคุณลักษณะของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าเมื่อเกิดลัดวงจรภายในขดลวดโรเตอร์

A Study of Generator Characteristic during Short Circuit Fault inside Rotor

เรืองยศ ประเสริฐยั่งยืน[1*] และ เกียรติยุทธ กวีญาณ[2]

Ruengyos Prasertyoungyoen[1*] and Kiatiyuth Kveeyarn[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาและวิเคราะห์สาเหตุที่ทำให้เกิดการสั่นสะเทือนที่ผิดปกติในการผลิตกระแสไฟฟ้าของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าและแก้ปัญหาดังกล่าวเพื่อให้เครื่องกำเนิดไฟฟ้าสามารถจ่ายโหลดได้ตาม Capability curve โดยการเก็บรวบรวมข้อมูลเพื่อวิเคราะห์สาเหตุของการสั่นสะเทือนผิดปกติด้วยทฤษฎี Thermal sensitivity และการทดสอบฟลักซ์แม่เหล็ก

จากการวิเคราะห์สาเหตุพบว่าสาเหตุหลักเกิดจากการลัดวงจรระหว่างขดลวดเนื่องจากการเสื่อมสภาพของฉนวน ทำให้เกิดการขยายตัวทางความร้อนไม่สม่ำเสมอ ส่งผลให้เกิดการสั่นสะเทือนที่ผิดปกติตามมาตรฐาน ISO 7919-4:1996 ปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ได้โดยวิธี Generator rotor full rewinding พบว่าค่าการสั่นสะเทือนลดลงและอยู่ในเกณฑ์ปกติ

ABSTRACT

This research was to study and analyze the causes of excessive vibration in the process of generating electricity and how to resolve the mentioned problem in order to make a generator run at full load according to capability curve by collecting and analyzing data using thermal sensitivity theory and flux probe test.

The finding showed that the main cause of excessive vibration was the fault in inter-turn short circuit, which was the result of winding insulation deterioration. As such fault leaded to unsymmetrical thermal expansion, which caused excessive vibration exceeding ISO 7919-4:1996 standard. In conclusion, this problem could be solved by generator rotor full rewinding to reduce the vibration in accordance with the standard.

Key Words: Inter-turn Short Circuit, Thermal sensitivity, Flux probe test

*Corresponding author; e-mail address: ruengyos.pra@egat.co.th

[1]นิสิตปริญญาโท สาขาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

[1]Graduate Student, Department of Electrical Engineering, Faculty of engineering, Kasetsart University Bangklen campus

[2]ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

[2]Department of Electrical Engineering, Faculty of engineering, Kasetsart University Bangklen campus

คำนำ

โรเตอร์ของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าประกอบด้วยขดลวดหลายขดซึ่งแต่ละขดอยู่ในช่อง (slot) ที่มีการคั่นตัวนำทองแดงด้วยฉนวนบาง การลัดวงจรภายในขดลวด (Shorted-turn) เกิดจากการสัมผัสกันโดยตรงของขดลวด 2 ขดหรือมากกว่านั้น ถึงแม้ว่าการเกิดลัดวงจรภายในขดลวดจะมีผลต่อการทำงานของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าน้อยมากแต่เมื่อขนาดของการลัดวงจรมีมากเกินระดับที่ยอมรับได้ เป็นสาเหตุที่ทำเครื่องกำเนิดไฟฟ้าเกิดการสั่นสะเทือน (Vibration) ที่โรเตอร์มากผิดปกติส่งผลทำให้เกิดอุณหภูมิสูงในขดลวดและเกิดการเสียรูปได้

การป้องกันทำได้โดยการตรวจสภาพโรเตอร์อย่างสม่ำเสมอด้วยวิธีการใช้ทฤษฎีการวัดทางไฟฟ้าในการตรวจสภาพโรเตอร์ของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยไม่ต้องหยุดเดินเครื่อง (Stopping plant) ทำให้ไม่สูญเสียกำลังการผลิต โดยการวิเคราะห์ผลจากโรงไฟฟ้าพลังความร้อนร่วมโดยเปรียบเทียบข้อมูลก่อนและหลังการพันขดลวดใหม่ (Re-insulation)

โดยวิธีการใช้ทฤษฎีการวัดทางไฟฟ้านั้นทำให้พนักงานเดินเครื่องสามารถตรวจพบการลัดวงจรได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และพนักงานบำรุงรักษาจัดตารางเวลาในการซ่อม (Overhaul) ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่กระทบต่อการผลิตกำลังไฟฟ้า

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลทางเทคนิคเครื่องกำเนิดไฟฟ้า

General Electric Frame 9E Hydrogen-cooled

Rated Output	128,800 kVA	Serial No.	335X925
Voltages	11,500 V	Excitation Voltages	500 V
Currents	6,456 A	Field Currents	1,158 A
Phase	3 phase	P.F.	0.85
Frequency	50 Hz	Speed	3000 rpm

การตรวจสอบความสั่นสะเทือนของโรเตอร์เครื่องกำเนิดไฟฟ้า

โดยใช้วิธี Thermal sensitivity ของ Zawoysky, R. J. and W.M. Genovese *et al*. (2001) เพื่อดูการสั่นสะเทือนของโรเตอร์ซึ่งแปรผันตรงกับกระแสสนาม ปัจจัยที่มีผลต่อการสั่นสะเทือนของโรเตอร์มาจาก 2 ปัจจัย คือ MVAR ที่แปรผันตรงกับการเพิ่มลดกระแสสนาม และ MW ที่แปรผันตรงกับอัตราสิ้นเปลืองเชื้อเพลิง ดังนั้นแนวทางที่ใช้ในการตรวจสอบเบื้องต้นได้ดังนี้

ให้ค่า MVAR คงที่ ทำการเพิ่ม MW ถ้าค่าการสั่นสะเทือนเพิ่มตาม MW สามารถสรุปได้ว่าเป็นปัญหาจากทางด้านเครื่องกล (Turbine)

ให้ค่า MW คงที่ ทำการเพิ่ม MVAR ถ้าค่าการสั่นสะเทือนเพิ่มตาม MVAR สามารถสรุปได้ว่าเป็นปัญหามาจากทางด้านไฟฟ้า (ระบบ Excite)

การกำหนดขอบเขตการสั่นสะเทือน

การตรวจวัดการสั่นสะเทือนเป็นตัวชี้บอกความผิดปกติของเครื่องจักรหมุนกับมาตรฐานการสั่นสะเทือนแล้วนำมาประเมินว่า เครื่องจักรนั้นผิดปกติหรือไม่ เพื่อวางแผนบำรุงรักษาต่อไป โดยอ้างอิงตามมาตรฐาน ISO 7919-4 *et al*. (1996) ในสภาวะที่เครื่องจักรทำงานปกติ ซึ่งแบ่งขอบเขตการสั่นสะเทือนได้ 4 Zone ดังนี้

Zone A เครื่องจักรใหม่เพิ่งใช้งาน ทำงานได้ตามปกติ

Zone B เครื่องจักรเริ่มมีการสั่นสะเทือน ทำให้เกิดความเสียหายในระยะยาว

Zone C เครื่องจักรมีการสั่นสะเทือนรุนแรง ทำให้เกิดความเสียหายกับเครื่องจักรในระยะเวลาอันสั้น

Zone D เครื่องจักรมีการสั่นสะเทือนรุนแรงมาก อาจทำให้เครื่องจักรเสียหายแบบฉุกเฉิน

เมื่อเครื่องจักรมีการสั่นสะเทือนที่มากขึ้น มีผลทำให้ถูกจำกัดการใช้งานที่สภาวะปกติจากสัญญาณ ALARMS และ TRIPS

การตรวจสอบความหนาแน่นฟลักซ์แม่เหล็ก

โดยวิธี Air gap flux probe test ของ Albright, D.R. and D.J.Albright *et al.* (1999) เป็นการตรวจสอบการลัดวงจรภายในขดลวดโดยติดตั้งอุปกรณ์ Flux probe ไว้ที่สเตเตอร์แล้วทำการวัด Leakage flux ซึ่งเป็นฟลักซ์ที่ไม่ผ่าน Air gap มายังขดลวดสเตเตอร์เนื่องจาก Leakage flux ไม่เหนี่ยวนำกระแสที่สเตเตอร์ โดยสามารถตรวจสอบการลัดวงจรได้ทั้งตำแหน่งขั้วและตำแหน่งขดลวด

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของการตรวจสอบด้วยวิธี Thermal sensitivity

เริ่มต้นทำการปรับค่าโหลดที่ 60 MW แล้วเพิ่มโหลดเป็น 80 MW พบว่ามีค่าการสั่นสะเทือนเพิ่มขึ้นมาเล็กน้อยจากทางด้าน Turbine ซึ่งในส่วนนี้ทางเครื่องกลต้องตรวจสอบต่อไป จากนั้นทำการปรับค่าโหลดคงที่ 60 MW และทำการเพิ่มค่า MVAR ขึ้นไปเรื่อยๆ พบว่าค่าการสั่นสะเทือนเพิ่มขึ้นตามด้วย และ ที่ 35 MVAR มีค่าการสั่นสะเทือน 192-194 μm (Table 1, Figure 1) ซึ่งอยู่ใน Zone C ตามมาตรฐาน ISO 7919-4 *et al.* (1996)

เส้น MW แสดงค่า อัตราสิ้นเปลืองเชื้อเพลิงที่ป้อนให้กับ Turbine

เส้น MVAR แสดงค่า การเพิ่มลดกระแสสนามของระบบ Excite

เส้น μm แสดงค่า การสั่นสะเทือนของลูกปืนที่รองรับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า

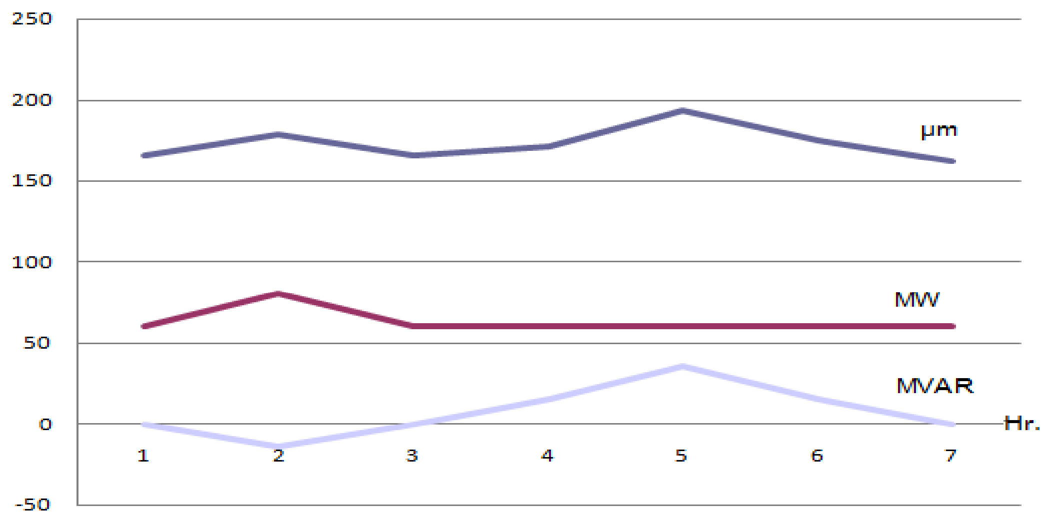


Figure 1 Effect of bearing vibration compare between MW and MVAR

Table 1 Effect of bearing before rotor rewinding

LOAD	Vibration (μm pk-pk)	ZONE
Load 60 MW 0 MVAR 600 Amp	166	ZONE C
Load 80 MW -14 MVAR 600 Amp	178	ZONE C
Load 60 MW 0 MVAR 600 Amp	166	ZONE C
Load 60 MW 15 MVAR 675 Amp	171	ZONE C
Load 60 MW 35 MVAR 800 Amp	192-194	ZONE C
Load 60 MW 15 MVAR 675 Amp	174-176	ZONE C
Load 60 MW 0 MVAR 600 Amp	160-163	ZONE B

ผลการตรวจสอบความหนาแน่นของฟลักซ์แม่เหล็กด้วยวิธี Air gap flux probe test

ทำการปรับค่าโหลดของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าตั้งแต่ 0 -100 MW โดยเลื่อนเส้น FDZC จากขดลวดตำแหน่งที่ 7 ไปยังขดลวดตำแหน่งที่ 1 เพื่อดูค่าความหนาแน่นฟลักซ์แม่เหล็ก (Albright, D. R. *et al*., 1971) พบว่ามีการลัดวงจรที่ Pole A ทั้งหมด 7 turns คือตำแหน่งขดลวด 1, 4, 6 และ 7 อีกทั้งยังสามารถคำนวณจำนวน turn ของการลัดวงจรได้จากการเปรียบเทียบขนาด Waveform ระหว่าง Pole A กับ Pole B (Table 2, Figure 2)

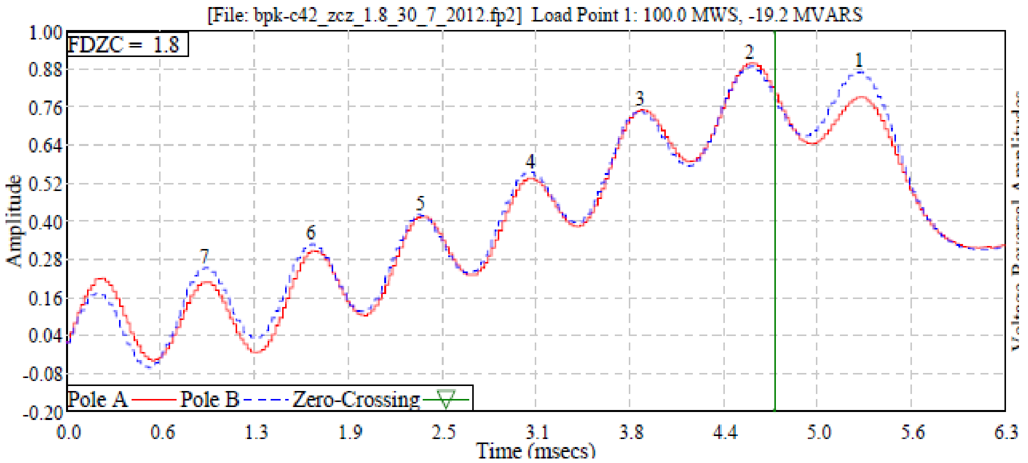


Figure 2 Flux probe data for a 7 coil/pole rotor

Table 2 Summary of inter-turn short circuit for a 7 coil/pole rotor

Coil No.	Pole	No. of Short circuit
1	A	2 turn
4	A	1 turn
6	A	1 turn
7	A	3 turn

ผลการปรับปรุงและแก้ไขโดยการทำ Rotor full rewinding

นำโรเตอร์ออกจากเครื่องกำเนิดไฟฟ้าเพื่อเตรียมรื้อขดลวดในโรเตอร์ซึ่งพบว่าตำแหน่งการลัดวงจรตรงกับผลการทดสอบโดย Flux probe คือ ลัดวงจรที่ตำแหน่งขดลวดที่ 1, 4, 6 และ 7 จำนวน 2, 1, 1 และ 3 turn ตามลำดับ จากนั้นนำขดลวดไปเป่าแก๊สและผง Glass bead เพื่อทำความสะอาดและปรับสภาพพื้นผิวให้เรียบเสร็จแล้วนำตัวโรเตอร์ไปทำความสะอาดและทาสีวานิชเพื่อป้องกันการลัดวงจรลงดิน จากนั้นนำขดลวดโรเตอร์มาวางลงในแต่ละช่องของโรเตอร์โดยแต่ละรอบจะมีฉนวนสลับขดลวดไปจนครบ 16 รอบ (Zawoysky, R. J. and Karl C. Tornroos) ทดสอบความคงทนของฉนวนแต่ละชั้นด้วยการป้อนไฟฟ้ากระแสตรง 500 โวลต์ จากนั้นนำโรเตอร์ประกอบเข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้า

จากนั้นทำการตรวจสอบด้วยวิธี Thermal sensitivity และ Air gap flux probe test เพื่อยืนยันผลการแก้ไขปัญหาซึ่งจากการทดสอบสรุปได้ว่าหลังการแก้ไขไม่พบพฤติกรรมของการสั่นสะเทือนในลักษณะของปัญหา Thermal sensitivity โดยค่าการสั่นสะเทือนสูงสุดของลูกปืนอยู่ที่ 85 μm ไม่พบการเปลี่ยนแปลงการสั่นสะเทือนและการลัดวงจรในขดลวดโรเตอร์ของเครื่องกำเนิดไฟฟ้า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงโหลด (Figure 3, 4)

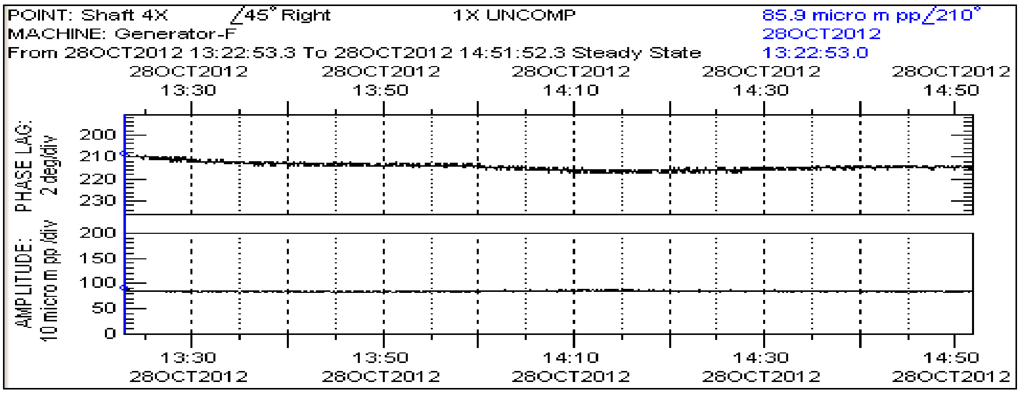


Figure 3 Bearing vibration after rotor full rewinding

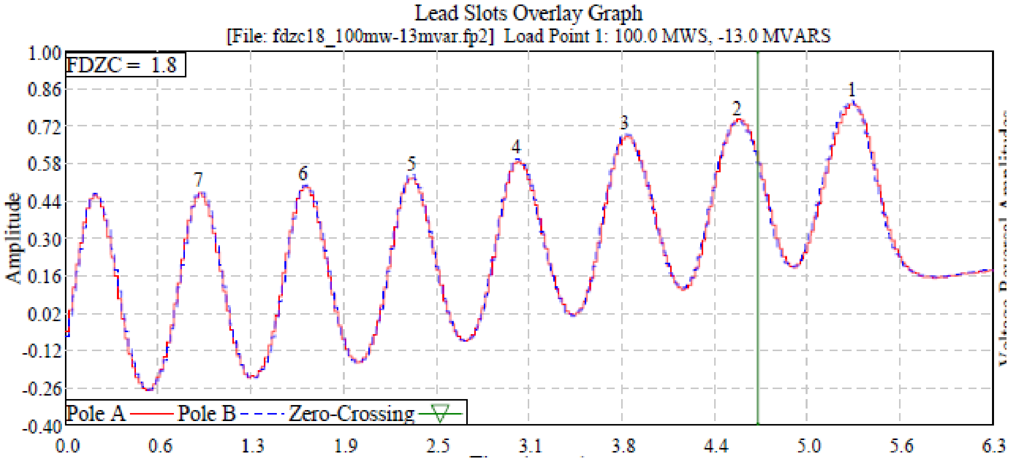


Figure 4 Flux probe data for a 7 coil/pole rotor

จากนั้นได้ทำการติดตามผลเก็บค่าการสั่นสะเทือนโดยพิจารณาที่การเปลี่ยนแปลง MW และ MVAR พบว่าค่าการสั่นสะเทือนมีแนวโน้มน้อยมากและไม่ได้แปรผันตามการเปลี่ยนแปลง MW และ MVAR (Figure 5)

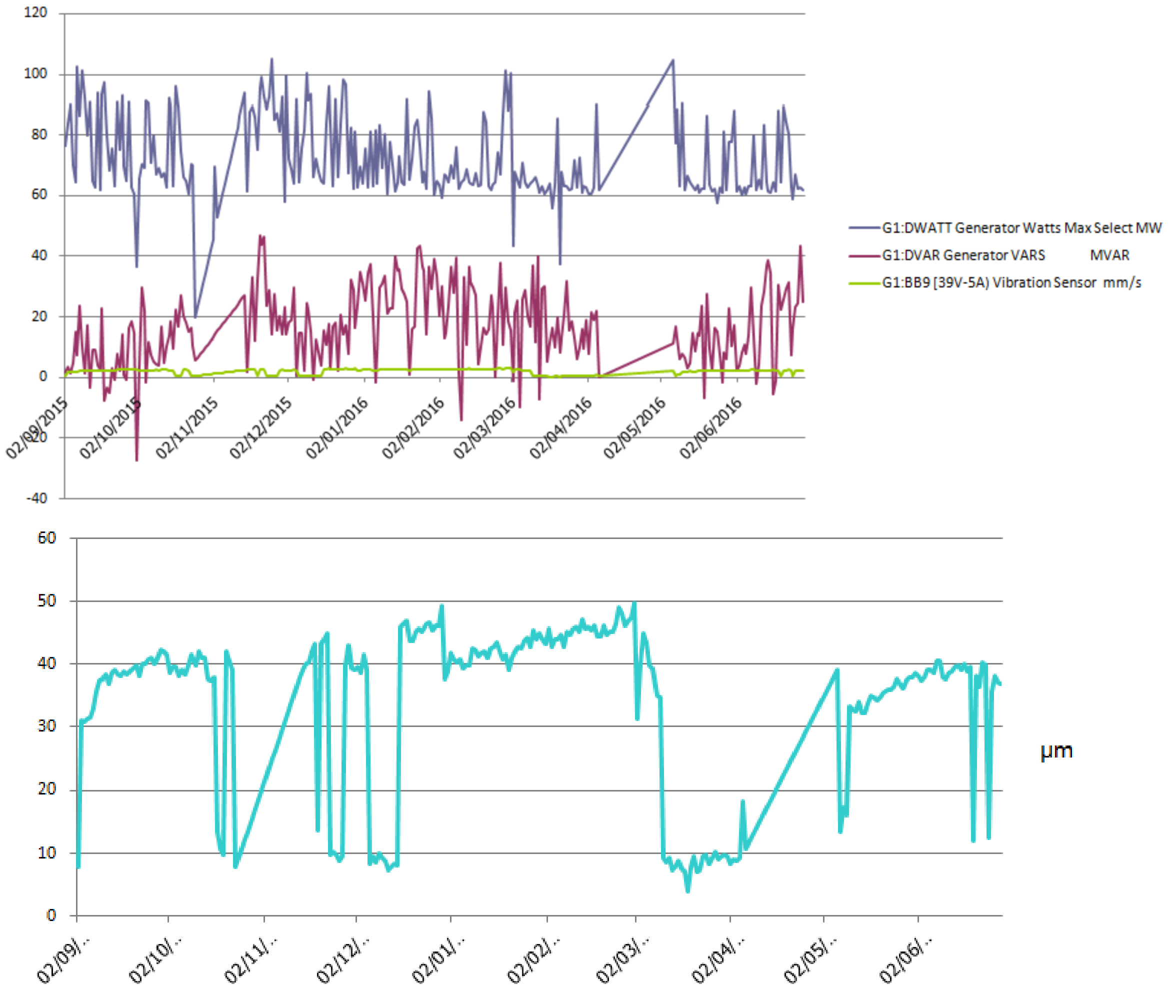


Figure 5 Effect of bearing vibration compare between MW and MVAR

สรุป

จากผลการตรวจสอบด้วยวิธี Thermal sensitivity และ Air gap flux probe test เพื่อเป็นการตรวจสอบปัญหาการลัดวงจรของขดลวดโรเตอร์ภายหลังการทำ Rotor full rewinding แล้วเสร็จนั้นผลที่ได้สรุปได้ว่าไม่พบการลัดวงจรของขดลวดโรเตอร์และการเปลี่ยนแปลงค่าการสั่นสะเทือนในลักษณะของพฤติกรรม Thermal sensitivity ดังนั้นสรุปได้ว่าผลการดำเนินงาน Rotor full rewinding ครั้งนี้บรรลุตามวัตถุประสงค์การแก้ไขและป้องกันปัญหาพฤติกรรม Thermal sensitivity และการลัดวงจรของขดลวดโรเตอร์ได้อย่างสมบูรณ์ดังนั้นเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสามารถดำเนินการจ่ายโหลด Real power (MW) ได้ตาม Capability curve รวมถึงสามารถจ่าย Reactive power (MVAR) ได้ตามที่ต้องการรวมถึงสามารถใช้งานเครื่องกำเนิดไฟฟ้าได้อย่างมั่นคงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ทุกท่านที่ได้กรุณาอบรมสั่งสอน ในแขนงวิชาต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

Albright, D. R. 1971. Interturn Short-Circuit Detector for Turbine-Generator Rotor Windings. **IEEE Transactions on Power Apparatus and Systems** PAS-90(2): 478-483.

Albright, D.R. and D.J.Albright. 1999. Generator Fields Winding Shorted Turn Detection Technology. **Generatortech, Inc**: 1-8.

International Standard ISO 7919-4. 1996. Mechanical vibration of non-reciprocating machines- Measurements on rotating shafts and evaluation criteria. **Part 4: Gas Turbine sets**: 673-683

Zawoysky, R. J. and W.M. Genovese. 2001. Generator Rotor Thermal Sensitivity -Theory and Experience. **GE Power Systems** GER – 3809: 1-17

Zawoysky, R. J. and Karl C. Tornroos. 2001. GE Generator Rotor Design, Operational Issues and Refurbishment Options. **GE Power Systems Schenectady** GER-4212: 1-20

การศึกษาการอพยพหนีไฟของอาคารสูง 20 ชั้นด้วยแบบจำลองเพลิงไหม้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ

A Study of Fire Evacuation in 20 Stories High Rise Building via CFD Fire Models

ศุภณัฐ ชัยเจริญ[1*] และ ณัฐศักดิ์ บุญมี[1]

Suppanut Chaijaroen[1*] and Nathasak Boonmee[1]

บทคัดย่อ

บทความนี้นำเสนอผลการจำลองการอพยพหนีไฟของอาคารสูง 20 ชั้นด้วยแบบจำลองเพลิงไหม้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ 2 แบบจำลองคือ แบบจำลอง PyroSim และแบบจำลอง Pathfinder วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือเพื่อคำนวณและเปรียบเทียบเวลาการอพยพหนีไฟของอาคารตามแบบที่ผู้ออกแบบกำหนด และตามแบบที่มีการปรับปรุงแก้ไขทางออกของบันไดหนีไฟ อาคารสูง 20 ชั้นที่พิจารณาในการศึกษานี้มีความกว้าง 57 เมตร ยาว 90 เมตร และสูง 84 เมตร อาคารมีเส้นทางหนีไฟรวมทั้งสิ้น 9 บันไดประกอบด้วยบันไดหนีไฟที่ปิดล้อมทนไฟจำนวน 5 บันไดและบันไดที่ไม่ได้ปิดล้อมทนไฟจำนวน 4 บันได จำนวนผู้ใช้อาคารที่ใช้ในการจำลองตามที่ผู้ออกแบบกำหนดและตามมาตรฐาน NFPA 101 มีจำนวนทั้งสิ้น 4,594 คน การจำลองแสดงให้เห็นว่าเวลาในการอพยพหนีไฟของอาคารมีค่าประมาณ 25 นาที ซึ่งไม่เกิน 1 ชั่วโมงตามที่กฎกระทรวงฉบับที่ 33 กำหนด ผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงเส้นทางหนีไฟให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นได้

ABSTRACT

This paper presents a numerical simulation of fire evacuation of 20-story high rise building via two CFD fire modeling programs; PyroSim and Pathfinder. The objectives of this research were to calculate and compare building evacuation times based on a building layout according to the designers and a modified fire exit stair building layout. The 20-story high rise building considered in this study was 57 m wide, 90 m long and 84 m high. The building had totally 9 stairs which were 5 enclosed fire exit stairs and 4 non-enclosed stairs. The building occupant load given by the designer and calculated according to NFPA 101 was totally 4,594 persons. The study showed that the building evacuation time was approximately 25 minutes which met the requirement of the building evacuation time not exceed 1 hour according to the Ministerial Regulation number 33. The result from this study can be used to improve a means of escape efficiency of the building.

Key Words: Evacuation, High rise building, CFD fire model

*Corresponding author; e-mail address: tunappus@hotmail.co.th

[1]โครงการวิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมป้องกันอัคคีภัย คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Fire Protection Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

การอพยพหนีภัยไม่ว่าจะเป็น ภัยจากเหตุเพลิงไหม้ ภัยจากแผ่นดินไหว หรือภัยจากการก่อการร้าย ถือเป็นเรื่องที่มีความสำคัญในสำหรับทุกๆอาคารหรือพื้นที่ที่มีผู้ใช้งานพื้นที่ในปริมาณมาก เพราะหากอาคารหรือพื้นที่นั้นๆมีความสามารถในการอพยพหนีภัยที่ไม่ดีซึ่งอาจจะส่งผลต่อความเสียหายต่อชีวิตของผู้ใช้งานในอาคาร ผู้ใช้อาคารจะสามารถมั่นใจได้อย่างไรว่าอาคารที่ผู้ใช้อาคารเข้าไปใช้งานนั้นมีความสามารถในการอพยพหนีภัยได้อย่างปลอดภัยโปรแกรมจำลองการอพยพหนีภัยอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้ผู้ใช้อาคารมั่นใจได้ว่าอาคารที่ใช้งานอยู่ปลอดภัย

โปรแกรมการจำลองคอมพิวเตอร์มีหลากหลายชนิดและถูกใช้อย่างแพร่หลายในหลายประเทศซึ่งนักวิจัยหลายกลุ่มได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับโปรแกรมเหล่านี้อาทิเช่น (Gupta and Yadav, 2004)ได้ทำการศึกษาการอพยพภายในอาคารโดยการใช้แบบจำลอง Safe and Accessible Fire Escape-Route (SAFE-R) ทำการเปรียบเทียบกับโปรแกรมEVACNET(T. M. Kisko *et al.*, 1998)เพื่อใช้ในการระบุความสามารถในการหาเส้นทางการเคลื่อนที่ของผู้อพยพ เวลาของการอพยพในแต่ละเส้นทางจะหาจากระยะทางการอพยพเทียบกับความเร็วในการเดิน (Oven, V. A. and N. Cakici, 2009)ได้จำลองการอพยพโดยมุ่งเน้น 2 เรื่อง คือ จำลองการอพยพ หาส่วนประกอบที่เป็นผลต่อโมเดลการจำลองทางคอมพิวเตอร์ โดยโปรแกรม EXODUS (Fire Safety Engineering_Group, 2016)ดูพฤติกรรมผู้อพยพในอาคารสำนักงานสูงในอิสตันบูลและตรวจสอบพฤติกรรมการอพยพ ความปลอดภัยของอาคารสำนักงานสูงในอิสตันบูล (Murali Ramaiyan, 2014) ได้ทำการศึกษาการจำลองการอพยพภายในสนามบินใน 2 รูปแบบซึ่งมีพื้นฐานโดยใช้ทางออกในทิศทางเดียวและการเดินแบบสวนกันของผู้อพยพกับพนักงานดับเพลิงในประตูรักษาความปลอดภัยต่างทิศทางกันโดยใช้โปรแกรม Pathfinder (Thunder Head Engineering, 2016a)และ LegionEvac(LEGION, 2016)เพื่อเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการอพยพ ลักษณะรูปแบบการไหลของผู้อพยพ ปัจจัยสภาพแวดล้อมของสนามบินที่มีผลต่อการอพยพเพื่อทำข้อเสนอแนะและเพิ่มประสิทธิภาพในการอพยพ (เรวัฒน์ รัตนสีออ, 2553)ประยุกต์ใช้โปรแกรมการจำลองด้านพลศาสตร์อัคคีภัยและการจำลองอพยพ กรณีศึกษา อาคารสำนักงานสูง 23 ชั้น โดยใช้ โปรแกรม Pyrosim(Thunder Head Engineering, 2016b)และ โปรแกรม Pathfinder ผลการศึกษาเมื่อเกิดไฟไหม้ขึ้นทำให้เกิดการลุกลามของกลุ่มควันอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตส่วนใหญ่และทั้งตึกมีจำนวนคนทั้งสิ้น 460 คน ไม่สามารถอพยพลงสู่ทางออกสุดท้ายได้ภายในเวลา 5 นาที ตามกฎกระทรวงแรงงาน(กระทรวงแรงงาน, 2555)

บทความนี้นำเสนอผลการศึกษาการอพยพหนีไฟของอาคารสูง 20 ชั้นด้วยแบบจำลองเพลิงไหม้พลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณโดยโปรแกรม Pyrosimและโปรแกรม Pathfinderในการจำลองการอพยพหนีไฟในครั้งนี้และจำลองการอพยพหนีไฟบนพื้นฐานเหตุการณ์เลวร้ายที่สุด(Worst Case Scenario) คือ มีผู้ใช้งานภายในอาคารพร้อมกันทั้งอาคาร การจำลองนี้ใช้ผู้อพยพ 4,594 คน

ทฤษฎี

โปรแกรม Pyrosim

Pyrosim ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ FDS ใช้ในการจำลองพฤติกรรมการเผาไหม้ของกองเพลิงและ Evac ใช้ในการจำลองพฤติกรรมการเคลื่อนที่ของคน โปรแกรมสามารถคำนวณแยกส่วนการอพยพโดยปราศจากการคำนวณการเผาไหม้ได้ ซึ่งการเคลื่อนที่ในแบบจำลองนี้ประยุกต์มาจากแบบจำลองของ(Dirk Helbing *et al.*, 2000) ลักษณะของคนที่เคลื่อนที่ภายในโปรแกรม โดยขนาดของแต่ละบุคคลจะถูกแทนด้วยวงกลม 3 วง การเคลื่อนที่ของคนจะมีแรงกระทำต่อกัน เรียกว่า แรงกระทำรอบข้าง(social force)ซึ่งมีพื้นฐานมาจากกฎการเคลื่อนที่ของนิวตันสมการที่เกี่ยวข้องสามารถศึกษาได้ใน(Timo Korhonen and Simo Hostikka, 2010) ข้อจำกัดของโปรแกรม Pyrosim จะไม่รวมทางเลือกของตัวแทนที่ต้องหันหลังกลับ การหมดสติของตัวแทนอยู่กับปริมาณคาร์บอนมอนนอกไซด์ Pyrosim ไม่สามารถใช้ลิฟท์ในการจำลองเพื่อการอพยพได้และในการสร้างแบบจำลองที่ซับซ้อนอาจทำได้ยาก สามารถศึกษาเติมเกี่ยวกับโปรแกรมได้ใน (Thunder Head Engineering, 2016b)

โปรแกรม Pathfinder

Pathfinder จะนำเสนอแบบจำลองการเคลื่อนไหวของมนุษย์และวิเคราะห์ใน 2 มิติและสามารถแสดงผลได้ทั้ง 2 มิติ (navigation mesh) และ 3 มิติ (3D geometry model)โดยที่ผู้ใช้งานสามารถสร้างโครงสร้างแบบอาคารสิ่งแวดล้อมสิ่งกีดขว้างและบันไดได้เสมือนมิติจริง อีกทั้งยังแสดงตำแหน่ง อัตราการไหล เส้นทางการเคลื่อนที่ โครงสร้างซึ่งเจาะจง การเคลื่อนไหวที่อิสระ พฤติกรรมที่จำเพาะ ตัวเลขเวลาของผู้ครอบครองกระบวนการ Backtrack Prevention ซึ่งช่วยลดปัญหาผู้ครอบครองออกจากห้องไปแล้วกลับมายังห้องเดิมการประมวลผลเพื่อเลือกเส้นทางใน Pathfinder ใช้วิธีการค้าหาแบบ(Hart, P. E. *et al.*, 1968)และใช้เทคนิค string pulling(Geraint Johnson, 2006)เพื่อให้เส้นทางที่เกิดมีเพียงมุมโค้งเพื่อหลบสิ่งกีดขว้างเพื่อไปยังเป้าหมาย โปรแกรมมี 2 โหมดคือโหมดSteering และ โหมดSFPEคือ ข้อจำกัดของ Pathfinder คือ ไม่สนับสนุนการจำลองเชิงซ้อนประเภทกลุ่มครอบครัว ในโหมด SFPE มีการจัดคิวของการอพยพและซ้อนทับกันในที่ว่างเมื่อมีการเคลื่อนไหว สามารถศึกษาเติมเกี่ยวกับโปรแกรมได้ใน (Thunder Head Engineering, 2016c)

มาตรฐานที่เกี่ยวข้อง

ในการจำลองจะใช้ พระราชบัญญัติควบคุมอาคาร กฎกระทรวงฉบับที่ 33(กระทรวงมหาดไทย, 2522)ที่กล่าวว่า ระบบบันไดหนีไฟต้องสามารถลำเลียงบุคคลทั้งหมดภายในอาคารออกนอกอาคารได้ภายใน 1 ชั่วโมง, กฎกระทรวงแรงงาน(กระทรวงแรงงาน, 2555)ว่าด้วยเรื่องการอพยพลูกจ้างในที่ทำงานทั้งหมดเข้าสู่จุดปลอดภัยได้ภายในเวลาไม่เกิน 5 นาทีและ NFPA 101(National Fire Protection Association, 2006) เป็นมาตรฐานที่กำหนดเกี่ยวกับหลักการอพยพหนีไฟและทางหนีไฟ ประเภทพื้นที่ครอบครอง ระยะที่เหมาะสมของทางหนีไฟเส้นทางหนีไฟ ทางออก ทางลาด รวมทั้งความจุของผู้ใช้ภายในอาคารที่เหมาะสมถูกกำหนดไว้ในมาตรฐานนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

ในการจำลองครั้งนี้จะใช้โปรแกรม Pyrosim และ Pathfinder ในการจำลอง ณ เวลาที่มีผู้ใช้งานในอาคารสูงสุด โดยมีโหลดผู้ใช้งานในอาคารทั้งสิ้น 4,594 คน ซึ่งมีที่มาจากการกำหนดของผู้ออกแบบและเป็นไปตามมาตรฐาน NFPA 101 โมเดลจำลองนี้จะจำลองเฉพาะการอพยพหนีไฟเท่านั้นไม่มีการเผาไหม้และการทรุดตัวของอาคาร ไม่มีการอพยพทางอากาศ มีการยกเว้นส่วนประกอบของอาคารจำพวกเฟอร์นิเจอร์ภายในห้องและทางเชื่อมต่อของอาคารส่วนภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลกับส่วนอาคารภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลเดิมออก

ในการจำลองนี้ได้นิยามเวลาที่ผู้ใช้งานอาคารทั้งหมดออกจากอาคารคือเวลาที่ผู้ใช้งานอาคารคนสุดท้ายอพยพไปยังจุดปลอดภัยและนิยามระยะเวลาที่ใช้อพยพผู้ใช้งานอาคารทั้งหมดในแต่ละชั้นเข้าสู่บันไดหนีไฟคือเวลาที่ผู้ใช้งานอาคารคนสุดท้ายของแต่ละชั้นเข้าสู่บันไดหนีไฟ

แบบจำลองสำหรับโปรแกรมคอมพิวเตอร์

อาคารแห่งนี้เป็นอาคารสูง 20 ชั้นเป็นอาคารเรียนในมหาวิทยาลัยมีขนาดโดยประมาณ กว้าง 90 เมตร ยาว 56.5 เมตร สูง 84 เมตร ถูกแบ่งออกเป็น 5 ส่วน ส่วนอาคารภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการครอบคลุมตั้งแต่ชั้นที่ FL.01-FL12 ส่วนพื้นที่จอดรถครอบคลุมตั้งแต่ชั้น FL.02A-FL.09A พื้นที่ออกกำลังกายครอบคลุมตั้งแต่ชั้น FL.07-FL.08 ส่วนห้องเครื่องปั้มครอบคลุมชั้น Basement ส่วนภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลครอบคลุมตั้งแต่ชั้น FL.01-FL.20 ดังแสดงใน (Figure 1) บันไดในพื้นที่อาคารประกอบด้วย บันไดปิดล้อมทนไฟจำนวน 5 บันได บันไดที่ใช้งานต่อเนื่องแต่ไม่ปิดล้อมทนไฟจำนวน 4 บันได บันไดที่ไม่ต่อเนื่องและไม่ปิดล้อมทนไฟจำนวน 5 บันไดและทางลาดจำนวน 6 ทาง ในการจำลองการหนีไฟใช้เฉพาะบันไดที่มาจากห้องเครื่องปั้มและบันไดที่มีการปิดล้อมทนไฟ(ST-01, ST-02, ST-03, ST-08, ST-09)เท่านั้น ในทางลาดจะใช้เฉพาะ R-05และ R-06 จะเจาะจงเฉพาะในส่วนที่มีทิศทางลง บริเวณชั้นล่าง(FL.01) ภายนอกอาคารแห่งนี้ภายในโมเดลจำลองได้กำหนด Exit-W, Exit-S, Exit-E, Exit-N ให้เป็นจุดปลอดภัยดังแสดงใน (Figure 2) และมีการจำลอง 4 cases ในcase 1 และcase 2 จะเป็นการจำลองตามแบบที่ออกแบบโดยผู้ออกแบบและใน case 3 และcase 4 มีการปรับแต่งบันได ST-09 ในชั้น FL.02Aให้ต่อเนื่องถึงชั้น FL.01และยกเลิกผนังด้านหน้าอาคารบริเวณโถงลิฟท์ใกล้บันได ST-01ออกดังแสดงใน(Table 1)

ผลการทดลอง

ระยะเวลาที่ใช้อพยพผู้ใช้อาคารทั้งหมดออกจากอาคาร

ปรากฏผลการจำลองเวลาที่ผู้ใช้อาคารคนสุดท้ายอพยพไปยังจุดปลอดภัยเป็นดังนี้ ใน case 1 ใช้เวลา 1502 วินาที (25.04นาที) case 2 ใช้เวลา 1394 วินาที (23.24 นาที) case 3 ใช้เวลา 1491 วินาที (24.85นาที) และcase 4 ใช้เวลา 1371 วินาที (22.85นาที) ดังแสดงใน (Figure 4)และพบว่าการเลือกจุดปลอดภัยแต่ละจุดของผู้อพยพทั้งหมดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ดังนี้ ในcase 1 มีการเลือกจุด Exit-S, Exit-W, Exit-Eและ Exit-N คิดเป็น 42.29 %, 20.61 %, 20.20 % และ 16.90% ตามลำดับ case 2 มีการเลือกจุด Exit-S, Exit-W, Exit-Eและ Exit-N คิดเป็น 42.75 %, 20.33 %, 19.9 % และ 17.02% ตามลำดับ case 3 มีการเลือกจุด Exit-S, Exit-W, Exit-Eและ Exit-N คิดเป็น 42.38 %, 20.70 %, 20.00 % และ 16.92%ตามลำดับและcase 4 มีการเลือกจุด Exit-S, Exit-W, Exit-Eและ Exit-N คิดเป็น 42.99 %, 20.33 %, 19.9 % และ 16.78% ตามลำดับ

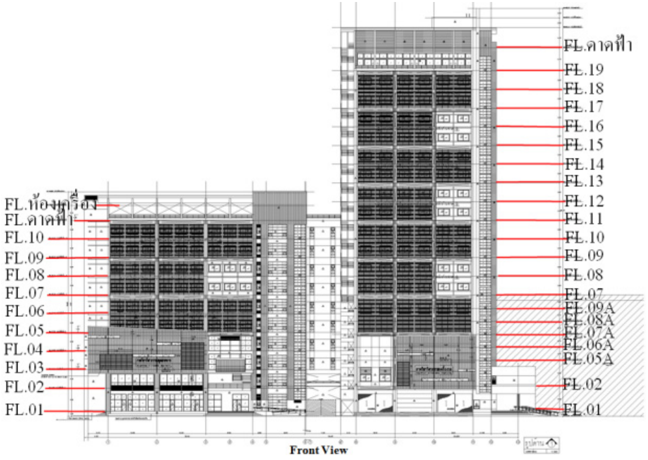


Figure 1 Front view of building.

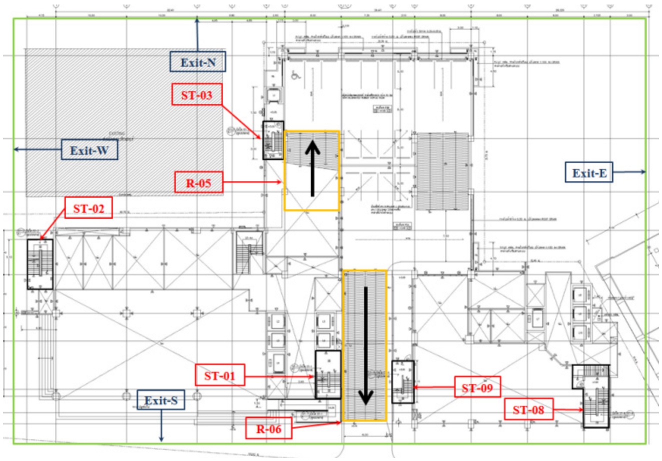


Figure 2 Description of enclosed stair and ramp in models.

Table1. Summary of the simulation cases

Case	Designed condition	Desciption of modify	Models
1	Designer and NFPA 101	-	Pyrosim-Default
2			Pathfinder-Default
3		Point 1:Add stair (ST-09) from 02A fl. to 01 fl. and Point 2:Remove wall at atrium lift area on 01 fl.	Pyrosim-Modify
4			Pathfinder-Modify

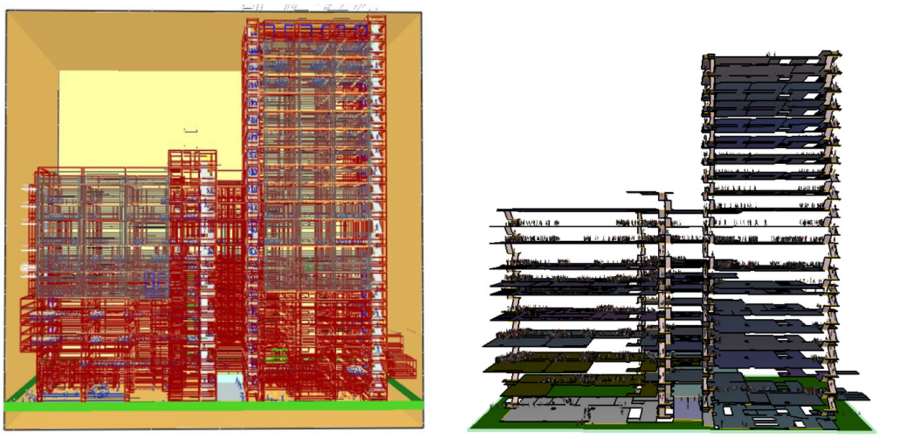


Figure 3 The Computational Models generated by Pyrosim (left) and Pathfinder (right).

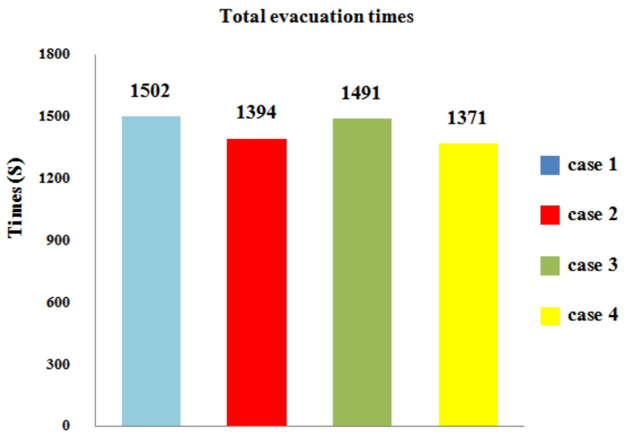


Figure 4 Total evacuation times of all models.

ระยะเวลาที่ใช้อพยพผู้ใช้อาคารทั้งหมดในแต่ละชั้นเข้าสู่บันไดหนีไฟ

ในส่วนภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการมีชั้นที่สามารถอพยพเข้าสู่บันไดปิดล้อมทนไฟได้ภายใน 5 นาที ประกอบไปด้วยชั้น FL.02,FL.06,FL.10,FL.11,FL.12 และใช้เวลาเกิน 5 นาทีประกอบไปด้วยชั้น FL.03, FL.04, FL.05, FL.07, FL.08, FL.09 ในส่วนภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลมีชั้นอาคารที่ใช้เวลาเกิน 5 นาทีในการอพยพเข้าสู่บันไดปิดล้อมทนไฟคือ FL.08,FL.09,FL.18 เท่านั้น ส่วน Car Park เพียงชั้นFL.02B, FL.03B, FL.04B ที่สามารถอพยพได้ภายในเวลา 5 นาที และส่วน Fitness Area ใช้เวลาเกินกว่า 5 นาทีในการอพยพในทั้ง 2 ชั้น สามารถดูสรุปได้ที่ (Figure 5) และยังพบว่าอัตราส่วนการเลือกบันไดของผู้ใช้งานในแต่ละชั้นเท่ากันเนื่องจากทั้ง 4 cases มีความใกล้เคียงกันเพราะอยู่บนสมมุติฐานที่เหมือนกัน ได้ผลจำนวนผู้อพยพที่ใช้บันไดแต่ละบันไดเป็นดังนี้ บันได ST-01 มีผู้ใช้บันได 994 คน บันได ST-02 มีผู้ใช้บันได 884 คน บันได ST-03 มีผู้ใช้บันได 666 คน บันได ST-08 มีผู้ใช้บันได 903 คน บันได ST-09 มีผู้ใช้บันได 933 คนโดยบันไดST-09 จะอพยพคนมาถึงชั้น FL.02A จากนั้นใช้ทางลาด R-06 ในการอพยพต่อทั้งภายในโมเดล case 1 และ case 2 แต่ภายใน case 3และ case 4 บันได ST-09 จะอพยพลงมายังชั้นล่างโดยตรงเลย รวมเป็น 4,336 คน และในชั้น FL.02A มี 8 คน ชั้นล่างมี 244 คน ชั้น Basement มี 6 คน รวมเป็นทั้งหมด 4,594 คน ทั้งนี้เวลาผู้อพยพคนสุดท้ายออกจากบันไดในแต่ละบันไดของแต่ละโมเดลไปยังจุดปลอดภัยสามารถดูได้ที่ (Figure 5)

Area	A time at the last people entrance to stair*	
	Less than 5 minutes	Over than 5 minutes
Industrial Engineering	FL.02,FL.06,FL.10,FL.11,FL.12	FL.03,FL.04,FL.05,FL.07,FL.08,FL.09
Mechanical Engineering	Except for FL.08,FL.09,FL.18	FL.08,FL.09,FL.18
Car Park**	FL.02B,FL.03B,FL.04B	FL.05B,FL.06B,FL.07B,FL.08B
Fitness Area	-	FL.07,FL.08

*This table don't concern Basement,FL.01,FL.02A and FL.02B

**FL.0(X)B receive Some Occupant from FL.0(X+1)A

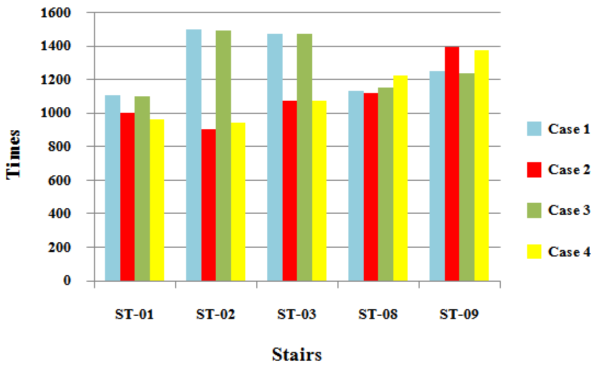


Figure 5 Concluded table of times at the last people entrance to stair (left) and time at a last people entrance to a point of safety (right).

วิจารณ์ผลการทดลอง

การจำลองใน case 1 และ case 2 ใช้เวลาในการอพยพถึงจุดปลอดภัยต่างกัน 108 วินาที(1.80นาที) และมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 7.46 % และในการจำลองระหว่าง case 3 และ case 4 ใช้เวลาในการอพยพถึงจุดปลอดภัยต่างกัน 120 วินาที(2.00นาที)และมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 8.39 % และเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่าง โมเดลเป็นไปตามผู้ออกแบบและโมเดลที่มีการปรับแต่งอาคารระหว่าง case 1 และ case 3 ผลปรากฏว่าเวลาที่ใช้ในการอพยพ "ลดลง" 11 วินาที(0.19นาที) คิดเป็น 0.74 % และผลการจำลองระหว่าง case 2 และ case 4 เวลาที่ใช้ในการอพยพ "ลดลง" 23 วินาที(0.39นาที) คิดเป็น 1.67 % การอพยพผู้อพยพเข้าสู่บันไดหนีไฟทั้ง 4 cases ไม่สามารถทำได้ภายใน 5 นาที อาจเพราะปริมาณคนสะสมในชั้นแต่ละชั้นก่อนหน้านั้นมีปริมาณมากจนทำให้เกิดพฤติกรรมการรอ และพฤติกรรมของผู้อพยพในทั้งโปรแกรม Pyrosim และ Pathfinder มีผลต่อเวลาอพยพคนทั้งหมดออกจากอาคารไปยังจุดปลอดภัยและเวลาที่ผู้อพยพคนสุดท้ายของบันได ST-02และST-03ไปยังจุดปลอดภัย

สรุป

การจำลองการอพยพหนีไฟบนพื้นฐานขณะอันตรายสูงสุดที่สามารถเกิดขึ้นได้คือ มีผู้ใช้งานภายในอาคารพร้อมกันทั้งอาคาร การจำลองนี้ใช้ผู้อพยพ 4,594 คน ปรากฏว่าใช้เวลาในการอพยพหนีไฟเพื่อให้ผู้ใช้อาคารไปยังจุดปลอดภัยอยู่ในช่วง 1394 วินาที (23.24 นาที) ถึง 1502 วินาที (25.04นาที) ซึ่งเป็นไปตามกฎกระทรวงฉบับที่ 33 (พ.ศ.2535) ว่าระบบบันไดหนีไฟต้องสามารถลำเลียงบุคคลทั้งหมดภายในอาคารออก

นอกอาคารได้ภายใน 1 ชั่วโมง แต่ไม่สามารถอพยพผู้ใช้อาคารในบางชั้นของอาคารเข้าสู่บันไดหนีไฟได้ทันภายใน 5 นาที และการปรับแต่งโมเดลใน case 3 และ case 4 สามารถลดเวลาในการอพยพลงได้เพียงเล็กน้อย

เมื่อนำผลการจำลองของทั้ง 2 โปรแกรมมาเปรียบเทียบกันในเชิงพฤติกรรมของผู้อพยพสามารถสรุปได้ว่าโปรแกรม Pathfinder มีการเคลื่อนที่ของผู้อพยพที่สูญเสียทางเวลาน้อยกว่า โปรแกรม Pyrosim อย่างเห็นได้ชัดเจนเกิดจากเมื่อมีการเลี้ยวของผู้อพยพในบริเวณกว้างมากขึ้น Pyrosim ยิ่งมีการสูญเสียเวลามากขึ้น และในบริเวณที่แคบการเคลื่อนที่ของผู้อพยพในทั้ง 2 โปรแกรมมีความแตกต่างกันน้อยมาก ทั้งนี้หากต้องการใช้โปรแกรมใดในการจำลองควรพิจารณาลักษณะโครงสร้างและความซับซ้อนของอาคารที่จะนำมาจำลองด้วย

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงมหาดไทย. 2522. พระราชบัญญัติควบคุมอาคาร กฎกระทรวงฉบับที่ 33 พ.ศ. 2535. Available Source: http://www.dpt.go.th/knowledges/firesafety/pdf/law_33.pdf, June 10.

กระทรวงแรงงาน. 2555. กฎกระทรวง. Available Source: http://www.bsa.or.th/, june 10.

เรวัฒน์ รัตนสีอฮ. 2553. การประยุกต์ใช้โปรแกรมการจำลองด้านพลศาสตร์อัคคีภัยและการจำลองอพยพ : กรณีศึกษา อาคารสำนักงานสูง 23 ชั้น.

Dirk Helbing, Ill´es Farkas and Tam´as Vicsek. (2000) **Simulating Dynamical Features of Escape Panic.**

Fire Safety Engineering_Group. 2016. **Exodus**. Available Source: https://fseg.gre.ac.uk/exodus/index.html, May 20.

Geraint Johnson. 2006. Smoothing a Navigation Mesh Path. **AI Game Programming Wisdom** 3.

Gupta and Yadav. 2004. Safe-R: A New Model to Study the Evacuation Profile of a Building. **Fire Safety Journal**. 39(539-556.

Hart, P.E., N.J. Nilsson and B. Raphael. 1968. A Formal Basis for the Heuristic Determination of Minimum Cost Paths. **IEEE Transactions on Systems Science and Cybernetics**. 4(2): 100-107.

LEGION. 2016. **Legion Software**. Available Source: www.legion.com/legion-software, May 20.

Murali Ramaiyan. 2014. **Utilization of Evacuation Model for Airports Using Risk Based Fire Safety Scenario.** International Master of Science in Fire Safety Engineering, Lund University.

National Fire Protection Association. 2006. **Nfpa** 101 **Life Safety Code**

Oven, V.A. and N. Cakici. 2009. Modelling the Evacuation of a High-Rise Office Building in Istanbul. **Fire Safety Journal**. 44(1): 1-15.

T. M. Kisko, R. L. Francis and C. R. Nobel. 1998. **Evacnet**. Available Source: http://tomkisko.com/ise/files/evacnet/, May 20.

Thunder Head Engineering. 2016a. **Pathfinder User Manual**. Available Source: http://www.thunderheadeng.com/downloads/pathfinder/users_guide.pdf, May 6,2016.

Thunder Head Engineering. 2016b. **Pyrosim User Manual**. Available Source: http://www.thunderheadeng.net/pyrosim/docs/PyroSimManual.pdf, October 10.

Thunder Head Engineering. 2016c. **Pathfinder Technical Reference**. Available Source: http://www.thunderheadeng.com/downloads/pathfinder/tech_ref.pdf, May 6.

Timo Korhonen and Simo Hostikka. (2010) **Fire Dynamics Simulator with Evacuation: Fds+Evac Technical Reference and User's Guide**, VTT Technical Research Centre of Finland. pp. 112.

ผลของการบ่มเตรียมสภาพดินตะกอนต่ออัตราการบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจน ในถังจำลองสภาวะบ่อเลี้ยงกุ้ง

Effect of Bottom Soil Incubation on Inorganic Nitrogen Removal Rates of Shrimp Pond Simulating Tanks

สุภาวดี อัตถาผล[1] วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี[1*] และ สรวิศ เผ่าทองศุข[2,3*]

Supavadee Attapun[1], Wiboonluk Pungrasmi[1*] and Sorawit Powtongsook[2,3*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาระยะเวลาการบ่มดินและตรวจวัดอัตราการบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนด้วยกระบวนการไนทริฟิเคชันของดินจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ทำการทดลองในตู้กระจกที่บรรจุดินพื้นบ่อกุ้งให้มีความลึก 5 ซม. เพื่อจำลองกระบวนการที่เกี่ยวกับวัฎจักรไนโตรเจนของบ่อเลี้ยงกุ้งในสภาวะห้องปฏิบัติการ โดยทำการบ่มดินเป็นเวลา 30 วัน ในน้ำทะเลความเค็ม 10 พีพีที ภายในตู้กระจกที่ติดตั้งปั๊มหมุนเวียนน้ำและให้แสงจากไฟ LED สีขาวเป็นเวลา 12 ชม./วัน ผลการทดลองพบว่า การบ่มดินเป็นเวลา 30 วัน สามารถทำให้กระบวนการไนทริฟิเคชันของผิวดินก้นบ่อบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้สำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งนี้การบ่มดินเป็นเวลา 1 เดือน และ 2 เดือน ให้ผลการบำบัดแอมโมเนียที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยอัตราการบำบัดแอมโมเนียจากการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 - 2 มก.ไนโตรเจน/ล. มีค่าระหว่าง 3.16 - 14.93 มก.ไนโตรเจน/ตร.ม./ชม.

ABSTRACT

This research studied the soil incubation period and determined the inorganic nitrogen degradation via nitrification process of shrimp pond soil. The experimental unit was glass aquariums packed with 5 cm of bottom soil from shrimp pond under laboratory condition. This was to simulate nitrogen cycle naturally occurred in shrimp pond. With this study, soil from shrimp pond was incubated for 30 days in glass aquarium containing 10 ppt seawater with water circulating pump. The illumination was provided by white LED light at 12 hours/day. It was found that the 30 days incubation period was enough for completing nitrification process of bottom soil as inorganic nitrogen was reduced to the acceptable concentration for aquaculture. The incubation period of 1 or 2 months provided similar ammonia treatment in which the ammonia removal rates after adding 0.5 - 2 mg-N/L ammonium chloride between 3.16 - 14.93 mg-N/m^2/hr.

Key Words: nitrogen cycle, microbial activity, earthen pond, inorganic nitrogen

*Corresponding author; e-mail address: sorawit@biotec.or.th / wiboonluk.p@chula.ac.th

[1]ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[1]Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

[2]ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, ปทุมธานี 12120

[3]ศูนย์เชี่ยวชาญด้านเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ 10330

คำนำ

การเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทยส่วนใหญ่ดำเนินการด้วยระบบเปิดในบ่อดิน จึงมีความเสี่ยงสูงต่อการติดโรคของสัตว์น้ำจากการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและดินตามฤดูกาล การควบคุมคุณภาพน้ำและปัจจัยแวดล้อมให้อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญ ทั้งนี้ของเสียส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงสัตว์น้ำมีองค์ประกอบหลักเป็นอนินทรีย์ไนโตรเจนในรูปต่างๆ ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรต ที่เกิดจากการย่อยสลายเศษอาหารที่เหลือตกค้างและสิ่งปฏิกูลจากการขับถ่ายของสัตว์น้ำ (Crab et al., 2007) โดยความเข้มข้นของแอมโมเนียและไนไทรต์ที่ส่งผลเสียต่อสุขภาพของสัตว์น้ำจะอยู่ในระดับที่สูงมากกว่า 1.0 มก.ไนโตรเจน/ล. ทำให้เกิดความเครียด ลดความสามารถของระบบภูมิคุ้มกัน หรือลดความสามารถในการขนถ่ายออกซิเจนของเม็ดเลือด (Timmons et al., 2002) ทั้งนี้ทางเลือกในการบำบัดของเสียไนโตรเจนเหล่านี้นิยมดำเนินการด้วยกระบวนการทางชีวภาพ เนื่องจากมีต้นทุนต่ำและบำบัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ กระบวนการดังกล่าวจะอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินเป็นหลัก ในบ่อดินจะมีแบคทีเรียมากมายในชั้นดินตะกอนก้นบ่อช่วยบำบัดไนเทรตจากระบบเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกลไกที่เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติผ่านปฏิกิริยาไนทริฟิเคชัน (Nitrification) และดีไนทริฟิเคชัน (Denitrification) จึงทำให้ปริมาณไนโตรเจนในน้ำลดลง ส่วนแพลงก์ตอนพืชที่เติบโตอยู่ในมวลน้ำจะมีบทบาทช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับแหล่งน้ำได้จากการสังเคราะห์แสงในช่วงเวลากลางวัน (Kutako et al., 2005; Jangrassa et al., 2007) ในขณะที่ตอนกลางคืนการหายใจของแพลงก์ตอนพืช สัตว์น้ำ และจุลินทรีย์ยังคงดำเนินต่อไป ทำให้มีการใช้ออกซิเจนอย่างต่อเนื่อง ปริมาณออกซิเจนในน้ำจึงลดลง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของระยะเวลาการบ่มดินก้นบ่อกุ้ง เพื่อให้กระบวนการไนทริฟิเคชันที่ผิวดินเกิดได้อย่างสมบูรณ์ โดยทำการทดลองในถังจำลองสภาพของบ่อเลี้ยงกุ้งในสภาวะห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้การจัดเตรียมสภาพของดินในบ่อเลี้ยงกุ้งจะทำให้บ่อเลี้ยงกุ้งมีความพร้อมที่จะรองรับปริมาณของเสียไนโตรเจนปริมาณมากที่จะเกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยงกุ้งได้ นอกจากนี้การตรวจวัดอัตราการบำบัดแอมโมเนียของพื้นดินจะใช้เป็นข้อมูลสำหรับนำไปประเมินขีดความสามารถในการรองรับของเสียของบ่อเลี้ยงกุ้งได้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมบ่อดินจำลองในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งของทองนพคุณฟาร์มในจังหวัดฉะเชิงเทรา นำตัวอย่างดินมาตากในที่ร่มจนแห้งและผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปเก็บรักษาให้คงสภาพในตู้แช่แข็งเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ถังจำลองสภาวะบ่อดินเลี้ยงกุ้งในงานวิจัยนี้ทำขึ้นจากตู้กระจกขนาดกว้าง 20 ซม. ยาว 20 ซม. สูง 35 ซม. ปริมาตรรวมเท่ากับ 14 ล. พื้นที่ผิวด้านก้นถังเท่ากับ 0.04 ตร.ม. เมื่อบรรจุดินน้ำหนักประมาณ 1.5 กก. ดินจะมีความสูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 ซม. จากนั้นเติมน้ำทะเลปริมาตร 8 ล. ความเค็ม 10 พีพีที ซึ่งเป็นความเค็มที่เกษตรกรใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) จนได้ความสูงของน้ำจากผิวหน้าดินประมาณ 20 ซม. ภายในถังทำการติดตั้งปั๊มเวียนน้ำขนาดเล็กเพื่อให้น้ำในตู้กระจกเกิดการไหลวนอย่างช้าๆ ตลอดเวลา (Figure 1) โดยจะมีการให้แสงวันละ 12 ซม. ด้วยหลอด LED สีขาว เพื่อเป็นแหล่งพลังงานแสงสำหรับการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชธรรมชาติภายในถังจำลองสภาวะกลางวันและกลางคืน

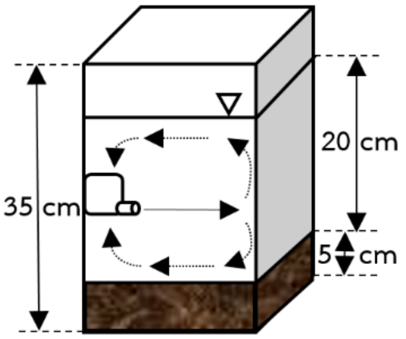


Figure 1 Diagram of a glass tank for earthen aquaculture pond simulation.

การบ่มดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งเพื่อให้เกิดการบำบัดไนโตรเจนด้วยสภาวะจำลองในห้องปฏิบัติการ

นำดินที่ผ่านการแช่แข็งมาบรรจุลงในถังจำลองบ่อเลี้ยงกุ้ง (Figure 1) ทำการปรับค่าความเป็นด่างในน้ำให้สูงกว่า 150 มก./ล. ด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต และบ่มทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยกำหนดให้ถังชุดนี้เป็นถังชุดควบคุม สำหรับถังชุดทดลองจะนำดินที่เก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งอีกชุดหนึ่งมาบรรจุลงในถังจำลองบ่อเลี้ยงกุ้งและปรับค่าความเป็นด่างเช่นเดียวกัน ซึ่งดินในถังชุดทดลองนี้จะแตกต่างจากดินชุดควบคุมเนื่องจากเป็นดินที่ไม่ผ่านการบ่มล่วงหน้าเป็นเวลา 30 วัน แต่ละชุดทดลองประกอบด้วยถังทดลองจำนวน 3 ถัง (3 ซ้ำ) (Figure 2) หลังจากนั้นจึงทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากทั้งสองชุดการทดลองเป็นเวลาประมาณ 1 เดือน ทำการวิเคราะห์ปริมาณ แอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรต ตามวิธีมาตรฐาน APHA, AWWA and WEF (2005) จนกว่าสารอนินทรีย์ไนโตรเจนดังกล่าวจะลดลงทั้งหมดจึงจะถือว่าระบบบ่อเลี้ยงกุ้งจำลองเข้าสู่สภาวะสมดุล

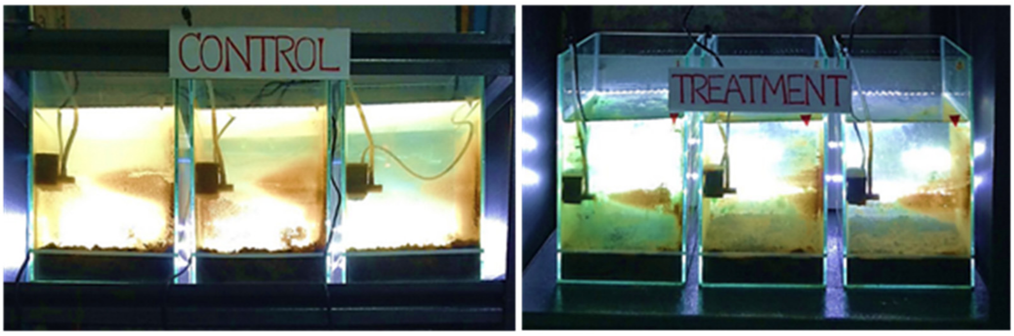


Figure 2 Photographs of glass tanks simulating earthen shrimp pond. Control tanks were filled with 30 days pre-incubation soil, while treatment tanks were soil without incubation.

ผลของระยะเวลาการบ่มดินต่อการบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจน

ทำการประเมินอัตราการบำบัดแอมโมเนียจากการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นแตกต่างกันคือ 0.5, 1 และ 2 มก.ไนโตรเจน/ล. (0.001875, 0.00375 และ 0.0075 กรัม แอมโมเนียมคลอไรด์/ล.) โดยแต่ละความเข้มข้นจะทำทีละครั้งจนกว่าแอมโมเนียจะถูกบำบัดจนหมดแล้วจึงเริ่มทำการทดลองความเข้มข้นต่อไป ซึ่งจะเติมลงในถังจำลองบ่อเลี้ยงกุ้งที่ผ่านการบ่มดินมาแล้วเป็นเวลา 1 เดือน และ 2 เดือน ซึ่งก็คือ ชุดทดลองและชุดควบคุมในการทดลองก่อนหน้านี้ โดยในระหว่างการทดลองจะควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำให้มากกว่า 4 มก.ออกซิเจน/ล. ให้แสง 12 ชม./วัน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างน้ำทุกชั่วโมงต่อเนื่องกันเป็นเวลา 11 ชม. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรตตามวิธีมาตรฐาน APHA, AWWA and WEF

(2005) โดยเมื่อแอมโมเนียถูกบำบัดหมดในแต่ละความเข้มข้นจะมีการรักษาระดับน้ำเพื่อชดเชยน้ำที่ระเหยออกไป ด้วยการควบคุมระดับน้ำให้ค่าความเค็มกลับมาอยู่ที่ 10 พีพีที คำนวณอัตราการบำบัดแอมโมเนียของดินที่ผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 1 และ 2 เดือน ทั้งนี้อัตราการบำบัดแอมโมเนียดังกล่าวจะคิดจากปริมาตรน้ำและพื้นที่ผิวด้านก้นถังของตู้กระจก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงของสารอนินทรีย์ไนโตรเจนระหว่างการบ่มดินในถังจำลองบ่อเลี้ยงกุ้ง

ระหว่างการบ่มดินในถังจำลองบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 30 วัน พบว่าจะเกิดการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมาในน้ำ โดยมีความเข้มข้นสูงกว่า 20 มก.ไนโตรเจน/ล. (เท่ากับ 16 มก.ไนโตรเจน/ตร.ม.(พื้นที่ก้นถัง)/ชม.) ในวันที่ 3 ของการบ่ม หลังจากนั้นแอมโมเนียในน้ำจะลดลงและเกิดไนไทรต์สะสมในน้ำช่วงวันที่ 5 - 11 ของการทดลอง ก่อนที่แอมโมเนียและไนไทรต์จะมีค่าลดลงหลังจากวันที่ 10 เป็นต้นไป (Figure 3) ซึ่งเป็นความเข้มข้นในระดับที่สามารถยอมรับได้สำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำ (Gutierrez-Wing and Malone, 2006) การเปลี่ยนแปลงสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า กระบวนการไนทริฟิเคชันของผิวดินมีความพร้อมที่จะบำบัดแอมโมเนียให้กลายเป็นไนเทรต และกระบวนการดีไนทริฟิเคชันในดินชั้นล่างที่ขาดออกซิเจนสามารถบำบัดไนเทรตที่เกิดจากกระบวนการไนทริฟิเคชันได้ จึงไม่พบการสะสมของไนเทรตในน้ำ

หลังจากบ่มดินในชุดควบคุมเป็นเวลา 30 วันจึงทำการเปลี่ยนน้ำในถัง และเพิ่มชุดการทดลองที่นำดินที่เก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งโดยไม่ผ่านการบ่มมาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสารอนินทรีย์ไนโตรเจน (วันที่ 30 - 61 ใน Figure 3) ผลการทดลองพบว่า ดินที่ยังไม่ผ่านการบ่มจะเกิดการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมาในน้ำเช่นเดียวกันกับการทดลองในชุดควบคุมวันที่ 1 - 30 (Figure 4) เพียงแต่จะใช้เวลานานกว่าที่จะทำให้ปฏิกิริยาไนทริฟิเคชันเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเก็บรักษาดินในตู้แช่แข็งเป็นระยะเวลานาน ซึ่งจากการรายงานของมะลิวัลย์ คุตะโค และสรวิศ เผ่าทองศุข (2555) ระบุว่ากระบวนการกำจัดของเสียไนโตรเจนส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นบริเวณดินตะกอนก้นบ่อ โดยมีกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) ที่เปลี่ยนของเสียอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นสารอนินทรีย์ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนีย หลังจากนั้นแอมโมเนียจะถูกบำบัดโดยแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ได้แก่ แอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรีย (Ammonia Oxidizing Bacteria, AOB) และไนไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย (Nitrite Oxidizing Bacteria, NOB) ได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นไนเทรต (McCarty, 1999) ไนเทรตที่เกิดขึ้นจะถูกบำบัดต่อที่บริเวณชั้นดินตะกอนที่ขาดออกซิเจน และเปลี่ยนเป็นก๊าซไนโตรเจนด้วยกระบวนการดีไนทริฟิเคชัน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวจะส่งผลให้ค่า ORP (Oxidation Reduction Potential) เป็นค่าติดลบประมาณ -50 ถึง -300 มิลลิโวลต์ (Lee et al., 2000) สำหรับพีเอชตลอดการทดลองนี้จะอยู่ในช่วง 6 - 9 โดยส่วนใหญ่จะมีค่าประมาณ 8 ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ และเป็นระดับพีเอชที่ทำให้แอมโมเนียอยู่ในรูปแอมโมเนียมอิออนที่ละลายอยู่ในน้ำ ทั้งนี้หากพีเอชสูงขึ้นมากกว่า 9 จะส่งผลให้พิษของแอมโมเนียเพิ่มขึ้น (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539) และการระเหยของแอมโมเนียจากน้ำสู่บรรยากาศจะเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชสูงกว่า 9.25 (Timmons et al., 2002) ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่า การลดลงของแอมโมเนียในการทดลองนี้เกิดขึ้นจากการกิจกรรมของจุลินทรีย์ไม่ใช่มาจากการระเหยของแอมโมเนียสู่ชั้นบรรยากาศ

นอกจากนี้จากการศึกษาของ Kutako et al. (2009a, b) ยังพบว่าการนำดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งไปตากแดดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (จำลองการตากบ่อเลี้ยงกุ้งหลังจากจบการเลี้ยง 1 รอบ) จะทำให้ไนตริไฟอิงแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนถูกกำจัดไปได้ และการบ่มดินเพื่อให้กระบวนการไนทริฟิเคชันกลับมามีประสิทธิภาพจะต้องใช้เวลานานกว่าที่พบในการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาดินด้วยการแช่แข็งเป็นระยะเวลานานประมาณ 2 เดือน ไนทริไฟอิงแบคทีเรียในดินจะยังสามารถคืนสภาพให้เกิดการบำบัดได้ ซึ่งความรู้นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการเก็บรักษาหัวเชื้อไนทริไฟอิงแบคทีเรียให้คงสภาพเพื่อใช้ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำได้ในอนาคต

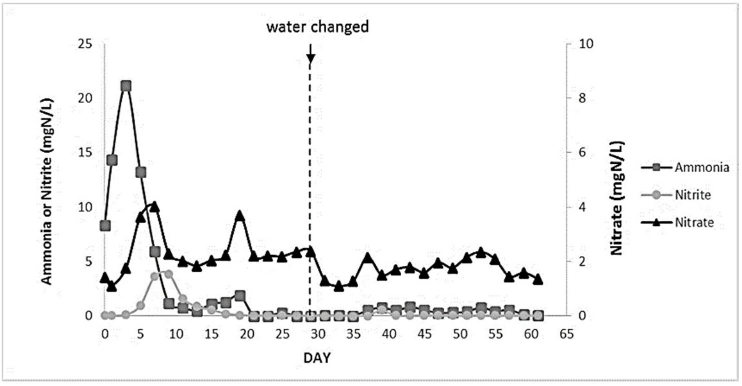


Figure 3 Changes of inorganic nitrogen during 30 days pre-incubation of bottom soil in a control tank.

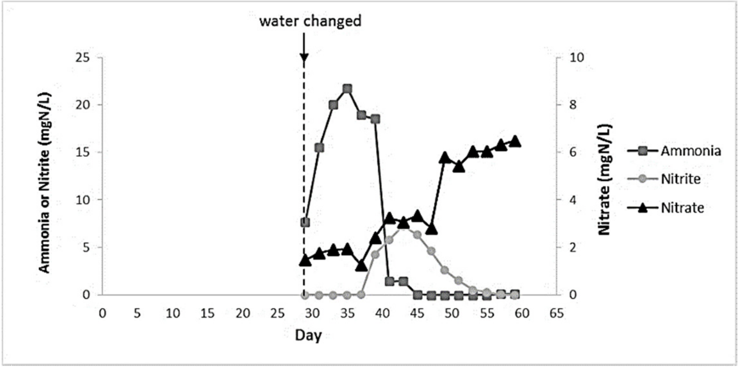


Figure 4 Changes of inorganic nitrogen in a treatment tank without bottom soil incubation.

ความเหมาะสมของระยะเวลาในการบ่มดินต่อการบำบัดแอมโมเนีย

อัตราการบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนจากการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ 0.5, 1 และ 2 มก.ไนโตรเจน/ล. ลงในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลอง เปรียบเทียบระหว่างดินที่ผ่านการบ่มในระยะเวลาที่ต่างกันคือ 1 และ 2 เดือน (Figure 5, 6, 7) ตามลำดับ ซึ่งพบว่าดินที่ผ่านการบ่มมาแล้ว 1 เดือนที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.5, 1 และ 2 มก.ไนโตรเจน/ล. มีอัตราการบำบัดแอมโมเนียเท่ากับ 3.167, 4.947 และ 11.660 มก.ไนโตรเจน/ตร.ม.(พื้นที่ก้นถัง)/ชม. ตามลำดับ ในขณะที่ดินที่ผ่านการบ่มมาแล้ว 2 เดือนที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมคลอไรด์เท่ากันจะมีอัตราการบำบัดแอมโมเนีย 3.713, 7.620 และ 14.927 มก.ไนโตรเจน/ตร.ม.(พื้นที่ก้นถัง)/ชม. ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งพบว่า ระยะเวลาการบ่มดิน 1 และ 2 เดือนมีอัตราการบำบัดสาร

อนินทรีย์ไนโตรเจนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการบ่มดินอย่างน้อย 1 เดือนก่อนเริ่มทำการเลี้ยงสัตว์น้ำก็เพียงพอต่อการกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์โดยเฉพาะไนตริไฟอิงแบคทีเรียที่ผิวดิน เพื่อให้สามารถบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่จะส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำในบริเวณชั้นดินตะกอน อย่างไรก็ตามบ่อดินมีความสามารถในการรองรับปริมาณของเสียไนโตรเจน (Carrying capacity) ได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น ซึ่งพบว่าของเสียที่เกิดขึ้นจากการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.5, 1 และ 2 มก.ไนโตรเจน/ล. เมื่อคำนวณจากการเลี้ยงกุ้งที่ให้อาหารที่มีโปรตีนร้อยละ 38 ในอัตราร้อยละ 5 ของน้ำหนักกุ้งต่อวัน (Kutako et al., 2005) ในบ่อที่มีความลึก 1 เมตร จะเทียบเท่ากับการเลี้ยงสัตว์น้ำที่ความหนาแน่นประมาณ 0.22, 0.44 และ 0.88 กก./ลบ.ม. (352, 704 และ 1,408 กก./ไร่) ตามลำดับ

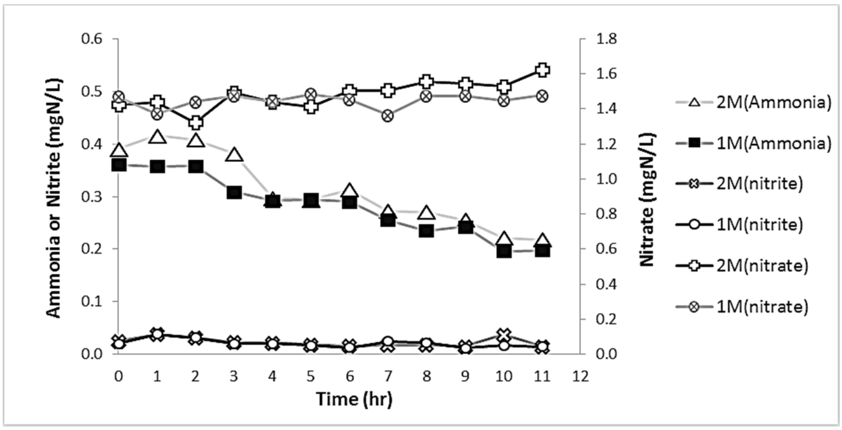


Figure 5 Inorganic nitrogen in the experimental tanks containing 1 and 2 months incubation soil after an addition of 0.5 mg N/L ammonium chloride.

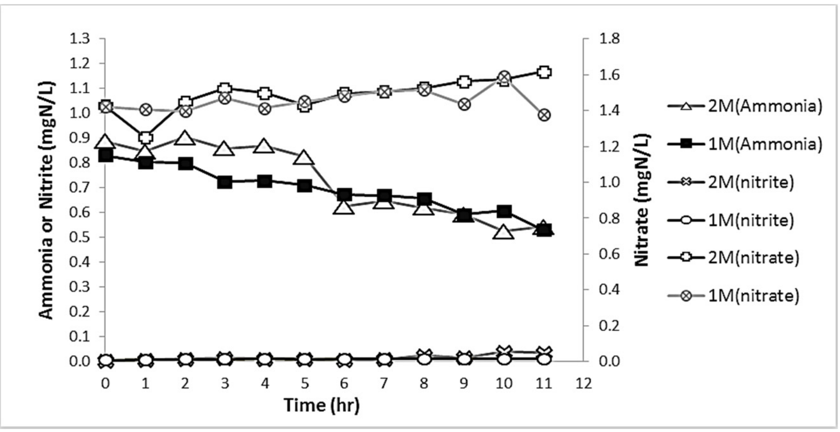


Figure 6 Inorganic nitrogen in the experimental tanks containing 1 and 2 months incubation soil after an addition of 1 mg N/L ammonium chloride.

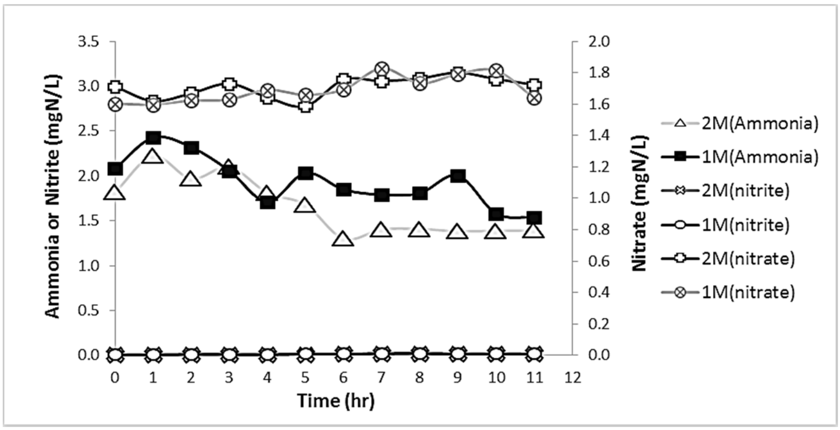


Figure 7 Inorganic nitrogen in the experimental tanks containing 1 and 2 months incubation soil after an addition of 2 mg N/L ammonium chloride.

Table 1 Ammonia removal rate after ammonium chloride addition at various concentrations.

Ammonium chloride concentrations (mg N/L)	Ammonia removal rates (mg N/m^2/hr)	
	1 Month	2 Month
0.5	3.167± 0.00355[a]	3.713 ± 0.00237[a]
1	4.947 ± 0.00434[a]	7.620 ± 0.00854[a]
2	11.660 ± 0.0141[a]	14.927 ± 0.0138[a]

Note : Superscript letters indicated statistically significant not difference (*p>0.05*)

สรุป

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการบ่มดินก้นบ่อเป็นกระบวนการที่สำคัญในการช่วยกระตุ้นให้ไนตริไฟอิงแบคทีเรียสามารถบำบัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติได้อย่างสมบูรณ์ โดยจะต้องใช้ระยะเวลาการบ่มประมาณ 30 วัน หากเพิ่มระยะเวลาการบ่มเป็น 2 เดือนก็จะได้ผลไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบบ่อดินกลางแจ้งเมื่อมีการบ่มดินก่อนเริ่มทำการเลี้ยงสัตว์น้ำจะสามารถช่วยควบคุมระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียและไนไทรต์ให้ต่ำกว่า 1.0 มก.ไนโตรเจน/ล. ได้ และไม่เป็นการทำลายไนทริไฟอิงแบคทีเรียในกระบวนการไนทริฟิเคชันที่มีบทบาทสำคัญในการบำบัดสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งมีอัตราการบำบัดแอมโมเนียระหว่าง 3.16 - 14.93 มก.ไนโตรเจน/ตร.ม.(พื้นที่ก้นถัง)/ชม. ซึ่งเทียบเท่ากับการเลี้ยงกุ้งที่ความหนาแน่นไม่เกิน 1,400 กก./ไร่ หากเลี้ยงกุ้งด้วยความหนาแน่นมากกว่านี้การบำบัดตามธรรมชาติด้วยกระบวนการไนทริฟิเคชัน-ดีไนทริฟิเคชันจะไม่สามารถควบคุมคุณภาพน้ำได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำงานวิจัย และเอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และตลอดจนให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ด้านต่างๆ งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจากบัณฑิต

วิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และโครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูงประจำปีงบประมาณ รหัสโครงการ (กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2559 CU-59-022-FW)

เอกสารอ้างอิง

มะลิวัลย์ คุตะโค และสรวิศ เผ่าทองศุข. 2555. บทบาทของกระบวนการทางชีวภาพต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบไนโตรเจนในบ่อดินสำหรับเลี้ยงสัตว์น้ำ. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 30(3): 103-112.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา. 2539. การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

APHA, AWWA and WEF. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st edition. Washington DC: American Public Health Association.

Crab, R., Y. Avnimelech, T. Defoirdt, P. Bossier and W. Verstraete. 2007. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. Aquaculture. 270: 1-14

Gutierrez – Wing, M. T., and Malone, R. F. 2006. Biological filters in aquaculture: trends and research direction for freshwater and marine applications. Aquculture Engineering. 34(3): 163-171.

Jangrassa, S., M. Kutako, S. Powtongsook and P. Manasveta. 2007. Effect of aeration on inorganic nitrogen released from sediment in artificial outdoor shrimp pond. In Proceeding of the 33nd Congress on Science and Technology of Thailand, Walailuk University.

Kutako, M., K. Yiewya, P. Nupasant, C. Ngamphongsai and S. Powtongsook. 2005. Conversion of inorganic nitrogen compounds from organic matter decomposition in sediment from shrimp pond under laboratory Condition. In Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand, Suranaree University of Technology.

Kutako, M., T. Limpiyakorn, E. Luepromchai, S. Powtongsook and P. Menasveta. 2009a. Inorganic nitrogen conversion and changes of bacterial community in sediment from shrimp pond after methanol addition. Journal of Applied Sciences. 9(16): 2907-2915.

Kutako, M., T. Limpiyakorn, S. Powtongsook and P. Menasveta, P. 2009b. Effect of sun-drying on ammonia removal efficiency of shrimp pond under laboratory condition. In Proceeding of the 35th Congress on Science and Technology of Thailand, Burapha University.

Lee, P.G, R.N. Lea, E. Dohmann, W. Prebilsky, P.E. Turk, H. Ying and J.L. Whitson. 2000. Denitrification in aquaculture systems: an example of a fuzzy logic control problem. Aquacultural Engineering. 23: 37-59.

McCarty, G.W. 1999. Modes of action of nitrification inhibitors. Biology and Fertility of Soils. 29: 1-9.

Timmons, M.B., J.M. Ebeling., F.W. Wheaton., S.T. Summerfelt., and B.J. Vincii. 2002. Recirculating Aquaculture System. 2nd edition. New York: Northeastern Regional Aquaculture Center.

การใช้ระบบคุณภาพปรับปรุงกระบวนการจัดซื้อจ้างในโครงการก่อสร้างเขื่อนป้องกันตลิ่งริมแม่น้ำ

The Use of Quality System for the Procurement Process in River Dam's Construction

ปาณสาร เทพเนาว์[1*] กฤษดา พิศลยบุตร[1] เลิศเลขา ธนะชัยขันธ์[1] เสรีย์ ตู้ประกาย[1] และ คมสัน จิระภัทรศิลป[2]

Panasarn Tepnao[1*], Krisda Phisonyabuth[1], Lerdlekha Sriratana[1], Seree Tuprakay[1] and Komson Jirapattarasilp[2]

บทคัดย่อ

การศึกษาปัญหากระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา)ในโครงการก่อสร้างเขื่อนป้องกันตลิ่งริมแม่น้ำที่มีความล่าช้า โดยทำการสำรวจจากแบบสอบถามของข้าราชการ พนักงาน และลูกจ้างที่เกี่ยวข้องในกระบวนการประมาณราคา จากการศึกษาพบว่ามีปัญหาเกิดความล่าช้าในการดำเนินงาน เนื่องจากจำนวนของบุคลากรไม่เพียงพอกับจำนวนปริมาณงานที่มีมากขึ้น จากปัญหาดังกล่าว ผู้วิจัยใช้การปรับปรุงคุณภาพ PDCA (Deming Cycle) ในระบบการจัดการบริหารคุณภาพโดยรวม TQM (Total Quality Management) มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา)ของโครงการก่อสร้างเขื่อนป้องกันตลิ่งริมแม่น้ำ ผลการศึกษาพบว่า สามารถลดขั้นตอนกระบวนการทำงานได้ และใช้เวลาในการดำเนินงานกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา) ลดลง จากเดิม 26 วัน เหลือ 13 วัน สามารถลดระยะเวลาได้ร้อยละ 50

ABSTRACT

The study on issue of procurement (cost estimation) of river bank's dam construction was delayed. The survey of the current state was made to figure the issues occurred to the concerned personnel such as government officers, civil servants and employees in cost estimation party. It was found that the delayed procedures because the insufficient personnel comparing to an increased quantity of work. From this issue, the PDCA (Deming Cycle) was chosen to use for Total Quality Management (TQM) to minimize the procedure, time in procurement from 26 days to 13 days which was 50 percent decreasing.

Keyword: procurement procedure, quality management, process improvement of procurement

*Corresponding author; e-mail: panasarn89@gmail.com

[1]สาขาการตรวจสอบและกฏหมายวิศวกรรม,คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง 10240

[1]Master of Engineering Program in Inspection and Engineering Law. Faculty of Engineering. Ramkhamhaeng University. 10240

[2]ภาควิชาครุศาสตร์อุตสาหการ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

คำนำ

โครงการก่อสร้างเขื่อนป้องกันตลิ่งริมแม่น้ำ เป็นส่วนหนึ่งของอุตสาหกรรมการก่อสร้างในประเทศไทยที่ดำเนินงานโดยหน่วยงานราชการ มีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยเหลือประชาชนในพื้นที่ริมตลิ่งทั้งสองฝั่งแม่น้ำ เป็นการป้องกันน้ำท่วม การผันน้ำ การจัดรูปที่ดิน และการเกษตรกรรม โดยมีหน้าที่ตั้งแต่การสำรวจ ออกแบบ ประมาณราคา และการจัดซื้อจัดจ้าง คณะทำงานกำหนดหลักเกณฑ์ประมาณราคา กรมโยธาธิการและผังเมืองให้ความหมายของการประมาณราคา คือ การคิดราคาของการก่อสร้างโครงการต่างๆ เช่น อาคาร ถนน สะพาน เขื่อน ฯลฯ ซึ่งต้องมีความละเอียด รอบคอบ ตลอดจนจะต้องใช้ประสบการณ์ของผู้ประมาณราคาเพื่อให้ได้ราคาที่เหมาะสม และใกล้เคียงกับราคาก่อสร้างจริง มี 2 วิธี คือ วิธีการประมาณราคาจากปริมาณงานและวัสดุก่อสร้างต่อหน่วย และวิธีประมาณราคาจากปริมาณวัสดุก่อสร้างทั้งหมด ซึ่งการระบุปัญหาที่เกิดขึ้นในการดำเนินงาน มี 3 ปัจจัย ได้แก่ ปัญหาที่เกิดจากบุคลากร, ปัญหาที่เกิดจากระบบการทำงาน และ ปัญหาที่เกิดจากอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงาน ซึ่งกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา) สามารถนำระบบบริหารจัดการคุณภาพโดยรวม TQM (Total Quality Management) มาประยุกต์ใช้กับปัญหาดังกล่าว โดยให้ความสำคัญกับปัจจัยหลักด้านการบริหารภายในองค์การเป็นอันดับแรก ตามด้วยวัฒนธรรมและคนในองค์การ การบริหารภายนอกองค์การ และระบบเทคนิค ตามลำดับ (สิตาพร, 2548)

การศึกษาครั้งนี้ มีแนวความคิดศึกษาปัญหาที่พบในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา) โดยผลจากการศึกษาสามารถระบุปัจจัยเสี่ยงของปัญหาที่เกิดขึ้นได้ ซึ่งนำไปเป็นแนวทางในการเลือกระบบบริหารคุณภาพมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับองค์กรได้

อุปกรณ์และวิธีการ

งานวิจัยนี้แบ่งวิธีการศึกษาเป็น 2 ส่วน คือ 1) การวิจัยทางเอกสาร เป็นการศึกษาจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมการก่อสร้าง การบริหารจัดการด้วยวิธีระบบบริหารคุณภาพ และการรวบรวมข้อมูลทฤษฎีเกี่ยวกับระบบบริหารคุณภาพ ระบบมาตรฐาน ISO 9001 การบริหารจัดการคุณภาพโดยรวม TQM(Total Quality Management) เกณฑ์รางวัลคุณภาพแห่งชาติ การบริหารความเสี่ยง เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ให้กระบวนการทำงานมีประสิทธิภาพมากขึ้น และ 2) การวิจัยเชิงสำรวจ เป็นการสำรวจรวบรวมข้อมูลจากการทำแบบสอบถามของผู้ที่เกี่ยวข้อง ประกอบด้วย 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ใช้เพื่อรวบรวมข้อมูลทั่วไปของผู้ที่ตอบแบบสอบถามและส่วนที่ 2 ใช้รวบรวมข้อมูล ความคิดเห็นด้วยวิธีเชิงสถิติและวิธีพรรณนาของผู้ตอบแบบสอบถาม ที่มีต่อปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นในโครงการก่อสร้างเขื่อนป้องกันตลิ่งริมแม่น้ำ เพื่อนำข้อมูลจากแบบสอบถามไปทำการวิเคราะห์ความสำคัญปัจจัยเสี่ยงของปัญหาที่เกิดขึ้น ได้แก่ การหาค่าความถี่และระดับผลกระทบโดยวิธีทางสถิติ เพื่อสรุปเป็นค่าระดับปัจจัยเสี่ยงในกระบวนการจัดซื้อจ้าง (ประมาณราคา) และศึกษาการนำระบบบริหารคุณภาพมาประยุกต์ใช้ โดยการรวบรวมข้อมูล ทฤษฎีเกี่ยวกับระบบบริหารคุณภาพ ระบบมาตรฐาน ISO 9001 การบริหารจัดการคุณภพโดยรวม TQM (Total Quality Management) เกณฑ์รางวัลคุณภาพแห่งชาติ และหลักการบริหารจัดการความเสี่ยง มีการสำรวจประเด็นปัญหาที่เกิดขึ้นด้วยแบบสอบถามตามสภาพปัจจุบันของเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง คือ ข้าราชการ พนักงานราชการ ลูกจ้าง แล้ววิเคราะห์ระดับปัจจัยเสี่ยงด้วยวิธีทางสถิติและวิธีพรรณนา โดยเครื่องมือทางสถิติที่ใช้คือ ค่าความถี่ ร้อยละ ที่ใช้เป็นความสัมพันธ์ระหว่างระดับความถี่และระดับผลกระทบกับระดับคะแนน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาปัจจัยเสี่ยงที่เกิดขึ้นในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา)

จากการศึกษาโดยใช้วิธีทางสถิติ คือ การทำแบบสอบถามกับผู้ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา) คือ ข้าราชการ พนักงาน และลูกจ้าง จำนวน 20 คน พบว่า ปัจจัยเสี่ยงที่เกิดขึ้นสามารถแยกได้เป็น 3 ประเภท คือ ปัญหาที่เกิดจากบุคลากร, ปัญหาที่เกิดจากระบบการทำงาน และปัญหาที่เกิดจากอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงาน โดยสามารถจัดลำดับความเสี่ยงที่เกิดขึ้นได้ ดังนี้

1.ปัญหาจำนวนของบุคลากรไม่เพียงพอกับจำนวนปริมาณงานที่มีมากขึ้น (มากที่สุด)

2.ปัญหาการแก้ไขเปลี่ยนแปลงแบบก่อสร้าง (มาก)

3.ปัญหาบุคลากรขาดความเชี่ยวชาญในการสำรวจ (การสำรวจที่ผิดพลาด) (มาก)

4.ความล่าช้าในการส่งแบบที่ใช้ในการก่อสร้าง (Shop Drawing) ล่าช้า (มาก)

2. การประยุกต์ใช้การปรับปรุงคุณภาพ PDCA (Deming Cycle) ในระบบการจัดการบริหารคุณภาพโดยรวม TQM (Total Quality Management) จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบบริหารคุณภาพของภาครัฐนั้น พบว่า สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา) ได้ โดยการปรับกระบวนการดำเนินงาน ได้เป็น 2 ประเภทกิจกรรม ซึ่งกำหนดวิธีการ ดัชนีวัดคุณภาพและค่าเป้าหมายการปรับปรุงคุณภาพ โดยใช้เวลาในการปรับปรุงและประยุกต์ใช้ระดับคุณภาพ 3 เดือน คือ เดือนกันยายน ถึง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2557 ได้ผลสรุป ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 ปรับปรุงกระบวนการ มี 4 วิธี คือ 1) จัดลำดับขั้นตอนการดำเนินงานให้ชัดเจนโดยกำหนดค่าเป้าหมายของคุณภาพงาน คือ การลดขั้นตอนการดำเนินงานในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา)โดยมีระยะเวลาการดำเนินงานในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา) ที่ลดลง ซึ่งสามารถลดระยะเวลาการดำเนินงานเหลือ 13 วัน จากเดิมใช้ระยะการดำเนินงาน 26 วัน คิดเป็นลดลงร้อยละ 50

2) จัดทำโปรแกรมการคำนวณราคากลางให้เป็นระบบ โดยกำหนดค่าเป้าหมายของคุณภาพงาน ระยะเวลาการคำนวณประมาณราคาที่ลดลง สามารถลดระยะเวลาการดำเนินงานเหลือ 10 วัน จากเดิมใช้ระยะเวลาการคำนวณประมาณราคา 14 วัน คิดเป็นลดลงร้อยละ 28

3) การจัดเก็บข้อมูลรายละเอียดของโครงการก่อสร้างเขื่อนป้องกันตลิ่งริมแม่น้ำด้วยระบบคอมพิวเตอร์ให้เป็นปัจจุบันในขั้นตอนการสรุปประมาณราคา โดยกำหนดค่าเป้าหมายของคุณภาพงาน ระยะเวลาการจัดทำเอกสารสรุปประมาณราคาที่ใช้จำนวน 1 วัน สามารถปฏิบัติใช้เวลาการจัดทำเอกสารสรุปประมาณราคาได้จริง เป็นจำนวน 1 วัน จากเดิมใช้ระยะเวลา 2 วัน คิดเป็นลดลงร้อยละ 50

4) การตรวจสอบระยะการดำเนินงานในแต่ละขั้นตอนโดยการลงนามของผู้ที่เกี่ยวข้อง โดยกำหนดค่าเป้าหมายของคุณภาพงานที่ลดลง จากเดิมใช้ระยะเวลา 9 วัน ภายหลังการปรับปรุงระบบคุณภาพ PDCA ทำให้ใช้ระยะลดลงเหลือ 1 วัน คิดเป็นลดลงร้อยละ 88

กิจกรรมที่ 2 ปรับปรุงอุปกรณ์ละเครื่องมือในการทำงาน โดยกำหนดค่าเป้าหมายของคุณภาพงานที่ค่าเป้าหมายจากการตรวจสอบการชำรุด เสียหายของอุปกรณ์ต่างๆ คิดเป็นร้อยละการปรับปรุง 100 และหลังการปรับปรุงด้วยระบบคุณภาพ PDCA มีค่าปฏิบัติได้จริง ร้อยละ 100

สรุป

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้เป็น 2 ตอน ตามวัตถุประสงค์ ดังนี้

ตอนที่ 1 ผลการศึกษาปัญหาที่พบในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา)

จากการศึกษาปัญหาที่พบในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา)โดยจากการทำแบบสอบถามกับผู้ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง(ประมาณราคา) ข้าราชการ พนักงาน และลูกจ้าง สามารถจำแนกปัญหาได้ 3 ประเภท ดังนี้

1. ปัญหาที่เกิดจากบุคลากร จำนวน 11 ปัญหา เช่น จำนวนของบุคลากรไม่เพียงพอกับจำนวนปริมาณงานที่มีมากขึ้น, บุคลากรขาดความเชี่ยวชาญในการสำรวจ (การสำรวจที่ผิดพลาด) และบุคลากรขาดความเชี่ยวชาญในการออกแบบ (การออกแบบที่ผิดพลาด) เป็นต้น
2. ปัญหาที่เกิดจากระบบการทำงาน จำนวน 7 ปัญหา เช่น การอนุมัติแบบที่ใช้ในการก่อสร้าง (Shop Drawing) ล่าช้า, ความล่าช้าในการส่งแบบที่ใช้ในการก่อสร้าง (Shop Drawing) ล่าช้า และระบบการทำงานมีขั้นตอนที่ทับซ้อนและหลากหลาย เป็นต้น
3. ปัญหาที่เกิดจากอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงาน จำนวน 3 ปัญหา เช่น ความล่าช้าในการจัดหาอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการทำงาน, อุปกรณ์ เครื่องมือ เกิดการชำรุดเสียหาย และโปรแกรมที่ใช้ไม่มีการปรับปรุงให้ทันสมัย

และสามารถสรุปผลการศึกษาระดับปัจจัยเสี่ยงที่เกิดขึ้นในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา) จากการเปรียบเทียบระดับปัจจัยเสี่ยงจากการวิเคราะห์ระดับปัจจัยเสี่ยงที่เกิดขึ้นในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา) และการหาปัจจัยเสี่ยงที่เกิดขึ้นที่ต้องปรับปรุง สรุปผลระดับปัจจัยเสี่ยงได้ ดังนี้

1. ปัญหาจำนวนของบุคลากรไม่เพียงพอกับจำนวนปริมาณงานที่มีมากขึ้นอยู่ในเกณฑ์ค่าระดับปัจจัยเสี่ยงมากที่สุด
2. ปัญหาการแก้ไขเปลี่ยนแปลงแบบก่อสร้างอยู่ในเกณฑ์ค่าระดับปัจจัยเสี่ยง มาก
3. ปัญหาบุคลากรขาดความเชี่ยวชาญในการสำรวจ(การสำรวจที่ผิดพลาด) อยู่ในเกณฑ์ค่าระดับปัจจัยเสี่ยง มาก
4. ปัญหาความล่าช้าในการส่งแบบที่ใช้ในการก่อสร้าง (Shop Drawing)ล่าช้า อยู่ในเกณฑ์ค่าระดับปัจจัยเสี่ยง มาก

ตอนที่ 2 ผลการปรับปรุงระดับคุณภาพของกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา)

จากการประยุกต์ใช้การปรับปรุงคุณภาพ PDCA (Deming Cycle) ในระบบการจัดการบริหารคุณภาพโดยรวม TQM (Total Quality Management) สามารถปรับปรุงขั้นตอนการดำเนินงานในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา) ได้ ดังนี้

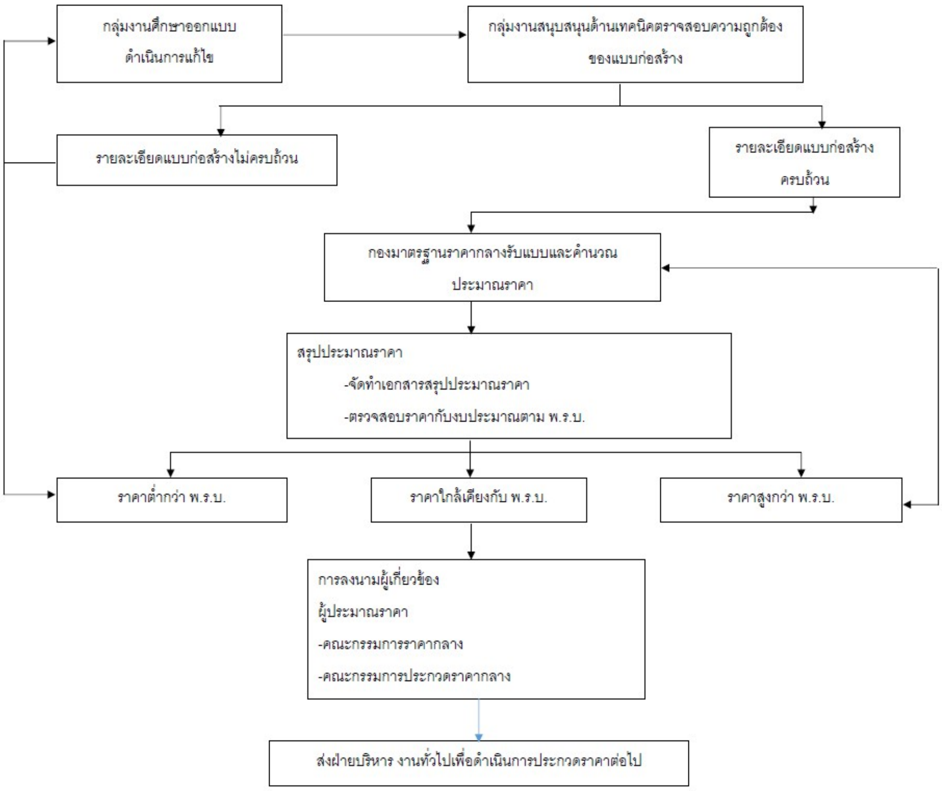


Figure 1 The Procurement Process in river dam's construction after apply PDCA (Deming Cycle) in Total Quality Management (TQM)

ซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการดำเนินงานในแต่ละขั้นตอน จากเดิม ใช้ระยะเวลา 26 วัน เหลือ 13 วัน คิดเป็นลดระยะเวลาได้ร้อยละ 50

Table 1 Comparing before and after apply the quality system for the procurement process in river dam's construction.

No.	Before	Day(Average)	After	Day(Average)	Remark
1.	Obtain the construction Drawings	1	Check the construction Drawings	1	
2.	Take of the quantity of materials	3	Cost Estimation	10	
3.	Cost Estimation	11			
4.	Check cost with the government's budgets.	2	Bill of Quantities form (BOQ.)	1	
5.	Approval by The Pricing Boards	1	Approval by The Boards	1	
6.	Approval by The Procurement Boards	8			
	Total (Days)	26	Total (Days)	13	

จากตารางดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า การประยุกต์ใช้กระบวนการปรับปรุงคุณภาพ PDCA (Deming Cycle) ในระบบการจัดการบริหารคุณภาพโดยรวม TQM (Total Quality Management) สามารถลดระยะเวลาการดำเนินงานในกระบวนการจัดซื้อจัดจ้าง (ประมาณราคา) ได้

เอกสารอ้างอิง

เขมชาติ อินทร์แก้ว. 2552. **การศึกษาแนวทางการจัดการด้านคุณภาพงานก่อสร้างของบริษัทที่ปรึกษาควบคุมงาน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

จีรพรรณ ดลรักษ์. 2549. **การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพในกระบวนการออกแบบและกระบวนการก่อสร้างอาคาร.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

ปณต มงคลธรรมากุล. 2552. **การศึกษาปัญหาที่ส่งผลต่อคุณภาพในงานก่อสร้างอาคารของหน่วยงานภาครัฐ.** การศึกษาโครงการเฉพาะเรื่องปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พงศกร จุลละโพธิ. 2551. **สาเหตุความล่าช้าในงานก่อสร้างทางหลวงของประเทศไทย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พิเชษฐ์ นิลสว่าง. 2553. **การประเมินการใช้ระบบคุณภาพ ISO 9001 ในบริษัทวิศวกรที่ปรึกษาด้านงานก่อสร้างอาคาร.** การศึกษาโครงการเฉพาะเรื่องปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ว่าที่ร้อยตรีอุดมศักดิ์ รัตนสินทร์. 2552. **การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความล่าช้าในการบริหารโครงการก่อสร้างขนาดใหญ่ของกรมชลประทาน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

วีระฉัตร วงศ์ทวี. 2549. **ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพในโครงการก่อสร้างเขื่อนและอาคารประกอบในขั้นตอนการออกแบบ.** การศึกษาโครงการเฉพาะเรื่องปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สิตาพร สายแสงจันทร์. 2548. **การศึกษาปัจจัยความสำเร็จที่มีผลต่อการประยุกต์ใช้ระบบบริหารคุณภาพทั่วทั้งองค์การ (TQM) ในองค์การที่ได้รับรางวัลจากโครงการรางวัลคุณภาพแห่งชาติของไทย (Thailand Quality Award).** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

อัจฉรา ศุขศิลป์. **การปรับปรุงคุณภาพการบริหารจัดการภาครัฐ ด้วยการประยุกต์ใช้เกณฑ์รางวัลคุณภาพแห่งชาติ เพื่อองค์กรที่เป็นเลิศ ศึกษากรณี กรมพัฒนาสังคมและสวัสดิการ การวิเคราะห์ผลกระทบและโอกาสที่จะเกิดความเสี่ยงของปัญหาที่เกิดขึ้น เพื่อพิจารณาความรุนแรงของปัญหาที่เกิดขึ้น.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

อานุพงศ์ บุษราภรณ์. 2552. **ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการดำเนินการก่อสร้างที่ล่าช้าในหน่วยงานสถาบันอุดมศึกษาของภาครัฐในเขตกรุงเทพมหานคร.** วิทยานิพนธ์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

การออกแบบอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมชนิดแกนนอน

Design of Blade Angle Adjustment Device for Horizontal Axis Wind Turbine

วีระศักดิ์ ไชยชาญ[1*] สุรินทร์ กาญจนะ[1] และ วรรณวิภา ไกรพิทยากร[2]

Weerasak Chaichan[1*], Surin Kanchana[1] and Wanvipa Kripittayakorn[2]

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้นำเสนออุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมชนิดแกนนอนแบบ 3 ใบพัด เพื่อให้ได้มุมใบกังหันลมที่มีความเหมาะสมกับพื้นที่ติดตั้งกังหันลม อุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมสามารถปรับมุมใบได้ตั้งแต่ 0° ถึง 60° ปลายด้านหนึ่งของอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมถูกออกแบบไว้สำหรับยึดติดกับใบกังหันลมและปลายอีกด้านหนึ่งต่อกับส่วนหมุนของกังหันลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่กวาดใบเท่ากับ 1.5 เมตร เพลาของเครื่องกำเนิดไฟฟ้ากระแสตรงขนาด
28 W ถูกต่ออยู่กับเพลาของกังหันลมผ่านชุดปรับความเร็วรอบขนาด 1 ต่อ 2.67 รอบ พลังงานไฟฟ้าที่ได้จากกังหันลมชนิดแกนนอนแบบ 3 ใบพัด จะถูกจ่ายให้กับภาระไฟฟ้าขนาด 10 W งานวิจัยนี้ได้แบ่งการดำเนินงานวิจัยออกเป็น 2 ส่วนด้วยกัน ส่วนที่ 1 การดำเนินการวิจัยเพื่อหามุมใบกังหันลมที่เหมาะสม โดยได้ทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ส่วนที่ 2 การดำเนินการวิจัยเพื่อวัดปริมาณการผลิตไฟฟ้าจากกังหันลม โดยได้ติดตั้งกังหันลมบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคาร ที่ความสูง 28 เมตร ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่ความเร็วลมคงที่ 5.96 m/s พบว่าที่มุมใบกังหันลมที่ 30° ความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสูงสุด 174 rpm และ 464 rpm ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคาร มุมใบกังหันลม 30° ทำให้กังหันลมผลิตไฟฟ้าสามารถเริ่มผลิตพลังงานไฟฟ้าได้ที่ความเร็วลม 2 m/s ขนาดแรงดันและกระแสไฟฟ้าสูงสุด เท่ากับ 17.81 V และ 0.46 A ตามลำดับ กำลังไฟฟ้าสูงสุดที่ 8.15 W ที่เวลา 16:00 น.

ABSTRACT

This research presented the angle adjustment device for three blades horizontal axis wind turbine with the suitable angle of wind turbine blades for wind turbine installation. The angle adjustment device adjusted from 0° to 60°. The end of the blade angle adjustment device was designed for attachment to a blade and the other end connected to the rotor with diameter of 1.5 meters. The shaft of 28 W DC generator was connected to the shaft of a variable speed wind turbine through gear box at velocity ratio of 1:2.67. Electric energy produced from three blades horizontal axis wind turbine was supplied to 10 W of load. This research was divided into two parts: 1) To conduct research to find the suitable wind turbine blade angle by testing in laboratory and 2) To conduct research to investigate the electric energy produced from wind turbines that installed on the roof top of building at a height of 28 meters. The results from laboratory tests at constant wind speed of 5.96 m/s showed that the angle of the blade of 30° caused wind turbines to start producing electric power at wind speed of 2 m/s., maximum voltage 17.81 V and current of 0.46 A, as well as, maximum power of 8.15 W at wind speed of 4:00 p.m.

Key Words: Electric Power Generation, Blade Angle Adjustment Device, Horizontal Axis Wind Turbine

*Corresponding author; e-mail address: sakchaichan@hotmail.com

[1]โครงการจัดตั้งคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี

[1]Faculty of Engineering and Technology

[2]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ตรัง 90150

[2]Faculty of Science and Fisheries Technology Rajamangala University of technology Srivijaya, Trang 92150

คำนำ

จากการขยายตัวทางเศรษฐกิจ ส่งผลให้การผลิตไฟฟ้าไม่เพียงพอต่อความต้องการ อีกทั้งการผลิตไฟฟ้าในปัจจุบันใช้แหล่งพลังงานจากเชื้อเพลิงประเภทฟอสซิลเป็นหลัก (เชิดชัย, 2553) ซึ่งเชื้อเพลิงประเภทนี้มีปริมาณลดลงและกำลังจะหมดไปในอนาคต ดังนั้นการหาแหล่งพลังงานเพื่อทดแทนเชื้อเพลิงประเภทฟอสซิลจึงเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ ปัจจุบันทั่วโลกให้ความสำคัญในการนำแหล่งพลังงานสะอาดมาใช้ในการผลิตไฟฟ้า เนื่องจากการเผาไหม้แหล่งพลังงานจากเชื้อเพลิงประเภทฟอสซิลก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม เป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดภาวะโลกร้อน แหล่งพลังงานสะอาดที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตไฟฟ้า เช่น พลังงานแสงอาทิตย์ เป็นแหล่งพลังงานที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ไม่มีวันหมด และมีปริมาณมากพอในการผลิตไฟฟ้า แต่เนื่องจากการก่อสร้างระบบผลิตไฟฟ้าพลังงานแสงอาทิตย์ต้องใช้พื้นที่ในการก่อสร้างจำนวนมาก ทำให้ต้องทำลายทรัพยากรธรรมชาติมากตามไปด้วย พลังงานลมเป็นอีกแหล่งพลังงานที่สามารถนำมาผลิตไฟฟ้าได้ และไม่มีวันหมด จากรายงาน World Wind Energy Report 2012 ของสมาคมพลังงานลมระดับโลก พบว่ามี 100 ประเทศ ที่นำพลังงานลมมาใช้ในการผลิตไฟฟ้า โดยมีประเทศไอซ์แลนด์ที่เข้าร่วมเป็นอันดับที่ 100 ในการปฏิวัติพลังงานโลก (THE 15th World Wind Energy Conference and Exhibition, 2016) ปัจจุบันมีงานวิจัยที่นำพลังงานลมมาใช้ในการผลิตไฟฟ้า เช่น การวิเคราะห์และทดสอบประสิทธิภาพกังหันลมผลิตไฟฟ้าขนาด 800 W จากผลการทดสอบพบว่ากังหันลมเริ่มผลิตพลังงานไฟฟ้าที่ความเร็วลม 2 m/s กำลังไฟฟ้าสูงสุด 785 W (เมืองมนต์, 2554) การประเมินความผิดพลาดของระบบกังหันลมขนาดใหญ่ ด้วยการออกแบบตัวตรวจจับความผิดพลาดสำหรับกังหันลมขนาดใหญ่ ผลการการประเมินที่แม่นยำจะช่วยทำให้ทราบระยะเวลาของการบำรุงรักษา และเพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายที่อาจจะเกิดขึ้น (Xiukun and Lihua, 2010) การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณไฟฟ้าของกังหันลมชนิดแกนนอน ด้วยการทดสอบกังหันลมในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ทราบขนาด และน้ำหนักของใบพัดที่มีผลต่อการผลิตไฟฟ้าของกังหันลม (Rai *et al*., 2016) การจำลองการควบคุมกังหันลมขนาด 5 MW โดยสามารถควบคุมกังหันลมได้ทั้งความเร็วลมต่ำและความเร็วลมสูงด้วยระบบเกียร์ไฮโดรสถิต ผลการทดสอบสามารถจำลองได้เสมือนจริง (Ascheman and Kersten, 2015) กังหันลมผลิตไฟฟ้าชนิดแกนตั้ง 2 ใบพัด ออกแบบใบกังหันลมที่มีลักษณะเป็นรูปโค้งเพื่อรับลมสามารถผลิตไฟฟ้าได้สูงสุด 5 A (Paluta *et al*., 2013) กังหันลมผลิตไฟฟ้าต้นทุนต่ำ ด้วยการออกแบบกังหันลมชนิดแกนตั้ง 6 ใบพัด สามารถรับลมได้ทุกทิศทาง ใบกังหันลมถูกยึดอยู่กับที่ ไม่สามารถปรับมุมของใบได้ดังนั้นการนำไปติดตั้งบางพื้นที่อาจไม่เหมาะสม (Sciences. Net, 2011)

จากปัญหาดังที่ได้กล่าวมาแล้วนั้น ผู้วิจัยจึงศึกษาและออกแบบอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมชนิดแกนนอน 3 ใบพัด สามารถเลือกปรับมุมใบกังหันลมให้มีความเหมาะสมกับความเร็วลมบริเวณพื้นที่ที่ติดตั้ง ทำให้สามารถผลิตพลังงานไฟฟ้าได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกังหันลมผลิตไฟฟ้าแบบปรับมุมใบไม่ได้ ในส่วนของการดำเนินการวิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อหามุมใบกังหันลมที่เหมาะสมในการผลิตไฟฟ้า ความเร็วรอบของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าจะถูกปรับความเร็วให้เหมาะสมด้วยชุดปรับความเร็วรอบ เมื่อได้มุมใบกังหันลมที่เหมาะสมแล้ว จึงนำไปทดสอบในสถานที่จริงโดยได้ติดตั้งกังหันลมบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคารเนื่องจากเป็นพื้นที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบทางเสียงแก่บุคลากรภายในอาคาร อีกทั้งยังเป็นการลดต้นทุนในส่วนของเสากังหันลมเมื่อเทียบกับการติดตั้งกังหันลมบนภาคพื้นดิน

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลม เพื่อให้สามารถเลือกมุมใบกังหันลมที่มีความเหมาะสมกับความเร็วลมบริเวณพื้นที่ที่ติดตั้ง อุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมสามารถปรับมุมได้ตั้งแต่ 0° ถึง 60° โดยมีนอตเป็นตัวยึดบริเวณด้านข้างของอุปกรณ์ปรับมุมใบ มีสเกลบอกมุมใบกังหันลมที่ 0° 10° 20° 30° 40 ° 50° และ 60° ดังแสดงใน Figure 1 ปลายด้านหนึ่งของอุปกรณ์ปรับมุมใบถูกออกแบบไว้สำหรับยึดเข้ากับส่วนหมุนของกังหันลม และสามารถยึดให้แน่นด้วยนอต ปลายอีกด้านจะเป็นจุดยึดใบกังหันลม ด้วยการนำโคนใบกังหันลมใส่เข้าไประหว่างจุดยึดใบกังหันลม และยึดให้แน่นด้วยนอต การยึดใบกังหันลมเข้ากับอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมสามารถแสดงได้ดัง Figure 2 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่กวาดใบพัด 1.5 เมตร

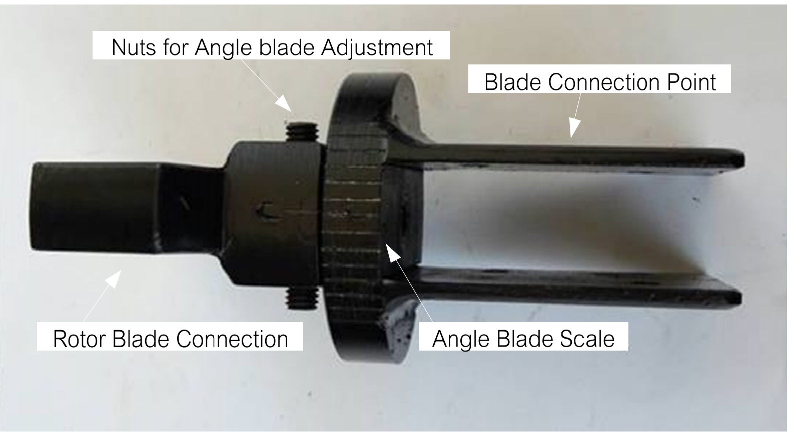


Figure 1 Blade angle adjustment device

Figure 2 The blade connect with angle adjustment device

เพลาของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าถูกต่ออยู่กับเพลาของกังหันลมผ่านชุดปรับความเร็วรอบ เพื่อให้เครื่องกำเนิดไฟฟ้ามีความเร็วรอบที่เหมาะสมสามารถผลิตพลังงานไฟฟ้าได้ โดยมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 1 (Kohara Gear Industry Co.,Ltd)

$$n_1 = \frac{z_2}{z_1} \times n_2 \tag{1}$$

เมื่อ n_1 คือ ความเร็วรอบของเฟืองตาม มีหน่วยเป็น rpm

n_2 คือ ความเร็วรอบของเฟืองขับ มีหน่วยเป็น rpm

z_1 คือ จำนวนซี่ของฟันเฟืองตาม

z_2 คือ จำนวนซี่ของฟันเฟืองขับ

เมื่อมีพลังงานลมมากระทบใบกังหันลม ทำให้กังหันลมหมุนเคลื่อนที่ เพลาของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าซึ่งถูกต่ออยู่กับเพลาของกังหันลมผ่านชุดปรับความเร็วรอบหมุนเคลื่อนที่ กำลังไฟฟ้าที่ได้จากเครื่องกำเนิดไฟฟ้ามีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 2

$$P_{DC} = V_{DC}I_{DC} \qquad (2)$$

เมื่อ P_{DC} คือ กำลังไฟฟ้ากระแสตรง มีหน่วยเป็น W

V_{DC} คือ แรงดันไฟฟ้ากระแสตรง มีหน่วยเป็น V

I_{DC} คือ กระแสไฟฟ้ากระแสตรง มีหน่วยเป็น A

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการดำเนินการวิจัยออกเป็น 2 ส่วน คือ การดำเนินการวิจัยเพื่อหามุมใบกังหันลม และการดำเนินการวิจัยการผลิตไฟฟ้าจากกังหันลม โดยมีรายละเอียดดังนี้

ส่วนที่ 1 การดำเนินการวิจัยเพื่อหามุมใบกังหันลม

การดำเนินการวิจัยเพื่อหามุมใบกังหันลม โดยทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่ความเร็วลมปะทะด้านหน้ากังหันลมคงที่ 5.96 m/s จากนั้นปรับมุมใบกังหันลมที่มุม 0°,10°, 20°, 30°, 40°, 50° และ 60° ตามลำดับ เพื่อดูความเร็วรอบของกังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้า การติดตั้งเพื่อทดสอบแสดงดัง Figure 3

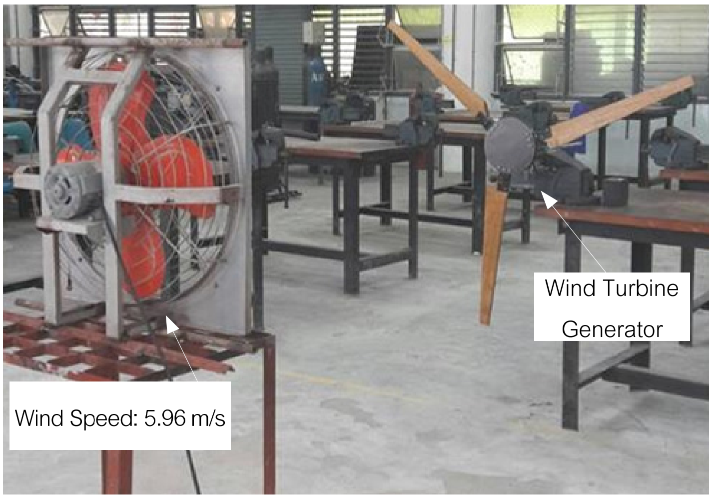


Figure 3 Three-bladed wind turbines being tested in laboratory.

ส่วนที่ 2 การดำเนินการวิจัยการผลิตไฟฟ้าจากกังหันลม

ระบบการผลิตไฟฟ้าจากกังหันลมทั้งหมดถูกติดตั้งบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคารที่ความสูงทั้งหมด 28 เมตรโดยเลือกมุมใบกังหันลมที่ให้ความเร็วรอบของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสูงสุด พลังงานไฟฟ้าที่กังหันลมชนิดแกนนอน 3 ใบพัด ผลิตได้จะถูกจ่ายให้กับภาระไฟฟ้า งานวิจัยนี้เลือกใช้ตัวต้านทานแบบเซรามิคขนาด 10 W จากนั้นวัดแรงดันไฟฟ้า กระแสไฟฟ้า และกำลังไฟฟ้าที่จ่ายให้กับภาระไฟฟ้าเทียบกับเวลาขณะทำการทดสอบ

โดยบันทึกผลทุกๆ 15 นาที บล็อกไดอะแกรมแสดงการวัดปริมาณไฟฟ้าและการติดตั้งระบบผลิตไฟฟ้าจากกังหันลมบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคารแสดงดัง Figure 4 และ Figure 5 ตามลำดับ

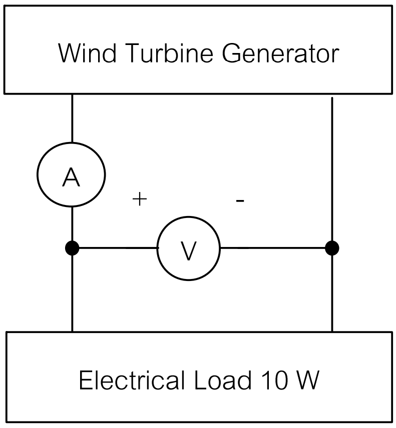


Figure 4 Overall block diagram of the implementing system

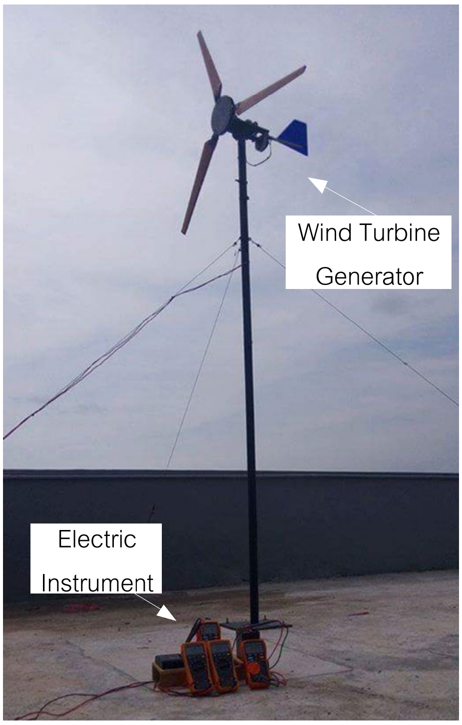


Figure 5 Three-bladed wind turbines being tested on top of the building.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เสนอการออกแบบอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมชนิดแกนนอน 3 ใบพัด โดยได้แบ่งผลการทดสอบออกเป็น 2 ส่วน ด้วยกันคือ ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อหามุมใบกังหันลมที่เหมาะสมกับความเร็วลม และผลการทดสอบการผลิตไฟฟ้าจากกังหันลมโดยทำการติดตั้งบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคาร จากนั้นทำการวัดปริมาณไฟฟ้าที่กังหันลมผลิตได้เทียบกับเวลาขณะนั้น โดยมีรายละเอียดดังนี้

ส่วนที่ 1 การทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อหามุมใบกังหันลมที่เหมาะสมกับความเร็วลม โดยทำการทดสอบที่ความเร็วลมคงที่ 5.96 m/s เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่อง

กำเนิดไฟฟ้าเทียบกับมุมใบกังหันลม จากผลการทดสอบพบว่าที่มุมใบกังหันลม 30° ความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสูงสุดที่ 174 rpm และ 464 rpm ที่มุมใบกังหันลม 40° ความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้าลดลง 83 rpm และ 222 rpm ตามลำดับ ขณะที่มุมใบกังหันลม 0° กังหันลมไม่หมุน โดยที่ความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้าจะมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 1 ผลการทดสอบแสดงดัง Figure 6

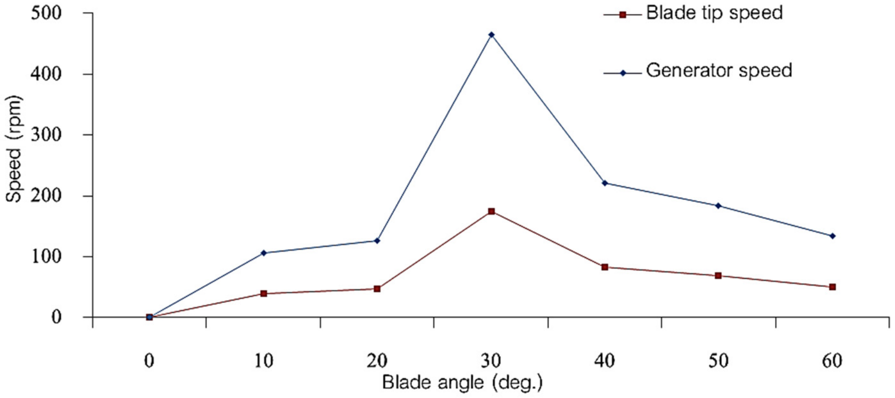


Figure 6 Blade tip speed and generator speed at various blade angle.

ส่วนที่ 2 ผลการทดสอบการผลิตไฟฟ้าจากกังหันลม ระบบทั้งหมดถูกติดตั้งบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคาร ปรับมุมใบกังหันลมที่ 30° เพื่อให้ได้ความเร็วรอบของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสูงสุด เนื่องจากพื้นที่ที่ติดตั้งมีความเร็วลมต่ำ จากนั้นวัดแรงดันไฟฟ้า กระแสไฟฟ้า และกำลังไฟฟ้าที่กังหันลมผลิตไฟฟ้าผลิตได้เทียบกับเวลาขณะทำการทดสอบ โดยเริ่มดำเนินการทดสอบตั้งแต่เวลา 7:00 น. - 17:00 น. ผลการทดสอบพบว่า ความเร็วลมมีลักษณะไม่คงที่ โดยที่ในช่วงเวลาตั้งแต่ 7:00 น. - 13:30 น. ความเร็วลมมีค่าต่ำซึ่งน้อยกว่า 2 m/s และความเร็วลมมีค่าเพิ่มมากขึ้นในช่วงเวลา 13:30 น. - 17:00 น. โดยมีความเร็วลมสูงสุด 6.33 m/s ที่เวลา 16:00 น. ดังแสดงใน Figure 7และเมื่อทำการวัดปริมาณไฟฟ้าพบว่า กังหันลมผลิตไฟฟ้าสามารถจ่ายแรงดันไฟฟ้า กระแสไฟฟ้า และกำลังไฟฟ้าเมื่อความเร็วลมมากกว่า 2 m/s ซึ่งปริมาณไฟฟ้าเปลี่ยนแปลงตามความเร็วลมที่เวลาต่างๆ โดยปริมาณแรงดันไฟฟ้า กระแสไฟฟ้ามีค่าสูงสุด 17.81 V และ 0.46 A ดังแสดงใน Figure 8 และ Figure 9 ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณกำลังไฟฟ้าพบว่า กังหันลมผลิตไฟฟ้าสามารถจ่ายกำลังไฟฟ้าออกมาสูงสุดที่ 8.15 W ที่เวลา 16:00 น. เนื่องจากในช่วงเวลานั้นมีค่าความเร็วลมสูงสุด โดยที่กำลังไฟฟ้าที่กังหันลมผลิตไฟฟ้าผลิตได้จะมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 2 และผลการทดสอบแสดงดัง Figure 10

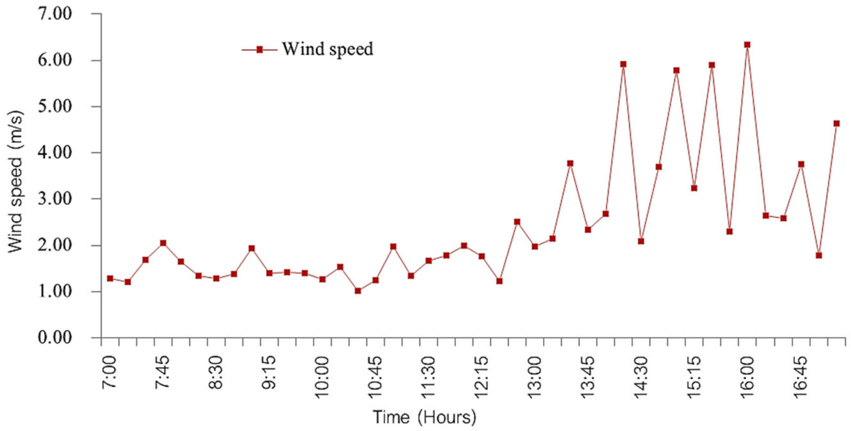


Figure 7 Wind speed curves at various time.

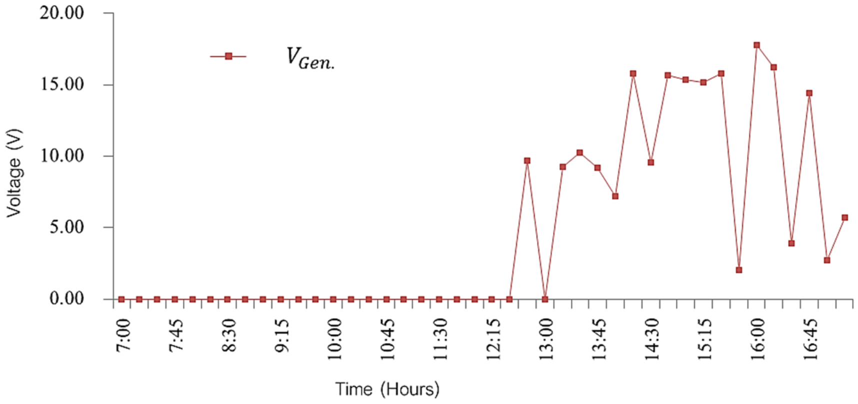


Figure 8 Generator voltage curves at various time.

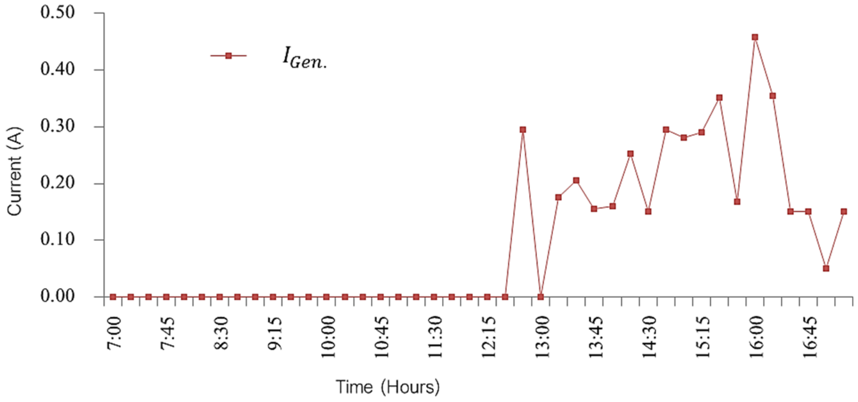


Figure 9 Generator current curves at various time.

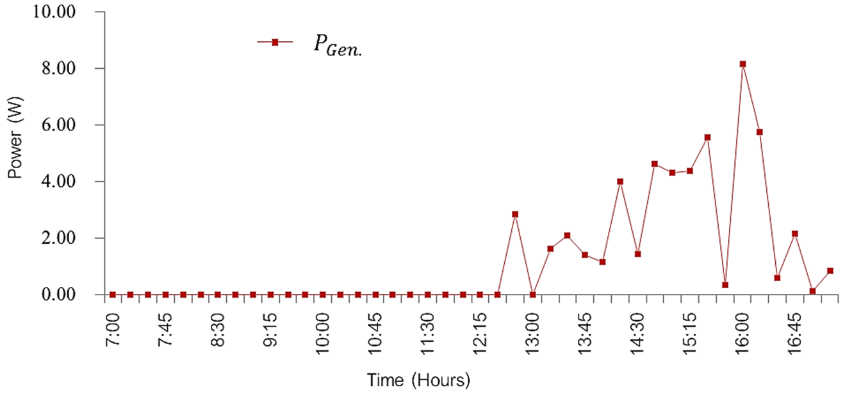


Figure 10 Generator Power curves at various time.

สรุป

งานวิจัยนี้เสนอการออกแบบอุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมชนิดแกนนอน 3 ใบพัด เพื่อหามุมใบกังหันลมที่มีความเหมาะสมกับความเร็วในพื้นที่ที่ติดตั้ง อุปกรณ์ปรับมุมใบกังหันลมสามารถเลือกปรับมุมใบได้ตั้งแต่ 0° ถึง 60° โดยยึดติดกับใบกังหันลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่กวาดใบเท่ากับ 1.5 เมตร เพลาของเครื่องกำเนิดไฟฟ้ากระแสตรงต่ออยู่กับเพลาของกังหันลมผ่านชุดปรับความเร็วรอบขนาด 1 ต่อ 2.67 รอบ จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการพบว่าที่ความเร็วลมคงที่ 5.96 m/s มุมใบกังหันลม 30° ความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้าสูงสุดที่ 174 rpm และ 464 rpm ตามลำดับ และที่มุมใบกังหันลม 40° ความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้าลดลงที่ 83 rpm และ 222 rpm กรณีมุมใบกังหันลม 0°ความเร็วรอบของเพลากังหันลมและเครื่องกำเนิดไฟฟ้าเท่ากับศูนย์ จากการทดสอบวัดปริมาณทางไฟฟ้าเมื่อทำการติดตั้งกังหันลมบนพื้นที่ดาดฟ้าของอาคารที่ความสูง 28 เมตร ผลการทดสอบพบว่ากังหันลมสามารถผลิตพลังงานไฟฟ้าได้ที่ความเร็วลมมากกว่า 2 m/s โดยปริมาณแรงดันไฟฟ้า กระแสไฟฟ้า ที่กังหันลมผลิตได้มีค่าสูงสุด 17.81 V และ 0.46 A ตามลำดับ และสามารถจ่ายกำลังไฟฟ้าออกมาสูงสุดที่ 8.15 W ที่เวลา 16:00 น. จากการทดสอบสามารถยืนยันได้ว่ากังหันลมผลิตไฟฟ้าชนิดแกนนอนสามารถเลือกปรับมุมใบกังหันลมได้ โดยที่มุมใบกังหันลมมีผลต่อความเร็วรอบของเครื่องกำเนิดไฟฟ้าดังที่ได้แสดงผลการทดสอบไว้แล้ว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการจัดตั้งคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่สนับสนุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

เชิดชัย ประภานวรัตน์. 2553. **เทคโนโลยีในการผลิตไฟฟ้าด้วยดังหันลมขนาดใหญ่**. เทคโนโลยีด้านวิศวกรรมไฟฟ้าและทำเนียบอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ.

เมืองมนต์ เนตรหาญ และอำไพศักดิ์ ทีบุญมา. 2554. **การวิเคราะห์และทดสอบประสิทธิภาพกังหันลมผลิตไฟฟ้าขนาด 800 วัตต์**. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.* ปีที่ 13. ฉบับที่ 1. หน้า 57-65.

Ascheman, H. and Kersten, J. 2015. Active Tower Damping for an Innovative Wind Turbine with a Hydrostatic Transmission. **IEEE Conference Publications. IECON**: 3314 - 3319.

Kohara Gear Industry Co.,Ltd. Gear Technical Reference: 599.

Paluta M., Reitz D., Snelling R. and Gadient J. 2013. Design and Fabrication of a Vertical Axis Wind Turbine. University of Notre Dame.

Raj, A., Gurav, R. B., Saha, A., Chavan, D. S., Karandikar, P. B. and Sankpal, J. B. 2016. Study of output parameters of horizontal axis wind turbines using xperimental test setup. **IEEE Conference Publications. International Conference on Computation of Power, Energy Information and Communication**: 363 - 368.

Sciences. Net. 2011. A low-cost, open source wind turbine. 1^{nd} edition.

WWEA presents World Wind Energy Report 2012. 2016. **THE 15th World Wind Energy Conference and Exhibition.**

Xiukun, W. and Lihua, L. 2010. Fault Estimation of Large Scale Wind Turbine Systems. **IEEE Conference Publications. Chinese Control Conference** 29: 4869-4874.

การใช้ไฟไนต์เอลิเมนต์วิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนของความเค้นและความเครียดของวัสดุเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นทดสอบภายใต้การทดสอบแรงดึง

FEA Error Analysis of Stress-Strain of Material due to Dimension Variation of Specimen under Tensile Testing

ณัฐกุล คุณปสุต[1*] และ สัจจาทิพย์ ทัศนียพันธุ์[1]

Nuttakul Kunapasut[1*] and Satjarthip Thusneyapan[1]

บทคัดย่อ

ความถูกต้องของสมบัติทางกลของวัสดุเป็นสิ่งสำคัญสำหรับวิศวกรออกแบบ ผลิตภัณฑ์โพลิเมอร์ที่มีผนังบาง เช่น ขวดที่ผลิตจาก PET ค่าสมบัติทางกลของวัสดุจากผู้ผลิตมีค่าไม่ถูกต้องเมื่อเทียบจากของขวดที่ผลิตจริง ในขณะที่ชิ้นทดสอบที่ตัดจากผนังขวดโดยตรงพบว่ามีความคลาดเคลื่อนสูง งานวิจัยนี้ใช้ไฟไนต์เอลิเมนต์ (FEA) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงขนาดของชิ้นทดสอบภายใต้การทดสอบแรงดึง ชิ้นทดสอบจำนวน 10 แบบที่มีขนาดอยู่ในช่วงความคลาดเคลื่อนตามมาตรฐาน ASTM D638 ได้นำมาวิเคราะห์เทียบกับชิ้นทดสอบที่ไม่มีความคลาดเคลื่อน โดยพบว่าค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนสูงสุดของกราฟความเค้นและความเครียดเท่ากับ -0.0903% ที่ขนาดของ H ตามด้วย -0.0639% ที่ W เนื่องจากรูปทรงขวดส่วนมากมีผนังไม่แบน ความคลาดเคลื่อนจากผิวแบนจึงได้ทำการศึกษาด้วย โดยศึกษาชิ้นทดสอบผิวโค้งจำนวน 7 แบบ จากขวดทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 มม. ถึง 90 มม. ผลจากการวิเคราะห์ FEA จำลองการทดสอบแรงดึง พบว่า ชิ้นทดสอบที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กมีความคลาดเคลื่อนมากกว่าที่มีขนาดใหญ่ (0.0506% เมื่อ D = 30 มม. และ 0.0012% เมื่อ D = 90 มม.) ค่าความความคลาดเคลื่อนสัมพันธ์ที่ได้จากงานวิจัยนี้ สามารถใช้คำนวณชดเชยผลการทดสอบแรงดึงให้ได้ค่าความเค้นและความเครียดที่ถูกต้องได้

ABSTRACT

The need to obtain an accurate mechanical property of materials is the practice for design engineers. In thin wall polymer products, such as bottle made from PET, the available property of the manufactures is not as accurate as that obtained from the processed bottle. However, the specimen that is cut directly from the bottle wall facing the problem of dimensions variation. This paper used FEA to study the variation in the dimension of the specimen under tensile testing. Total of ten samples of the specimen, specified by the tolerance limits of ASTM D638, were analyzed for the deviation from a sample with no tolerance. The highest average error in the stress-strain diagram was found to be -0.0903% at dimension H, followed by -0.0639% at W. Since, most bottle shapes have no flat wall; the deviation from flat surface of the specimen was also studied. The seven curvatures, of cylinder bottles with diameter from 30 mm to 90 mm, were observed. The FEA tensile testing simulation indicated that the specimen obtained from the bottle with small diameter had greater error than the larger one (0.0506% for 30 mm diameter and 0.0012% for 90 mm). The known relative error, obtained from this research, could be used for compensating the tensile testing results - for improving the accuracy of the stress-strain property of the polymer.

Key words: FEA, PET, Polymer, Specimen, Stress-strain, Tensile test.

*Corresponding Author; e-mail address: kunapasut.n@gmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900.

คำนำ

การออกแบบบรรจุภัณฑ์ที่ผลิตโดยใช้วัสดุโพลิเมอร์นอกจากจะให้มีรูปทรงที่สวยงาม และมีน้ำหนักเบาแล้ว ยังต้องพิจารณาถึงความแข็งแรงที่ต้องผ่านมาตรฐานการทดสอบด้วย ปัจจัยทางต้นทุนการผลิตคือน้ำหนักของวัสดุที่ใช้ การลดน้ำหนักแต่ยังคงความแข็งแรง มีผลต่อต้นทุนวัตถุดิบ และเป็นการลดการใช้ทรัพยากร อันเป็นผลดีต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจัยที่มีผลโดยตรงต่อการลดน้ำหนัก คือ ค่าสมบัติทางกลของวัสดุนั้นๆ ที่ต้องทราบเพื่อใช้ในการคำนวณทางวิศวกรรม ค่าดังกล่าวได้แก่ค่าความเค้น (stress) และความเครียด (strain)

ในการออกแบบบรรจุภัณฑ์เครื่องดื่มซึ่งใช้โพลิเมอร์ พบว่าข้อมูลของค่าสมบัติทางกล บ่อยครั้งไม่สามารถหาได้จากผู้ผลิต หรือค่าดังกล่าวมาจากวัสดุที่ผ่านกระบวนการที่ต่างกัน จึงทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการคำนวณหาความหนาผนังขวดที่เหมาะสมได้ (คณิต, 2557) การทดสอบหาค่าสมบัติทางกลของวัสดุใช้วิธีการทดสอบแรงดึง (tensile test) มาตรฐานสากลที่ใช้ คือ มาตรฐาน ASTM D638-10 Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics ที่ต้องใช้ชิ้นทดสอบ (specimen) ตามขนาดที่กำหนด เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้อง ชิ้นทดสอบต้องตัดจากขวดที่ผ่านกระบวนการผลิตเดียวกัน โดยปัญหาที่พบที่ชิ้นทดสอบ คือ 1. การตัดให้ได้ขนาดมีความคลาดเคลื่อน (ธนรรษ, 2557; สัจจาทิพย์, 2548) 2. ผิวไม่เป็นระนาบ เนื่องจากขวดปัจจุบันเป็นผิวโค้ง ดังนั้น ความคลาดเคลื่อนจากปัจจัยดังกล่าวจึงเป็นประเด็นโต้แย้งในความแม่นยำของผลการทดสอบแรงดึง

เนื่องจากเงื่อนไขการศึกษามีหลายตัวแปร ดังนั้นการวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนของค่าสมบัติของวัสดุโดยใช้การจำลองทางคณิตศาสตร์ ด้วยวิธี Finite Element Analysis (FEA) แทนการทดสอบโดยใช้ชิ้นทดสอบจริง ทำให้ประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายในการผลิตชิ้นงาน

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนการวิจัย

การวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อนจากขนาดของชิ้นทดสอบ (specimen) ต่อผลการทดสอบทางกล เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นและความเครียด (stress-strain หรือ $\sigma - \varepsilon$) มีขั้นตอนหลักดังนี้

1. คัดเลือกโพลิเมอร์ที่ใช้ และเตรียมชิ้นทดสอบตามขนาดของมาตรฐาน ASTM D638-10.
2. ทำการทดสอบแรงดึง (tensile test).
3. สร้างแบบจำลอง FE (Finite Element Model, FEM) และใช้ FEA (Finite Element Analysis) จำลองการทดสอบแรงดึง
4. เปรียบเทียบผล tensile test และ FEA และปรับปรุงเงื่อนไข FEM เพื่อให้ผล FEA มีความเที่ยงตรง
5. กำหนดขนาดชิ้นทดสอบตามค่าความคลาดเคลื่อนตามมาตรฐาน ASTM D638-10.
6. นำ FEM ที่พัฒนาจากข้อ 4 มาจำลองการดึงชิ้นทดสอบ ตามขนาดของข้อ 5.
7. วิเคราะห์ความคลาดเคลื่อน

ชิ้นทดสอบแรงดึง

ในการทดสอบแรงดึง เพื่อหากราฟของความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นและความเครียด (stress-strain หรือ $\sigma - \varepsilon$ graph) ใช้ชิ้นทดสอบเป็นโพลิเมอร์แบบ Polyethylene terephthalate (PET) เนื่องจากปัจจุบันเป็นโพลิเมอร์ที่นิยมใช้สำหรับขวดบรรจุเครื่องดื่ม ขวดที่ใช้มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 60 mm. ขนาดบรรจุ 500 cc (Figure 1a) ผลิตจากบริษัท เดอะ เพ็ท จำกัด จังหวัดปทุมธานี

ชิ้นทดสอบตัดจากขวดให้มีรูปทรงและขนาดตามมาตรฐาน ASTM D638-10 Type IV (Figure 1b) ซึ่งเป็นขนาดสำหรับความหนาต่ำกว่า 4 mm. โดยความยาวอยู่ในแกนความสูงของขวด (แกน x)

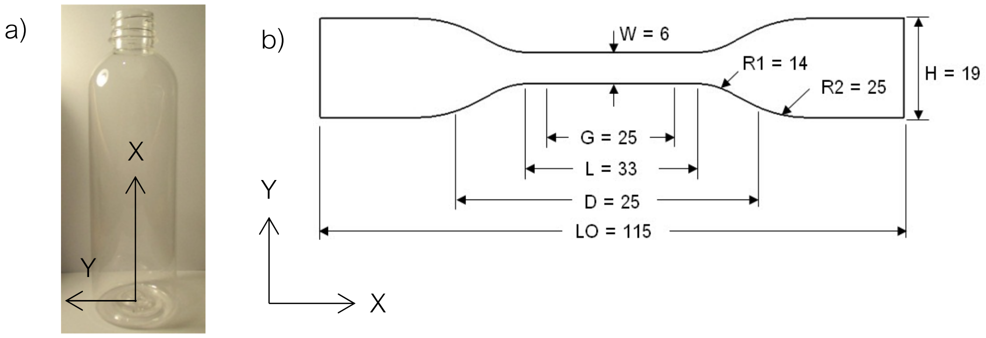


Figure 1 a) PET bottle, b) Standard specimen dimension of ASTM D638-10 type IV (unit in mm).

การทดสอบแรงดึง

การทดสอบแรงดึงใช้เครื่อง Universal Testing Machine (UTM) INSTRON รุ่น 5544 (Figure 2a) ติดตั้งชิ้นทดสอบ (Figure 2b) โดยให้ระยะห่างระหว่างหัวจับเท่ากับ 65 mm. และใช้ extensometer หนีบเป็นระยะ gage length (Figure 2c) กำหนดความเร็วขณะดึง 5 mm/min เริ่มดึงจนชิ้นทดสอบขาด ข้อมูลที่ได้คือแรงดึง (tension, N) กับระยะยืด (extension, mm) ข้อมูลทั้งสองนำไปใช้คำนวณเป็นความเค้นจริงและความเครียดจริง สมบัติทางกลของวัสดุ ได้แก่ ค่าความเค้นและความเครียด คำนวณได้จาก พื้นที่หน้าตัด (A_0) ก่อนดึงด้วยแรง (F) ความยาว gage length (l_0) และความยาวขณะมีแรงดึง (l) ความเค้นวิศวกรรม (engineering stress, σ_e) ความเครียดวิศวกรรม (engineering strain, ε_e) ความเค้นจริง (true stress, σ_T) และความเครียดจริง (true strain, ε_T) คำนวณได้จากสมการที่ (1) ถึง (4) ตามลำดับ

$$\sigma_e = \frac{F}{A_0} \tag{1}$$

$$\varepsilon_e = \frac{l - l_0}{l_0} \tag{2}$$

$$\sigma_T = \sigma_e(1 + \varepsilon_e) \tag{3}$$

$$\varepsilon_T = \ln(1 + \varepsilon_e) \tag{4}$$

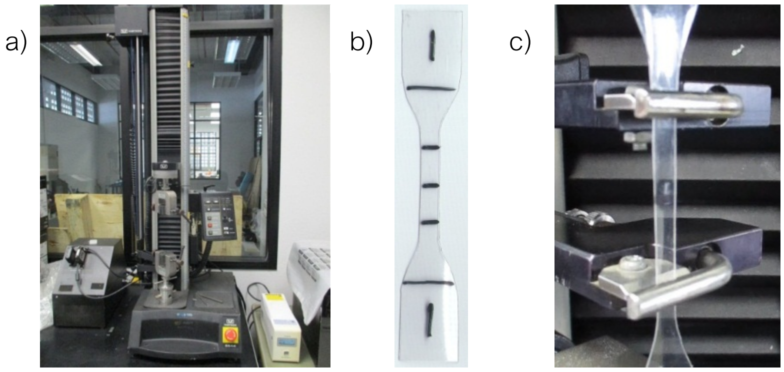


Figure 2 a) Universal testing machine, b) Specimen cut from the wall bottle, c) Extensometer.

การสร้างแบบจำลอง FEM ของชิ้นทดสอบ

แบบจำลองของชิ้นทดสอบ ใช้ซอฟแวร์ CAD (ProENGINEER Wildfire 3) สร้างเป็นแบบพื้นผิว หรือ surface (Figure 3a) แบบ CAD ถูกนำมาแปลงเป็นไฟล์ IGES แล้วส่งไปโปรแกรม FEM (MSC. Patran) เพื่อใช้สร้างเอลิเมนต์ และกำหนดเงื่อนไขของภาระและขอบเขต การคำนวณการจำลองการดึงใช้โปรแกรม FEA (MSC. MARC).

แบบจำลอง FEM ของชิ้นทดสอบ (Figure 3b) เป็นเอลิเมนต์แบบ shell 4 nodes หนา 0.35 mm รูปทรงสี่เหลี่ยม (Quad.) มี 275 nodes และ 216 elements จากการทดลองเปลี่ยนขนาดของเอลิเมนต์ พบว่าในช่วง 1.2 mm ถึง 4.7 mm ให้ผลไม่ต่างกับเอลิเมนต์ที่มีขนาดเล็กกว่า วัสดุเป็นแบบ isotropic มีค่าสมบัติ $\sigma - \varepsilon$ เป็นแบบ nonlinear ในช่วง inelastic.

การกำหนดเงื่อนไขขอบเขต (boundary condition) ให้ปลายด้านหนึ่ง fixed ทั้ง 6 ทิศทาง และปลายอีกด้านให้มีการเคลื่อนที่ในแกน x ด้วยความเร็ว 5 mm/min (Figure 3c).

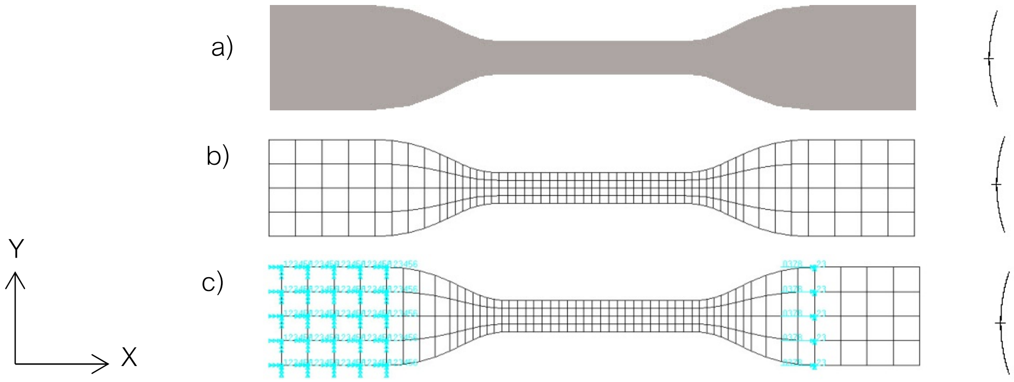


Figure 3 Top and side views of a) Surface model, b) Elements, c) Boundary condition.

การกำหนดขนาดของชิ้นทดสอบ

มาตรฐาน ASTM D638-10 กำหนดช่วงค่าความคลาดเคลื่อน (tolerance) ของขนาดชิ้นทดสอบได้ตามแสดงใน Table 1 ใน column ที่ 2 ขนาดของชิ้นทดสอบจึงใช้ขนาดสูงสุดและต่ำสุดของขนาดในแต่ละตำแหน่งตามความคลาดเคลื่อนที่ยอมให้เกิดขึ้นได้

ดังนั้นขนาดของชิ้นทดสอบ ที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้ มีจำนวน 10 แบบ (I ถึง X) ตามรายละเอียดใน Table 1 โดยแบบ I เป็นแบบที่มี tolerance เป็นศูนย์ เนื่องด้วยผนังขวดเป็นทรงกระบอก (Figure 4a) เมื่อตัดชิ้นทดสอบจากขวดจึงมีความโค้งผิวตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (D) ตามแสดงใน Figure 4b ดังนั้น รูปทรงชิ้น-

Table 1 Specimen dimension (in mm) of model I to X with the tolerance limits.

	Tolerances	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
W	± 0.5	6	6.5	5.5	6	6	6	6	6	6	6
L	± 0.5	33	33	33	33.5	32.5	33	33	33	33	33
H	+6.4	19	19	19	19	19	25.4	19	19	19	19
R1	± 1	14	14	14	14	14	14	15	13	14	14
R2	± 1	25	25	25	25	25	25	25	25	26	24

ทดสอบที่มีความโค้งต่างไปจากระนาบแบน ที่มีผลต่อความคลาดเคลื่อนของ $\sigma - \varepsilon$ จึงเป็นอีกหนึ่งตัวแปรที่ได้ศึกษาในงานวิจัยนี้ โดยขนาดชิ้นทดสอบกำหนดตามแบบ I และมีความโค้งของเส้นผ่าศูนย์กลางขวด D จาก 30 mm. ถึง 90 mm. เพิ่มทีละ 10 mm รวม 7 แบบ โดยกำหนดให้แบบ XI มี D = 30 mm. และแบบ XVII มี D = 90 mm.

การวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อน

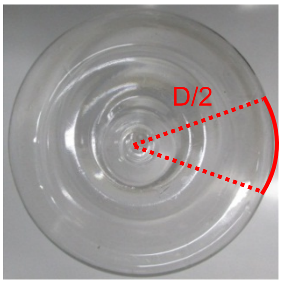
ความคลาดเคลื่อนแบบ absolute error (e_A) และแบบ percent relative error (e_R) คำนวณได้ตามสมการที่ (5) และ (6).

$$e_A = x - x_i \quad (5)$$

$$e_R = 100\ e_A / x, \% \quad (6)$$

โดย x คือ ค่าความเค้นที่ใช้อ้างอิง และ x_i เป็นค่าที่ต้องการเปรียบเทียบกับ x.

a)



b)

Figure 4 a) Diameter of bottle, b) Curvature of the specimen.

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลเปรียบเทียบความแม่นยำของแบบจำลอง FEM

ภาพใน Figure 5a แสดงชิ้นทดสอบในขณะทดสอบแรงดึงจากเริ่มต้น (ซ้าย) จนขาด (ขวา) ภาพแสดงตัวอย่างของผลการจำลองการดึงจาก FEA เป็นระดับชั้นสีของระยะยืด (displacement) และความเค้นจริง (σ_T) ได้แสดงใน Figure 5b และ 5c ตามลำดับ โดยค่าความเค้น คำนวณจากค่าเฉลี่ย 5 nodes ที่กึ่งกลางของชิ้นงาน กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเค้นจริงเทียบกับความเครียดจริง จากการทดสอบแรงดึง (exp.) และจากผล FEA ของแบบ XIV (model XIV) ได้แสดงใน Figure 6a และค่าความคลาดเคลื่อน (e_R) ของ Figure 6a ได้แสดงใน Figure 6b กราฟ FEA ของ Figure 6 เป็นผลภายหลังการพัฒนาแบบจำลอง FEM ที่พบว่าให้ความคลาดเคลื่อนน้อยสุด และได้ใช้แบบจำลองนี้ในการศึกษารูปทรงขนาดต่างๆ ต่อไป

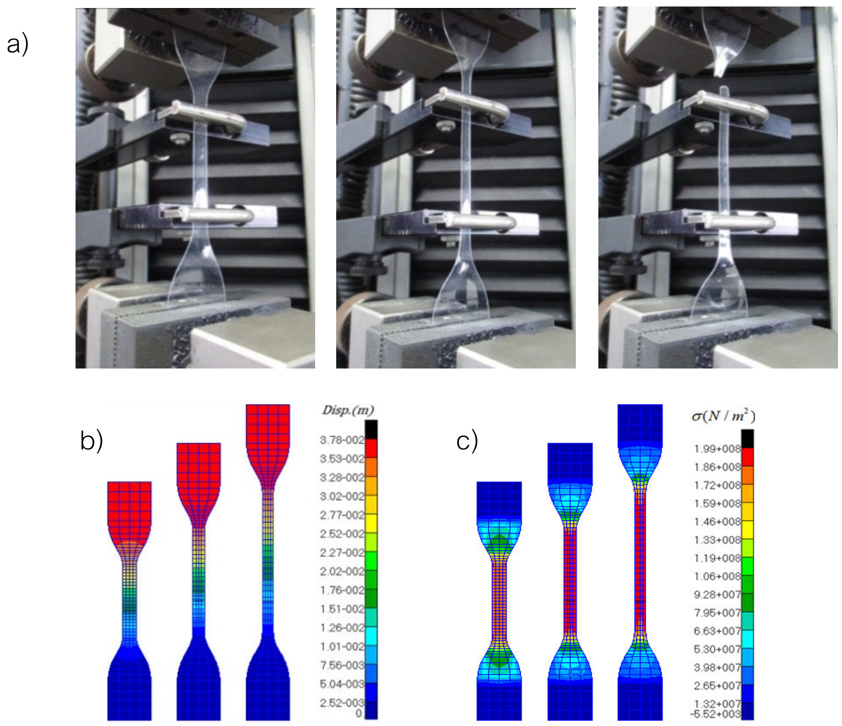


Figure 5 a) Tensile testing, b) FEA-result of the displacement, c) FEA-result of the true stress (σ_T).

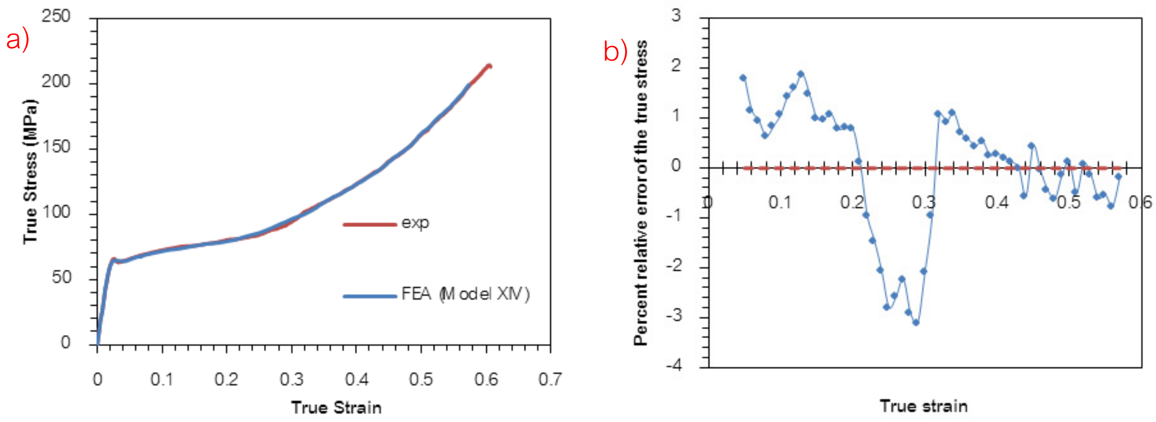


Figure 6 a) True stress vs true strain from the experiment (exp) and FEA (model XIV), b) Percent relative error of the true stress.

นอกจากนี้ แบบจำลอง FEM นี้ยังให้ผลของตำแหน่งที่ฉีกขาด (Figure 7a) ได้ใกล้เคียงกับการดึงจริง (Figure 7b และ 5a ขวา) โดยการฉีกขาดเกิดที่ตำแหน่งปลายของระยะ L ต่อกับจุดเริ่มต้นของส่วนโค้ง R1 โดยภาพ Figure 7a แสดงผลแบบความเค้นฉากตามแกน x โดยแสดงความเค้นสูงสุดที่บริเวณดังกล่าว

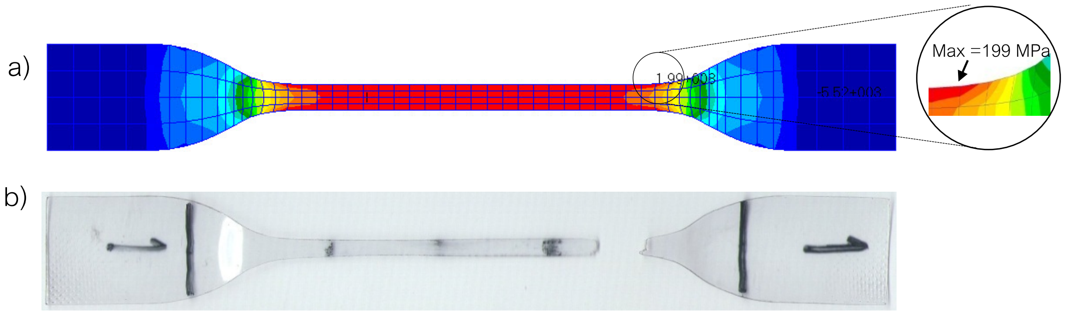


Figure 7 a) Location of the maximum stress from FEA result, b) a broken specimen.

ผล $\sigma - \varepsilon$ จากการจำลองการทดสอบแรงดึงโดยใช้ FEA ของชิ้นทดสอบ (แบบ I ถึงแบบ X) ได้แสดงใน Figure 8a และของแบบที่ I เมื่อมีความโค้ง (แบบ XI ถึง XVII) ใน Figure 8b.

กราฟแสดงความคลาดเคลื่อน e_R ของชิ้นทดสอบแบบ II ถึงแบบ X เมื่อเทียบกับแบบ I ได้แสดงใน Figure 9a และของชิ้นทดสอบแบบ XI ถึงแบบ XVII ใน Figure 9b.

ค่าความคลาดเคลื่อนของชิ้นทดสอบแบบ II ถึงแบบ X เมื่อเทียบกับแบบ I ได้สรุปเป็นตารางใน Table 2 และของแบบ XI ถึงแบบ XVII ใน Table 3.

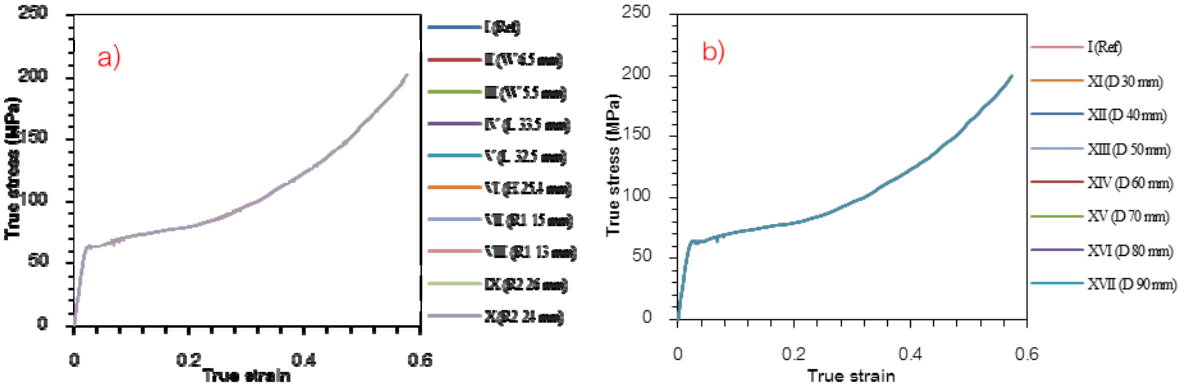


Figure 8 Stress-strain diagram obtained from FEA comparing model I with a) model II to X, b) model XI to XVII (varied in curvature).

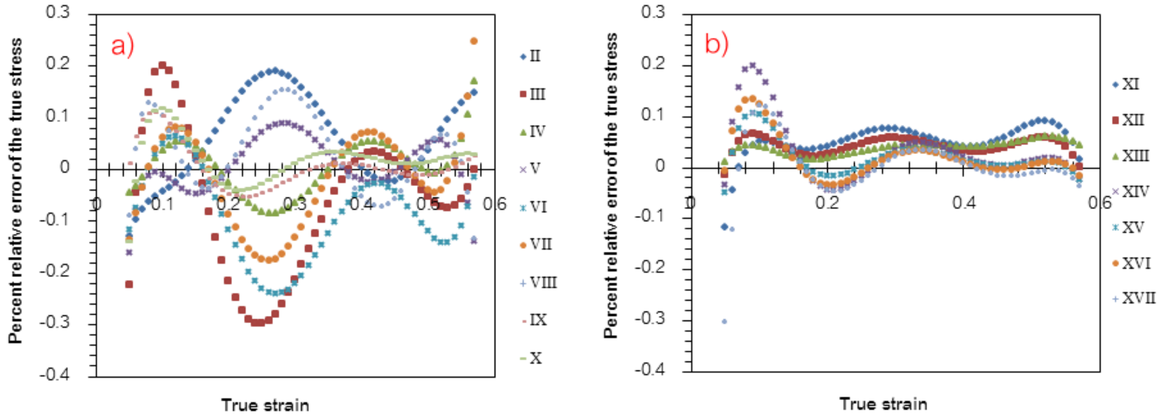


Figure 9 The relative error (e_R) with reference to model I of a) model II to X, b) model XI to XVII.

Table 2 Relative error (e_R) of model II to X with respected to model I.

Error, e_R %	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Avg II to X
Average	0.0589	-0.0639	0.0052	0.0068	-0.0903	-0.0175	0.0321	0.0065	0.0189	-0.0048
Max	0.1897	-0.2978	0.1708	-0.1614	-0.2410	0.2473	0.1538	0.1107	-0.1387	-
Min	0.0014	0.0001	0.0013	-0.0017	0.0016	0.0012	-0.0006	0.0002	-0.0007	-

Table 3 Relative error (e_R) of model XI (D = 30 mm) to XVII (D = 90 mm) with respected to model I.

Error, e_R %	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	Avg XI to XVII
Average	0.0506	0.0419	0.0391	0.0313	0.0198	0.0193	0.0012	0.0290
Max	-0.1173	0.0672	0.0605	0.1987	0.1068	0.1344	-0.3023	-
Min	0.0013	0.0021	0.0126	0.0035	0.0003	-0.0006		-

เมื่อวิเคราะห์ Table 2 และ 3 พบว่าค่าเฉลี่ยของ e_R มีค่าสูงสุดที่ชิ้นทดสอบที่มี H สูง (แบบ VI มี e_R = -0.0903%) กรณีของชิ้นงานที่เป็นผิวโค้ง ชิ้นทดสอบแบบที่มี D น้อย มี e_R มาก (แบบ XI ที่ D = 30 mm. มี e_R = 0.0506%) ในขณะที่ชิ้นทดสอบที่มี D มาก มี e_R ต่ำ (แบบ XVII ที่ D = 90 mm. มี e_R = 0.0012%).

ดังนั้นในการเตรียมชิ้นทดสอบควรควบคุมคุณภาพที่ H (แบบ VI) ตามด้วย W (แบบ II และ III) และ R1 (แบบ VII และ VIII) ส่วนความโค้งที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ ควรใช้บริเวณผนังขวดที่มี D มาก แล้วสามารถชดเชยความคลาดเคลื่อนได้โดยใช้ข้อมูล e_R ตาม Table 3.

สรุป

การใช้ CAD และ FEA จำลองการทดสอบทางกลเพื่อประเมินความผิดพลาดของ $\sigma-\varepsilon$ ภายใต้ความคลาดเคลื่อนของขนาดของชิ้นทดสอบเท่านั้น ได้ดำเนินการโดยเริ่มจากการพัฒนาแบบจำลอง FEM ที่ให้ความเที่ยงตรงโดยเทียบกับผลการทดสอบแรงดึงจริง แล้วนำแบบ FEM มากำหนดตัวแปรตามที่ขนาดต่างๆ ของมาตรฐาน ASTM D638 ในงานวิจัยนี้ได้ใช้ค่า tolerance สูงสุดและต่ำสุด โดยมีรูปแบบที่ศึกษา 10 แบบ และได้ศึกษากรณีที่ชิ้นงานมีผิวโค้งจำนวน 7 ขนาด ผลการศึกษาพบว่าตัวแปรของขนาด H, W และ R1 มีความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย -0.0903%, -0.0639% และ 0.0321% ตามลำดับ สำหรับชิ้นทดสอบที่มีผิวโค้ง เมื่อค่าเส้นผ่าศูนย์กลาง D น้อย มีค่าเฉลี่ยความคลาดเคลื่อนสูง (0.0506% เมื่อ D = 30 mm เมื่อเทียบกับ 0.0012% เมื่อ D = 90 mm) ค่าความคลาดเคลื่อนตาม Table 3 สามารถนำมาใช้คำนวณชดเชยให้ได้ $\sigma-\varepsilon$ ที่ถูกต้องได้ นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ได้แสดงการประยุกต์ใช้ FEA จำลองและศึกษาการทดสอบที่ต้องใช้ชิ้นงานขนาดต่างๆ จำนวนมาก โดยสามารถลดต้นทุนในการผลิตแม่พิมพ์ที่มีราคาสูงได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนเครื่องทดสอบ UTM ในการทดสอบแรงดึง และ บริษัท เดอะ เพ็ท จำกัด ที่สนับสนุนขวดทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

คณิต อรวรรณหโณทัย และ สัจจาทิพย์ ทัศนียพันธุ์. 2557. การจำลองการยุบของขวด PET ที่มีรูปทรงผนังไม่สม่ำเสมอภายใต้การทดสอบภาระด้านบนแบบสถิตย์และพลวัต. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธนรรษ สุนทรเอกจิต และ สัจจาทิพย์ ทัศนียพันธุ์. 2557. การประมวลผลข้อมูลเพื่อให้กราฟความสัมพันธ์ของความเค้นและความเครียดมีความเรียบ. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สัจจาทิพย์ ทัศนียพันธุ์ และ ชาคริต สุวรรณจำรัส. 2548. การวิเคราะห์การโป่งโดยใช้ CAD/CAE ของขวดพลาสติกภายใต้แรงดันภายใน. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ASTM D638-10. **Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics.**

การศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง

A Study of Factors Affecting to Analog Signal's Receiving of Optical Sensor

<u>พรทิพา นวลเกื้อ</u>[1*] ถวัลย์ศักดิ์ เผ่าสังข์[1] เกรียงไกร แก้วตระกูลพงษ์[1] และ สมพงษ์ เจษฎาธรรมสถิต[1]

<u>Porntipa Nualkuai</u>[1*], Thawansak Phaosang[1], Kriengkri Kaewtrakulpong[1] and Somphong Jedsadathumsathit[1]

บทคัดย่อ

การออกแบบเครื่องแยกคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งแบบไม่ทำลาย ประกอบด้วยการศึกษาสองส่วนคือ 1. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง และ 2. การออกแบบระบบระบายความร้อนของหลอดฮาโลเจนเพื่อลดผลกระทบของอุณหภูมิที่มีผลต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง โดยอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง ประกอบด้วย (1) หลอดฮาโลเจน (2) เซนเซอร์ชนิดแสง (Photodetector) และ (3) PLC โดยปัจจัยที่ศึกษาคือ ระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับแหล่งกำเนิดแสง แบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 3 ซม. 4 ซม. และ 5 ซม. และระยะเวลาของการเปิด ปิด หลอดไฟ แบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่ (1) เปิดหลอดไฟ 45 วินาที ปิด 1 นาที (2) เปิดหลอดไฟ 45 วินาที ปิด 2 นาที และ (3) เปิดหลอดไฟ 45 วินาที ปิด 3 นาที จากการทดลองแบบ 3x3 แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด พบว่าระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับหลอดไฟ ที่ 4 ซม. และการเปิดหลอดไฟ 45 วินาที ปิด 3 นาที มีค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 1.105 นอกจากนี้ จากการทดสอบระบบระบายความร้อนที่ได้ออกแบบโดยใช้อุปกรณ์ดังนี้ (1) พัดลมขนาด 220 โวลต์ (2) Hopper (3) ครีบระบายความร้อน และ (4) กล่องอะครีลิค ผลการทดสอบพบว่า สามารถลดอุณหภูมิของหลอดฮาโลเจนให้มีอุณหภูมิระหว่าง 18 ถึง 20 องศาเซลเซียสได้ ซึ่งหากเป็นแบบที่ไม่มีระบบระบายความร้อน อุณหภูมิของหลอดฮาโลเจนจะสูงถึง 105 องศาเซลเซียส

ABSTRACT

In this research, automate non-destructive sorter of asparagus's quality was designed. The factors affecting to analog signal's receiving of optical sensor were studied and the cooling system was designed to reduce temperature of halogen bulb which affected to analog signal's receiving of optical sensor. The equipment to check the affecting factors composed of (1) Halogen bulb (2) Optical sensor (Photodetector) and (3) PLC. Two factors comprised of (1) the duration time for turn on and turn off the light source, and (2) the distance between optical sensor and light source were tested through the 3x3 factorial experiment in CRD with 3 replications. The results showed that the distance between optical sensor and light source at 4 cm and the duration for turning on the bulb 45 sec. and then turning off 3 min. has the lowest of coefficient of variation that was 1.105. In addition, the cooling system composed of (1) fan 220 volt (2) Hopper (3) Heat Sinks and (4) acrylic box, was designed and tested. The results showed that the system could reduce temperature from 105 ^{o}C to 18-20 ^{o}C. This research revealed the optimum condition for developing the automated non-destructive sorter of asparagus's quality in further.

Key Words: optical sensor, analog signal, photodetector

*Corresponding author; e-mail address: **porntipanualkuai@gmail.com**

[1]ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Farm Mechanic, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

เซนเซอร์ เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่ตรวจจับปริมาณของตัวแปรต่างๆ ที่เราต้องการทราบค่า เช่น อุณหภูมิ การเคลื่อนที่ แสงสว่าง เป็นต้น และเปลี่ยนพลังงานจากรูปหนึ่งให้อยู่ในอีกรูปแบบหนึ่ง เช่น แปลงพลังงานแสงเป็นพลังงานไฟฟ้า (สมาร์ทเลิร์นนิ่ง, 2552) โดยเซนเซอร์แต่ละประเภทจะต้องได้รับค่าจากแหล่งกำเนิดค่านั้นๆ เช่น เซนเซอร์ชนิดแสงจะต้องรับค่าจากแหล่งกำเนิดแสงที่เป็นหลอดทังสเตน โดยเมื่อไส้หลอดทังสเตนถูกทำให้ร้อน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะของอิเล็กตรอนทำให้เกิดการปล่อยแสงช่วงความยาวคลื่นประมาณ 200 – 2500 นาโนเมตร เป็นต้น (ชูชาติ, 2544) ปัจจุบันได้มีการนำเซนเซอร์ชนิดต่างๆ มาใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องมือวัด เพื่อใช้ในด้านการเกษตร เช่น การวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อจำแนกกลุ่มมะเขือเทศที่ปลูกในระบบเกษตรอินทรีย์และระบบเกษตรเคมีโดยไม่ทำลายผลผลิต ซึ่งจะวัดค่าการดูดกลืนพลังงานย่านใกล้อินฟราเรด (กฤตกร, 2553) โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบทางเคมีของผลผลิตทางการเกษตรกับการดูดกลืนแสง (Osborne et al, 1986) ซึ่งโมเลกุลของสารแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์กับช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกันเนื่องจากการจัดเรียงโครงสร้างของโมเลกุลต่างกัน (วลัยพร, 2548) การนำภาพถ่ายที่ได้จากการถ่ายด้วยกล้องซีซีดี (Charge Coupled Device) ซึ่งเป็นภาพสี (Color image) กับภาพเรืองแสง (Fluorescence image) ที่ได้จากการให้แสงด้วยไดโอดเปล่งแสงอัลตราไวโอเลต (UV LED device) กับไดโอดเปล่งแสงขาว (White LED device) บนผลส้ม มาใช้ในการวิเคราะห์ และแยกประเภทของความเสียหายที่เกิดขึ้นภายในและภายนอกของผลส้มเพื่อใช้แยกเกรดของส้มในโรงงานอุตสาหกรรม (MOMIN et al, 2013) เป็นต้น สำหรับการตรวจวัดคุณภาพภายในเนื้อผลไม้ เนื่องจากต้องใช้แสงที่มีความเข้มสูงดังนั้นต้องใช้หลอดไฟที่มีกำลังวัตต์สูง ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดความร้อนสูงขณะทำการวัด ความร้อนที่เกิดขึ้นนี้อาจทำให้เกิดความเสียหายต่อผลไม้ที่ทำการวัดได้ (สนธิสุข, 2552) และเมื่อหลอดมีอุณหภูมิสูงก็จะมีพลังงานจลน์มาก อะตอมของทังสเตนจะไปเกาะอยู่ที่ผนังด้านในของหลอดทำให้ความโปร่งใสลดลง แสงสว่างที่ได้จึงลดลง ค่าอนาล็อคที่เซนเซอร์ชนิดแสงรับค่าได้ก็จะมีความคลาดเคลื่อนด้วยเช่นกัน (ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล, 2559)

โดยการออกแบบเครื่องแยกคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งแบบไม่ทำลายในการวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วยการศึกษาสองส่วนคือ (1) การศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง และ (2) การออกแบบระบบระบายความร้อนของหลอดฮาโลเจนเพื่อลดผลกระทบของอุณหภูมิที่มีต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้การรับค่าอนาล็อคมีความเสถียรและแม่นยำ และนำไปสู่การพัฒนาเครื่องแยกคุณภาพหน่อไม้ฝรั่งแบบไม่ทำลายซึ่งเป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงและองค์ประกอบทางเคมีของหน่อไม้ฝรั่งแบบเกษตรอินทรีย์และเกษตรเคมี รวมทั้งเครื่องมือตรวจสอบทางด้านคุณภาพของผลผลิตเกษตรอื่นๆต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง มีส่วนประกอบหลักคือ (1) หลอดฮาโลเจน Osram® รุ่น HLX64623 (2) Photodetector Thorlabs ® รุ่น FD05D (3) PLC Omron® รุ่น CP1H (4) แหล่งจ่ายไฟ (Power supply) (5) รีเลย์ (6) สายไฟ (7) คอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล (8) กล่องดำทำด้วยแผ่นฟิวเจอร์บอร์ด (9) ผ้าคลุมสีดำ (Figure 1, Figure 2) ทำการเขียนโปรแกรมเพื่อควบคุมการเปิด ปิด ของหลอดไฟทั้ง 3 ระดับ และจัดระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับแหล่งกำเนิดแสง ทั้ง 3 ระดับ ใช้การทดลองแบบ 3x3

แฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด จำนวน 3 ซ้ำ คลุมกล่องดำด้วยผ้าคลุมสีดำ ทำการเปิดสวิตช์หลอดไฟ และสั่งให้เครื่องควบคุมเชิงตรรกะที่สามารถโปรแกรมได้ (Programmable Logic Controller, PLC) ทำงาน เพื่อเก็บค่ากระแสไฟฟ้าที่เซนเซอร์รับได้ จากนั้นนำข้อมูลค่ากระแสไฟฟ้ามาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และหาสัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of Variation)

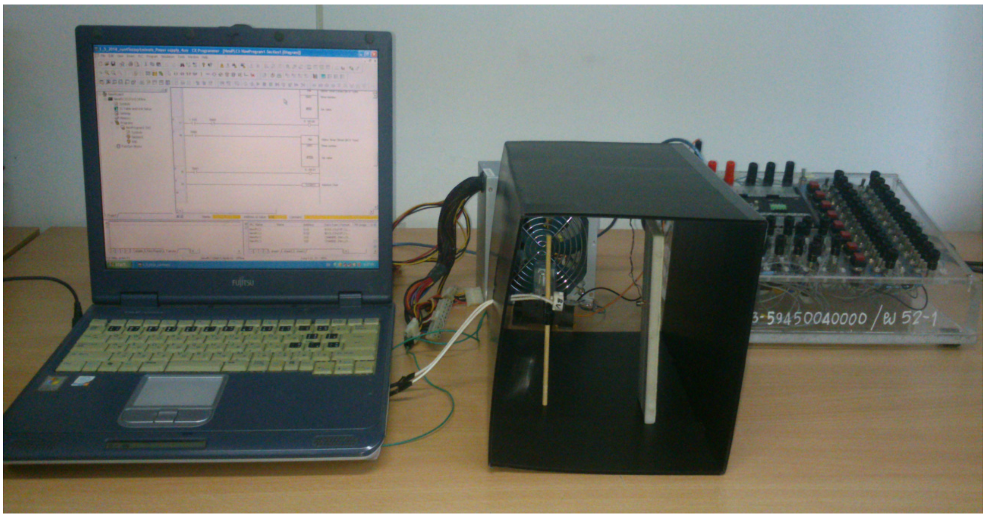


Figure 1 The equipment used in the a study of factors affecting to analog signal's receiving of optical sensor

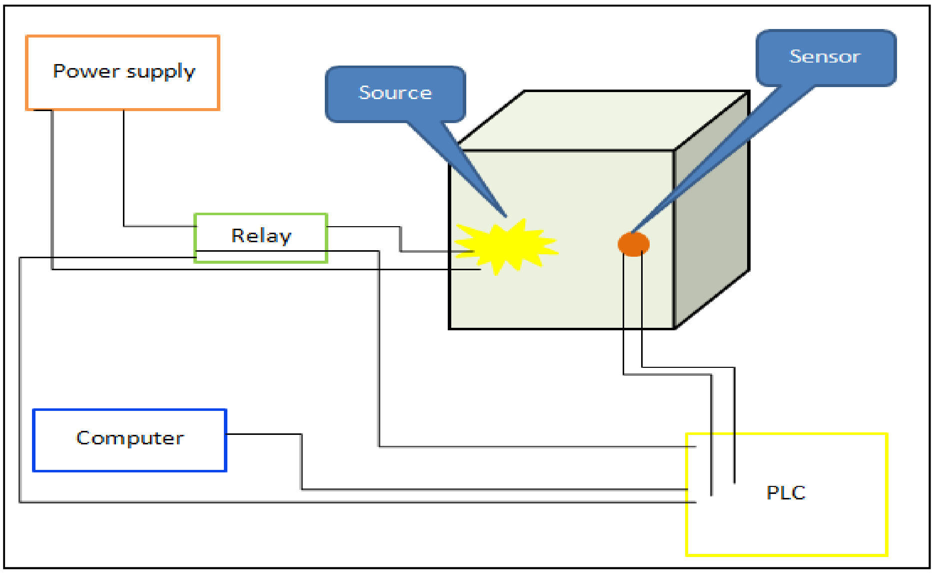


Figure 2 Schematic of the equipment used in the a study of factors affecting to analog signal's receiving of optical sensor

การออกแบบระบบระบายความร้อนของหลอดฮาโลเจนเพื่อลดผลกระทบของอุณหภูมิที่มีต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง

จากการทดลองรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง โดยใช้ PLC ในการรับและแปลงค่าอนาล็อคเป็นข้อมูลค่ากระแสไฟฟ้า พบว่าค่ากระแสไฟฟ้าที่วัดได้มีค่าต่ำ ซึ่งอาจทำให้การนำค่าที่วัดได้ไปวิเคราะห์ต่อได้ยาก

โดยผลดังกล่าวเกิดจากแสงจากหลอดไฟที่มีลักษณะกระจาย ผู้วิจัยจึงได้การออกแบบระบบระบายความร้อนของหลอดฮาโลเจนเพื่อลดผลกระทบของอุณหภูมิที่มีต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง โดยได้นำวัสดุมาครอบหลอดไฟเพื่อเป็นการรวมแสงจากหลอดไฟให้ไปตกที่เซนเซอร์มากขึ้นและใช้พัดลมช่วยระบายความร้อน โดยอุปกรณ์ที่ใช้ประกอบด้วย (1) พัดลมขนาด 220 โวลต์ (2) Hopper (3) ครีบระบายความร้อน (4) หลอดฮาโลเจน Osram® รุ่น HLX64623 (5) Photodetector Thorlabs ® รุ่น FD05D (6) PLC Omron® รุ่น CP1H (7) แหล่งจ่ายไฟ (Power supply) (8) รีเลย์ (9) สายไฟ (10) คอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล (11) กล่องอะครีลิค (12) น้ำแข็ง (13) กระบอกอะลูมิเนียมเส้นผ่านศูนย์กลาง 19 มม. ดังแสดงใน Figure 3 จากนั้นทำการเขียนโปรแกรมเพื่อควบคุมการเปิด ปิดหลอดไฟ โดยกำหนดให้เปิดหลอดไฟ 45 วินาที ปิดหลอดไฟ 1 นาที และระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับหลอดไฟ ประมาณ 4 ซม. ทำการทดสอบและสั่งให้ PLC ทำงาน ตามสภาวะการทำงานของหลอดไฟฮาโลเจนดังกล่าว และเก็บค่ากระแสไฟฟ้าที่เซนเซอร์รับได้ จากนั้นนำข้อมูลค่ากระแสไฟฟ้าที่วัดได้มาหาค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of variation)

Figure 3 Testing for receiving analog signal of optical sensor after designing cooling system

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง

ผลการทดลองพบว่าระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับแหล่งกำเนิดแสง (หลอดไฟ) เป็นปัจจัยที่ทำให้ค่ากระแสไฟฟ้ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าระยะเวลาของการเปิด ปิดหลอดไฟกับระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับแหล่งกำเนิดแสง (หลอดไฟ) ไม่มีอันตรกิริยาร่วมกัน (Table 1) เมื่อระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับหลอดไฟมากจะให้ค่าระแสไฟฟ้าน้อย แต่เมื่อให้ระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับหลอดไฟน้อยจะให้ค่ากระแสไฟฟ้ามากขึ้น (Table 2) และเมื่อนำค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of variation) ของแต่ละการทดลองมาเปรียบเทียบกันพบว่าที่ระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับหลอดไฟที่ 4 ซม. และการเปิดหลอดไฟ 45 วินาที ปิด 3 นาที จะให้ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of Variation) ต่ำที่สุด (Table 3)

Table 1 The effect of analog signal's receiving of optical sensor on distance between optical sensor and light source with duration for turn on and turn off the light source

Source of Variation	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Duration for turn on and turn off the light source (A)	2	0.00002	0.000009	1.537	0.233
Distance between optical sensor and light source (B)	2	0.04135	0.020676	3403.976	<2e - 16 ***
A : B	4	0.00004	0.000009	1.537	0.22
Residuals	27	0.00016	0.000006		

1/ A: Duration for turn on and turn off the light source

B: Distance between optical sensor and light source

*** Significant at $P \leq 0.001$

Table 2 Electric current on distance between optical sensor and light source with duration for turn on and turn off the light source

Distance between optical sensor and light source (cm.)	Electric current (mA) — Duration for turn on and turn off the light source: Turn on 45 seconds Turn off 1 minute	Turn on 45 seconds Turn off 2 minutes	Turn on 45 seconds Turn off 3 minutes
3	0.154	0.155	0.150
4	0.110	0.110	0.110
5	0.070	0.070	0.070

Table 3 Coefficient of Variation

Distance between optical sensor and light source (cm.)	Duration for turn on and turn off the light source: Turn on 45 seconds Turn off 1 minute	Turn on 45 seconds Turn off 2 minutes	Turn on 45 seconds Turn off 3 minutes
3	2.689	2.929	3.628
4	2.128	1.327	1.105
5	1.314	1.574	1.296

การออกแบบระบบระบายความร้อนของหลอดฮาโลเจนเพื่อลดผลกระทบของอุณหภูมิที่มีต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง

จากการทดสอบการรับค่าอนาล็อคเมื่อนำวัสดุมาครอบหลอดไฟ โดยยังไม่มีระบบระบายความร้อนของแหล่งกำเนิดแสง จะมีสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของกระแสไฟฟ้าเท่ากับร้อยละ 4.730 โดยกราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไปค่อนข้างมีความแปรปรวน (Figure 4) สำหรับผลการออกแบบระบบระบายความร้อนของแหล่งกำเนิดแสง โดยการนำชุดระบายความร้อนมาติดตั้งในกล่องอะครีลิคที่มีน้ำแข็งอยู่ ซึ่งชุดระบายความร้อนมีส่วนประกอบหลักคือ (1) พัดลมขนาด 220 โวลต์ (2) Hopper (3) ครีบระบายความร้อน (Figure 5) พบว่าจะมีสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของค่ากระแสไฟฟ้าเท่ากับร้อยละ 0.910 โดยพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่ากระแสไฟฟ้าเมื่อเวลาผ่านไปค่อนข้างคงที่ (Figure 6) เมื่อเทียบกับการเปลี่ยนแปลงของค่ากระแสไฟฟ้าเมื่อเวลาผ่านไปที่ยังไม่มีการออกแบบระบบระบายความร้อนของแหล่งกำเนิดแสง การใช้พัดลมขนาด 220 โวลต์ ร่วมกับการแช่ชุดระบายความร้อนลงในกล่องอะครีลิคที่มีน้ำแข็งอยู่โดยลมจากพัดลมจะพัดเอาอากาศเย็นที่เกิดจากน้ำแข็งเข้าไปช่วยลดอุณหภูมิของหลอดไฟ ซึ่งส่งผลทำให้อุณหภูมิของหลอดไฟจากเดิมอยู่ที่ประมาณ 105 องศาเซลเซียส ลดลงเหลืออยู่ระหว่าง 18 – 20 องศาเซลเซียส

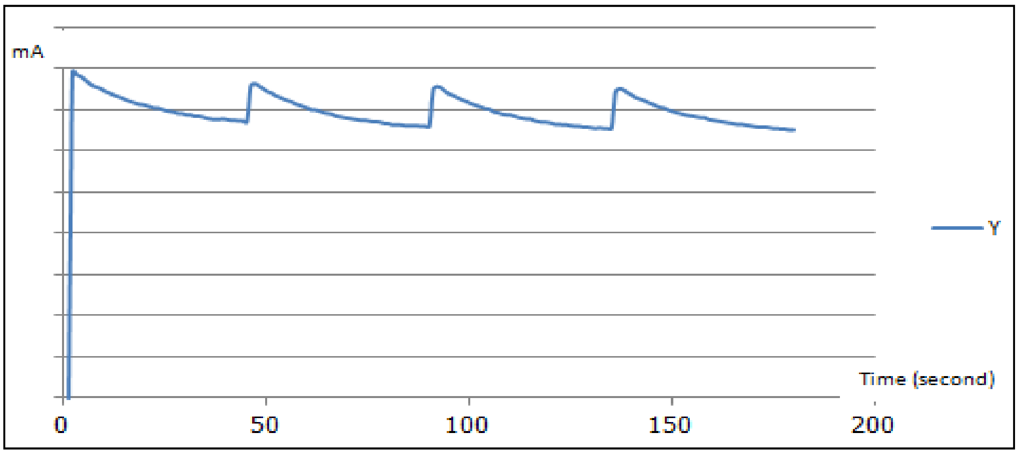


Figure 4 Changing of the electric current before designing cooling system

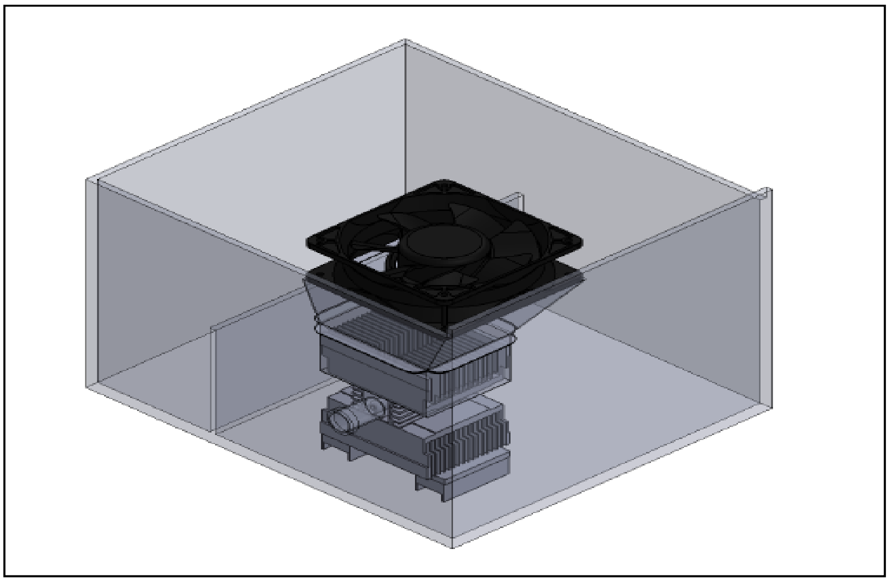


Figure 5 The design cooling system of halogen bulb

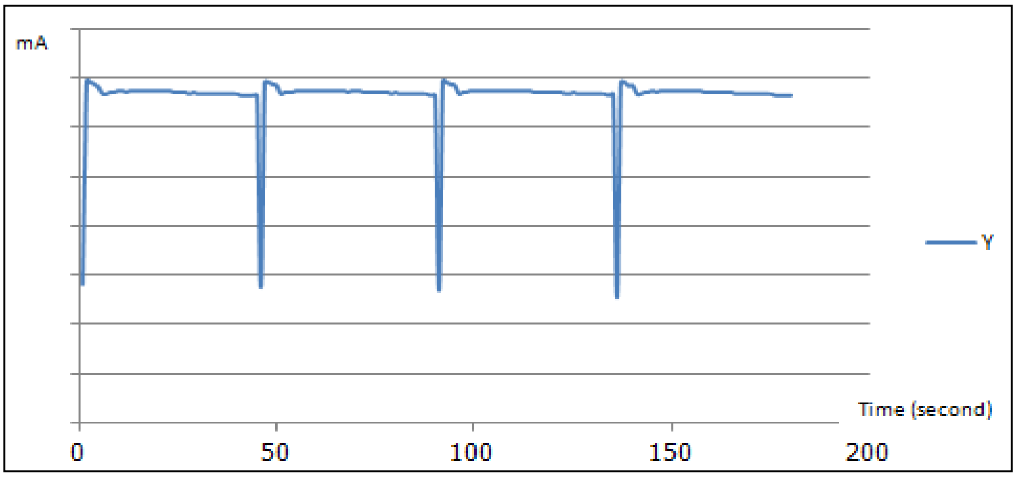


Figure 6 Changing of the electric current after designing cooling system

สรุป

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง พบว่าระยะเวลาเปิด ปิดหลอดไฟ ไม่มีผลต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง แต่ระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับหลอดไฟมีผลต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับหลอดไฟ 4 ซม. และการเปิดหลอดไฟ 45 วินาที ปิดหลอดไฟ 3 นาที จะให้ค่ากระแสไฟฟ้าที่มีความแปรปรวนต่ำที่สุด และจากการออกแบบระบบระบายความร้อนของหลอดฮาโลเจนเพื่อลดผลกระทบของอุณหภูมิที่มีต่อการรับค่าอนาล็อคของเซนเซอร์ชนิดแสง พบว่าการนำชุดระบายความร้อนมาติดตั้งในกล่องอะครีลิคที่มีน้ำแข็งอยู่ จะทำให้ความแปรปรวนของค่ากระแสไฟฟ้าต่ำ และมีค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of variation) ที่ต่ำกว่าแบบไม่มีระบบระบายความร้อนของแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งระบบระบายความร้อนที่ได้ออกแบบสามารถลดอุณหภูมิของหลอดฮาโลเจนให้อยู่ระหว่าง 18 ถึง 20 องศาเซลเซียสได้ โดยผลที่ได้จะนำไปสู่การพัฒนาเครื่องแยกคุณภาพของหน่อไม้ฝรั่งหรือผลผลิตทางการเกษตรอื่นๆแบบไม่ทำลายต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กฤตกร ทรัพย์เจริญ. 2553. **การประเมินคุณภาพของมะเขือเทศเกษตรอินทรีย์ด้วยเทคนิค** Near Infrared Spectroscopy. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2544. **เครื่องมือวิทยาศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น.

ทีมงานสมาร์ทเลิร์นนิ่ง. 2552. **เซนเซอร์ ทรานสดิวเซอร์และการใช้งาน**. พิมพ์ครั้งที่ 1. สมาร์ทเลิร์นนิ่ง.

ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล. 2559. **ฮาโลเจน**. แหล่งที่มา:, http://www.rmutphysics.com/charud/scibook/physcis-for-everyday/physics-for-everydayuse-content/101-128/indexcontent128.htm, 10 ตุลาคม 2559.

วลัยพร เตียประสิทธิ์. 2548. **การทำนายค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณกรดทั้งหมดของชมพู่พันธุ์ทับทิมจันทร์ เพชรสามพราน และทูลเกล้า ด้วยเทคนิค** Near Infrared Spectroscopy. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สนธิสุข ธีระชัยชยุติ. 2552. การตรวจสอบคุณภาพผลไม้โดยใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี. **วารสารอุตสาหกรรมเกษตรพระจอมเกล้า** 3(1): 44-52.

Md. Abdul MOMIN, Naoshi KONDO, Yuichi OGAWA, Kyohei IDO and Kazunori NINOMIYA. 2003. Patterns of Fluorescence Associated with Citrus Peel Defects. **EAEF**. 6(2) : 54-60.

Osborn and Fearn, T. 1986. **Near infrared spectroscopy in food analysis.** Longman, New York.

การออกแบบและสร้างเครื่องคัดแยกขนาดละมุดแบบเพลาหมุนวางคู่

Design and Fabrication of Sapodilla Sizing Machine Using Expanding Roller

ธรรม์ณชาติ วันแต่ง[1*]

Tannachart Wantang[1*]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือการออกแบบและสร้างเครื่องคัดแยกขนาดละมุดแบบเพลาหมุนวางคู่ ทดสอบสมรรถนะและนำไปประเมินความพึงพอใจกับเกษตรชาวสวนละมุด โดยเครื่องมีขนาด 90×180×96 cm ใช้หลักการเพลาขยายและหมุนตก เพลาเอียง 10° คัดแยกละมุดได้ 4 ขนาด คือ เล็ก กลาง ใหญ่ และใหญ่พิเศษ จากผลการทดลองพบว่าอัตราการผลิตของเครื่องมีค่าเท่ากับ 1.02 นาทีต่อละมุด 20 กิโลกรัม หรือประมาณ 1,176 กิโลกรัมต่อชั่วโมง โดยเครื่องจะมีอัตราการผลิตสูงกว่าแรงงานคนคัดประมาณ 5.93 เท่า แต่เครื่องจะมีค่าความผิดพลาดของขนาดเท่ากับ 1.33 กิโลกรัมต่อละมุด 20 กิโลกรัม มีอัตราสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้าเท่ากับ 1.71 บาทต่อชั่วโมง ด้านผลการประเมินความพึงพอใจของเครื่องด้วยแบบประเมิน 4 ด้าน ประกอบด้วย ด้านการออกแบบเครื่อง, ความปลอดภัย, ความสะดวกในการใช้งาน และผลผลิตกับเกษตรชาวสวนละมุด จำนวน 39 คน มีผลการประเมินเท่ากับ 4.03 ซึ่งอยู่ในระดับดี มีระยะเวลาในการคืนทุน 2.14 ปี

ABSTRACT

This research aimed at the design, fabrication and testing of sapodilla sizing machine using expanding roller and evaluate the satisfaction survey of sapodilla orchards. The machine consists of the frame 90×180×96 cm^3 use the expanding roller and an angle by 10 ° rotation falls. The sizing machine has four sizes: small, medium, large and jumbo. The results of the performance tests showed the production rate of 1.02 minute/20 kg (1,176 kg/hr). Comparison between the machine and manual sorting; the sizing machine capacity was more than the manual sorting about 5.93 time and the error was 1.33 kg/20 kg and the electricity charge is 1.71 bath/hr. The satisfaction survey was in design, safety, ease of use and productivity by sapodilla orchards (39 person). The evaluation of overall satisfaction at level 4.03, which was good and engineering economic analysis revealed that the pay back period was 2.14 year.

Key word: sapodilla sizing machine, design and fabrication

*Corresponding author; e-mail address: tannachart@gmail.com

[1]สาขาวิชาวิศวกรรมการผลิตและการจัดการ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ เพชรบูรณ์ 67000

[1]Department of Production Engineering and management, Faculty of Agricultural Technology and Industrial Technology, Phetchabun Rajabhat University, Phetchabun 67000

คำนำ

พื้นที่การปลูกละมุดในประเทศไทยมีประมาณ 16,878 ไร่ จังหวัดที่มีการปลูกมากที่สุดคือ ราชบุรี สุโขทัย นครราชสีมา เพชรบุรี และกระจายอยู่ทั่วประเทศ มีผลผลิตรวมทั้งประเทศประมาณ 13,409 ตัน/ปี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558) มูลค่ารวมทั้งประเทศประมาณ 230 ล้านบาท (อารีรัตน์, 2555) ละมุดที่ปลูกสามารถแบ่งได้ 2 พันธุ์ใหญ่ๆ คือ ละมุดพันธุ์ไทยหรือละมุดสีดาซึ่งปัจจุบันมีการปลูกน้อยลงเพราะมีผลเล็ก และละมุดพันธุ์ฝรั่งที่มีการปลูกเพื่อการค้าเพิ่มมากกว่า เช่น พันธุ์มะกอก พันธุ์กระสวย พันธุ์ไข่ห่าน จังหวัดเพชรบูรณ์มีการปลูกละมุดมากที่สุดที่หมู่บ้านสวนละมุด ต.หนองไขว่ อ.หล่มสัก โดยเป็นละมุดพันธุ์มะกอกมีการปลูกประมาณ 80 – 90% ของพื้นที่ทั้งหมดจนได้รับการตั้งชื่อว่าหมู่บ้านสวนละมุด ผลผลิตจะออกในช่วงเดือนตุลาคม-กุมภาพันธ์ของทุกปี แต่ละครอบครัวมีผลผลิตประมาณ 60-70 ตันต่อปี ด้วยปริมาณผลผลิตที่มากและออกในระยะเวลาใกล้เคียงกันนี้จึงจำเป็นต้องจ้างแรงงานในปริมาณที่มากเพื่อจัดการกับผลผลิตโดยเร็ว แต่ปัจจุบันพบว่าเกิดปัญหาด้านการขาดแคลนแรงงานมากทั้งด้านการเก็บผลผลิตและการคัดขนาดเพื่อขาย อีกทั้งละมุดเป็นผลไม้ที่มีเปลือกบางจึงมักมีการเสียหายจากกระบวนการต่างๆก่อนถึงขั้นตอนการขายประมาณ 5% ของผลผลิตทั้งหมด (วรรยา, 2546) ด้านราคาขายส่งละมุดที่ไม่คัดขนาดมีราคาประมาณ 6 – 7 บาทต่อกิโลกรัม แต่ถ้ามีการคัดขนาดราคาจะสูงขึ้น เช่น ละมุดขนาดกลาง เบอร์ 3 ราคาประมาณ 10 – 12 บาทต่อกิโลกรัม ละมุดขนาดใหญ่พิเศษหรือจัมโบ้ เบอร์ 1 ราคาประมาณ 30 - 50 บาทต่อกิโลกรัม เป็นต้น จากข้อมูลพบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่มักจัดการกับผลผลิตไม่ทันจำเป็นต้องขายส่งแบบไม่คัดขนาดหรือแม้มีการคัดขนาดได้ทันแต่อาจมีต้นทุนค่าแรงงานที่สูงมากตามมาเช่นกัน ดังนั้น เกษตรกรชาวสวนละมุดจึงมีความต้องการสิ่งประดิษฐ์สำหรับคัดแยกขนาดละมุดเพื่อใช้ในช่วงฤดูการเก็บเกี่ยวในระดับครัวเรือนจนได้เสนอเรื่องผ่านทางผู้ใหญ่บ้าน เกษตรจังหวัดและมหาวิทยาลัยฯตามลำดับ ทางผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการศึกษาข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เครื่องคัดแยกละมุดแบบเป็นล้อลูกกรงทรงกระบอกใช้การหมุนตกตามระยะห่างระหว่างล้อลูกกรงทรงกระบอก แต่จากผลการทดลองพบว่าเครื่องดังกล่าวยังเกิดการช้ำเสียหายของผลละมุดเป็นจำนวนมาก มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี (2555) เครื่องคัดขนาดผลหมากแบบใช้ช่องว่างระหว่างเพลาเกลียวเดือยหมู (นัสสรา, 2557) เครื่องคัดขนาดน้อยหน่าแบบใช้ระบบคานสมดุลเมื่อน้อยหน่ามีน้ำหนักมากกว่าตุ้มน้ำหนักจะกลิ้งออกจากถาด (คุรุวรรณ์, 2557) เครื่องคัดขนาดลูกเดือยแบบตะแกรงทรงกระบอกหมุนมีการเจาะรูเปิดให้ขนาดไม่เท่ากันเพื่อให้คัดได้หลายขนาด (บรรลุ, 2556) เครื่องคัดกระเทียมแบบตะแกรงเจาะรูเพื่อให้ล่วงตกตามขนาด ตะแกรงมีลักษณะเอียงและหมุนโยกด้วยชุดลูกเบี้ยว (เทวรัตน์, 2556) เครื่องคัดขนาดแบบใช้โหลดเซลล์ช่างน้ำหนักแล้วทำการคัดคัดขนาด (ชลีดล, 2554) เครื่องคัดพุทราพันธ์น้ำนมใช้ระบบน้ำไหลพาผลพุทราผ่านชุดรางขยายแบบบานออก (ภัทรชัย, 2554) เครื่องคัดขนาดชมพู่แบบสายพานบานออก (กระวี, 2553) เครื่องคัดขนาดส้มแบบทรงกระบอกเจาะรูสวมซ้อนกันเป็นชั้นๆและในแต่ละชั้นมีขนาดรูที่ต่างกัน ใช้การคัดขนาดแบบหมุนตก (ทรงศักดิ์, 2548) เครื่องคัดขนาดฝรั่งและมังคุดแบบกรีฟ้าที่มีจานคัดขนาดใหญ่หมุนให้ผลลอดผ่านแผ่นกั้นออกไปตามขนาด (บัณฑิต, 2545) เป็นต้น หลังจากได้ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องแล้วทางผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทำการออกแบบและสร้างเครื่องคัดแยกขนาดละมุดแบบเพลาหมุนวางคู่ขึ้น ทำการทดสอบสมรรถนะและนำไปทดสอบภาคสนามเพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องที่สร้างขึ้นกับเกษตรกรชาวสวนละมุด และหาระยะเวลาคืนทุนในการลงทุนใช้เครื่องจักร เพื่อให้งานวิจัยชิ้นนี้เป็นเทคโนโลยีที่เหมาะสมสามารถนำไปใช้งานได้จริง

อุปกรณ์และวิธีการ

ส่วนประกอบของเครื่อง

วิธีการดำเนินงานเริ่มด้วยขั้นตอนการศึกษาข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ทำการการออกแบบและเขียนแบบด้วยโปรแกรม NX 8.5 เขียนภาพประกอบและภาพแยกชิ้นเพื่อนำไปสร้างชิ้นส่วนตามแบบงาน โดยแบบงาน (Figure 1 A) และการสร้างส่วนประกอบหลักของเครื่อง (Figure 1 B) มีรายละเอียดดังนี้

1) กระบะใส่ละมุด ทำหน้าที่สำหรับใส่ละมุด ขนาด 90×73×25 cm มีมุมเอียงของกระบะ 10° มีช่องไหลของผลละมุดลงสู่ชุดคัดขนาดจำนวน 2 ช่อง ในบริเวณที่มีการสัมผัสกับผิวละมุดจะมีการบุด้วยแผ่นยางหนาเพื่อไม่ให้เกิดรอยช้ำเสียหาย

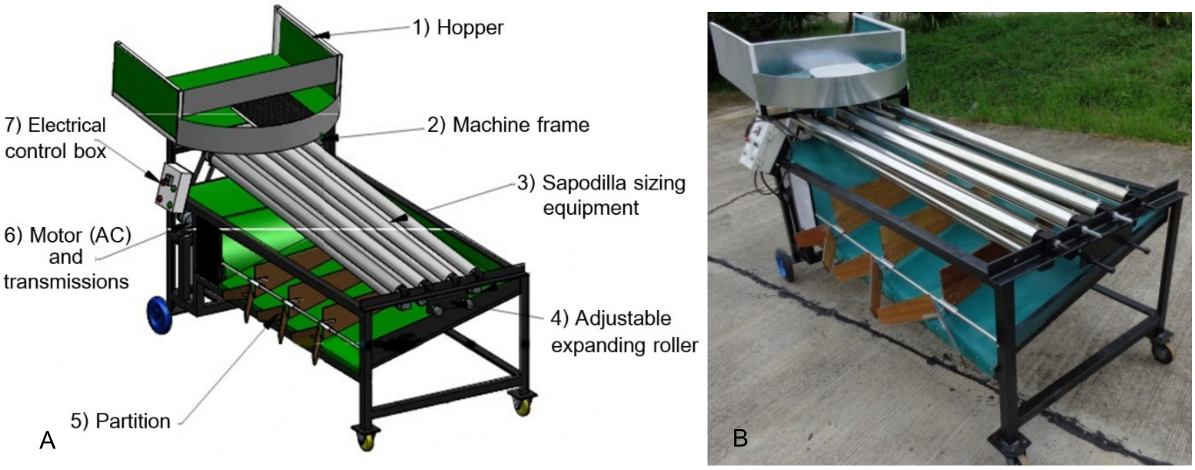


Figure 1 Details drawing (A) and assembly of the sapodilla sizing machine using expanding roller (B).

2) โครงเครื่อง ทำหน้าที่ยึดอุปกรณ์ส่วนประกอบต่างๆของเครื่องทำด้วยเหล็กฉากขนาด 90×180×40 cm มีชุดล้อสำหรับการเคลื่อนย้าย

3) ชุดคัดขนาดแบบเพลาหมุนวางคู่ ทำหน้าที่สำหรับคัดขนาดละมุด ใช้วัสดุเหล็กกล้าไร้สนิม SUS 304 ขนาด Ø 6.3 cm ยาว 170 cm ใช้หลักการของเพลาหมุนวางคู่กันในลักษณะเอียงและมีระยะห่างหัวท้ายไม่เท่ากันเมื่อละมุดถูกลำเลียงจะหมุนหาจุดศูนย์ถ่วงของผลจนตกลงในช่วงระยะห่างและไหลลงสู่ตะกร้าตามขนาด 4 ขนาด คือ เบอร์ 1 ใหญ่พิเศษ, เบอร์ 2 ใหญ่, เบอร์ 3 กลาง และเบอร์ 4 เล็ก (Table 1) โดยการเกิดรอยตำหนิของละมุดใช้เกณฑ์ตามมาตรฐานสินค้าเกษตร (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554)

Table 1 Size of sapodilla.

Code size	Unit weight (Unit/g)	Number of units (approximately/kg)
1 (Jumbo)	>105	≤9
2 (Large)	>90 - 105	9 - 11
3 (Medium)	>75 - 90	11 - 13
4 (Small)	>60 - 75	13 - 16

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2554)

4) ชุดปรับขนาดระหว่างแกนเพลา ทำหน้าที่ปรับขนาดระหว่างแกนเพลาเพื่อให้ขนาดของละมุดที่คัดตกเป็นไปตามขนาดมาตรฐาน

5) แผงกั้นขนาด ทำหน้าที่กั้นขนาดละมุดแต่ละขนาดให้ไหลลงสู่ตะกร้าไม่ให้ปนกัน ทำด้วยไม้อัดแผ่นหนา 6 มิลลิเมตร มีรูปทรงสี่เหลี่ยมคางหมูและมีชุดเลื่อนปรับขนาด ส่วนในบริเวณที่ละมุดตกลงมาจากชุดคัดขนาดจะมีการบุด้วยแผ่นยางหนาเพื่อไม่ให้เกิดการกระแทกจนละมุดเกิดรอยช้ำเสียหาย

6) ระบบส่งกำลัง ทำหน้าที่ส่งกำลังในการหมุนเพลาคู่สำหรับคัดขนาดละมุด ใช้มอเตอร์ไฟฟ้ากระแสสลับ (AC) 220 V ขนาด 1 hp ส่งกำลังผ่านระบบสายพานและพูเลห์เพื่อทดรอบช้า มีชุดเฟืองส่งกำลังเพื่อทำให้เพลาหมุนกลับทาง (Figure 2) โดยกำหนดให้เพลาด้านซ้ายหมุนทวนเข็มนาฬิกาส่วนด้านขวาหมุนตามเข็มนาฬิกา โดยใช้ความเร็วรอบที่ต้นกำลัง 1,450 รอบต่อนาที ทดรอบลงแล้วอยู่ที่ 206.22 รอบต่อนาทีด้านซ้าย และ 256.78 รอบต่อนาทีด้านขวา มีมุมเอียงของเพลา 10° มีเพลายาวอีก 2 ท่อนยึดประกบแน่นด้านบนชุดเพลาคัดขนาดเพื่อไม่ให้เกิดการกระเด็นออกของผลละมุดในขณะคัด

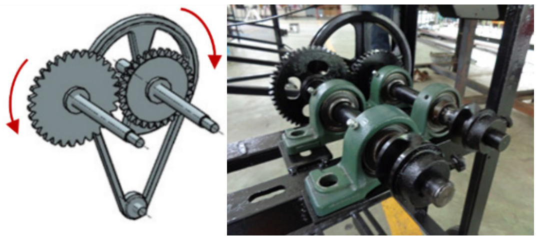


Figure 2 Drawing and assembly of the reverse mechanism for expanding roller.

7) กล่องควบคุม ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเครื่อง มีสวิตซ์สำหรับเปิดและปิด พร้อมหลอดไฟแสดงสถานะ 2 หลอด มีชุดแมกเนติคคอนแทคเตอร์และฟิวส์ติดตั้งอยู่ภายในกล่องควบคุม

การทดสอบหาอัตราการผลิตของเครื่องและประสิทธิภาพของเครื่องเปรียบเทียบกับแรงงานคน

หลังจากการสร้างและประกอบเครื่องเสร็จ (Figure 1 B) จากนั้นทำการทดสอบการทำงานของเครื่อง ปรับปรุง แก้ไข และจึงดำเนินการทดสอบเพื่อหาสมรรถนะเครื่อง ซึ่งประกอบไปด้วยการทดสอบเพื่อหาอัตราการผลิต ทำการเปรียบเทียบเครื่องกับแรงงานคน อัตราการสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า ตรวจสอบลักษณะของผิวละมุดที่ผ่านกระบวนการคัด โดยในการทดลองมีตัวแปรควบคุม คือ ละมุดที่นำมาทดสอบต้องเป็นละมุดที่สดไม่ช้ำเก็บเกี่ยวจากแหล่งผลิตเดียวกัน ทำการทดสอบละมุดครั้งละ 20 กิโลกรัมหรือ 1 ตะกร้า ขนาดที่ใช้สำหรับการซื้อขาย ส่วนในการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเปรียบเทียบกับแรงงานคนคัดจะใช้การเปรียบเทียบอัตราการผลิตที่การทำงานจำนวน 1 คน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ส่วนด้านค่าความผิดพลาดของเครื่องในการคัดขนาดเปรียบเทียบกับแรงงานคนคัดจะตรวจสอบโดยเกษตรกรผู้เชี่ยวชาญเพื่อหาค่าความผิดพลาดของเครื่องในการคัดขนาด

การประเมินประสิทธิภาพด้วยการตอบแบบประเมินความพึงพอใจและระยะเวลาในการคืนทุน

ในด้านการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องด้วยการตอบแบบประเมินความพึงพอใจใน 4 ด้าน ประกอบด้วย ด้านการออกแบบเครื่อง ด้านความปลอดภัย ด้านความสะดวกในการใช้งานและด้านผลผลิต ใช้เกณฑ์การให้คะแนนความคิดเห็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating scale) การวิเคราะห์ข้อมูลความคิดเห็น

ใช้มาตราวัดเจตคติแบบลิเคิร์ทสเกล (Likert scale) วิธีการคัดเลือกตัวอย่างใช้แบบเฉพาะเจาะจง (Purposive selection) กับเกษตรชาวสวนละมุด หมู่บ้านสวนละมุด ต.หนองไขว่ อ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์ จำนวน 39 ราย ด้านการหาระยะเวลาคืนทุนคือการหาช่วงเวลาที่รายรับมีค่าเท่ากับต้นทุนพอดีซึ่งมีหน่วยเป็นปี เปรียบเทียบที่อัตราการทำงาน 4 ชั่วโมงซึ่งเป็นช่วงเวลาบ่ายเท่านั้นเนื่องจากช่วงเวลาเช้าเกษตรกรจะทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตเตรียมไว้เพื่อการคัดแยก การคำนวณหาระยะเวลาคืนทุนหาได้จากสมการ ระยะเวลาคืนทุน = ต้นทุนคงที / ต้นทุนผันแปร (จิรรัตน์, 2552)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบเพื่อหาอัตราการผลิตของเครื่องและประสิทธิภาพของเครื่องเปรียบเทียบกับแรงงานคน

จากผลการทดลอง (Table 2) พบว่าอัตราการผลิตเฉลี่ยของเครื่องเท่ากับ 1.02 นาทีต่อ 20 กิโลกรัม หรือประมาณ 1,176 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ส่วนอัตราการผลิตแรงงานคนเท่ากับ 6.05 นาทีต่อ 20 กิโลกรัม เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องกับแรงงานคนที่การทำงาน 1 คนเท่ากัน จะพบว่าเครื่องมีอัตราการผลิตสูงกว่าแรงงานคนประมาณ 5.93 เท่า แต่จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าในการคัดละมุดด้วยเครื่องจะมีค่าความผิดพลาดของขนาดประมาณ 1.33 กิโลกรัมต่อ 20 กิโลกรัม และในด้านการตรวจสอบด้วยสายตาตามมาตรฐานสินค้าเกษตรไม่พบการเกิดรอยตำหนิหรือรอยปริแตกของละมุดที่ผ่านการคัดโดยเครื่อง ด้านผลการทดสอบการสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้าโดยการตรวจวัดด้วยคลิปแอมป์มิเตอร์และนำไปคำนวณอัตราการสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้า ใช้การคำนวณที่อัตราค่าไฟฟ้าในกิจการขนาดเล็กมีธุรกิจรวมกับบ้านอยู่อาศัย ขนาดมิเตอร์ 15 แอมแปร์ ที่ค่าไฟฟ้าอัตราปกติ หน่วยละ 3.9361 บาทต่อหน่วย พบว่าขณะเครื่องทำงานใช้กระแสไฟฟ้าเฉลี่ย 1.97 แอมแปร์ หรือ 0.43 หน่วยต่อชั่วโมง มีอัตราการสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้าเท่ากับ 1.71 บาทต่อชั่วโมง ซึ่งใกล้เคียงกับหม้อหุงข้าวความจุ 1 ลิตร ขนาด 400 วัตต์ หรือปั๊มน้ำอัตโนมัติขนาด 400 วัตต์ เป็นต้น

Table 2 Result summary of production rate and comparison between the machine and manual.

Test	Sapodilla sizing machine		Manual sorting	
	Production rate (min/20 kg)	Error (kg)	Production rate (min/20 kg)	Error (kg)
1	1.01	1.50	5.56	0
2	0.59	1.30	6.03	0
3	1.03	1.40	6.10	0
Average	1.02	1.33	6.05	0

ผลการประเมินประสิทธิภาพด้วยการตอบแบบประเมินความพึงพอใจและระยะเวลาในการคืนทุน

จากผลการประเมินความพึงพอใจเครื่องคัดแยกขนาดละมุดแบบเพลาหมุนวางคู่กับกลุ่มตัวอย่างเกษตรกรผู้ปลูกสวนละมุดในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยได้ดำเนินการลงพื้นที่ที่หมู่บ้านสวนละมุด หมู่ที่ 12 ตำบลหนองไขว่ อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ (Figure 3) เพื่อทำการทดสอบและประเมินความพึงพอใจกับเกษตรกรผู้ปลูกสวนละมุด จำนวน 39 ราย ผลการประเมินทั้ง 4 ด้าน พบว่า ด้านการออกแบบเครื่อง ด้านความปลอดภัย ด้านความสะดวกในการใช้งาน และด้านการผลิต มีผลการประเมินเท่ากับ 4.08, 4.15, 3.98 และ 3.94

ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในระดับดีทุกด้าน และมีผลการประเมินเฉลี่ยทั้งหมด 4 ด้าน มีค่าเท่ากับ 4.03 ซึ่งอยู่ในระดับดี มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.57 แสดงว่ามีความแตกต่างของข้อมูลอยู่ในระดับที่น่าพอใจ (Table 3) ส่วนด้านข้อเสนอแนะ ได้แก่ ควรลดความสูงของส่วนกระบะให้ต่ำลงเพื่อความสะดวกในการยกเทละมุด โครงสร้างเครื่องมีขนาดใหญ่ทำให้เคลื่อนย้ายไม่สะดวก และพื้นรองรับผลละมุดที่ผ่านการคัดลงมามีความสูงมากเกิน

Table 3 The satisfaction survey of the sapodilla orchards to the sapodilla sizing machine using expanding roller in Phetchabun province of Thailand.

Overall satisfaction	Question	Satisfaction scale ($\bar{x}$)	(S.D)
Design	Machine frame	3.90	0.72
	Motor transmission	4.36	0.54
	Expanding roller	4.10	0.45
	Hopper size	3.95	0.56
	Satisfaction level	4.08	0.57
Safety	Electricity	4.33	0.58
	Power mechanic	4.03	0.49
	Transmission	4.10	0.45
	Satisfaction level	4.15	0.50
Easy to use	Easy to control	4.31	0.57
	Easy to fill sapodillas to the hopper	3.62	0.78
	Easy to adjust mechanic	4.00	0.46
	Easy to moving the sizing machine	4.03	0.63
	Easy to moving the bug get	3.97	0.54
	Satisfaction level	3.98	0.59
Production rate	Enjoyable with accuracy to size	4.05	0.46
	Enjoyable with production rate	3.90	0.68
	Enjoyable with sapodilla defect (bruises and crack)	3.87	0.77
	Satisfaction level	3.94	0.63
	Overall satisfaction level	4.03	0.57

Figure 3 The satisfaction survey of sapodilla orchards.

ในด้านการวิเคราะห์ทางด้านเศรษฐศาสตร์เพื่อหาระยะเวลาในการคืนทุน พบว่าราคาของเครื่องคัดแยกขนาดละมุดที่สร้างขึ้นมีมูลค่าวัสดุรวมค่าแรงงานสร้างในราคา 20,000 บาท อัตราการผลิตเฉลี่ยของเครื่องเท่ากับ 4,705 กิโลกรัมต่อวัน ที่การทำงานช่วงเวลาบ่าย 4 ชั่วโมง ส่วนแรงงานคนก็จะมีอัตราการผลิตที่ 1 วัน จำนวน 4 ชั่วโมง เท่ากับ 793 กิโลกรัมต่อวัน หมายความว่าถ้าต้องการมีอัตราการผลิตเฉลี่ยของแรงงานคนเท่ากับเครื่องต้องมีการจ้างแรงงานคนที่ 5.93 คน หรือประมาณ 6 คน ดังนั้นกำไรสุทธิรวมกับต้นทุนค่าใช้จ่ายที่ประหยัดได้ 10,901 บาท เทียบกับเงินลงทุนในการซื้อเครื่อง 20,000 บาท กับค่าบำรุงรักษารายปีประมาณ 1,500 บาท อายุการใช้งานประมาณ 10 ปี มีมูลค่าซากประมาณ 2,000 บาท รวมทั้งหมด ดังนั้นระยะเวลาคืนทุนเท่ากับ 2.14 ปี (Table 4)

Table 3 The pay back period

	Sapodilla sizing machine	Manual sorting
Production rate	4,705 kg/day	4,705 kg/day
Wage	150 Baht/day	4,705 / 793 = 5.93 time
		5.93 x 150 = 889.71 Baht/day
Electricity charge	1.71 bath x 4 hr = 6.84 Baht/day	-
Total cost	156.84 Baht/day	889.71 Baht/day
Difference cost	889.71 - 156.84 = 732.87 Baht/day	
Total product	70,000 kg / year	
Cost reduction	(70,000/4,705) x 732.87 = 10,901.38 Baht/day	
Straight – Line method	(20,000 Baht – 2,000 Baht) / 10 year = 1,800 Baht/year	
Cost	20,000 Baht + 1,800 Baht/year + 1,500 Baht/year = 23,300 Baht	
Pay back period	23,300 / 10,901.38 = 2.14 year	

สรุปผลและเสนอแนะ

จากผลการออกแบบ สร้าง และประเมินสมรรถนะเครื่องคัดแยกขนาดละมุดแบบเพลาหมุนวางคู่ พบว่าเครื่องดังกล่าวสามารถใช้คัดแยกขนาดละมุดได้จริงตามสมมติฐานของงานวิจัย และมีอัตราการผลิตของเครื่องเท่ากับ 1.02 นาทีต่อ 20 กิโลกรัม หรือประมาณ 1,176 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ส่วนอัตราการผลิตแรงงานคนเท่ากับ 6.05 นาทีต่อ 20 กิโลกรัม หรือประมาณ 198.35 กิโลกรัมต่อชั่วโมง ซึ่งเครื่องจักรที่สร้างขึ้นจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าแรงงานคนประมาณ 5.93 เท่า แต่เครื่องยังเกิดความผิดพลาดในการคัดขนาดประมาณ 1.33 กิโลกรัมต่อ 20 กิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงควรมีการปรับปรุงพัฒนาเครื่องต่อไป ในด้านอัตราการสิ้นเปลืองพลังงานไฟฟ้าที่ต่ำประมาณ 1.71 บาทต่อชั่วโมง เพราะใช้มอเตอร์ขนาดเล็กที่ 0.5 hp ในด้านการตรวจสอบการเกิดรอยตำหนิของละมุดที่ผ่านการคัดโดยเกษตรกรผู้เชี่ยวชาญไม่พบรอยช้ำหรือรอบแตกซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานสินค้าเกษตร ด้านผลการประเมินความพึงพอใจกับเกษตรกรผู้ปลูกสวนละมุดใน 4 ด้าน ประกอบด้วย ด้านการออกแบบเครื่อง ด้านความปลอดภัย ด้านความสะดวกในการใช้งาน และด้านการผลิต ผลการประเมินอยู่ใน

ระดับดีมีความพึงพอใจในทุกด้าน มีระยะเวลาคืนทุนในการลงทุนซื้อเครื่องจักรเท่ากับ 2.14 ปี ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นเครื่องจักรมีอัตราการผลิตที่สูงและสามารถนำไปใช้งานในพื้นที่จริงได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2558. **รายงานข้อมูลการผลิตละมุด**. แหล่งข้อมูล:http://production.doae.go.th/report/report_main_land_02_A_new2.php?report_type=, 4 ตุลาคม 2559.

กระวี รีอำนรรค, ศิวลักษณ์ ปฐวีรัตน์, อนุพันธ์ เทิดวงศ์วรกุล, มนูศักดิ์ จานทอง. 2553. การทดสอบเครื่องคัดขนาดชมพู่แบบไร้ความเสียหาย. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 41(1), 585-588.

คุรุวรรณ์ ภามาตย์, พุทธธินันทร์ จารุวัฒน์, บัณฑิต จิตจำนง, สากล วิริยานันท์, รัชดา ปรัชเจริญวนิชย์, ณัฐสิทธิ์ อยู่เย็น, 2557. วิจัยและพัฒนาเครื่องคัดขนาดผลน้อยหน่า. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 45(3), 433-436.

จิรรัตน์ ธีระวราพฤกษ์. 2552. **เศรฐศาสตร์วิศวกรรม**. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ชลีดล อินยาศรี, สุชาติ แย้มเม้น, พีระศักดิ์ ฉายประสาท. 2554. การประมาณค่าน้ำหนักผลมะม่วงบนระบบการช่างน้ำหนักแบบพลวัตโดยใช้วงจรกรองมัฐยฐานปรับปรุง. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 41(3), 446-449.

ทรงศักดิ์ ลิขิตชีวัน. 2548. **เครื่องคัดขนาดอัตโนมัติแบบกระบอกคัดซ้อนกันหลายชั้น**. สิทธิบัตรไทย เลขที่ 23094.

เทวรัตน์ ตรีอำนรรค, อธิพรรณ ขันธเสน, กระวี รีอำนรรค. 2556. เครื่องคัดขนาดกลีบกระเทียม. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 44(3), 466-469.

นัสสรา มีอินทร์. 2557. **การพัฒนาเครื่องคัดแยกขนาดและผ่าผลหมากด้วยเทคนิควิศวกรรมคุณค่า**. วิทยานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต. กรุงเทพมหานคร: บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

บรรลุ เพียชิน, สุพรรณ ยั่งยืน, จักรมาส เลาหวณิช. 2556. ปัจจัยที่ส่งผลต่อการคัดแยกลูกเดือยหลังการกระเทาะและทำความสะอาดแบบตะแกรงทรงกระบอกหมุน. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 42(3), 497-500.

บัณฑิต จริโมภาส, ดลหทัย ราชนุเคราะห์. 2555. เครื่องคัดขนาดผลฝรั่ง. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 33(6), 49-53.

ภัทรชัย วิชัยยะ. 2554. การออกแบบเครื่องต้นแบบเครื่องคัดพุทราพันธ์น้ำนม. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 42(3), 497-500.

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี .2555. เครื่องคัดแยกผลละมุด มรภ.เทพสตรี จ ลพบุรี. แหล่งข้อมูล: http://youtube.com/watch?v=cyxUize4QnY, 4 ตุลาคม 2559.

วรรยา สุธรรมชัย. 2546. **ผลของอายุเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวต่อคุณภาพผลละมุด**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพมหานคร: บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2554. **มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 19-2554 ละมุด**. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อารีรัตน์ พระเพชร, สุนัดดา เชาวลิต, วิภาวรรณ ดวนมีสุข, อรณิชชา สุวรรณโฉม, ชัยณรงค์ จันทร์แสนตอ. 2558. **วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตละมุดเชิงพาณิชย์ในภาคเหนือตอนล่าง**. สุโขทัย: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุโขทัย กรมวิชาการเกษตร.

การวิเคราะห์ตำแหน่งที่เหมาะสมของการยึดจับโครงสร้างด้วยน็อตคู่ที่วางขนานและเยื้องกันโดยมีแรงกระทำไม่ผ่านศูนย์กลาง

Analysis on Optimal Location of Double-Bolted Joint with Parallel Misalignment Subjected to Eccentric Load

ณรงค์กร กระจ่างสวัสดิ์[1*] และ พัชราภรณ์ บุณยวานิชกุล[1]

Narongkorn Krajangsawasdi[1*] and Phacharaporn Bunyawanichakul[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการวิเคราะห์หาขนาดและทิศทางของแรงที่จุดจับยึดแบบใช้น็อตสองตัวที่วางเยื้องกัน การจับยึดดังกล่าวเป็นรูปแบบที่ได้รับการกำหนดโดยบริษัท เจฟอกซ์ แอร์คราฟท์ จำกัด สำหรับเครื่องบินรุ่น JFOX JX-200RG Sport Thunder ที่ต้องการให้เป็นเครื่องบินที่สามารถถอดและประกอบชิ้นส่วนอย่างสะดวกแต่ยังมีความแข็งแรงเพียงพอต่อการใช้งาน การศึกษาใช้วิธีการคลาสสิกในการสร้างสมการแรงที่เกิดขึ้นที่รูเจาะทั้งสองโดยโปรแกรม MATLAB โดยปรับเปลี่ยนระยะห่างของน็อตทั้งสองในแนวระดับและแนวดิ่งเมื่อรูปแบบของการยึดจับเป็นแบบน็อตคู่ โดยกำหนดขนาดชิ้นงานและภาระกรรมให้มีค่าคงที่เพื่อศึกษาหาตำแหน่งที่เหมาะสมในการเจาะรูสำหรับจุดยึด ผลการศึกษาพบว่า ยิ่งเพิ่มระยะห่างของรูเจาะค่าภาระกรรมที่เกิดขึ้นยิ่งลดลง ยิ่งกว่านั้นการวางรูเจาะโดยให้ตำแหน่งของรูเจาะด้านไกลภาระกรรมอยู่สูงกว่าด้านใกล้นั้นสามารถลดความเสี่ยงในการสร้างความเสียหายให้กับโครงสร้างทั้งหมดได้ ผลที่ได้รับนี้จะสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาวิเคราะห์ความแข็งแรงของแกนปีกในลำดับต่อไป

ABSTRACT

This research aimed to analyze both magnitude and direction of force acting on the joint which is double-bolted with parallel misalignment. It is defined by JFox Aircraft Co., Ltd. for the airplane type JFOX JX-200RG Sport Thunder which desires to be disassemble conveniently and structurally safe. This study used a classical method based on torsional resistance of bolt group theory to derive a force equation by written code in the MATLAB program. In the code, both horizontal and vertical spacing of the bolts were adjusted, both magnitude and direction of forces were calculated to determine the optimal location for the drilling hole of the bolts. The results presented the longer between two bolts, the less resultant force applied to the holes. Moreover it was indicated that the bolt located far away from the load was put be at a higher level than the bolt located close to the load leading to reduce the risk generated by the overall structural failure. The strength of the wing spar will be studied based on the information obtained in this paper.

Key words: catastrophic failure mode, eccentric bolt holes, torsional resistance theory, wing spar

*Corresponding author; e-mail address: **narongkorn.k@ku.th**

[1]ภาควิชาวิศวกรรมการบินและอวกาศ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Aerospace Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok, 10900

คำนำ

บริเวณจุดจับยึดของปีกโดยทั่วไปต้องทำการเจาะรูและต้องรับภาระกรรมส่วนใหญ่ที่เกิดกับปีก นั่นจะทำให้เกิดความเข้มข้นของความเค้น (stress concentration) รอบ ๆ รูเจาะสูงกว่าการใช้งานในกรณีที่ไม่มีการเจาะรูส่งผลให้ความแข็งแรงโดยรวมลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นที่ไม่มีการเจาะรู (Collings, 1997; Feo *et al.*, 2012) บริษัทเจฟอกซ์ แอร์คราฟท์ จำกัด ซึ่งกำลังออกแบบเครื่องบิน รุ่น JX-200 RG SPORT THUNDER (Figure 1) ซึ่งเป็นเครื่องบินขนาดสองที่นั่ง จึงมีแนวคิดในการการออกแบบจุดจับยึดระหว่างแกนปีกหลัก (main front spar) ทั้งสองข้างกับแกนปีกส่วนกลาง (central spar) โดยจะลดจำนวนรูที่จะต้องเจาะโดยมีแนวคิดในการใช้น็อตขนาดใหญ่เพียง 2 ตัวทำการเจาะเยื้องกันเพื่อรองรับแรงยกและโมเมนต์ดัดที่กระทำต่อแกนปีก ทั้งนี้เพื่อความสะดวกต่อการถอดประกอบปีกของเครื่องบินที่ต้องทำการขนย้ายเป็นประจำ

Figure 1 JX-200 RG SPORT THUNDER and its main front spar

จากการศึกษาพบว่าการจับยึดแบบไม่ถาวร (non-permanent joint) โดยใช้สลักเกลียว สกรู หรือน็อตตัวผู้ (bolt) และน็อตตัวเมีย (nut) มีความเหมาะสมกับชิ้นส่วนที่ต้องทำการถอดประกอบบ่อยครั้ง นอกจากนี้การจับยึดโดยใช้น็อตนั้นไม่ต้องการเครื่องมือพิเศษใด ๆ ในการทำงานจึงทำให้การถอดประกอบนั้นมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำ (Babu *et al.*, 2013) การประกอบแผ่นวัสดุคอมโพสิทเข้าด้วยกันโดยใช้น็อตนั้นจะต้องทำการเจาะรูเพื่อใส่น็อต ซึ่งรูปแบบความเสียหายจากภาระกรรมที่เกิดจากน็อตสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 รูปแบบหลัก ๆ (Figure 2) คือ แบบกดอัด (bearing), แบบฉีกขาด (shear out) และแบบดึงขาด (net-tension) (Figure 1) ซึ่งความเสียหายสองแบบหลังได้แก่ แบบฉีกขาดและดึงขาดนั้นเป็นความเสียหายที่ร้ายแรง (catastrophic failure) มีผลให้ชิ้นส่วนไม่สามารถใช้งานต่อไปได้ แต่ปัจจัยหลักที่จะสามารถป้องกันไม่ให้เกิดความเสียหายดังกล่าวได้ คือ ทำการปรับขนาดของชิ้นงาน โดยเมื่อเมื่ออัตราส่วนระหว่างความกว้างต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูเจาะ (w/d) เป็น 4 จะช่วยทำให้ความเสียหายเปลี่ยนจากแบบดึงขาดไปเป็นแบบกดอัด และเมื่ออัตราส่วนระหว่างระยะขอบต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูเจาะ (e/d) เป็น 4 จะช่วยเปลี่ยนรูปแบบความเสียหายจากแบบฉีกขาดไปเป็นแบบกดอัด (Ekh, 2006)

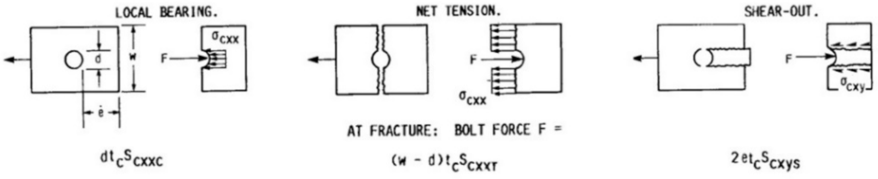


Figure 2 Type of failure mode in plate supporting bearing load

Source: Chamis (1998)

ในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาตำแหน่งของการจับยึดแกนปีกด้วยน็อต 2 ตัวที่เจาะแบบเจาะรูคู่เยื้องศูนย์โดยจะทำการจำลองการทดลองในลักษณะของแผ่นบาง (Figure 3) ที่ถูกแรงกระทำจากโมเมนต์ดัดในรูปแบบของแรงกดที่ปลายแผ่นบางข้างหนึ่งที่มีระยะห่างจากจุดจับยึด แล้วทำการเปลี่ยนตำแหน่งของรูเจาะบนแผ่นทั้งระยะในแนวระดับ (X) และแนวดิ่ง (Y) ระหว่างรูเจาะทั้งสอง เพื่อหาตำแหน่งการจับยึดที่ทำให้เกิดแรงลัพธ์ที่จุดจับยึดทั้งสอง

มีขนาดน้อยที่สุด รวมทั้งยังมีทิศทางของแรงลัพธ์ที่ทำให้การจับยึดแบบนี้ไม่เกิดความเสียหายแบบร้ายแรงกับชิ้นงานคือทิศของแรงไม่พุ่งออกสู่ขอบ โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์เพื่อทำการคำนวณแรงลัพธ์ที่เกิดขึ้นในรูปของแรงที่เกิดที่รูเจาะต่อแรงกระทำเพื่อให้อยู่ในรูปของตัวแปรไร้หน่วย ร่วมกับการสังเกตทิศทางของแรงไปพร้อมกัน

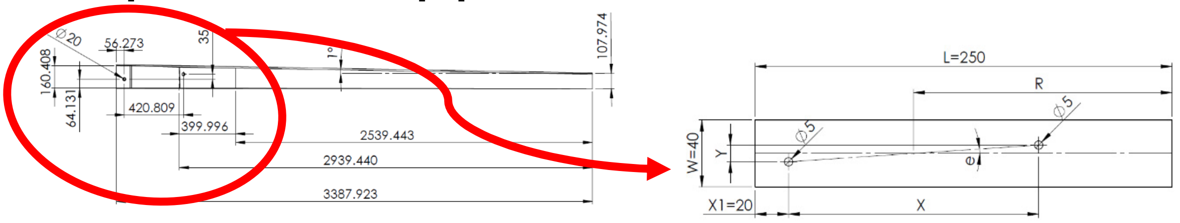


Figure 3 Full scale and scale down specimen (in mm)

อุปกรณ์และวิธีการ

การคำนวณแรงที่เกิดจากแรงกระทำด้านข้างที่ปลายด้านหนึ่งของแผ่น

จากทฤษฎีของ Torsional resistance of bolt group (Figure 4) ซึ่งเป็นการคำนวณแรงที่กระทำต่อกลุ่มน็อตซึ่งเกิดจากแรงที่ทำให้มีโมเมนต์ดัดเกิดขึ้นในชิ้นงานที่มีลักษณะแผ่น โดยจะแบ่งภาระกรรมที่เกิดออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

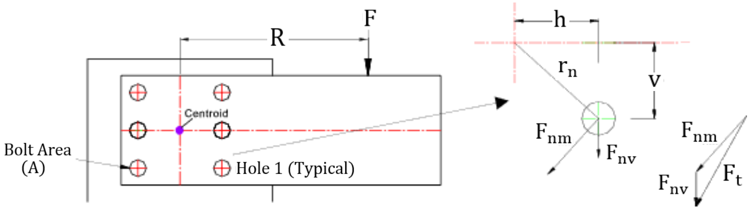


Figure 4 Force calculation of bolts withstanding torsion generated shear loading

Source: Roymech (pseud.) (2013)

1. แรงเฉือนเฉลี่ยจากแรงที่กระทำต่อแผ่นในแนวดิ่ง (F_{nv}) จะมีทิศในแนวดิ่ง สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 1

$$F_{nv} = \frac{F}{No.Bolt} \qquad (1)$$

เมื่อ F คือ แรงกดด้านข้าง

$No.\ bolt$ คือ จำนวนของน็อตในแผ่น

2. แรงที่เกิดจากโมเมนต์ดัด (F_{nm}) เนื่องจากแรงกระทำห่างจากจุดรวมของน็อต มีทิศทางตามกฎมือขวา สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2)

$$F_{nm} = \frac{F \times R \times r_n}{\sum r_n^2} \qquad (2)$$

เมื่อ R คือ ระยะห่างจากจุดที่แรงกระทำถึงจุดศูนย์กลางของตำแหน่งรูเจาะทั้งหมด

r_n คือ ระยะจากศูนย์กลางของตำแหน่งรูเจาะทั้งหมดถึงจุดของ Bolt แต่ละตัว

ขั้นตอนการศึกษา

การศึกษาเริ่มต้นโดยการกำหนดให้ชิ้นงานมีลักษณะเป็นแผ่นบาง โดยจะทำการย่อส่วนจากขนาดบริเวณที่มีการจับยึดของ Web แกนปีกจริงลงมา ¼ ซึ่งจะทำให้ได้ขนาดตาม Figure 3 โดยแผ่นขนาดกว้าง 40 มิลลิเมตร และยาว 250 มิลลิเมตร ส่วนรูเจาะทั้งสองเมื่อทำการย่อส่วนลงมาจะมีขนาด 5 มิลลิเมตร ทั้งหมดเป็น

ขนาดของชิ้นงานเริ่มต้นในการคำนวณ นอกจากนี้ยังได้กำหนดระยะห่างของรูที่อยู่ด้านในกับขอบด้านในให้เท่ากับ 20 มิลลิเมตร หรือ 4 เท่าของเส้นผ่านศูนย์กลางตามหลักของการเกิดความเสียหายแบบร้ายแรง ส่วนภาระกรรมที่เกิดกับชิ้นงานจะกำหนดให้เป็นแรงกดทิศลงขนาด 1 นิวตัน (ภาระกรรมขนาด 1 หน่วย) ที่ปลายด้านที่ไม่มีการจับยึดเพื่อสร้างโมเมนต์ดัดให้ชิ้นงาน ทั้งนี้การคำนวณจากทฤษฎี Torsional resistance of bolt group นั้นไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงความหนาและวัสดุที่ใช้ในการทดลอง เพียงแต่เป็นการคำนวณแรงที่เกิดขึ้นกับรูเจาะทั้งขนาดและทิศทาง

การคำนวณแรงทำกระทำต่อแผ่นที่มีการเจาะรูคู่เยื้องศูนย์

เมื่อคำนวณแรงทั้งสองส่วนตามวิธีข้างต้นแล้วนำแรงที่ได้มารวมกันโดยใช้วิธีแบบเวกเตอร์เพื่อหาขนาดของแรงลัพธ์และทิศทางที่กระทำต่อรูเจาะ เมื่อเปลี่ยนตำแหน่งของรูโดยการขยับระยะห่างในแนวระดับ (*X*) และระยะห่างในแนวดิ่ง (*Y*) จะได้แรงที่กระทำกับน็อตที่รูทั้งสองเป็นดัง Figure 4

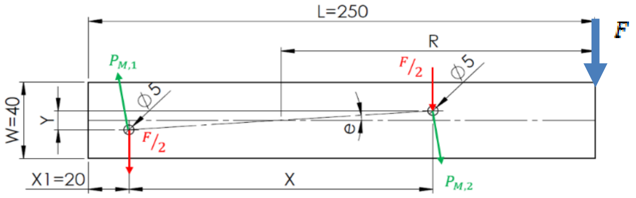


Figure 5 Force acting on bolts

จากชิ้นงานที่มีน็อต 2 ตัวเจาะเยื้องกัน (Figure 5) จะได้ว่าแรงเฉือนกระทำที่น็อตในแนวดิ่ง (F_v) สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$F_v = \frac{F}{2} \tag{3}$$

และแรงเนื่องจากโมเมนต์ดัด (P_M) ของทั้งสองรูที่กระทำต่อน็อตทั้งสองมีขนาดเท่ากันเนื่องจากระยะห่างเท่ากันและมีเพียง 2 ตัว แต่แรงทั้งสองกระทำในทิศตรงข้ามกันดังแสดงใน Figure 4 เขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$P_M = \frac{F}{2}\left[\frac{\left(L - X_1 - \frac{X}{2}\right)}{\sqrt{\frac{X^2}{2} + \frac{Y^2}{2}}}\right] \tag{4}$$

เมื่อ	L	คือ	ความยาวของชิ้นงาน
	X_1	คือ	ระยะห่างเริ่มต้น (เมื่อกำหนดให้อัตราส่วน e/d =4)
	X	คือ	ระยะห่างของรูทั้งสองในแนวระดับ
	Y	คือ	ระยะห่างของรูทั้งสองในแนวดิ่ง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สมการแรงลัพธ์ที่เกิดขึ้น

จากการแทนค่าในสมการที่ (3) และสมการที่ (4) แล้วทำการรวมแรงลัพธ์ที่กระทำต่อน็อตด้วยวิธีแบบเวกเตอร์หรือการคำนึงถึงทั้งขนาดและทิศทางของแรงที่กระทำ จะได้แรงลัพธ์ของน็อตตัวที่ 1 ต่อแรงกดที่กระทำ (P_1/F) เป็นดังสมการที่ (5) และแรงลัพธ์ของน็อตตัวที่ 2 ต่อแรงกดที่กระทำ (P_2/F) ดังสมการที่ (6)

$$\frac{P_1}{F}=\sqrt{\left\{\left[\frac{L-X_1-\frac{X}{2}}{\sqrt{X^2+Y^2}}\right]\sin\left(\tan^{-1}\frac{Y}{X}\right)\right\}^2+\left\{\left[\left[\frac{L-X_1-\frac{X}{2}}{\sqrt{X^2+Y^2}}\right]\cos\left(\tan^{-1}\frac{Y}{X}\right)\right]-\frac{1}{2}\right\}^2} \quad (5)$$

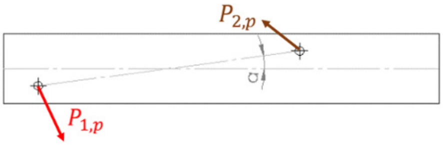
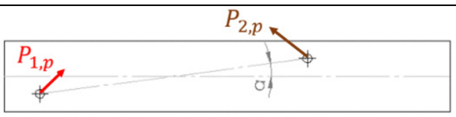
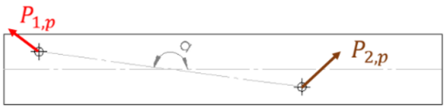
$$\frac{P_2}{F}=\sqrt{\left\{\left[\frac{L-X_1-\frac{X}{2}}{\sqrt{X^2+Y^2}}\right]\sin\left(\tan^{-1}\frac{Y}{X}\right)\right\}^2+\left\{\left[\left[\frac{L-X_1-\frac{X}{2}}{\sqrt{X^2+Y^2}}\right]\cos\left(\tan^{-1}\frac{Y}{X}\right)\right]+\frac{1}{2}\right\}^2} \quad (6)$$

ซึ่งแรงของน็อตตัวที่สองจะมีความแตกต่างจากตัวแรก คือ พจน์หลังจะไม่มีทางลดลงเนื่องจากเป็นการบวกค่า ½ เข้าไปเพิ่ม และจะเห็นว่าแรงที่กระทำที่น็อตไม่ว่าตัวที่ 1 หรือ 2 จะขึ้นอยู่กับตัวแปร 4 ตัว คือ ความยาวชิ้นงาน (*L*) หรือระยะแขนของโมเมนต์, ระยะขอบเริ่มต้น (X_1), ระยะห่างของรูเจาะในแนวระดับ (*X*) รวมทั้งระยะห่างของรูเจาะในแนวดิ่ง (*Y*) ซึ่งตัวแปรที่น่าจะมีผลต่อชิ้นงานมากที่สุดคือ ระยะแนวระดับ (*X*)

ลักษณะของแรงที่เกิดจากน็อตกระทำต่อรู

เมื่อพิจารณาโอกาสที่จะเกิดแรงกระทำต่อน็อตตัวที่ 1 จากสมการที่ (5) และตัวที่ 2 จากสมการที่ (6) จึงเกิดรูปแบบแรงลัพธ์ 4 ลักษณะ ขึ้นอยู่กับรูปแบบการวางรูเยื้องที่ต่างกันและระยะห่างของรูทั้งสอง โดยในที่นี้จะกำหนดให้ รูปแบบการวางรูเยื้องกัน (Pattern) มี 2 รูปแบบคือ แบบ A และ แบบ B ซึ่งการวางแบบ A คือ วางให้รูทั้งสองทำมุมแหลมกับแกนนอน หรือรูที่อยู่ใกล้ขอบที่ไม่ถูกแรงกระทำอยู่ด้านล่างและรูที่ 2 อยู่เหนือกว่า ส่วนในแบบ B นั้นวางตรงข้ามคือรูที่ 1 จะวางอยู่ด้านบน และในการวางทั้งสองจะแบ่งออกเป็นอีก 2 กรณีตามสมการที่ (5) และ (6) ซึ่งจะมีโอกาสที่จะเกิดขึ้นได้จากสมการข้างต้น ทำให้สามารถหาขนาดและทิศทางของแรงปฏิกิริยาที่ Bolt กระทำต่อแผ่นได้คือ แรงในทิศตรงข้ามของแรงที่กระทำต่อน็อต ซึ่งสามารถสรุปได้ดัง Table 1

Table 1 Directions of resultant force acting on plate holes

Pattern	Condition	Resultant force direction at bolt	Direction P1	Direction P2
A	(1) K>0.5		To lower edge	To upper edge
	(2) K<0.5		In plate	To upper edge
B	(1) K>0.5		To side edge	In plate
	(2) K<0.5		To upper/side edge	In plate

โดยจะกำหนดให้ตัวแปร *K* คือ พจน์ของระยะห่าง มีค่าตามสมการที่ (6)

$$K = \left[\left[\frac{L - X_1 - \frac{X}{2}}{\sqrt{X^2 + Y^2}} \right] \cos\left(\tan^{-1} \frac{Y}{X} \right) \right] \quad (6)$$

เมื่อ $P_{1,P}$ คือ แรงที่น็อตตัวที่ 1 กระทำกับแผ่นบริเวณรูที่ 1

$P_{2,P}$ คือ แรงที่น็อตตัวที่ 2 กระทำกับแผ่นบริเวณรูที่ 2

จาก Table 1 เมื่อเริ่มพิจารณาเฉพาะทิศทางของแรงที่เกิดขึ้นกับรูที่ 2 พบว่า การวางแบบ B จะทำให้มีความปลอดภัยสูงกว่าแบบ A เนื่องจากแรงพุ่งเข้าสู่ภายในชิ้นงานที่มีเนื้อมากกว่าแบบ A เมื่อพิจารณาแบบ B ในเงื่อนไขที่ 1 และ 2 ที่เกิดความแตกต่างกันเนื่องจากระยะห่างของรูเจาะพบว่าแรงทั้งสองพุ่งเข้าสู่ขอบ แต่เงื่อนไขที่ 1 นั้นแรงจะมีทิศพุ่งลงจากรูที่อยู่ด้านบน ทำให้ระยะห่างไปถึงขอบล่างมีมากกว่า ทำให้เกิดความเสียหายได้ยากกว่าเงื่อนไขที่ 2

แรงที่กระทำที่ต่อรูเจาะ

Table 2 Resultant force and edge distance parallel to its resultant force

X (m)	Y (m)	Pattern A						Pattern B					
		abs P1 (N)	server dis. (m)	P1/s	result P2 (N)	server dis. (m)	P2/s	abs P1 (N)	server dis. (m)	P1/s	result P2 (N)	server dis. (m)	P2/s
0.05	0	3.6	0.02	180	4.6	0.02	230	3.6	0.02	180	4.6	0.02	230
0.1	0	1.3	0.02	65	2.3	0.02	115	1.3	0.02	65	2.3	0.02	115
0.15	0	0.533	0.02	26.65	1.53	0.02	76.65	0.533	0.02	26.65	1.53	0.02	76.65
0.2	0	0.15	0.02	7.5	1.15	0.02	57.5	0.15	0.02	7.5	1.15	0.02	57.5
0.05	0.005	3.583	0.0176	203.6	4.577	0.0176	260.08	3.58	0.0226	158.52	4.577	0.0226	202.54
0.1	0.005	1.299	0.0175	74.2	2.297	0.0175	131.27	1.30	0.0226	57.460	2.297	0.0225	102.10
0.15	0.005	0.533	0.0175	30.5	1.533	0.0175	87.577	0.53	0.0225	23.702	1.533	0.0225	68.116
0.2	0.005	0.151	0.0176	8.551	1.150	0.0175	65.697	0.15	0.0226	6.659	1.150	0.0225	51.098
0.05	0.01	3.532	0.0154	229.3	4.51	0.0152	296.8	3.532	0.0256	137.9	4.51	0.0254	177.6
0.1	0.01	1.295	0.0151	85.73	2.29	0.0150	152.6	1.295	0.0252	51.37	2.29	0.0251	91.2
0.15	0.01	0.533	0.0151	35.31	1.53	0.0150	102	0.533	0.0252	21.16	1.53	0.025	61.21
0.2	0.01	0.152	0.0154	9.864	1.15	0.0150	76.59	0.152	0.0256	5.934	1.15	0.025	45.95
0.05	0.015	3.451	0.0132	261.5	4.41	0.013	341.7	3.451	0.0291	118.6	4.41	0.0284	155.2
0.1	0.015	1.288	0.0128	100.6	2.28	0.013	180.6	1.288	0.0281	45.83	2.28	0.0277	82.16
0.15	0.015	0.533	0.0127	41.97	1.53	0.013	122.1	0.533	0.028	19.04	1.53	0.0276	55.31
0.2	0.015	0.154	0.0132	11.68	1.15	0.013	91.79	0.154	0.029	5.317	1.15	0.0275	41.72
0.05	0.02	3.348	0.011	304.3	4.28	0.0106	403.3	3.348	0.0331	101.1	4.28	0.0318	134.4
0.1	0.02	1.279	0.01	122.9	2.26	0.0101	223.5	1.279	0.0312	40.98	2.26	0.0304	74.26
0.15	0.02	0.533	0.01	51.73	1.52	0.0100	152.1	0.533	0.031	17.19	1.52	0.0301	50.54
0.2	0.02	0.157	0.011	14.3	1.15	0.0100	114.5	0.157	0.0329	4.781	1.15	0.03	38.18

เนื่องจากการศึกษาต้องการผลการวิเคราะห์ที่มีความต่อเนื่องจึงใช้การคำนวณโดยการเขียนโปรแกรมคำนวณใน MATLAB เพื่อช่วยในการคำนวณค่าแรงลัพธ์ที่กระทำต่อรูที่ 1 และ 2 (result P1 และ result P2 ตามลำดับ) ซึ่งเป็นการคำนวณเมื่อถูกแรง 1 หน่วยกระทำที่ปลาย และมุมที่แรงลัพธ์กระทำกับแกน X โดยต้องคำนึงถึงทิศทางที่แรงกระทำต่อรูในแต่ละรูแบบที่มีความแตกต่างกัน เพื่อทำการหาค่าระยะห่างจากขอบที่ใกล้ที่สุดตามทิศที่แรงลัพธ์กระทำ (severe dis.) ซึ่งจะเป็นค่าที่บอกถึงความปลอดภัยของชิ้นงานตามนิยามของความเสียหายแบบ Shear-out ที่จะเกิดขึ้น ในที่นี้จะนำเสนอในรูปของแรงต่อระยะห่างจากขอบ (P1/s และ P2/s) เพื่อให้ตัวแปรทั้งสองมีผลต่อกัน โดยที่ค่าของ P/s ยิ่งมีค่าน้อย แสดงว่าชิ้นงานถูกแรงกระทำน้อยในขณะที่ระยะห่างจากขอบมีมาก แสดงถึงความปลอดภัยของชิ้นงาน

จาก Table 2 จะเห็นว่า ระยะห่างของรูที่มากขึ้นจะทำให้แรงลัพธ์ยิ่งมีขนาดลดลง แต่ค่า Severe dis. ของการวางแบบที่ 1 ก็จะลดลง ซึ่งหมายถึงมีความเสี่ยงที่จะเกิดความเสียหาย ส่วนแบบ B นั้นค่า Severe dis. จะเพิ่มขึ้น ซึ่งจะลดโอกาสเสียหายแบบร้ายแรงได้

เมื่อพิจารณาระยะในแนวระดับ (X) ที่เพิ่มขึ้นพบว่าจะทำให้ค่า P1/s และ P2/s มีค่าลดลงเมื่อพลอตกราฟจะได้ดัง Figure 6 ซึ่งเลือกข้อมูลบางชุดมาทำการพลอต ซึ่งลักษณะกราฟจะไปในทิศทางเดียวกันคือจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อค่าระยะห่างแนวระดับเพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มจะลู่เข้าค่าใดค่าหนึ่งเมื่อระยะมากพอ

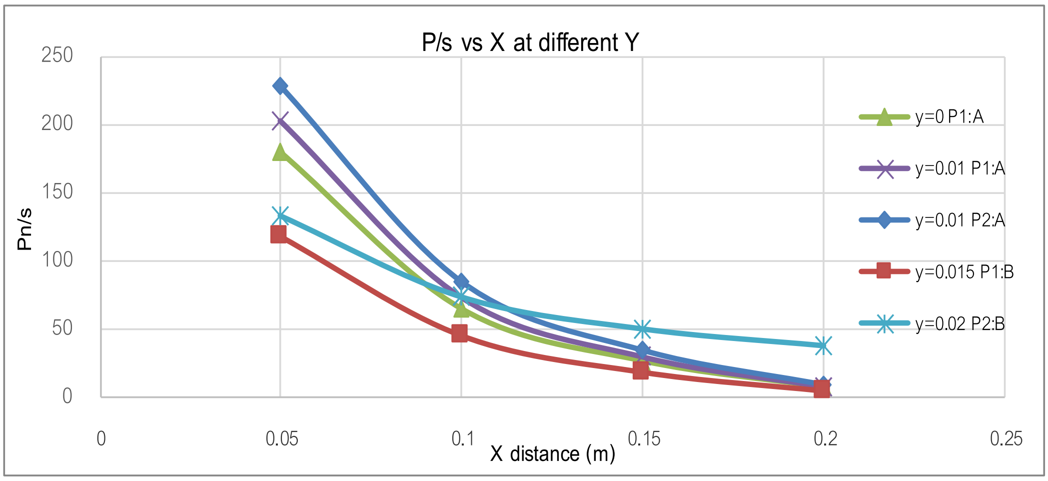


Figure 6 Resultant force versus horizontal distance at different vertical distance

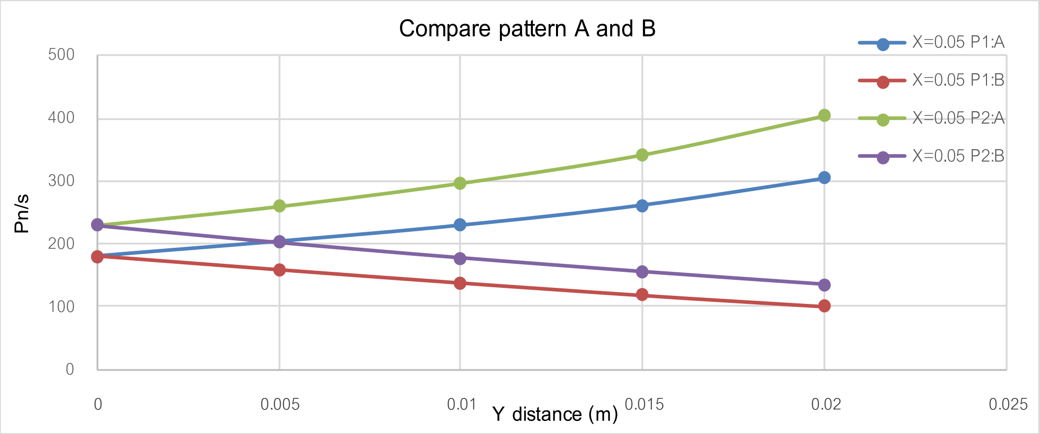


Figure 7 Comparison of P/s in pattern A and B versus different horizontal distance

ในแง่ของการเยื้องกันของรู เมื่อให้ระยะห่างในแนวระดับคงที่แล้วสังเกตผลของค่า P/s เมื่อระยะในแนวดิ่ง (Y) เปลี่ยนไปจะพบว่า การวางรูเยื้องกันแบบ A จะทำให้ค่า P/s ทั้งรูที่ 1 และ 2 เพิ่มขึ้น ตรงข้ามกับแบบ B ที่จะทำให้ค่า P/s ลดลงทั้งรูที่ 1 และ 2 ซึ่งจาก Figure 7 เนื่องจากการวางแบบ B ทำให้ค่า Severe dis. ของชิ้นงานเพิ่มขึ้นเพราะแรงลัพธ์จะกระทำในทิศพุ่งเข้าสู่ด้านในชิ้นงานมากกว่าแบบ A

สรุป

จากการศึกษาผลของระยะห่างของรูทั้งแนวระดับและแนวดิ่งเพื่อรองรับภาระกรรมแบบโมเมนต์ดัด โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์และการเขียนโปรแกรมเพื่อคำนวณทั้งขนาดและทิศทางของแรงลัพธ์ พบว่านอกจากระยะห่างของรูที่ยิ่งห่างกันมากจะทำให้แรงลัพธ์ที่กระทำต่อรูน้อยลงแล้ว ก็ยังต้องคำนึงถึงรูปแบบการวางรูที่ถูกต้องด้วย โดยการวางรูแบบให้รูที่อยู่ด้านในอยู่สูงกว่าด้านนอกจะทำให้ได้ชิ้นงานที่มีความปลอดภัยต่อภาระกรรมแบบโมเมนต์ดัดมากที่สุด ซึ่งวัดได้จากรูปแบบความเสียหายที่จะมีโอกาสเกิดความเสียหายแบบร้ายแรงต่อชิ้นงานน้อย เนื่องจากทิศทางของแรงมีแนวโน้มพุ่งเข้าสู่ด้านในของชิ้นงานที่มีพื้นที่มากกว่าบริเวณขอบ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัท เจฟอกซ์ แอร์คราฟท์ จำกัด (JFox Aircraft Co., Ltd.) ที่ให้ข้อมูล รูปแบบและคำปรึกษาในการออกแบบจุดจับยึดของปีก

เอกสารอ้างอิง

Babu, V. S., C. T. Sasanka and K. Ravindra. 2013. Failure and stress analysis of glass fiber reinforced laminated composite pinned joints. **The International Journal of Advanced Design and Manufacturing Technology** 6: 13 – 19.

Chamis, C. C. 1998. Simplified procedures for designing composite bolted joints, **NASA Technical Memorandum 100281**. 15.

Collings, T. A. 1977. **The strength of bolted joint in multi-directional CFRP laminates (C.P. No.1380).** Her Majesty's stationary office, London.

Ekh, J. 2006. **Multi-fastener single-lap joints in composite structures**. Ph.D. Thesis, Royal Institute of Technology.

Feo, L., G. Marra, and A. S. Mosallam. 2012. Stress analysis of multi-bolted joints for FRP pultruded composite structures. **Composite Structures** 94: 3781–3792.

Restivo, G., G. Marannano, and G. A. Isaicu. 2009. Three-dimensional strain analysis of single-lap bolted joints in thick composites using fiber-optic gauges and the finite-element method. **Journal of Strain Analysis** 45: 523-534.

Roymech (pseud.). 2013. **Strength of bolts withstanding torsion generated shear loading**. Available Source: http://www.roymech.co.uk/Useful_Tables/Screws/Bolted_Joint.html, October 11, 2016.

การใช้จักรยานในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน

The Use of Bicycles in The Kasetsart University Bangkhen Campus

จุฑาลักษณ์ ชายศักดิ์[1*] และ ปิยนุช เวทย์วิวรณ์[1]

Jutaluck Chaysuk[1*] and Piyanut Wethyavivorn

บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณใช้จักรยานของนิสิตและบุคลากรในมหาวิทยาลัย และปริมาณการใช้ทางเลือกต่างๆด้วยวิธีการเก็บข้อมูลจากการบันทึกสถิติการใช้จักรยานของมหาวิทยาลัย การเก็บข้อมูลการใช้พาหนะต่างๆในช่วงเวลาเร่งด่วน สัมภาษณ์นิสิตและบุคลากรในมหาวิทยาลัย จากการศึกษาพบว่ามีการยืมจักรยานของนิสิตในหอพัก 328 คัน จากทั้งหมด 384 คัน ชำรุด 49 คัน ไม่ถูกยืม 7 คัน นิสิตและบุคลากรที่เข้ามาในมหาวิทยาลัยมีการยืมจักรยานจำนวน 233 คัน จากทั้งหมด 420 คัน ชำรุด 102 คัน ไม่ถูกยืม 85 คัน ปริมาณการใช้ทางเลือกต่างๆคิดเป็นรถสวัสดิการ มก. 25.22% มอเตอร์ไซค์รับจ้าง 30.28% จักรยาน 2.61% และ เดิน 41.89% และจากสัมภาษณ์นิสิตและบุคลากรที่เข้ามาให้มหาวิทยาลัยพบว่า นิสิตหอพักใช้จักรยาน และรถสวัสดิการ มก.เป็นหลัก นิสิตหอพักชายใช้การเดินและจักรยาน นิสิตหอพักซอยพหลโยธิน45ใช้รถสวัสดิการ มก.เป็นหลัก นิสิตและบุคลากรที่พักนอกมหาวิทยาลัยใช้การเดิน มอเตอร์ไซค์รับจ้าง และรถสวัสดิการ มก.ตามลับดับ จากการสัมภาษณ์ถึงเหตุผลที่ไม่ใช้จักรยาน พบว่า ผู้ที่เลือกวิธีการเดินเนื่องจากจุดหมายไม่ได้ไกลมากสามารถเดินไปถึงได้ ผู้ที่ใช้มอเตอร์ไซค์รับจ้างเนื่องจากรถสวัสดิการ มก.ไม่ปริมาณไม่เพียงพอต่อจำนวนผู้ใช้จึงใช้มอเตอร์ไซค์รับจ้างที่สะดวก รวดเร็วกว่า นิสิตและบุคลากรที่ใช้รถสวัสดิการ มก.เพราะเห็นว่าสะดวก และเหตุผลที่ไม่ใช้จักรยาน พบว่ากังวลเรื่องความปลอดภัยเนื่องจากเห็นว่ามีมอเตอร์ไซค์เข้าไปใช้ทางจักรยานและขับด้วยความเร็ว บางส่วนก็คิดว่ามีความยุ่งยากในการยืมจักรยาน และเห็นว่ามอเตอร์ไซค์รับจ้างรวดเร็วกว่า

ABSTRACT

The paper aims to study the number of bicycles used in Kasetsart University Bangkhen campus. Data was collected through actual observation during peak hours together with interviews. It was found that the there were total of 384 bicycles for on-campus students: 328 were used, 49 were broken, and 7 were idle. There university were also total of 420 university bicycles provided at 4 main entrances: 233 were borrowed, 102 were broken, and 85 were idle. At these entrances it was found further that 25.22 percent of people entering the university during peak hours used university shuttle services, 30.28 percent chose motorbike taxi, 41.89 percent chose to walk, and only 2.61 percent used the bicycle. The major reasons for not using bicycle in the university were as followings: feeling unsafe riding the bike alongside with the motorcycles, borrowing bicycles was inconvenient and the motorbike taxi was faster.

Key Words: bicycles using , Kasetsart University Bangkhen campus

*Corresponding author; e-mail address: **Jutaluck.envi@gmail.com**

[1]ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Civil, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์มีหน่วยงานที่ดูแลเรื่องจักรยานหลักๆสองหน่วยงานคือ กองยานพาหนะอาคารและสถานที่ และกองกิจการนิสิต โดยกองยานพาหนะอาคารและสถานที่ดูแลเส้นทางจักรยาน และจักรยานตามจุดยืมจักรยานในแต่ละจุด ซึ่งจักรยานมี 2 รุ่น คือรุ่นสีเขียวและสีขาว มีจุดยืมจักรยาน 4 จุดคือ จุดยืมจักรยานประตูงามวงศ์วาน1 ประตูงามวงศ์วาน 3 ประตูพหลโยธิน 1 และประตูวิภาวดี ในแต่ละจุดจะมีจำนวนจักรยานไม่เท่ากัน การยืมเป็นการยืมรายวันนิสิตที่ยืมต้องมีที่ล็อคคล้อจักรยาน และยื่นบัตรประจำตัวนิสิตหรือบัตรประจำตัวบุคลากรเพื่อแสดงตัว พร้อมกับลงบันทึกการยืมจักรยานในสมุดยืม จักรยานสามารถยืมได้ 24 ชั่วโมง หากไม่สามารถคืนได้ทันสามารถนำมาคืนภายหลังโดยอนุโลม แต่หากเกิน 1 อาทิตย์จะมีการทำบันทึกข้อความแจ้งไปยังคณะของผู้ยืมเพื่อติดต่อให้คืนจักรยาน ในกรณีมีการชำรุด หรือสูญหายผู้ยืมต้องซื้อใช้ หรือชำระเงินตามราคาความเสียหายนั้น มีการจ้างพนักงานรักษาความปลอดภัยจากบริษัทเอกชนมาดูแลและให้บริการ ณ จุดยืมจักรยานทั้ง 4 ไม่มีกำหนดการซ่อมจักรยานแต่ใช้วิธีการทยอยส่งซ่อมหากเห็นว่าจักรยานเสียมีปริมาณมาก อาจจะมีการยกไปซ่อมพร้อมกันทั้งหมด จุดซ่อมจักรยานมีจุดเดียวคือร้านซ่อมจักรยานประตูงามวงศ์วาน3 การประชาสัมพันธ์เรื่องการยืมหรือการใช้จักรยานของมหาวิทยาลัยเป็นลักษณะการบอกต่อระหว่างพี่สู่น้องไม่มีการประชาสัมพันธ์อื่น ในอนาคตจะมีการสร้างจุดยืมจักรยานเพิ่ม ณ ศูนย์เรียนรวม 4 ส่วนกองกิจการนิสิต ฝ่ายงานหอพักดูแลจักรยานในหอพักนิสิต มีทั้งหมด 3หอหลัก คือ หอพักหญิง หอพักชาย หอพักซอยพหลโยธิน 45 จักยานที่มีเป็นจักรยานจากโครงการจากพี่สู่น้อง ได้รับบริจาคจากศิษย์เก่าของมหาวิทยาลัย ยืมเป็นรายเทอมมีการเซ็นเอกสารการยืม นิสิตต้องดูแลจักรยานตลอดการยืม หากมีการชำรุดหรือสูญหายนิสิตต้องรับผิดชอบ มีการประชาสัมพันธ์เรื่องการยืมจักรยานตั้งแต่นิสิตเข้าหอพักอาทิตย์แรก เป็นการประชาพันธ์ภายในหอพักและมักได้รับการต้องรับที่ดีจากนิสิต หากมีต้องมีการซ่อมจักรยานจะส่งไปร้านซ่อมจักรยานประตูงามวงศ์วาน 3 นอกจากจักรยานแล้วมหาวิทยาลัยยังมีบริการรถสวัสดิการ มก.จำนวน 5 เส้นทางวิ่งรอบมหาวิทยาลัยโดยให้บริการเวลา 6.33 น.-18.3 น.ในเวลาราชการ นอกเวลาราชการ18.30 น. - 22.00 น. (เฉพาะ สาย1 สาย3 สาย 4 สาย5) และ 7.00 น. – 17.00 น.(เฉพาะ สาย 1 สาย 3 สาย 4 สาย 5) ในวันหยุดราชการ นอกเหนือจากนี้ยังมีบริการของเอกชนอย่างมอเตอร์ไซค์จ้างที่ประจำจุดต่างๆรอบมหาวิทยาลัยโดยคิดค่ายริการตั้งแต่ 8 บาท - 20 บาทขึ้นอยู่กับระยะทาง

บทความนี้มีแนวคิด ในการศึกษาด้วยวิธีการเก็บข้อมูลจากบันทึกสถิติการใช้จักรยานของมหาวิทยาลัย การเก็บข้อมูลใช้พาหนะต่างๆในช่วงเวลาเร่งด่วนของนิสิต และสัมภาษณ์นิสิตและบุคลากรเพื่อศึกษาปริมาณใช้จักรยานของนิสิตและบุคลากรในมหาวิทยาลัย และปริมาณการใช้ทางเลือกต่างๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บข้อแบ่งเป็น 4 ส่วน ดังนี้

1.เก็บข้อมูลการใช้จักรยานในมหาวิทยาลัย

เก็บข้อมูลจาก 2 ส่วน ส่วนแรกทำการนับจักรยาน ณ จุดยืมจักรยาน และจดบันทึกการใช้จักรยานจากจุดยืมจักรยานทั้ง 4 จุด คือ จุดยืมจักรยานประตูงามวงศ์วาน1 ประตูงามวงศ์วาน3 ประตูพหลโยธิน1 และประตูวิภาวดี ส่วนที่2 ทำการนับจำนวนจักยานส่วนตัวของนิสิตและบุคลากรที่นำมาใช้ในมหาวิทยาลัย ข้อมูลจากการยืมจักรยานของนิสิตในหอพักของมหาวิทยาลัย หอพักหญิง หอพักชาย หอพักซอยพหลโยธิน 45

2. เก็บของมูลการใช้จักรยานของนิสัตในหอพัก

เก็บข้อมูลจากบันทึกการยืมจักรยานของนิสิตในหอพักของมหาวิทยาลัย หอพักหญิง หอพักชาย หอพักซอยพหลโยธิน 45 และนับจำนวนจักรยานส่วนตัวของนิสิตในหอพัก

3. เก็บข้อมูลการใช้ทางเลือกต่างๆในการเดินทาง

เก็บข้อมูลจากการนับปริมาณการใช้ทางทางเลือกต่างๆ จากนิสิตและบุคลากรที่ใช้วิธีการเดินเท้าเข้ามาในมหาวิทยาลัย โดยทำการนับในช่วงชั่วโมงเร่งด่วน เวลา 7.30 น. – 9.30 น.

4. เก็บของมูลจากการสัมภาษณ์นิสิตบุคลากรให้มหาวิทยาลัย

สัมภาษณ์มูลจากจุดต่างๆของมหาวิทยาลัยทั้งในหอพักและในมหาวิทยาลัยโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มดังนี้

4.1 นิสิตพักในหอพัก (แบ่งตามหอพักที่นิสิตพัก)

- นิสิตหอพักหญิง (จำนวน 10 คน)
- นิสิตหอพักชาย (จำนวน 10 คน)
- นิสิตหอพักซอยพหลโยธิน 45 (จำนวน 10 คน)

4.2 นิสิตและบุคลากรที่เดินเท้าเข้ามาในมหาวิทยาลัย (แบ่งตามวิธีการเดินทางในมหาวิทยาลัย)

- ใช้บริการรถสวัสดิการ มก. (จำนวน 9 คน)
- ใช้บริการมอเตอร์ไซค์รับจ้าง (จำนวน 17 คน)
- ใช้วิธีการเดินเท้า (จำนวน 19 คน)
- ใช้การปั่นจักรยาน (จำนวน 5 คน)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ปริมาณการใช้จักรยานในมหาวิทยาลัย

จาก Table1 แสดงปริมาณจักรยานที่มหาวิทยาลัยมีบริการให้นิสิตและบุคลากรยืม จะเห็นได้ว่าแต่ละจุดยืมมีปริมาณจักรยานที่แต่ต่างกัน โดยจุดยืมประตูงามวงศ์วานที่ปริมาณมากที่สุดคือ 125 คัน ปริมาณจักรยานที่ชำรุด 39 คัน มีผู้ยืม 72 คัน เหลือ 14 คันที่ไม่ถูกยืม จุดยืมประตูประตูงามวงศ์วาน3 มีนิสิตใช้บริการมากที่สุด 83 คัน ชำรุด 29 คัน ไม่ถูกยืม 3 คัน ประตูวิภาวดี ยืม 37 คัน ชำรุด 13 คัน ไม่ถูกยืม 15 คัน ประตูพหลโยธิน1มีจักรยานไม่ถูกยืมเยอะที่สุดคือ 53 คัน ถูกยืมเพียง 41 คัน ชำรุดอีก 21 คัน ซึ่งในทุกประตูยังมีปริมาณจักรยานสภาพดีพร้อมใช้งานเหลืออยู่ ปริมาณจักรยานเพียงพอต่อความต้องการใช้

Table 1The quantity of bikes at the bike.

place	Unused		Used	Total
	Good Condition	Broken		
Gate Ngamwongwan 1	14	39	72	125
Gate Ngamwongwan 3	3	29	83	115
Gate Phahonyothin 1	53	21	41	115
Gate Vibhavadi	15	13	37	65

Sum	85	102	233	420

ปริมาณการใช้จักรยานของนิสิตในหอพัก

ผลจากการเก็บสถิติการยืมจักรยานของนิสิตในหอพักตามTable 2 หอพักหญิง มีปริมาณการใช้จักรยานมากที่สุดคือ 156 คัน หอพักซอยพหลโยธิน45 150 คันและหอพักชาย 22 คันตามลำดับ จักรยานชำรุดของหอพักหญิง 24 คัน ซอยพหลโยธิน 45 19 คัน และหอพักชาย 6 คันมีเพียงซอยพหลโยธิน 45 ที่มีจักรยานไม่ถูกยืมอยู่ 7 คัน แสดงให้เห็นว่าปริมาณจักรยานที่มีให้บริการในหอพักมีไม่เพียงพอ เนื่องจากไม่มีจักรยานสภาพพร้อมใช้งานเหลือให้ยืมในหอพักชายและหอพักหญิง

Table 2 The quantity of bikes at the dormitory

place	Unused		Used	Total
	Good Condition	Broken		
Male dormitory	0	6	22	28
Female dormitory	0	24	156	180
Phahonyothin45 dormitory	7	19	150	176
Sum	7	49	328	384

ปริมาณการใช้ทางเลือกต่าง ๆในการเดินทาง

Table 3 เป็นการเปรียบเทียบการใช้จักรยานกับการใช้ทางเลือกอื่นของนิสิตและบุคลากรที่เข้ามาด้วยวิธีเดินเท้าจากนอกมหาวิทยาลัย โดยทำการเก็บข้อมูลในช่วงเวลาเร่งด่วน คือเวลา 7.30 น. – 9.30 น. พบว่า มีการใช้รถสวัสดิการ มก. 25.22% มอเตอร์ไซค์รับจ้าง 30.28% จักรยาน 2.61% และ เดิน 41.89% จะพบได้ว่าอัตราการใช้จักรยานมีค่าที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับการใช้งานอื่น แม้อัตราการใช้บริการยืมจักรยานของมหาวิทยาลัยจะมากก็ตาม แต่ยังมีปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบจำนวนนิสิต

Table 3 The quantity of people getting into university

	Shuttle bus University	Motorcycle Taxi	Bike	Walk	Total
Gate Phahonyothin 1	683	1017	59	188	1947
Gate Vibhavadi	504	605	58	1188	2355
Gate Ngamwongwan 1	585	447	60	1339	2431
Gate Ngamwongwan 2	0	0	0	37	37
Gate Ngamwongwan 3	466	277	51	816	1610
Overpass Kaset	0	341	4	150	495
Total	2238	2687	232	3718	8875
Percent	**25.22**	**30.28**	**2.61**	**41.89**	**100.00**

จากการสัมภาษณ์นิสิตและบุคลากร

นิสิตในหอพัก

หอพอหญิง

หอพักตั้งอยู่ใกล้กับประตูวิภาวดี ใช้จักรยานและรถสวัสดิการ มก.ตามลำดับ ใช้จักรยานเนื่องจากระยะไม่ไกลมาก ส่วนรถสวัสดิการ มก.ต้องรอรถเพราะให้บริการเป็นเวลาและคนจากข้างนอกเข้ามาใช้ปริมาณมากรถไม่เพียงพอแต่ก็ยังมีนิสิตบางส่วนใช้การเดินนี้เนื่องจากไม่มีจักรยานส่วนตัวและไม่ต้องการยืมจักรยานที่มหาวิทยาลัยให้บริการเพราะต้องยืมเป็นรายเทอมยากต่อการดูแลและจำนวนจักรยานที่ให้ยืมมีปริมาณน้อยนิสิตไม่ใช้มอเตอร์ไซค์รับจ้างเพราะเห็นการการใช้จักรยานและรถสวัสดิการ มก.สะดวกอยู่แล้ว

หอพักชาย

หอพักตั้งอยู่รอบโรงอาหารกลาง ใช้การเดินและจักรยานเป็นหลักเนื่องจากหอพักชายอยู่ใกล้อาคารเรียนมากกว่าหอพักหญิง จึงเลือกที่จะเดินไปเรียนแต่บางส่วนก็ยังใช้จักรยานไปเรียนอยู่ ส่วนการใช้รถสวัสดิการ มก.และมอเตอร์ไซค์รับจ้างมีเหตุผลคลายกับหอพักหญิงคือรถออกเป็นเวลาและปริมาณคนใช้มากรถไม่เพียงพอนิสิตชายเลือกที่จะไม่ใช้บริการและนิสิตยังเห็นว่าไม่จำเป็นมอเตอร์ไซค์รับจ้างเนื่องการเดินและใช้จักรยานสะดวกดีอยู่แล้ว

หอพักซอยพหลโยธิน 45

หอพักตั้งอยู่ในซอยพหลโยธิน 45นิสิตใช้รถสวัสดิการ มก.เป็นหลัก เนื่องจากหอพักอยู่ไกลจากอาคารเรียน จึงใช้รถสวัสดิการ มก.เป็นหลักตรงกับ(A.Nkurunziza et al,2012) (จักรพิพัฒน์ และคณะ,2556)และ(วิติยา และคณะ. 2556)ที่กล่าวถึงปัญหาด้านระยะทาง ซึ่งหอพักนี้มีรถสวัสดิการ มก.สาย 5 ให้บริการวิ่งจากหน้าหอพักถึงหอสมุดมหาวิทยาลัย แต่ก็ยังมีบางส่วนที่ใช้จักรยานในการเดินทาง นิสิตไม่ใช้วิธีการเดินเพราะระยะทางที่ไกลและทางเปลี่ยว ส่วนมอเตอร์ไซค์รับจ้างจะใช้ในเวลาเร่งรีบ

นิสิตและบุคลากรพักนอกมหาวิทยาลัย

ใช้วิธีการเดิน

นิสิตและบุคลากรที่ใช้วิธีการเดิน(จักรพิพัฒน์ และคณะ,2556)และ (พลเดชและคณะ,2557)ส่วนใหญ่เป็นนิสิตและบุคลากรที่เข้ามาทางประตูวามวงศ์วานเนื่องจากมีอาคารเรียนใกล้บริเวณนั้นสามารถเดินได้บางส่วนเดินเนื่องจากรอรถสวัสดิการ มก.แล้วไม่สามารถใช้บริการได้เพราะรถเต็มจำนวนคนมากว่าจำนวนรถที่ให้บริการ

ใช้บริการมอเตอร์ไซค์รับจ้าง

เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว(จักรพิพัฒน์ และคณะ,2556) ถึงแม้ต้องเสียค่าใช้จ่าย และบางครั้งต้องต่อแถวรอเนื่องจากมอเตอร์ไซค์รับจ้างให้บริการไม่เพียงพอ แต่นิสิตและบุคลากรเห็นว่ายืนต่อแถวรอยังไวกว่าการเดินการใช้จักรยาน และไม่ต้องการไปแย่งขึ้นรถสวัสดิการ มก.ซึ่งคนเยอะอยู่แล้ว และไม่ต้องการยืมจักรยานด้วยโดยมีเหตุผลเหมือนกับกลุ่มที่ใช้รถสวัสดิการ มก.คือเห็นว่ายุ่งยาก ไม่มีที่ล็อคล้อ ไม่รู้ว่าจุดยืมจักรยานอยู่ตรงไหนรวมถึงมีความไม่ปลอดภัยในการใช้ ปลอดภัย และยังมีนิสิตหนึ่งในผู้ให้สัมภาษณ์ปั่นจักรยานไม่เป็นเหมือนกับ(พลเดชและคณะ,2557) และ (A. A. de Sousa et al,2014) ที่กล่าวถึงการขาดทักษะในการใช้จักรยาน

ใช้บริการรถสวัสดิการ มก.

เนื่องจากมีรถวิ่งตลอด มีสายให้เลือกขึ้นรถวิ่งรอบมหาวิทยาลัย แต่ก็ยังมีปัญหาต้องแย้งกันใช้เพราะรถไม่เพียงพอ แต่ยังเลือกใช้รถสวัสดิการ มก.เนื่องจาก จุดหมายอยู่ไม่สามารถไปได้ ใช้เวลาเดินนาน ไม่ต้องการยืมจักรยานเพราะเห็นว่ายุ่งยาก ไม่มีที่ล็อคล้อ และไม่รู้ว่าจุดยืมจักรยานอยู่ตรงไหน รวมถึงมีความไม่ปลอดภัยในการใช้ด้วย บางส่วนเขาไปใช้บริการแต่รถจักรยานหมด ไม่ต้องการเสียคาใช้จ่ายให้กับมอเตอร์ไซค์รับจ้างและไม่ได้รีบมากจนต้องใช้บริการ

ใช้จักรยาน

นิสิตและบุคลากรกลุ่มนี้เห็นว่ายืมมีความสะดวกไม่ยุ่งยาก และการใช้จักรยานมีความสะดวก ไม่ต้องรอเหมือนกับรถสวัสดิการ มก. และมอเตอร์ไซคับจ้าง ไม่ต้องเสียค่าใช้จ่าย และไวกว่าการเดินเท้า ซึ่งนิสิตยังที่ความเห็นว่าจักยานจุดยืมชำรุดไม่พร้อมใช้งานอยู่พอสมควร บางครั้งจักรยานหมดก่อนที่จะได้ใช้บริการ และมีความคิดตรงกลับกลุ่มผู้ใช้รถสวัสดิการ มก.และมอเตอร์ไซค์รับจ้างคือ มีรถเข้าไปวิ่งในเลนจักรยาน แต่นิสิตไม่ได้มองเชิงความปลอดภัยแต่มองว่าสร้างความไม่สะดวกในการใช้งานมากกว่า

สรุป

ปริมาณจักรยานที่มหาวิทยาลัยมีบริการแต่ละประตูยังเพียงพอต่อคามต้องการของนิสิตและบุคลากร แต่ไม่เพียงพอสำหรับหอพักหญิงและชาย ส่วนทางเลือกต่างๆในการเดินทาง ระยะทางเป็นปัจจัยหลักในการเลือกลักษณะการเดินทาง รวมไปถึงความสะดวกรวดเร็วของลักษณะทางเลือกต่างๆด้วย และเหตุผลที่นิสิตบุคลากรไม่ใช้จักรยานคือ ความปลอดภัยเนื่องจากเห็นว่ามีมอเตอร์ไซค์เข้าไปใช้ทางจักรยานและขับด้วยความเร็ว ความยุ่งยากในการยืมจักรยาน ใช้บริการมอเตอร์ไซค์รับจ้างไวกว่า ไม่รู้จุดยืมคืนจักรยาน จักรยานไม่น่าใช้ชำรุด จักรยานไม่เพียงพอ และปั่นจักรยานไม่เป็นตามลำดับ ส่วนนิสิตและบุคลากรที่ใช้จักรยานเนื่องจากการใช้จักรยานมีความสะดวก ไม่ต้องเสียค่าใช้จ่าย การยืมมีความสะดวกไม่ยุ่งยาก ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กองยานพาหนะ อาคารและสถานที่ ฝ่ายงานรักษาความปลอดภัย และการกิจการนิสิต ฝ่ายงานหอพักที่ให้ข้อมูลการยืมคืนจักรยาน

เอกสารอ้างอิง

จักรพิพัฒน์ อัศวบุญญาเลิศและคณะ. 2556. **ทำไมคนไทยจึงไม่นิยมใช้จักรยาน**. Bike and Walk Forum ครั้งที่ 1, ชมรมจักรยานเพื่อสุขภาพแห่งประเทศไทย

พลเดช เชาวรัตน์และคณะ. 2557. **ทัศนคติและแนวโน้มพฤติกรรมการใช้จักรยานของนักเรียนและนักศึกษาในเมืองมหาสารคาม.** Bike and Walk Forum ครั้งที่ 2 , ชมรมจักรยานเพื่อสุขภาพแห่งประเทศไทย

วิติยา ปิดตังนาโพธิ์และคณะ. 2556. **แรงจูงใจและอุปสรรคในการใช้จักรยานสำหรับคนที่เดินทางด้วยจักรยานในประเทศไทย.** Bike and Walk Forum ครั้งที่ 1, ชมรมจักรยานเพื่อสุขภาพแห่งประเทศไทย

A. Nkurunziza et al. 2012. Exploring factors affecting the potential of bicycle commuting in Dar-es-Salaam. **Transport Policy 24**: 249-259.

Adriana A. de Sousa et al. 2014. Perception of barriers for the use of bicycles. **Procedia-Social and Behavioral Sciences 160**: 304-313.

การศึกษาคุณค่า ความเชื่อ บรรทัดฐาน และ พฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัย โดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑล

Study of Green Value, Belief, Norm and Behavior of People in Bangkok and Vicinity in Selecting Green Residence

ชุติมา สอิ้งทอง[1*] เบญจพล เวทย์วิวรณ์[1] และ ปิยนุช เวทย์วิวรณ์[1]

Chutima Saingtong[1*], Benjapon Wethyavivorn[1] and Piyanut Wethyavivorn[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ศึกษาค่านิยม ความเชื่อ บรรทัดฐาน และ พฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัยโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑล โดยใช้ทฤษฎี Value-Beliefs-Norm Theory โดยทำการเก็บข้อมูลผ่านแบบสอบถาม 300 ชุด และวิเคราะห์หาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 พบว่าอายุ และระดับการศึกษาที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างในค่านิยมด้านสิ่งแวดล้อม ตลอดจนความเชื่อ และความตระหนักถึงผลกระทบที่จะเกิดขึ้นไปในทิศทางเดียวกัน โดยกลุ่มอายุ 25-35ปี และกลุ่มที่มีการศึกษาระดับปริญญาโทขึ้นไป มีค่าดังกล่าวสูงกว่ากลุ่มอื่น และทั้งสองกลุ่มนี้ ก็มีพฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัยโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมมากกว่าเช่นกัน

ABSTRACT

The objective of the study is to investigate value, belief, norm as well as behavior in selecting environmental friendly residence of people in Bangkok and vicinity. The value-belief-norm theory was employed to develop the questionnaire. Questionnaires were distributed and 300 data sets were returned for analysis. Analysis of group mean differences using t-test and ANOVA was conducted at 0.05 level of significance. It was found that group of 25-35 years old and group with higher education (higher than Master degree) had higher biospheric value, ecological belief and awareness of consequence more than other groups. These groups also tend to select more environmental friendly residential area than other groups.

Key Words: Vale, Belief, Green Behavior, Residence selection

*Corresponding author; e-mail address: aingfafa@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางธรรมชาติมากมาย หลักการพัฒนาอย่างยั่งยืน จึงถูกใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาในทุกภาคส่วน รวมถึงภาคการก่อสร้างที่ส่งผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งในขณะนี้แนวคิดในหลายๆประเทศหันมายกระดับการออกแบบและก่อสร้างอาคารให้มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด อาคารเหล่านี้คือ อาคารเขียว ซึ่งจะมีกฎเกณฑ์มาตรฐานด้านต่างๆสูงกว่าที่กฎหมายกำหนด LEED (Leader in Energy and Environmental Design)เป็นเกณฑ์การประเมินอาคารเขียวแบบหนึ่งที่พัฒนาขึ้นโดยสภาอาคารเขียวแห่งสหรัฐอเมริกา เห็นได้ว่าทั่วโลกมีการตระหนักด้านสภาพแวดล้อมในทุกๆด้าน ซึ่งจะสอดคล้องกับหลักการพัฒนาอย่างยั่งยืนด้วนเช่นกัน ตลาดสีเขียวเป็นอีกส่วนหนึ่งที่ทำให้ผู้บริโภคในกลุ่มที่สนใจด้านสิ่งแวดล้อมมองหา โดยได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย(Chen, 2010)เป็นกระแสหลักของโลกที่มีเป้าหมายเพื่อความยั่งยืน เน้นการชักจูงผู้บริโภคให้หันมาคำนึงเพื่อสิ่งแวดล้อม ด้วยการส่งเสริมด้านการตลาดในสินค้าและผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แนวทางตลาดสีเขียวในขณะนี้เริ่มมีการแข่งขันมากขึ้นโดยมีแนวโน้มที่ดีเหนือคู่แข่ง(Porter and Van Der Linde, 1995)ตลาดสีเขียวเป็นการแลกเปลี่ยนสินค้าและบริการที่มีกระบวนการที่เป็นระบบอย่างมีแบบแผนที่จะรักษาสิ่งแวดล้อม (Peattie, 1995) ระบบถึงการสนองของความต้องการของลูกค้าให้ความสำคัญกับระบบการจัดการโยต้องการการมีส่วนร่วมที่จะทำให้เกิดความยั่งยืน (John Grant, 1999) ระบุว่าว่าตลาดสีเขียวไม่ได้จำกัดแค่การอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม แต่สามารถรวมถึงการตลาดที่สร้างสรรค์สังคมที่เป็นผลดีต่อสิ่งแวดล้อมในด้านต่างๆด้วย (Golnaz, R., Phuah, K.T., Zainalabidin, M. and Mad,N.S., 2013) กล่าวว่า ความเคลื่อนไหวของการสร้างความนิยมให้เกิดการก้าวเข้าสู่ความยั่งยืนนั้นมาจากผู้บริโภคที่ตระหนักถึงด้านสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จะยอมรับการเริ่มที่จะปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการซื้อเพื่อเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผลการศึกษาพบว่าตัวแปรทั่วไปในกลุ่มตัวอย่างในมาเลเซีย ให้ความสำคัญกับระดับการศึกษาและอายุจะมีผลต่อการรับรู้ของผู้บริโภค เช่นเดียวกับทัศนคติของพวกเขา จนนำไปสู่ความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ตลาดสีเขียวทั้งในไทยและต่างประเทศอาจยังไม่มากพอที่ทุกคนจะเข้าถึงได้แต่การตอบสนองถึงความต้องการด้านการเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากผลการสำรวจของ (Airdye, 2011) พบว่าผู้บริโภคสนใจสินค้าสีเขียวเพิ่มมากขึ้นจากปี 2009 ถึง 15%ในปี2009 ดังนั้นการปลูกจิตสำนึกให้เห็นถึงผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมในส่วนการบริโภคสินค้าที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเป็นสิ่งจำเป็นที่ควรตระหนักอย่างจริงจัง เพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน

อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยมากมายที่วิเคราะห์ปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อแนวทางของพฤติกรรมมนุษย์ที่ส่งผลต่อสิ่งแวดล้อม ในรูปแบบการวิเคราะห์พฤติกรรมความตั้งใจของบุคคลจะแสดงเจตนาต่างๆที่เป็นการควบคุมแรงกระตุ้นที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมอยู่บนพื้นฐาน Theory of Planned Behavior (Adriana and Linda, 2013) แสดงผลการศึกษาจากกลุ่มประชากรในประเทศ อาร์เจนตินา ที่ใช้โครงสร้างทฤษฎี VBN เพื่อหาแนวทางในการลดใช้รถยนต์เพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยให้ความสำคัญกับค่า biospheric เป็นตัวบ่งชี้ให้เกิดการยอมรับ และเกิดความตั้งใจที่จะลดการใช้รถยนต์ในอาร์เจนตินา (Ajzen, 1980)ได้ทำการวิจัยพฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อมการศึกษาและพบว่าตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมรับผิดชอบด้านสิ่งแวดล้อมแม้ว่าได้เน้นเป็นรูปแบบที่ซับซ้อนมากขึ้นกว่า (Ajzen, 1980) ระบุปัจจัยไม่พอสังเกตการณ์ตรวจสอบที่จะอธิบายพฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อม แสดงให้เห็นว่าตัวแปรอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อมระบุปัจจัยไม่พออธิบาย

พฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อมเป็นพิเศษ ความสัมพันธ์ระหว่างความตั้งใจและพฤติกรรมความรับผิดชอบที่เกิดขึ้นจริง ดูเหมือนจะมีปัจจัยอื่น ๆ อีกมากมายที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อมและ (Stern, 2000) จึงได้อธิบายทฤษฎีความเชื่อบรรทัดฐานสู่การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมพฤติกรรม (Value-Beliefs- Norm Theory - VBN Theory) ดังภาพที่ 1 เช่นเดียวกับทฤษฎีพฤติกรรมตามความเชื่อการรับรู้ภายใต้กรอบความคิดที่มีความเป็นทั่วไปมากกว่าโดยมีความสัมพันธ์ระหว่างความเชื่อ ทัศนคติ เจตนาและพฤติกรรมของ(Bandura, 1982,1991)

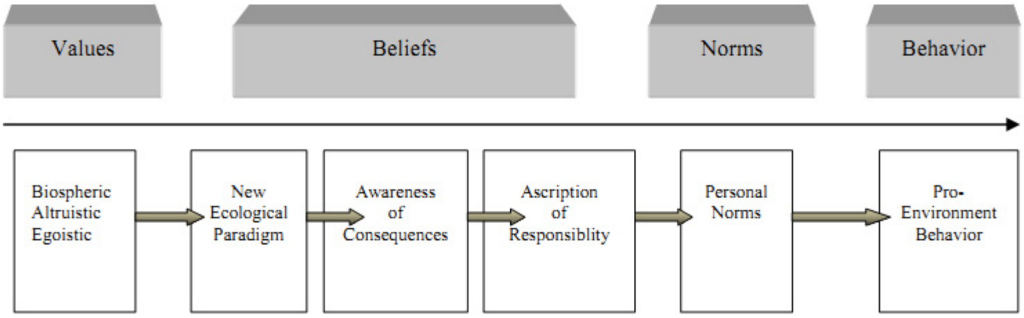


Figure 1 Value-Beliefs- Norm Theory (VBN Theory)

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้มีศึกษาคุณค่า ความเชื่อ บรรทัดฐาน และ พฤติกรรมของผู้บริโภคในการเลือกอาศัยบ้านเขียวโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมมาใช้พัฒนาให้เกิดความเข้าใจในความต้องการของผู้บริโภคเพื่อพัฒนาและส่งเสริมกระแสบริโภคนิยมในการเลือกที่อยู่อาศัยโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมอย่างแท้จริง

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิจัยเรื่อง “การศึกษาพฤติกรรมในการเลือกที่อยู่อาศัยโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้าน สิ่งแวดล้อมของประชาชนในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล” ผู้วิจัยกำหนดประชากรและกลุ่มตัวอย่างในการวิจัย เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย การเก็บรวบรวมข้อมูลเชิงปริมาณโดยใช้แบบสอบถาม และทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ มีรายละเอียดการดำเนินงานดังนี้

การรวบรวมข้อมูล

กลุ่มประชากรที่ทำการศึกษา คือ ทุกสาขาอาชีพที่มีการประกอบอาชีพในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล จำนวนทั้งสิ้น 300 คน โดยแบ่งผลการวิเคราะห์ข้อมูลไว้ 3 ส่วนดังนี้

ส่วนที่ 1 วิเคราะห์ลักษณะกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะบุคคลทั่วไป จากข้อมูลผู้ตอบแบบสอบถาม

ส่วนที่ 2 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของ คุณค่า ความเชื่อ บรรทัดฐาน และ พฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัย โดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมจากข้อมูลผู้ตอบแบบสอบถาม

ส่วนที่ 3 วิเคราะห์เพื่อทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรม SPSS วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) แบบจำแนกทางเดียว (One – Way ANOVA) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร 2 ประเภท คือ ตัวแปรตาม (Dependent)และตัวแปรอิสระ (Independent)

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการวิจัยครั้งนี้วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาร่วมกับการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงปริมาณ โดยจำแนกตามวัตถุประสงค์จากทฤษฎี (VBN : Value – Belief - Norm) มีการแบ่งพฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อมของมนุษย์ ดังนี้

คุณค่า (Value) แบ่งออกเป็น คือ ด้านสิ่งแวดล้อม (Biospheric),ด้านการเห็นแก่ผู้อื่น (Altruistic), ด้านการเห็นแก่ตนเอง (Egoistic), ด้านความสุข (Hedonic), ความคิดเดิม (Traditional)และการยอมรับที่จะเปลี่ยนแปลง (Openness to change)

ความเชื่อ (Belief) แบ่งออกเป็น 6 ด้าน คือ ด้านสิ่งแวดล้อม (Ecological worldview), การรับรู้ถึงผลกระทบ (Awareness of consequences), ความรับผิดชอบ (Responsibility), การตระหนักถึงคามจำเป็น (Awareness of need), ประสิทธิภาพ (Efficacy)และ ความสามารถ (Ability)

บรรทัดฐาน (Norm) วิเคราะห์จาก ความยั่งยืน (Sustainable site), การใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ (Water Efficiency), พลังงานและชั้นบรรยากาศ (Energy and Atmosphere), วัสดุในการก่อสร้าง (Materials and Resources)และคุณภาพสภาพแวดล้อมในอาคาร (Indoor Environmental Quality)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบสมมติการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปัจจัยส่วนบุคคลกับคุณค่า ความเชื่อ บรรทัดฐานและพฤติกรรมในการเลือกที่อยู่อาศัยโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความต่างระหว่างปัจจัยส่วนบุคคลจากผู้ตอบแบบสอบถาม 300 ชุด ด้วยการใช้ One Way Analysis of Variance

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาจะแสดงค่าเฉลี่ย (Mean/ Average) และร้อยละ (Percentaqe) ในการคำนวณหาค่าสถิติในผลการวิเคราะห์การทดสอบสมมติฐาน ในการวิเคราะห์แบบสอบถามได้เลือกใช้สถิติ T-Test เพื่อทดสอบค่าเฉลี่ยระหวางกลุ่มสองกลุ่มในการหาค่าความต่างของข้อมูล ท่านเคยได้ยินเรื่องอาคารเขียว(Green building) หรือไม่ และใช้สถิติ F-Test หรือ One Way Anova วิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความต่างระหว่าง 3 กลุ่ม ขึ้นไป กับข้อมูล อายุ, วุฒิการศึกษาสูงสุด และรายได้เฉลี่ยต่อเดือนจากข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม จะพบค่าความต่างของข้อมูล เพื่อแสดงความต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 0.05ดังได้แสดงในตารางที่ 2-5

จากตารางที่ 1 เป็นการแบ่งกลุ่มการเก็บข้อมูลเพื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นจากจำนวนผู้ตอบแบบสอบถาม แสดงให้ทราบถึงจำนวนการเก็บข้อมูลของแต่ละกลุ่ม เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS ในการหาความแปรปรวน ความต่างของค่าเฉลี่ย(Sig.) ในตารางที่ 2-5

Table1 General Information

General Information	n	Per cent
Age		
20-25	28	9
25-30	136	45
30-35	105	35
35-40	11	4
> 40	20	7
Educational background		
< Bachelor degree	57	19
Bachelor degree	207	69
Master degree	36	12
Eamings		
< 10,000	13	4
10,000 - 20,000	80	27
20,000 - 30,000	139	46
40,000 - 50,000	65	22
> 50,000	3	1
You know Green home		
Yes	232	77
No	68	23

Table2 Compare the difference between the average value of each independent variable factors, personal and value

VALUE	Sig. / Mean							
	Age		Educational background		Earnings		You know Green home	
Biospheric	0.010*		0.019*		0.023*		0.000*	
	20-25	3.86	>Bachelor	4.03	>10,000	3.77	Yes	4.24
	25-30	4.25	Bachelor	4.21	10,000-20,000	4.2	No	3.99
	30-35	4.22	Master degree	4.28	20,000-30,000	4.18		
	35-40	4.07			30,000-40,000	4.24		
	40 <	4.05			40,000<	4.08		
Altruistic	0.534		0.003*		0.574		0.168	
			>Bachelor	4.07				
			Bachelor	4.18				
			Master degree	3.89				

*.The mean difference is significant at the 0.05 level

จากการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยตัวแปรอิสระ (Independent Variables)ของแต่ละปัจจัยส่วนบุคคลพบว่า ปัจจัยแต่ละปัจจัยที่แตกต่างกันส่อผลต่อการเห็นคุณค่าของสิ่งแวดล้อมดังนี้

อายุที่ต่างกันส่งผลต่อคุณค่าของมนุษย์ในด้านสิ่งแวดล้อม(Biospheric)โดยมีค่าต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 0.01 โดยกลุ่มตัวอย่างที่มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดในช่วงอายุระหว่าง 25-30 ปี ที่จะให้สำคัญด้านสิ่งแวดล้อมมากกว่าด้านอื่นๆ

วุฒิการศึกษาที่ต่างกัน ส่งผลต่อด้านสิ่งแวดล้อม(Biospheric) และ ด้านการเห็นแก่ผู้อื่น (Altruistic)อย่างมีนัยสำคัญที่น้อยกว่า 0.05 โดยกลุ่มตัวอย่างที่มีการศึกษาตั้งแต่ปริญญาตรีขึ้นไป จะให้ความสำคัญต่อคุณค่าด้านสิ่งแวดล้อมมากกว่ากลุ่มที่มีการศึกษาในระดับต่ำกว่าปริญญาตรี

รายได้ที่แตกต่างกันสิ่งผลต่อคุณค่าด้านสิ่งแวดล้อม(Biospheric)อย่างมีนัยสำคัญที่ 0.023 โดยกลุ่มตัวอย่างมีรายได้ระหว่าง 30,000 -40,000 บาท/เดือน จะให้ความสำคัญกับคุณค่าด้านสิ่งแวดล้อมมากกว่ากลุ่มอื่นที่ค่า mean เท่ากับ 4.25

การรับรู้เรื่องอาคารเขียวมีผลต่อคุณค่าของมนุษย์ในด้านสิ่งแวดล้อม(Biospheric) มากกว่าด้านอื่นจากค่าความต่างมีนัยสำคัญที่ 0.00 โดยผู้ที่ได้ยินเรื่องอาคารเขียวจะให้ความสำคัญในคุณค่าของสิ่งแวดล้อมมากกว่าผู้ที่ไม่รู้จักอาคารเขียว

Table 3 Compare the difference between the average value of each independent variable factors, personal and beliefs

BELIEF	Sig. / Mean							
	Age		Educational background		Earnings		You know Green home	
Ecological worldview	0.012*		0.004*		0.038*		0.024*	
	20-25	3.93	>Bachelor	4.07	>10,000	3.94	Yes	4.24
	25-30	4.22	Bachelor	4.19	10,000-20,000	4.15	No	4.02
	30-35	4.2	Master degree	4.4	20,000-30,000	4.18		
	35-40	4.09			30,000-40,000	4.31		
	40 <	4.35			40,000<	4.5		
Awareness of consequences	0.012*		0.114		0.093		0.006*	
	20-25	4.24					Yes	4.33
	25-30	4.31					No	4.25
	30-35	4.27						
	35-40	4.33						
	40 <	4.6						
Responsibility	0.049*		0.011*		0.021*		0.135	
	20-25	3.67	>Bachelor	3.8	>10,000	3.62		
	25-30	4.06	Bachelor	4.04	10,000-20,000	3.95		
	30-35	4.03	Master degree	4.14	20,000-30,000	3.99		
	35-40	4			30,000-40,000	4.17		
	40 <	4.03			40,000<	4.33		

*.The mean difference is significant at the 0.05 level

จากการทดสอบสมมติฐาน จากตารางที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยตัวแปรอิสระ (Independent Variables)ของแต่ละปัจจัยส่วนบุคคลพบว่า ปัจจัยแต่ละปัจจัยที่แตกต่างกันส่งผลต่อความเชื่อ ดังนี้

อายุที่แตกต่างกันส่งผลต่อความเชื่อของมนุษย์ในด้านสิ่งแวดล้อม(Ecological worldview),ด้านการรับรู้ถึงผลกระทบ(Awareness of consequences) และด้านความรับผิดชอบ(Responsibility)อย่างมีนัยสำคัญที่ 0.05 จากค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่อายุ 25ปีขึ้นไป จะให้ความสำคัญต่อความเชื่อ ความตระหนักถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่ากลุ่มที่อายุน้อยกว่า 25ปี

วุฒิการศึกษาที่แตกต่างกันส่งผลต่อความเชื่อของมนุษย์ในด้านสิ่งแวดล้อม(Ecological worldview) และด้านความรับผิดชอบ(Responsibility) อย่างมีนัยสำคัญที่0.05 จากค่าเฉลี่ยของผู้ที่มีการศึกษาสูงจะตระหนักถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น

รายได้ที่แตกต่างกันส่งผลต่อความเชื่อของมนุษย์ในด้านสิ่งแวดล้อม(Ecological worldview) และด้านความรับผิดชอบ(Responsibility)อย่างมีนัยสำคัญที่0.05 จากค่าเฉลี่ยของผู้ที่มีรายได้สูงจะตระหนักถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น

การรับรู้เรื่องอาคารเขียวส่งผลกระทบต่อความเชื่อของมนุษย์ในด้านสิ่งแวดล้อม(Ecological worldview) และด้านการรับรู้ถึงผลกระทบ(Awareness of consequences) อย่างมีนัยสำคัญที่ 0.05 จากค่าเฉลี่ยของผู้ที่เคยได้ยินเรื่องอาคารเขียวจะมีความตระหนักถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าผู้ที่ไม่เคยได้ยินเรื่องอาคารเขียว

Table 4 Compare the difference between the independent variables. Each of the individual factors to the norm of housing options, taking into account environmental sustainability.

Norm	Sig. / Mean				
	Age	Educational background		Earnings	You know Green home
Energy and Atmosphere	0.296	0.000*		0.367	0.964
		>Bachelor	3.47		
		Bachelor	3.53		
		Master degree	4.19		

*.The mean difference is significant at the 0.05 level

จากการทดสอบสมมติฐาน จากตารางที่ 4 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยตัวแปรอิสระ (Independent Variables)ของแต่ละปัจจัยส่วนบุคคลพบว่า ปัจจัยด้านการศึกษาที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อบรรทัดฐาน โดยวุฒิการศึกษาที่แตกต่างกันส่งผลต่อพฤติกรรมด้านพลังงานและชั้นบรรยากาศ(Energy and Atmosphere)ต่างกันอย่างมี่นัยสำคัญที่ 0.000 จากค่าเฉลี่ยของกลุ่มผู้มีวุฒิการศึกษาสูงสุดที่ 4.19 จะมีพฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัย โดยคำนึงในเรื่องดังกล่าวมากกว่าผู้ที่มีวุฒิการศึกษาน้อยกว่า

Table 5 Compare the difference between the independent variables. Each of the individual factors to the behavior of housing options, taking into account environmental sustainability.

Behavior	Sig. / Mean				
	Age	Educational background		Earnings	You know Green home
Energy and Atmosphere	0.382	0.002*		0.217	0.22
		>Bachelor	3.87		
		Bachelor	3.75		
		Master degree	4.1		

*.The mean difference is significant at the 0.05 level

จากการทดสอบสมมติฐาน จากตารางที่ 5 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยตัวแปรอิสระ (Independent Variables)ของแต่ละปัจจัยส่วนบุคคลพบว่า ปัจจัยด้านการศึกษาที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อพฤติกรรมของมนุษย์ โดยวุฒิการศึกษาที่แตกต่างกันส่งผลต่อพฤติกรรมในด้านพลังงานและชั้นบรรยากาศ

(Energy and Atmosphere)ต่างกันอย่างมี่นัยสำคัญที่ 0.002 จากค่าเฉลี่ยของกลุ่มผู้มีวุฒิการศึกษาสูงสุดที่ 4.1 จะมีพฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัย โดยคำนึงในเรื่องดังกล่าวมากกว่าผู้ที่มีวุฒิการศึกษาน้อยกว่า

สรุป

จากการศึกษาพฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัยโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล มีวัตถุประสงค์หลักคือ เพื่อระบุปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกที่พักอาศัยของผู้บริโภคโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมจากการเก็บข้อมูลประชากรที่ทำงานในเขตกรุงเทพฯและปริมณฑล จำนวนทั้งสิ้น 300 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่า ประชากรให้ความสำคัญกับที่พักอาศัยในด้านพลังงานและชั้นบรรยากาศ(Energy and Atmosphere) โดยมีค่าความแปรปรวนของความต่างทางด้านการศึกษาที่ตรงกัน จากค่าความแปรปรวนที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งในส่วนของบรรทัดฐานและพฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อม โดยผู้มีการศึกษาสูงส่งมีค่า Mean เฉลี่ยสูงสุดทั้ง2ส่วน เป็นสิ่งบ่งชี้ถึงประโยชน์ที่จะนำผลของงานวิจัยไปใช้ได้กับการให้ความสำคัญกับ การใช้พลังงานในภาคที่อยู่อาศัยเพื่อมุ่งเน้นและเพิ่มคุณภาพด้านพลังงานให้ตรงตามกลุ่มเป้าหมาย ทั้งที่เป็นผู้อยู่อาศัยและในสายงานการก่อสร้างที่พักอาศัยที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม พร้อมกับเพิ่มจำนวนตลาดอาคารเขียวให้เป็นกลุ่มที่กว้างอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

การวิเคราะห์พฤติกรรมของบุคคลจะแสดงเจตนาต่างๆที่เป็นการควบคุมแรงกระตุ้นที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมอยู่บนพื้นฐาน Theory of Planned Behavior(Ajzen, 1980) ได้ทำการวิจัยพฤติกรรมด้านสิ่งแวดล้อมการศึกษาและพบว่าตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมรับผิดชอบด้านสิ่งแวดล้อม ดังเช่นผลของงานวิจัยนี้ ที่ระบุค่านิยมที่ส่งผลต่อพฤติกรรมมนุษย์มากที่สุดในด้านสิ่งแวดล้อม(Biospheric) เช่นเดียวกับงานวิจัยในประเทศอาร์เจนตินาที่ได้กล่าวข้างต้นว่าค่า Biosphericเป็นตัวบ่งชี้ให้เกิดการยอมรับ และเกิดความตั้งใจที่จะลดการใช้รถยนต์ในอาร์เจนตินา ดังนั้นการมุ่งประเด็นในการศึกษาคุณค่า ความเชื่อ บรรทัดฐาน และพฤติกรรมการเลือกที่อยู่อาศัยโดยคำนึงถึงความยั่งยืนด้านสิ่งแวดล้อมจะช่วยให้สามารถเข้าในถึงรากฐานความคิดและบริบทที่จะแสดงออกต่อพฤติกรรมจนสามารถนำมาสร้างกรอบและแนวทางที่จะพัฒนาที่พักอาศัยที่คำนึงถึงความยั่งยืนได้อย่างตรงจุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้ร่วมตอบแบบสอบถาม ที่ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วง และขอขอบคุณสถาบันมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Ajzen, I. and Fishbein, M. (1980), Understanding Attitudes and Predicting Social Behavior, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Bandura, A.(1982). Self-efficacy mechanism in human agency. *American Psychologist*, 37, 122-147.

Bandura, A.(1991). Social cognitive theory of self-regulation.*Organizational Behavior and Human Decission Processes*, 50, 248-287

Stern, P.C. (2000), "Toward a Coherent Theory of Environmentally Significant Behaviour', **A Journal of Social Issues**, 56, 407-424.

Chen, Y.-S. 2010. The Drivers of Green Brand Equity: Green Brand Image, Green Satisfaction. And Green Trust. **Journal of Business Ethics, 93: 307-319**

John Grant. 1999. The New Marketing Manifesto: The 12 Rules for Successful Marketing in the 21st Century. Publisher Orion Business.

Peattie, K. 1995. **Environmental Marketing Management** (Pitman Publishing Corp., London, UK).

Porter, M. E., and van der Linde, C. 1995 Green and Competitive: Ending the Stalemate. **Harvard Business Review**, 73(5): 120-134.

AirDye. 2011 **Green is Gold-Consumers Want Eco-Friendly Products-Good For Business.** [Online]. Available From: http://blog. aiedye.com/goodforbusiness/2009/06/08/ green-is-gold/>.

Adriana Jakovcevic and Linda Steg (2013). **Sustainable transportation in Argentina: Values, beliefs, norms and car use reduction. [Onlin]** Journal homepage: www.elsevier.com/locate/trf

Golnaz, R., Phuah, K.T., Zainalabidin, M., Mod, N.S. 2013. Going Green:Survey of Perceptions and Intentions Among Malaysian Consumers. **International Business and Management.** pp. 104-112.

การฟื้นฟูทางชีวภาพดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว โดยใช้จุลชีพเฉพาะ

Bioremediation of Soil Contaminated with Used Lubricating Oil Using the Specific Microorganism

รัตนาภรณ์ สร้อยผาบ[1*] และ สุชาติ เหลืองประเสริฐ[1]

Rattanaporn Soypab[1*] and Suchat Leungprasert[1]

บทคัดย่อ

การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์จำเพาะ *Pseudomonas putida* TISTR1522 บำบัดดินปนเปื้อนน้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้วจากอู่ซ่อมรถ โดยทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ทรงกระบอกสูง 30 cm เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 10 cm ปริมาตร 2 L บรรจุดินได้ 1.5 kg ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 30 วัน การทดลองนี้เพื่อประเมินความสามารถของ *P. putida* ในการย่อยสลาย Total petroleum hydrocarbon (TPH) ในดิน ตัวแปรศึกษาคือ อัตราการเติมอากาศ และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน ในการทดลองมี 3 ชุด ได้แก่ ชุดที่ 1 ชุดการทดลองควบคุมใส่ดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่เติม *P. putida* ชุดที่ 2 ชุดการทดลองดินที่ผ่านฆ่าเชื้อในดินแล้วเติม *P. putida* ชุดที่ 3 ชุดการทดลองดินไม่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเติม *P. putida* ผลการศึกษาพบว่าชุดการทดลองที่ 3 ให้ประสิทธิภาพการย่อยสลาย TPH ในดินสูงสุดคือร้อยละ 31 ที่อัตราการเติมอากาศ 0.4 L/min และมีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 99 และพบว่าเมื่อมีการเติมสารอาหารโดยให้มีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 32 ให้ประสิทธิภาพการย่อยสลาย TPH เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 53 ที่อัตราการเติมอากาศ 0.4 L/min สรุปว่าในการย่อยสลายดินปนเปื้อนน้ำมันที่เหมาะสม ควรใช้ดินปนเปื้อนน้ำมันที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเติม *P. putida* ที่อัตราการเติมอากาศ 0.4 L/min และปรับอัตราส่วน C/N ให้เท่ากับ 32

ABSTRACT

The degradation of used lubricating oil-contaminated soil by the specific microorganism *Pseudomonas putida* TISTR1522 was studied. The 2 liter sealed cylinder reactors made by acrylic plastic with 30 cm height and 10 cm diameter were used. Each was filled with 1.5 kg of contaminated soil at room temperature. The experiments were carried out for 30 days. There were two variable parameters: aeration rates and carbon to nitrogen ratio. There were three experiments as: 1) control nonsterilized soil without adding *P. putida*, 2) sterilized soil and adding *P. putida* and 3) nonsterilized soil and adding *P. putida*. It was found that nonsterilized soil and adding *P. putida* gave the highest TPH removal efficiency of 31% at aeration rate of 0.4 L/min and the ratio of C to N of 99. The TPH removal efficiency could be increased to 53 % if it was adjusted the ratio of C to N to 32. In summary, this study showed that degradation of the oil-contaminated soil could be used as nonsterilized soil with add *P. putida* at aeration rate 0.4 L/min and adjusted the C/N ratio of 32.

Keyword: Bioremediation, lubricating oil, soil, *Pseudomonas putida*

*Corresponding author; e-mail address: rattanaporn.soy@gmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

น้ำมันหล่อลื่นหรือน้ำมันเครื่องถูกใช้ไปในยานพาหนะอุตสาหกรรมและกิจกรรมอื่นๆ ทำให้เกิดน้ำมันหล่อลื่นใช้แล้วเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก การปนเปื้อนน้ำมันเครื่องใช้แล้ว ส่วนใหญ่นั้นมาจากการเททิ้งลงดิน หรือท่อระบายน้ำหลังจากเปลี่ยนถ่ายน้ำมันเครื่อง การหกสะสมของน้ำมันเครื่องและผลิตภัณฑ์น้ำมันอื่นๆ ภายในบริเวณโรงงานอุตสาหกรรม น้ำเสียชุมชน ถนน หรือแหล่งอื่นเช่น อู่ซ่อมรถ ปั้มน้ำมัน จากนั้นก็ไหลลงสู่แหล่งน้ำใต้ดินในที่สุด (สารัฐ, 2541) นอกจากนี้กรมควบคุมมลพิษ (2558) รายงานว่ามีน้ำมันหล่อลื่นใช้แล้วเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก ปริมาณ 230 ล้านลิตรต่อปี เมื่อน้ำมันหล่อลื่นถูกใช้งานแล้ว คุณสมบัติของสารประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันหล่อลื่นจะเปลี่ยนไป โดยประกอบด้วยสารอินทรีย์ประเภทไฮโดรคาร์บอน สารตัวทำละลาย โลหะหนัก การถ่ายเททิ้งและกำจัดอย่างไม่ถูกวิธีจะทำให้เกิดการปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม สัตว์ พืช และมนุษย์ (Rank and Lawrence, 2013) ในการบำบัดสารไฮโดรคาร์บอนในดินมีหลายวิธี ได้แก่ ด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ โดยกระบวนการเหล่านี้มีทั้งข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามการบำบัดทางชีวภาพเป็นอีกทางเลือกที่นำมาย่อยสลายหรือบำบัดสารไฮโดรคาร์บอน เนื่องจากจะไม่เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถประยุกต์ใช้ได้กับพื้นที่ขนาดใหญ่ และที่สำคัญนั้นเทคนิคการบำบัดทางชีวภาพมักจะประหยัดมากกว่า การฟื้นฟูทางกายภาพและทางเคมี การบำบัดทางชีวภาพจะใช้จุลินทรีย์ทางธรรมชาติที่เกิดขึ้น ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรียและราหรือพืช เพื่อลดหรือกำจัดสารไฮโดรคาร์บอน (González *et al.*, 2008) โดยสิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนในกระบวนการเมแทบอลิซึม Coulon *et al.* (2005) ศึกษาการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในดิน ที่มีความเข้มข้น 28.53 และ 27.33 mg ตามลำดับ ในภาชนะขนาด 27 x 24 x 13 cm และปรับความชื้น 40% พบว่าปริมาณไฮโดรคาร์บอนในรูปของ alkane ลดลง 77- 95% และ polycyclic aromatic hydrocarbon ลดลงเท่ากับ 80% ภายในเวลา 180 วัน การศึกษาการบำบัดดินปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอนทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์นั้นมีมากมาย อย่างไรก็ตามซึ่งต้องใช้เวลาในการย่อยสลายค่อนข้างนาน ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนให้เป็นไปอย่างรวดเร็ว จำเป็นต้องมีการใช้จุลินทรีย์เฉพาะที่สามารถย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาหาแนวทางในบำบัดดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องใช้แล้วจากอู่ซ่อมรถ โดยใช้จุลินทรีย์เฉพาะ *Pseudomonas puti*da TISTR1522 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนของน้ำมันเป็นแหล่งคาร์บอนหลักที่สำคัญในการเจริญเติบโต แต่อย่างไรก็ตามเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย จำเป็นต้องควบคุม ออกซิเจน และธาตุอาหารที่สำคัญ เช่น ไนโตรเจน ให้เหมาะสม Vasudevan และ Rajaram (2001)กล่าวไว้ว่าการเติมสารอาหาร หรือออกซิเจนร่วมกับการเติมจุลินทรีย์จะให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเพิ่มขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมและการเติมสารอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์เฉพาะ ซึ่งวิธีนี้อาจจะช่วยลดปัญหาเกี่ยวกับระบบนิเวศและลดต้นทุนในการใช้สารเคมีลงได้ โดยข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้ สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาบำบัดดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน โดยใช้จุลิทรีย์และมีการดำเนินการที่เหมาะสมซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากในการลดการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศหรือการใช้เทคโนโลยีอื่นๆที่มีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่า

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างดินในการทดลอง

ตัวอย่างดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วที่นำมาทำการทดลองเป็นดินที่มาจากอู่ซ่อมรถ ในตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยเก็บตัวอย่างดินที่ความลึก 15 cm หลังจากนั้นนำตัวอย่างดินมาผึ่งในที่ร่มเป็นเวลา 16 ชม. ให้แห้ง แล้วทำการร่อนผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 10 (Sieved) ขนาด < 2 ml เพื่อเอาเศษหินออก แล้วจึงเก็บตัวอย่างดินไว้ในตู้เย็นยี่ห้อ Sasco Micro colltroller ที่อุณหภูมิ 4 °C โดยวิเคราะห์ลักษณะเนื้อดินส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และส่วนการวิเคราะห์พารามิเตอร์อื่นๆ ดังตารางที่ 1

Table1 Physico-chemical and Microbiological Characterization of the soil

Parameter	Method
pH	pH meter
Moisture Content (%)	Dry at 105°C
TPH (mg/kg soil)	Soxhlet extraction
Organic Carbon (%)	Total Organic carbon Analyzer; TOC
Total Nitrogen (%)	Acid digestion/ spectrometric method
HUB (CFU/g soil)	Standard Plate count/ spread plate method

Note: TPH=Total Petroleum Hydrocarbon, HUB= Hydrocarbon Utilizing Bacteria

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เฉพาะ

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ โดยนำเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Pseudomonas putida* TISTR1522 ที่ได้รับมาจากสถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดยถ่ายเชื้อจากอาหารแข็งลาดเอียงที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24 ชม. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml ที่มีอาหารเหลวสูตร MSM (mineral salt medium) 100 ml ที่มีน้ำมันเครื่องใช้แล้ว 1% เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มเชื้อโดยเขย่าด้วยความเร็ว 140 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชม. หลังจากนั้นถ่ายเชื้อ 10% ลงในอาหารใหม่และทำการเลี้ยงตามวิธีเดิมอีก 3 ครั้ง (ดัดแปลงจาก Al-Sharidah, 2000) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงแยกเอาเซลล์จุลินทรีย์ออกที่ความเร็ว 7,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 15 min หลังจากน้ำเกลือปลอดเชื้อ (NaCl 0.85%) แล้วเตรียมเซลล์ suspension ด้วยน้ำเกลือปลอดเชื้อให้มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 10^{10} CFU/ml

ลักษณะถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ถังปฏิกรณ์เป็นถังที่ทำจากพลาสติกชนิดอะคลิลิกปิดสนิท มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกสูง 30 cm เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 10 cm โดยถังปฏิกรณ์มีปริมาตร 2 L สามารถบรรจุดินได้ 1.5 kg มีการเติมอากาศผ่านน้ำเข้าสู่ด้านล่างของถังเพื่อควบคุมความชื้นภายในถัง และมีจุดเก็บตัวอย่างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ด้านบนของถัง (Figure 1)

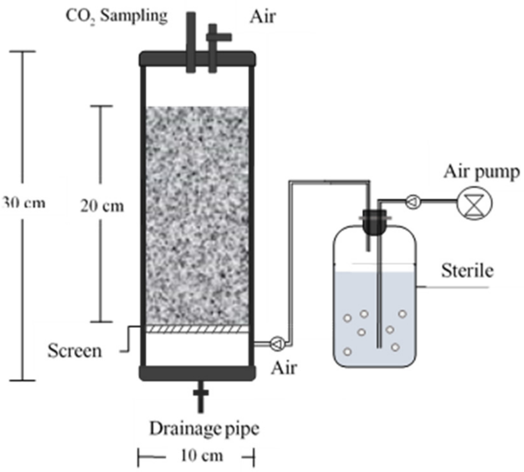


Figure 1 Scheme of aerobic reactor of the experimental system

การทดสอบความสามารถของเชื้อ *Pseudomonas putida* TISTR1522 ในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

การศึกษาการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในดินโดยใช้ *Pseudomonas putida* TISTR1522 แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วนดังนี้ การศึกษาการเติมอากาศที่เหมาะสมและการศึกษาอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสม

การศึกษาอัตราการเติมอากาศต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของ *P. putida*

ในการทดลองแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด แต่ละชุดใช้ดิน 1.5 kg ที่ปรับให้มีความชื้นดินให้ 25% (v/w) (Vidali, 2001) ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (121 ºC, 15 min) โดยการเตรียมดินแต่ละชุดการทดลองเป็นดังนี้

ชุดที่ 1 ชุดการทดลองควบคุมคือดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่เติม *P. putida*

ชุดที่ 2 ดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ºC เป็นเวลา 15 min จากนั้นปล่อยเย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วเติม *P. putida* เริ่มต้น 10^{10} CFU/ml ปริมาตร 15 ml ให้มีปริมาณเชื้อ 10^{8} CFU/g soil

ชุดที่ 3 ดินที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเติม *P. putida* เริ่มต้น 10^{10} CFU/ml ปริมาตร 15 ml ให้มีปริมาณเชื้อ 10^{8} CFU/g soil

การเติมอออกซิเจนในการทดลองโดยใช้ปั๊มเติมอากาศด้วยอัตรา 0.2 L/min และ 0.4 L/min (จรงพันธ์, 2556) ในทุกชุดการทดลอง ทำการทดลองชุดละ 2 ซ้ำ ทำการควบคุมความชื้นตลอดการทดลองโดยการเติมอากาศผ่านน้ำที่มีการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว

การศึกษาการปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของ *P. putida*

การปรับอัตราส่วนความเข้มข้นระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน (C/N) ในดิน โดยใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจน (นฤมล, 2552) ให้ดินมีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 9 หรือ 20 หรือ 32 และดินชุดควบคุม (ไม่เติม $(NH_4)_2SO_4$ มีค่า C/N ratio เท่ากับ 99) แล้วทำการเตรียมดินเป็น 3 ชุดการทดลองเหมือนกันกับการศึกษาอัตรา

การเติมอากาศ โดยเลือกอัตราการเติมอากาศที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนสูงสุดที่ได้จากการทดลองข้างต้น ในทุกชุดการทดลอง และทำการทดลองชุดละ 2 ซ้ำ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลักษณะของดิน

ลักษณะสมบัติของดินปนเปื้อนน้ำมันที่นำมาใช้ในการทดลอง ดินมีลักษณะมีสีน้ำตาลปนดำ มีลักษณะเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) จากการตรวจวัดค่า pH พบว่ามีค่า 7.04 ซึ่งมีค่าเป็นกลางแสดงว่าค่า pH มีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Ashok and Saxena, 1995) มีค่าความชื้น 10.5% ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์จึงจำเป็นต้องมีการเติมน้ำเพื่อเพิ่มความชื้นในดินระหว่างการทดลอง ค่าความเข้มข้นของน้ำมันที่ปนเปื้อนในดินในรูป TPH เท่ากับ 30,196 mg/kg soil (dry wt) องค์ประกอบคาร์บอนเท่ากับ 39,700 mg/kg soil (dry wt) (3.97%) มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 442 mg/kg soil (dry wt) (0.04%) โดยเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วน C/N พบว่ามีค่าเท่ากับ 99 และจากผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้ไฮโดรคาร์บอนมีจำนวน 2.1x 10^4 CFU/g

ผลการศึกษาอัตราการเติมอากาศต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของ *P. putida*

การย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนโดยเติมจุลินทรีย์สายพันธุ์ *P. putida* สำหรับ TPH ในดินมีความเข้มข้นเท่ากับ 29,178 –31,520 mg/kg soil มีดินปนเปื้อนน้ำมันทั้งหมด 3 ชุดการทดลอง เมื่อเติมอากาศพบว่าการเติมอากาศ 0.2 L/min ทำให้ปริมาณ TPH ในดินลดลง 3,669 , 6,427และ 8,181 mg/kg soil คิดเป็น 12.6, 20.5 และ 27.3 % ตามลำดับ ส่วนการเติมอากาศ 0.4 L/min ปริมาณ TPH ในดินลดลง 4,355, 7,119 และ 9,382 mg/kg soil โดยคิดเป็น 14.4, 22.6 และ 31.2% ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าการเติมอากาศ 0.4 L/min ทำให้เกิดการย่อยสลาย TPH ได้ดีกว่าการเติมอากาศ 0.2 L/min ในดินทั้ง 3 ชุดการทดลอง เนื่องจากจุลินทรีย์ในดินมีการใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน เพื่อใช้ในการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอน ดังนั้นเมื่อมีการเติมอากาศที่มากขึ้นจะทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้อากาศมากจึงเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลาย TPH เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Kao *et.al.* (2005) ศึกษาผลออกซิเจนละลายน้ำต่อการย่อยสลาย pentochlorophenol ของ *Psuedomonas mendosina* พบว่าเมื่อปริมาณออกซิเจนต่ำเชื้อ *P. mendosina* จะใช้ออกซิเจนหมดอย่างรวดเร็ว และหลังจากนั้นการย่อยสลายจะเกิดขึ้นช้ามาก ซึ่งจุลินทรีย์ในดินส่วนมากเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน โดยใช้ออกซิเจนหายใจและออกซิไดซ์สารต่างๆ ทำให้กิดการย่อยสลายและการเปลี่ยนแปลงของอินทรีย์วัตถุอย่างรวดเร็ว การย่อยสลายน้ำมันเกิดขึ้นได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งจะเกี่ยวข้องโดยตรงกับการออกซิเดชันของจุลินทรีย์ เมื่อพิจารณาชุดการทดลองดินที่ฆ่าเชื้อแล้วเติม *P. putida* พบว่าเมื่อเติมอากากาศ 0.2 L/min ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก log 8.14 เป็น log 8.82 และเติมอากาศ 0.4 L/min ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก log 8.34 เป็น log 9.27 แสดงว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ *P. putida* เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตและย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน ซึ่งสามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนในดินเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ เช่นเดียวกับดินที่ไม่ฆ่าเชื้อแล้วเติม *P. putida* เมื่อเติมอากาศที่ 0.4 L/min ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก log 8.11 เป็น log 9.39 และมีการย่อยสลาย TPH ได้มากกว่าเติมอากาศที่ 0.2 L/min ดังนั้นออกซิเจนในดินจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และในการย่อยสลาย TPH ให้เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Grishkenkov *et.al.* (2000) ได้

ศึกษาจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas sp.* BS2201 และ *Breibacillus sp.* BS2202 ที่แยกมาจากดินปนเปื้อนน้ำมัน ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน หลังจาก 10 วัน พบว่าในสภาวะที่มีออกซิเจนสามารถย่อยสลาย alkane (C10 – C35)ได้ 90-95% ส่วนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถย่อยสลาย alkane ได้ 20 – 25% ออกซิเจนจึงเป็นปัจจัยจำกัดสำหรับอัตราเร็วในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในดิน ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ออกซิเจนในอากาศ ชนิดของดิน ปริมาณน้ำ ที่อยู่ในดินด้วย อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการย่อยสลาย TPH ในดินของ *P. putida* นั้นสามารถย่อยสลาย TPH ได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่มีอยู่ในดินชุดการทดลองควบคุม ส่วนชุดการทดลองที่ไม่ฆ่าเชื้อและเติม *P. putida* มีประสิทธิภาพการบำบัด TPH ดีที่สุด จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่านอกจากออกซิเจนแล้ว จุลินทรีย์ยังต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ เพื่อย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอน ซึ่งสอดคล้องกับ Vasudevan และ Rajaram (2001) ศึกษาการย่อยสลาย sludge oil ปนเปื้อนในดินโดยการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียผสม เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมัน 40%

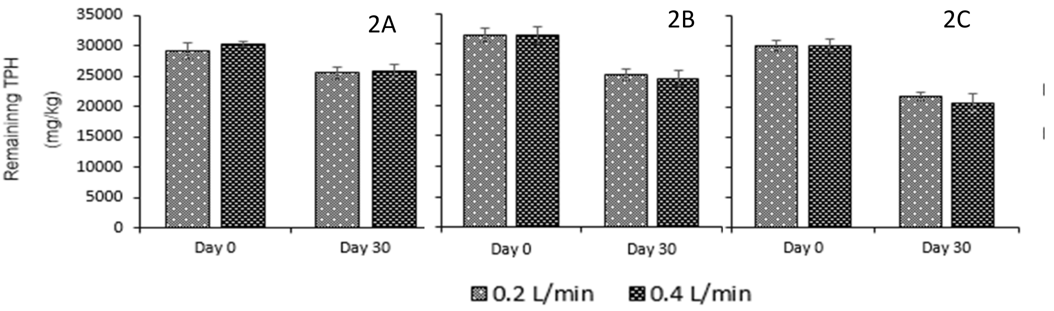


Figure 2 Effect of aeration on degradation of used lubricating oil

Note: nonsterilized soil + no *P. putida* (2A), sterilized soil + *P. putida* (10^8 CFU/g) (2B) and nonsterilized soil + *P. putida* (10^8 CFU/g (2C)

ผลการศึกษาการปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของ *P.putida*

การทดลองหาประสิทธิภาพการสลายไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ โดยปรับ C/N ratio โดยใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจน เมื่อมีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ พบว่าในดินมีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 9, 20, 32 และ 99 ผลการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่ดินไม่ฆ่าเชื้อและไม่เติม *P. putida* ปริมาณ TPH ในดินลดลง 7,222, 7,918, 7,509 และ 5,133 คิดเป็น 23.9, 26.3, 24.2 และ 17.4% ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อและเติม *P. putida* ปริมาณ TPH ในดินลดลง 8,217, 11,336, 12, 824 และ 7,669 คิดเป็น 26.1, 36.5, 43.1 และ 27.9% ตามลำดับ และในส่วนชุดการทดลองที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อและเติม *P. putida* ปริมาณ TPH ลดลง 9,534, 11,336, 12,824 และ 9,152 คิดเป็น 30.4, 41.8, 52.5 และ 29.6% ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าเมื่อมีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ เพื่อปรับอัตราส่วน C/N ในดินแล้วประสิทธิภาพการย่อยสลาย TPH สูงกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่มีการปรับอัตราส่วน C/N แสดงว่าการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนจะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยสลาย TPH เพิ่มขึ้น โดยที่การเติมแหล่งไนโตรเจนลงในดินที่มีการปนเปื้อนจะช่วยให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้น ซึ่งจุลินทรีย์จะนำสารเหล่านี้ไปใช้ในการสร้างองค์ประกอบของเซลล์ในการเพิ่มจำนวน เป็นการบ่งบอกถึงการเพิ่มกิจกรรมการย่อย

สลายน้ำมันที่รวดเร็วขึ้น (Song and Beatha,1990) ซึ่ง ในดินที่มีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 32 จะทำให้ประสิทธิภาพย่อยสลาย TPH ได้สูงสุดในดินชุดการทดลอง รองลงมาคือดินที่มีอัตราส่วน C/N 20, 9 และ 99 ตามลำดับ ยกเว้นชุดการทดลองดินที่ไม่ฆ่าเชื้อและไม่เติม *P. putida* ซึ่งในดินที่มีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 20 มีประสิทธิภาพย่อยสลาย TPH ได้สูงสุด รองลงมาคือดินที่มีอัตราส่วน C/N 32, 9 และ 99 ตามลำดับ จากผลชี้ให้เห็นได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลาย TPH ของจุลินทรีย์ P. putida ในดินคือ อัตราส่วน C/N เท่ากับ 32 ซึ่งสัมพันธ์กับผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์พบว่า ชุดการทดลองดินที่ฆ่าเชื้อและเติม *P. putida* ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก log 8.09 เป็น log 9.33 ชุดการทดลองดินที่ไม่ฆ่าเชื้อและเติม *P. putida* ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก log 8.12 เป็น log 9.87 ซึ่งสอดคล้องกับ จิตติมา (2551) ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในดิน ได้เสนอว่าเมื่อปรับอัตราส่วน C/N เท่ากับ 300 : 10 :1 สามารถย่อยสลายน้ำมันในดินได้ถึงร้อยละ 98 หลังจาก 30 พบว่าในดินที่มีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 32 แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเมื่อเติมไนโตรเจนในดินมากขึ้น คือดินที่มีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 9 และ 20 จะส่งผลให้ปริมาณการย่อยสลาย TPH ในดินลดลงเมื่อเทียบกับดินที่มีดินที่มีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 32 เนื่องจากการการเติม $(NH_4)_2SO_4$ มากเกินไปส่งผลให้ความเป็นด่างเพิ่มขึ้น ทำให้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

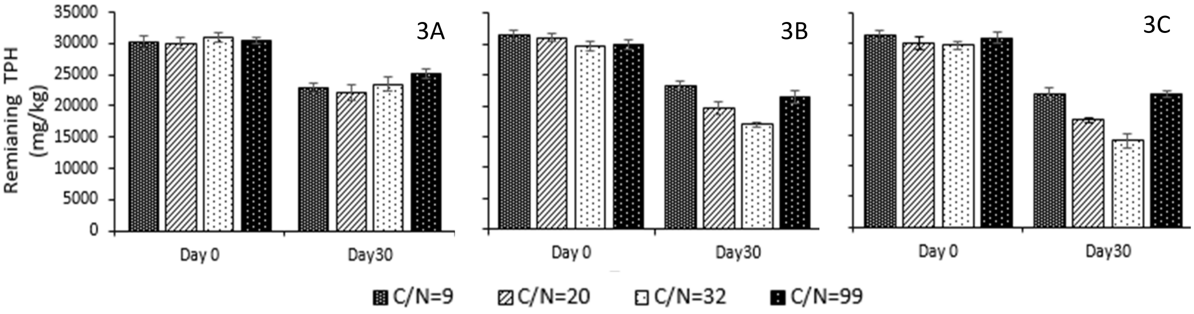


Figure 3 Effect of C/N ratio on degradation of used lubricating oil

Note: nonsterilized soil + no *P. putida* (3A), sterilized soil + *P. putida* (10^8 CFU/g) (3B) and nonsterilized soil + *P. putida* (10^8 CFU/g) (3C)

สรุป

การย่อยสลาย TPH ในดินปนเปื้อนน้ำมันจากอู่ซ่อมรถของเชื้อ *P. putida* อัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมคือ 0.4 L/min และสัดส่วนสารอาหารที่เหมาะสมคือ C/N เท่ากับ 32 โดยใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจน และข้อมูลในการทดลองนี้เหมาะแก่การศึกษาการนำกล้าเชื้อมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์ทุนสนับสนุนงานวิจัย และใช้ห้องปฏิบัติการเป็นสถานที่ปฏิบัติการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2558. **อันตรายจากน้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้ว.** แหล่งที่มา: http://www.pcd.go.th/info_serv/haz_lubri.html, 26 สิงหาคม 2558.

จรงพันธ์ มุสิกะวงศ์. 2556. **การจัดการของเสียอันตราย.** สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 339 หน้า

จิติมา แก้วเรือง. 2551. **การแยกและคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วและการประยุกต์ใช้ในดิน.**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นฤมล มีบุญ. 2552. **การเร่งการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วในดินสภาพของเหลวเปียก โดยการเติมจุลินทรีย์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สารัฐ ประไพ. 2541.**บทนำคราบปัญหาน้ำมันในอ่าวไทย, น. 1-4.** ใน เอกสารประกอบการสัมนา แนวทางการจัดการคราบน้ำมันในอ่าวไทยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Al-Sharidah, A., A. Richardt, J. R. Golecki, R. Dierstein and M. H. Tadros. (2000). Isolation and characterization of two hydrocarbon degrading Bacillus subtilis strains from oil contaminated soil of Kuwait. **Microbiological research.**155: 157-164.

Ashok, B. T., and S. Saxena. 1995. Biodegradation of polycyclic-a review. J. **Sci. Ind. Res.** 54:443-451.

Colon,F., E. Pelletier, L. Gourhant and D. Delile. 2005. Effect of nutrient and temperature on degration of petroleum hydrocarbon in contaminated Sub-Antartic soil. **Chemosphere.** 58:1439-1448.

Dave, H., C. Ramakrishna, B.D. Bhatt and J.D. Desai. 1994. Biodegradation of slope oil from petroleum industry and bioreclamatiom of slop oil contaminated soil. **World J. Microbial. Biotechnal.** 10:653-656.

Grishchenkov, V.G., R.T. Townsend, T.J. Macdonold, R.L. Autenrieth, J.S. Bonner and A.M. boramin. 2000. Degradation of petroleum hydrocarbons by facultative anaerobic under anaerobic and aerobic condition**. Procees biochemistry**. 35 : 889 - 896

González, I.V.R., Fava F and Varaldo H.M.P. 2008. A review on slurry bioreactors for bioremediation of soils and sediments**. Microbial Cell Factories** 7(5).

Kao, C.M., J.K. Liu., Y.L. Chen., C.T. Chai and S.C. Chen. 2005. Facctor effecting the biodegradation of PCP by *Psuedomonas mendocina* NSYSU. **J. Hazard. Mater.** B 124:68-73

Rank, I.L. and I. Lawrence. 2013. Effects of crude oil spillage on soil physico-chemical properties in ugborodo community. **IJMER**. 3: 3336-3342.

Song, H Ga. and R. Bartha. 1990. Effect of jet fuel sprill on the microbial community of soil. App. **Environ. Microbiol.** 56 : 646-651.

Vasudevan, N. and P. Rajaram. 2001. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. **Environment International.** 26 : 409-411.

Vidali, M. 2001. Bioremediation. An overview. **Pure Appl Chem.** 73:1163–1172.

การเปรียบเทียบการโหลดโมดูลโปรแกรมประยุกต์รูปแบบอีแอลเอฟบนไมโครคอนโทรลเลอร์อาร์มคอร์เท็กเอ็ม 7

Comparison of ELF Application Module Loading on ARM Cortex-M7 Microcontroller

เดชาวัต ศรีสายหยุด[1*] และ ณัฐวุฒิ ขวัญแก้ว[1]

Dechawat Srisaiyud[1*] and Natavut Kwankeo[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปรียบเทียบการโหลดโมดูลโปรแกรมประยุกต์รูปแบบ ELF (Executable and Linking Format) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบโปรแกรมประยุกต์ 2 โปรแกรมได้แก่ โปรแกรมไฟกระพริบและโปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์โดยใช้ Lwip ทำการคอมไพล์โปรแกรมเป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable และ Executable โดยใช้หัวข้อการเปรียบเทียบ 4 หัวข้อ ได้แก่ ขนาดของโปรแกรมบนหน่วยความจำ, เวลาที่ใช้ในการโหลดโปรแกรม, พลังงานที่ใช้ในการโหลดโปรแกรม และข้อจำกัดในการเขียนโปรแกรม ซึ่งผลจากการเปรียบเทียบพบว่าเมื่อคอมไพล์โปรแกรมไฟกระพริบเป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable และ Relocatable จะมีขนาดโปรแกรมบนหน่วยความจำเท่ากันทั้ง 2 ชนิด ส่วนโปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์โดยใช้ Lwip ชนิด Executable มีขนาดโปรแกรมบนหน่วยความจำประเภทอ่านอย่างเดียวและบนหน่วยความจำประเภทอ่านและเขียนมากกว่าชนิด Relocatable อยู่ 7.32% และ 1.12% ตามลำดับ แต่ทั้ง 2 โปรแกรมที่คอมไพล์เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable จะใช้พลังงานและเวลาในการโหลดโมดูลน้อยกว่าโปรแกรมเดียวกันที่คอมไพล์เป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable โดยโปรแกรมไฟกระพริบจะใช้เวลาในการโหลดน้อยลง 56.44% และใช้พลังงานลดลง 71.72% และโปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์โดยใช้ Lwip จะใช้เวลาในการโหลดน้อยลง 99.20% และใช้พลังงานลดลง 99.19%

ABSTRACT

The study on comparison of application module loading in the ELF format was planned to compare an ELF application module loading between the Relocatable and Executable composed of 4 issues, code size in memory, load time, energy-consumption and programming limitations, by using 2 applications, the LED Blink and the LwIP webserver application. The experimented results showed that ELF Relocatable and Executable type of the LED Blink application had the same code size, while the code size in ROM and RAM of LwIP webserver application in Executable type was 7.32% and 1.12% larger than Relocatable type, respectively. But the load time and energy-consumption of both applications which compiled in the ELF Executable type were lower than the same application which compiled in the ELF Relocatable type. The load time and energy-consumption of the LED Blink application was reduced by 56.44% and 71.72%, respectively, and the LwIP webserver application was reduced by 99.20% and 99.19%, respectively.

Key Words: elf, application loader, microcontroller, arm

*Corresponding author; e-mail address: **dechawat.fs@gmail.com**

[1]ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ปัจจุบันการโหลดโมดูลโปรแกรมประยุกต์ถูกนำมาใช้งานในระบบปฏิบัติการสำหรับไมโครคอนโทรลเลอร์มากมาย เช่น Contiki (Adam Dunkels et al., 2004), RETOS (Hojung Cha et al. 2007), และ LiteOS (Qing Cao et al. 2008) เป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่จะเน้นไปที่การพัฒนาระบบเครือข่ายเซ็นเซอร์แบบไร้สาย (Wireless Sensor Network) เพื่อให้สามารถติดตั้งซอฟต์แวร์ให้กับโหนดเซ็นเซอร์ (Sensor node) เพิ่มเติมภายหลังได้โดยไม่ต้องถอดโหนดเซ็นเซอร์ออกจากระบบ แต่เนื่องจากข้อจำกัดที่สำคัญของไมโครคอนโทรลเลอร์คือไม่มีหน่วยจัดการหน่วยความจำ (MMU) เป็นเหตุให้ระบบการโหลดโมดูลบนไมโครคอนโทรลเลอร์นั้นนิยมใช้ไฟล์มาตรฐาน ELF ชนิด Relocatable เป็นโมดูลโปรแกรมประยุกต์ (Hojung Cha et al. 2007) ซึ่งทำได้ง่าย ไม่มีข้อจำกัดในด้านการเขียนโปรแกรม ใช้ได้กับไมโครคอนโทรลเลอร์ทุกชนิด และสามารถกำหนดตำแหน่งของโปรแกรมได้อย่างอิสระ เพราะไมโครคอนโทรลเลอร์ต้องทำหน้าที่เชื่อมโยงโปรแกรมเองขณะทำงาน (Run-time linking) (Adam Dunkels et al., 2004) แต่ถ้าโปรแกรมมีความซับซ้อนมากก็ต้องใช้เวลาในการเชื่อมโยงโปรแกรมมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่สำหรับไมโครคอนโทรลเลอร์ที่ใช้ระบบปฏิบัติการแบบเวลาจริง (Real-time Operating System) เช่น ARM Cortex-M3, M4 และ M7 นั้น จะมีประสิทธิภาพสูงกว่าไมโครคอนโทรลเลอร์สำหรับเครือข่ายเซ็นเซอร์แบบไร้สายมาก ซึ่งเพียงพอที่จะสามารถทำระบบโหลดโมดูลไฟล์ ELF ชนิด Executable ภายใต้ข้อจำกัดบางชนิดได้ เป็นผลให้ไมโครคอนโทรลเลอร์สามารถโหลดโมดูลที่มีความซับซ้อนมากได้อย่างรวดเร็ว จากการศึกษาของผู้วิจัยพบว่าสามารถโหลดโมดูลไฟล์มาตรฐาน ELF ชนิด Executable ให้ใช้งานได้โดยอาศัยการคอมไพล์โปรแกรมเป็นให้มีคุณสมบัติเป็น PIC (Position Independent Code) และแก้ไข GOT (Global Offset Table) ก่อนโปรแกรมเริ่มทำงาน ซึ่งไม่จำเป็นต้องดัดแปลงคอมไพเลอร์เลย แต่ยังคงมีข้อจำกัดบางอย่างอยู่เช่นกัน

โปรแกรมที่อยู่ในรูปแบบไฟล์ ELF จะมีการแบ่งเป็นกลุ่มหลาย ๆ กลุ่มเรียกว่า Section โดยแต่ละ Section จะมีส่วนหัวที่มีข้อมูลของ Section นั้น ๆ อยู่เรียกว่า Section Headers ซึ่งไฟล์ ELF ชนิด Relocatable เป็นโปรแกรมที่ยังไม่มีตำแหน่งหน่วยความจำ โปรแกรมในแต่ละ Section ยังคงแยกออกจากกันอย่างอิสระ (TIS Committee., 1995) ส่วนของโปรแกรมใดที่มีการเข้าถึงตำแหน่งหน่วยความจำ จะอ้างอิงไปที่หน่วยความจำตำแหน่งที่ 0 ทั้งหมด พร้อมทั้งระบุส่วนของโปรแกรมที่ต้องแก้ไขภายหลังนี้ไว้ในรูปของ Relocation Entry โดยจำนวน Relocation Entry จะขึ้นอยู่กับจำนวนของการเรียกฟังก์ชั่น, จำนวนของการเข้าถึงตัวแปรโกลบอล (Global variable) และค่าคงที่ในโปรแกรมรวมกัน ดังนั้นก่อนจะใช้งานโปรแกรมที่อยู่ในรูปของไฟล์ ELF ชนิด Relocatable จะต้องกำหนดตำแหน่งของหน่วยความจำให้แต่ละ Section แล้วทำการแก้ไขส่วนของโปรแกรมที่มีการเข้าถึงตำแหน่งหน่วยความจำตามที่ Relocation Entry ระบุไว้ให้ถูกต้องทั้งหมด เรียกกระบวนการนี้ว่าการทำ Relocation Section (TIS Committee., 1995) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ใช้เวลาในการโหลดนาน ส่วนไฟล์ ELF ชนิด Executable จะมีตำแหน่งหน่วยความจำแล้วและพร้อมใช้งาน จึงไม่มี Relocation Entry ในไฟล์ ELF ชนิด Executable ดังนั้นการจะคอมไพล์โปรแกรมให้เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable ควรจะทราบตำแหน่งที่แน่นอนของหน่วยความจำที่โปรแกรมจะถูกโหลดเข้าไป ซึ่งปกติไฟล์ ELF ชนิด Executable ทุกโปรแกรมจะใช้ตำแหน่งหน่วยความจำตำแหน่งเดียวกันคือ 0x8000 เสมอ (ARM, 2010) แล้วอาศัยหน่วยจัดการหน่วยความจำที่อยู่ในหน่วยประมวลผลกลางในการจำลองตำแหน่งหน่วยความจำเสมือน (Virtual Address) ให้แต่ละโปรแกรม

ทำงานได้ถูกต้องเสมือนว่าถูกโหลดลงไปในหน่วยความจำตำแหน่งนั้นจริง ๆ แต่ในไมโครคอนโทรลเลอร์นั้นไม่มีหน่วยจัดการหน่วยความจำ จึงต้องโหลดโปรแกรมไปยังหน่วยความจำตำแหน่งที่ต่างกันไป โดยไม่มีทางคาดการณ์ได้ว่าโปรแกรมใดจะถูกโหลดไปอยู่ในตำแหน่งใด เป็นผลให้ปกติไมโครคอนโทรลเลอร์รองรับการโหลดโปรแกรมได้แค่ครั้งละ 1 โปรแกรม แต่ในไมโครคอนโทรลเลอร์สมัยใหม่มักรองรับโปรแกรมที่มีคุณสมบัติเป็น PIC ทำให้โปรแกรมส่วนที่มีการเข้าถึงตำแหน่งหน่วยความจำจะเข้าถึงผ่านตัวกลางตัวหนึ่งคือ GOT ก่อนเพื่อขอตำแหน่งหน่วยความจำที่ต้องการเข้าถึง (TIS Committee., 1995; ARM, 2010) เป็นผลให้โปรแกรมมีขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อย ซึ่ง GOT จะมีลักษณะเป็นตัวแปรอาร์เรย์ (Array) และเก็บตำแหน่งหน่วยของความจำของโปรแกรมแต่ละส่วนไว้ทั้งหมด จึงสามารถทำการแก้ไขตำแหน่งหน่วยความจำใน GOT ใหม่เพื่อให้โปรแกรมทำงานได้ถูกต้อง โดยการเพิ่มส่วนต่างของตำแหน่งหน่วยความจำที่โปรแกรมนั้นถูกโหลดลงไปให้กับตำแหน่งที่อยู่ใน GOT ทุกตัว ก่อนที่จะเริ่มการทำงานของโปรแกรม

งานวิจัยนี้ได้เสนอและประเมินผลกลไกการโหลดโมดูลไฟล์มาตรฐาน ELF ชนิด Executable บนไมโครคอนโทรลเลอร์ โดยแสดงให้เห็นถึงข้อแตกต่างระหว่างการโหลดโมดูลที่คอมไพล์เป็นไฟล์มาตรฐาน ELF ทั้ง 2 ชนิดคือ Relocatable กับชนิด Executable ในหัวข้อต่าง ๆ ได้แก่ ขนาดของโปรแกรม, พลังงานและเวลาที่ใช้ในการโหลด และ ข้อจำกัดต่าง ๆ ซึ่งทำการทดสอบบนฮาร์ดแวร์จริงด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์สถาปัตยกรรม ARM Cortex-M7 เบอร์ STM32F746NG ของบริษัท STMicroelectronics และผลลัพธ์ของงานวิจัยนี้ อาจใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาระบบการเชื่อมโยงแบบพลวัต (Dynamic Linking) บนไมโครคอนโทรลเลอร์ที่ใช้ระบบปฏิบัติการแบบเวลาจริงได้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเลือกบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์

ผู้วิจัยเลือกใช้บอร์ด 32F746GDISCOVERY ของบริษัท STMicroelectronics (2015) เนื่องจากมีหน่วยความจำประเภทอ่านและเขียนภายนอก (External SDRAM) จำนวน 128Mbits, มีช่องเสียบสาย Ethernet ตามมาตรฐาน IEEE-802.3-2002 และสามารถรับแหล่งจ่ายไฟแรงดัน 5 V จากภายนอกได้

การคอมไพล์โปรแกรมเป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable สำหรับ ARM Cortex-M7

การคอมไพล์โปรแกรมให้เป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable สำหรับ ARM Cortex-M7 จะใช้เครื่องมือคอมไพเลอร์ *arm-none-eabi-gcc* ที่อยู่ในชุดเครื่องมือ GNU Tools for ARM Embedded Processors 2.24.0.20150921 และกำหนด Option ให้คอมไพเลอร์ดังนี้

-mcpu=cortex-m7 -mlittle-endian -mthumb -mfpu=fpv5-sp-d16 -mfloat-abi=hard -r -fno-common

การคอมไพล์โปรแกรมเป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable สำหรับ ARM Cortex-M7

การคอมไพล์โปรแกรมให้เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable สำหรับ ARM Cortex-M7 จะใช้เครื่องมือคอมไพเลอร์ *arm-none-eabi-gcc* เช่นเดียวกับ ELF ชนิด Relocatable และกำหนด Option ให้คอมไพเลอร์ดังนี้

-mcpu=cortex-m7 -mlittle-endian -mthumb -mfpu=fpv5-sp-d16 -mfloat-abi=hard -fpic -fPIC

การเลือกโปรแกรมที่ใช้ในการเปรียบเทียบ

โปรแกรมที่ใช้ในการเปรียบเทียบต้องมีจำนวน Relocation Entry ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน สามารถดูจำนวน Relocation Entry ได้โดยใช้เครื่องมือ *arm-none-eabi-readelf* ที่อยู่ในชุดเครื่องมือ GNU Tools for ARM Embedded Processors 2.24.0.20150921 อ่านค่าจาก Relocation Section Header

ผู้วิจัยได้เลือกโปรแกรมที่ใช้ในการทดสอบมา 2 โปรแกรมจากโปรแกรมตัวอย่างที่อยู่ในโปรแกรมตัวอย่าง STM32CubeF7 จากบริษัท STMicroelectronics และทำการปรับปรุงให้เรียบง่าย ได้แก่

1.) โปรแกรมไฟกระพริบ มีจำนวน Relocation Entry 7 จุด

2.) โปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์โดยใช้ Lwip มีจำนวน Relocation Entry 1,236 จุด

การโหลดโมดูลไฟล์ ELF ชนิด Relocatable

ใช้วิธีการเดียวกับระบบปฏิบัติการ Contiki แต่เปลี่ยนขั้นตอนจากที่ระบบปฏิบัติการ Contiki จะทำการ Relocation Section ก่อนที่จะโหลดโปรแกรมลงมาบนหน่วยความจำ เป็นโหลดโปรแกรมลงมาบนหน่วยความจำก่อนแล้วจึงทำการ Relocation Section และทำทุกอย่างบนหน่วยความจำประเภทอ่านและเขียน

การโหลดโมดูลไฟล์ ELF ชนิด Executable

ใช้ขั้นตอนเหมือนกับการโหลดโมดูลไฟล์ ELF ชนิด Relocatable หลังจากโหลดโปรแกรมลงมาบนหน่วยความจำแล้วจะไม่มีการทำ Relocation Section แต่จะทำการแก้ไขข้อมูลใน GOT โดยคำนวณส่วนต่างของตำแหน่งของหน่วยความจำที่ระบุอยู่ในไฟล์ ELF กับตำแหน่งของหน่วยความจำที่โปรแกรมถูกโหลดลงไปแล้วนำส่วนต่างนี้ไปรวมกับตำแหน่งของหน่วยความจำที่อยู่ใน GOT

การวัดขนาดของโปรแกรมในโมดูล

การวัดขนาดจะใช้เครื่องมือ *arm-none-eabi-readelf* ในการอ่านค่าจาก Section Headers ทั้งหมดแล้วนำค่าขนาดของแต่ละ Section ที่มี Flags AX, A และ WA มารวมกัน โดย Flags AX กับ A จะอยู่ในหน่วยความจำชนิดอ่านอย่างเดียว ส่วน WA จะอยู่ในหน่วยความจำชนิดอ่านและเขียน

การวัดพลังงานและเวลาในการโหลดโมดูล

ตั้งให้บอร์ด 32F746GDISCOVERY รับไฟฟ้าแรงดัน 5 V ภายนอก และทำวงจรสำหรับวัดกระแสก่อนเข้าบอร์ด โดยนำตัวต้านทานขนาด 1 Ω ไปต่ออนุกรมในวงจร แล้วใช้ออสซิลโลสโคปแชนแนล 1 วัดแรงดันไฟฟ้าตกคร่อมตัวต้านทานขนาด 1 Ω และใช้ขาของไมโครคอนโทรลเลอร์ขับสัญญาณสำหรับระบุช่วงเวลา โดยใช้ออสซิลโลสโคปแชนแนล 2 จับสัญญาณ เวลาปกติจะขับสัญญาณโลจิก 1 ตลอดเวลาเมื่อทำการโหลดโมดูลจึงขับโลจิก 0 และเมื่อโหลดโมดูลเสร็จแล้วจึงกลับมาขับสัญญาณโลจิก 1 อีกครั้ง ที่เวลาโลจิกเป็น 0 คือช่วงเวลาที่ใช้ในการโหลดโมดูล และจากสมการกฎของโอห์ม

$$I = \frac{V}{R}$$

ค่าความต้านทาน (R) มีขนาด 1 Ω ค่าแรงดัน (V) ที่ปรากฏในออสซิลโลสโคปแชนแนล 1 ในช่วงเวลาดังกล่าวจะเท่ากับกระแส (I) ที่ไหลเข้าบอร์ด และจากสมการพลังงานไฟฟ้ากับสมการกำลังไฟฟ้า

$$W = P \times t, \qquad P = I \times V$$

เนื่องจากแรงดัน (V) มีขนาดคงที่ 5 V ดังนั้นพลังงานไฟฟ้า (W) จะเท่ากับพื้นที่ใต้กราฟของกระแส (I) คูณด้วยแรงดัน 5 V ดังสมการ

$$W = 5 \times \sum [I(t_i) \times (t_{i+1} - t_i)]$$

ทำการรวมผลลัพธ์พลังงานไฟฟ้า (W) ในช่วงเวลาที่ทำการโหลดโมดูล จะได้พลังงานที่บอร์ดใช้ขณะทำการโหลดโมดูล

ขอบเขตการประเมินข้อจำกัดในการเขียนโปรแกรม

ข้อจำกัดในการโปรแกรมนี้จะพิจารณาเฉพาะผลกระทบที่ทำให้ต้องเปลี่ยนวิธีการเขียนโปรแกรมจากปกติเท่านั้นรวมถึงวิธีการคอมไพล์โปรแกรมด้วย แต่จะไม่พิจารณาผลกระทบที่ไม่ร้ายแรงที่เกิดขึ้นขณะโปรแกรมทำงาน เช่น โปรแกรมมีการทำงานช้าลง เป็นต้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการเปรียบเทียบขนาดของโปรแกรม

จากการเปรียบเทียบขนาดโมดูลโปรแกรมไฟกระพริบกับโปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์โดยใช้ Lwip ที่คอมไพล์เป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable และ Executable พบว่าการคอมไพล์โมดูลโปรแกรมให้เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable จะมีขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยเป็นผลมาจากการคอมไพล์โปรแกรมให้มีคุณสมบัติเป็น PIC โดยตรง เนื่องจากในโปรแกรมมีการเข้าถึงตัวแปรโกลบอลเป็นจำนวนมาก แต่ในโปรแกรมไฟกระพริบนั้นไม่ได้มีการเข้าถึงตัวแปรโกลบอลหรือเรียกฟังก์ชั่นข้าม Section เลย จึงไม่มีการใช้ GOT ในโปรแกรม ทำให้โปรแกรมมีขนาดเท่ากันดัง Table 1

Table 1 Comparison of code size in bytes for the application module using the 2 different ELF types.

Size (Bytes) Program	Relocatable			Executable			Different		
	RAM	ROM	Total	RAM	ROM	Total	RAM	ROM	Total
LED Blink	0	1,824	1,824	0	1,824	1,824	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
LwIP webserver	25,280	63,038	88,318	25,564	67,654	93,218	284 (1.12%)	4,616 (7.32%)	4,900 (5.55%)

ผลการเปรียบเทียบเวลาและพลังงานที่ใช้ในการโหลดโมดูล

จากการเปรียบเทียบเวลาและพลังงานที่ใช้ในการโหลดโมดูล พบว่าการโหลดโมดูลทุกโมดูลไมโครคอนโทรลเลอร์จะมีการกินกระแสเฉลี่ยคงที่ประมาณ 0.25 - 0.26 A (Figure 1, Figure 2) ตลอดระยะเวลาในการโหลดโมดูล ซึ่งระยะเวลาในการโหลดโมดูลนั้น โมดูลโปรแกรมไฟกระพริบที่คอมไพล์เป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable จะใช้เวลาในการโหลดประมาณ 20.4ms (Figure 1a) ใช้พลังงานในการโหลดประมาณ 25.92mJ

ส่วนโมดูลโปรแกรมไฟกระพริบที่คอมไพล์เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable นั้นใช้เวลาในการโหลดประมาณ 5.77ms (Figure 1b) ใช้พลังงานในการโหลดประมาณ 7.33mJ และโมดูลโปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์ที่คอมไพล์เป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable นั้นใช้เวลาในการโหลดมากถึงประมาณ 2330ms (Figure 2a) ใช้พลังงานในการโหลดประมาณ 2,923.01mJ ส่วนโมดูลโปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์ที่คอมไพล์เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable นั้นใช้เวลาในการโหลดเพียงแค่ประมาณ 18.6ms (Figure 2b) ใช้พลังงานในการโหลดประมาณ 23.82mJ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบแล้วการคอมไพล์โมดูลโปรแกรมให้เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable โมดูลโปรแกรมไฟกระพริบใช้เวลาในการโหลดลดลง 56.44% ใช้พลังงานลดลง 71.72% และโมดูลโปรแกรมเว็บเซิร์ฟเวอร์ใช้เวลาในการโหลดลดลง 99.20% ใช้พลังงานลดลง 99.19% ดัง Table 2

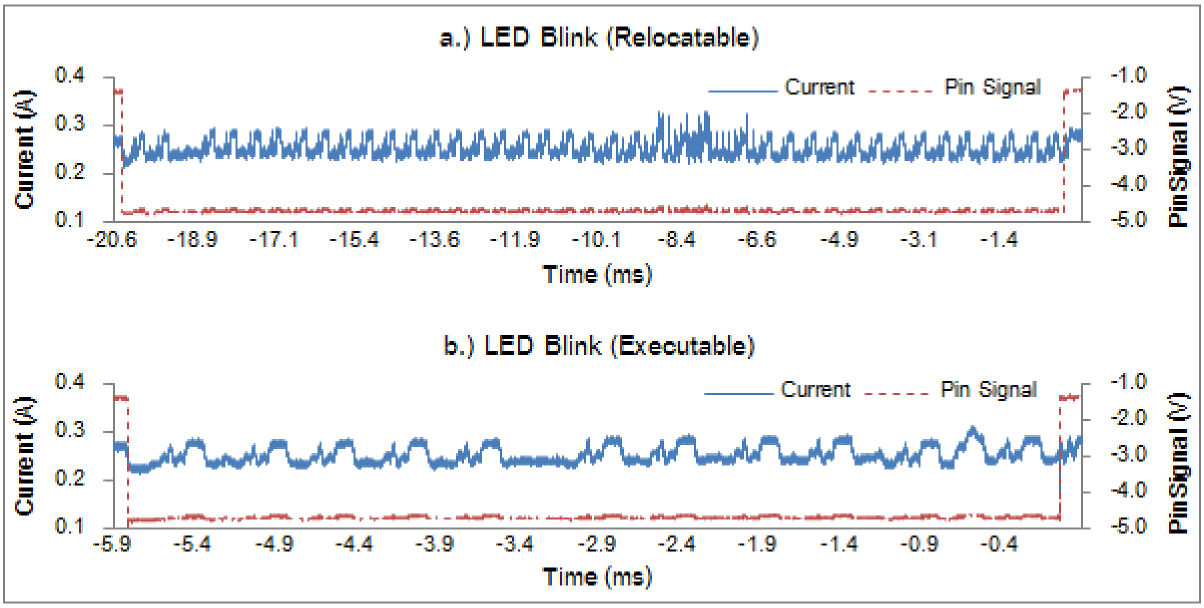


Figure 1 a.) Current drained by loading the LED Blink module in ELF Relocatable type.

b.) Current drained by loading the LED Blink module in ELF Executable type.

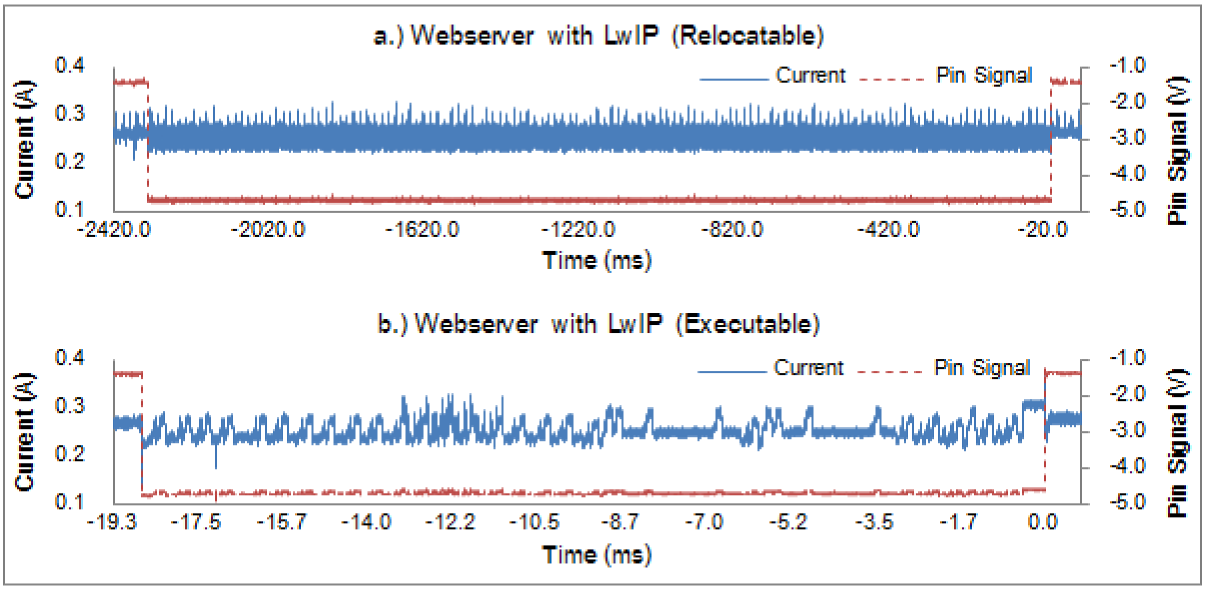


Figure 2 a.) Current drained by loading the LwIP webserver module in ELF Relocatable type.

b.) Current drained by loading the LwIP webserver module in ELF Executable type.

Table 2 Comparison of energy-consumption in mJ and load time in ms of loading for the application module using the 2 different ELF types.

Load time & Energy cost Program	Relocatable		Executable		Different	
	Load time (ms)	Energy cost ($x10^{-3}$ J)	Load time (ms)	Energy cost ($x10^{-3}$ J)	Load time (ms)	Energy cost ($x10^{-3}$ J)
LED Blink	20.4ms	25.92	5.77ms	7.33	-14.63ms (-56.44%)	-18.59 (-71.72%)
LwIP webserver	2330ms	2,923.01	18.6ms	23.82	-2311.4ms (-99.20%)	-2899.19 (-99.19%)

3. ข้อจำกัดในการเขียนโปรแกรม

การคอมไพล์โมดูลโปรแกรมให้เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable นั้น โดยปกติจำเป็นต้องทราบตำแหน่งของหน่วยความจำที่ชัดเจนก่อนคอมไพล์ แต่วิธีการที่งานวิจัยนี้ได้เสนอนั้น ใช้วิธีการคอมไพล์โปรแกรมให้มีคุณสมบัติเป็น PIC ซึ่งทำให้โปรแกรมไม่ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหน่วยความจำและมีการใช้ GOT เพิ่มเข้ามา แต่ GOT นั้นยังคงขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหน่วยความจำ จึงต้องทำการแก้ไข GOT ก่อนที่โปรแกรมจะทำงาน แต่ยังคงมีบางกรณีที่ทำให้โปรแกรมบางส่วนมีการขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหน่วยความจำอย่างเลี่ยงไม่ได้ คือกรณีของตัวแปร Pointer ที่มีการกำหนดค่าเริ่มต้นเป็นตำแหน่งของหน่วยความจำของตัวแปรหรือฟังก์ชั่นที่อยู่ภายในโปรแกรม ซึ่งเมื่อโปรแกรมอยู่ในรูปของไฟล์ ELF แล้ว จะไม่สามารถระบุได้ว่าตัวแปรใดเป็นตัวแปร Pointer จึงไม่สามารถแก้ไขตำแหน่งของหน่วยความจำอย่างที่ทำกับ GOT ได้ ดังนั้นในการเขียนโปรแกรมจำเป็นต้องเลี่ยงการใช้งานตัวแปร Pointer คงที่ แล้วทำการกำหนดค่าเริ่มต้นของตัวแปร Pointer ขณะที่โปรแกรมทำงานแทน

สรุป

การคอมไพล์โมดูลโปรแกรมให้เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable นั้นจะใช้เวลาและพลังงานน้อยกว่าการโหลดโมดูลที่เป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable แม้ว่าโปรแกรมจะมีขนาดเล็กมาก ๆ ก็ลดเวลาในการโหลดไปมากกว่า 50% และลดการใช้พลังงานในการโหลดโมดูลลงมากกว่า 70% ดังนั้นการโหลดโมดูลที่เป็นไฟล์ ELF ชนิด Relocatable จะเหมาะสมกับระบบที่มีการโหลดโมดูลแบบถาวร คือทำการโหลดแค่ครั้งเดียวแต่โปรแกรมจะยังอยู่ในระบบตลอดแม้ว่าทำการเริ่มระบบใหม่ เนื่องจาก ELF ชนิด Relocatable จะสามารถกำหนดตำแหน่งของหน่วยความจำได้อย่างอิสระจึงสามารถโปรแกรมลงหน่วยความจำชนิดอ่านอย่างเดียวได้ ส่วนไฟล์ ELF ชนิด Executable จะเหมาะสมกับระบบที่มีการโหลดเข้าและถอดโมดูลออกตลอดเวลาเพราะใช้เวลาและพลังงานในการโหลดน้อยกว่าไฟล์ ELF ชนิด Relocatable มาก แต่ถึงอย่างไรก็ตามการใช้งานโมดูลโปรแกรมที่เป็นไฟล์ ELF ชนิด Executable บนไมโครคอนโทรลเลอร์ยังคงมีข้อจำกัดในเรื่องของค่าเริ่มต้นของตัวแปร Pointer

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องวิจัยร่วมทางโทรคมนาคม อิเล็กทรอนิกส์ และระบบสมองกลฝังตัวที่สนับสนุนเครื่องมืออุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์และสถานที่สำหรับทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ARM. 2010. **Dynamic Linking with the ARM Compiler toolchain**, Available Source: http://infocenter.arm.com/help/topic/com.arm.doc.dai0242a/DAI0242A_dynamic_linking_with_rvct.pdf, July 1, 2015.

A. Dunkels, T. Voigt and B. Gronvall. 2004. Contiki - a lightweight and flexible operating system for tiny networked sensors, pp. 455-462. *In* **Proceedings of the 29th Annual IEEE International Conference on Local Computer Networks**. 16-18 November 2004. IEEE Computer Society Washington, DC, USA.

________, ________, N. Finne and J. Eriksson. 2006. Run-Time Dynamic Linking for Reprogramming Wireless Sensor Networks, pp. 15-28. *In* **Proceedings of the 4th International Conference on Embedded Networked Sensor Systems**. 1-3 November 2006. SenSys 2006, Boulder, Colorado, USA.

H. Cha, S. Choi, I. Jung, H. Kim, H. Shin, J. Yoo and C. Yoon. 2007. RETOS: Resilient, Expandable, and Threaded Operating System for Wireless Sensor Networks, pp. 455-462. *In* **Proceedings of the 6th International Conference on Information Processing in Sensor Networks 2007**. 25-27 April 2007. IPSN'07, Cambridge, Massachusetts, U.S.A.

Q. Cao, T. Abdelzaher, J. Stankovic, and T. He. 2008. The LiteOS Operating System: Towards Unix-Like Abstractions for Wireless Sensor Networks, pp. 233 - 244. *In* **Proceedings of the 7th International Conference on Information Processing in Sensor Networks 2008**. 22-24 April 2008. IPSN'08, St. Louis, Missouri, USA.

STMicroelectronics. 2015. **32F746GDISCOVERY Discovery kit with STM32F746NG MCU**, Available Source: http://www.st.com/en/evaluation-tools/32f746gdiscovery.html, July 5, 2015.

TIS Committee. 1995. **Tool Interface Standard (TIS) Executable and Linking Format (ELF) Specification Version 1.2**, Available Source: http://refspecs.linuxbase.org/elf/elf.pdf, July 20, 2015.

การประเมินปริมาณน้ำท่าและองค์ประกอบของสมดุลน้ำ ในลุ่มน้ำเพชรบุรี โดยแบบจำลอง Soil and Water Assessment Tool

Runoff Estimation and Estimation of Water Balance Components of Phetchaburi Basin Using Soil and Water Assessment Tool

วนัชพร แมงสาโมง[1*] และ กอบเกียรติ ผ่องพุฒิ[1]

Wannachaporn Mangsamong[1*] and Kobkiat Pongput[1]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ประยุกต์ใช้แบบจำลอง SWAT เพื่อประเมินปริมาณน้ำท่า ในลุ่มน้ำเพชรบุรี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมิน เปรียบเทียบปริมาณน้ำท่า และสมดุลน้ำ ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงใช้ประโยชน์ที่ดิน ผลการศึกษา พบว่าการปรับเทียบและตรวจพิสูจน์ปริมาณน้ำท่าจากแบบจำลองกับปริมาณน้ำท่าที่ตรวจวัดสถานี B.6 มีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (R^2) อยู่ในช่วง 0.715 ถึง 0.781 และค่า Nash-Sutcliffe efficiency (NSE) อยู่ในช่วง 0.492 ถึง 0.521 ซึ่งเป็นสถิติที่ยอมรับได้ และผลการประเมินปริมาณน้ำท่าจากแบบจำลอง SWAT ในช่วงวันที่ 1 พ.ย. 2012 ถึง 31 ต.ค. 2013 พบว่าปริมาณน้ำท่าจากลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 และปี 2009 รายปีรวม 1,379.68 ล้านลบ.ม. และ 1,363.25 ล้านลบ.ม.ตามลำดับ โดยปริมาณน้ำท่าจากลักษณะการการใช้ประโยชน์ที่ดิน ในปี 2009 ที่มีพื้นที่ป่าลดน้อยลงร้อยละ 15 ของพื้นที่ มีปริมาณน้ำท่าลดลง 16.43 ล้านลบ.ม. และพบว่าองค์ประกอบสมดุลน้ำในพื้นที่ลุ่มน้ำ มีการเปลี่ยนแปลงตามลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน

ABSTRACT

This study was an application of the SWAT model for estimating runoff in Phetchaburi basin. The objectives were to evaluate and compare the runoff and water balance resulting from changes in land use. The results showed that the model calibration between observed and simulated flows. The results were stated as; the coefficient of determination (R^2) varies from 0.715 to 0.781, Nash-Sutcliffe efficiency (NSE) varies from 0.492 to 0.521 which could be acceptable statistically. The assessment of runoff was done during Nov. 1, 2012 to Oct. 31, 2013 from land use data of 2002 and 2009 that indicated the total annual runoff volume were 1,379.68 MCM and 1,363.25 MCM, respectively. The runoff from the land use 2009, forest area has decreased by 15% of watershed area, it decreased by 16.43 MCM. Furthermore, the results indicate that the water balance has been changed as the type of land use.

Key Words: Run-off, SWAT Model, Land use, Phetchaburi basin

*Corresponding author; e-mail address: Wannachaporn.n@gmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมทรัพยากรน้ำ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Water Resources Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

การใช้ประโยชน์จากทรัพยากรน้ำอย่างยั่งยืน จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องรู้ถึงปริมาณน้ำ ในลุ่มน้ำอย่างแท้จริง ปริมาณน้ำท่า และองค์ประกอบของสมดุลน้ำในพื้นที่ เป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญทางอุทกวิทยา สำหรับใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากรน้ำในด้านต่างๆ เช่นเกษตรกรรมหรืออุตสาหกรรม และแนวทางในการประเมินปริมาณน้ำท่า ในปัจจุบันมีอยู่หลายวิธีการ โดยแบบจำลอง SWAT (Soil and Water Assessment Tool) เป็นแบบจำลองทางอุทวิทยาหนึ่ง ที่เป็นเครื่องมือสำหรับการพยากรณ์ปริมาณน้ำท่า ในสภาพลุ่มน้ำที่มีความซับซ้อนทาง อุทก-วิยาได้ดี ซึ่งจำลองลักษณะทางกายภาพของลุ่มน้ำแบบกระจายพารามิเตอร์ ตามสภาพทางกายภาพของพื้นที่จริง โดยมีกระบวนการคำนวณ ที่มีประสิทธิภาพ ได้รับการยอมรับและประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในระดับสากล

ปัจจุบันแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินจากพื้นที่ป่าต้นน้ำในลุ่มน้ำเพชรบุรี เปลี่ยนแปลงเป็นพื้นที่เกษตรกรรม และพื้นที่อื่นๆ ค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับอดีต บทความนี้ได้นำเสนอ การประยุกต์ใช้แบบจำลอง SWAT ในการประเมินและเปรียบเทียบปริมาณน้ำท่าและองค์ประกอบของสมดุลน้ำ ลุ่มน้ำเพชรบุรี จากลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 ในอดีต กับลักษณะใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2009 ซึ่งใกล้เคียงกับสภาพปัจจุบันมากที่สุด เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำท่าที่เปลี่ยนแปลงไปจากการใช้ประโยชน์ที่ดิน และเป็นแนวทางในการบริหารจัดการทรัพยากรน้ำอย่างยั่งยืนภายใต้การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

สภาพทั่วไปของพื้นที่การศึกษา

ลุ่มน้ำเพชรบุรีมีพื้นที่ลุ่มน้ำประมาณ 5,213.11 ตร.กม. มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยรายปี 1,110 มม. อยู่ระหว่างเส้นรุ้งที่ 12° 30' เหนือ ถึงเส้นรุ้งที่ 13° 30' เหนือ และอยู่ระหว่างเส้นแวงที่ 99° 00' ตะวันออก ถึงเส้นแวงที่ 100° 15' ตะวันออก มีทิศเหนือติดกับลุ่มน้ำแม่กลอง ทิศใต้ติดกับลุ่มน้ำชายฝั่งทะเลประจวบคีรีขันธ์ ทิศตะวันตกติดกับประเทศพม่า ทิศตะวันออกติดกับ อ่าวไทย ดังแสดงใน Figure 1

แบบจำลอง SWAT

แบบจำลอง SWAT ใช้ข้อมูลที่สำคัญ ประกอบด้วย ข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดิน (landuse data) ข้อมูลดิน (soil data) และข้อมูลสภาพ ภูมิอากาศ (climate data) ของลุ่มน้ำเพชรบุรี โดย แบบจำลองจะทำการคำนวณปริมาณการไหลจาก หน่วยตอบสนองทางอุทกวิทยา (Hydrologic Response Units: HRUs) ของแต่ละพื้นที่ลุ่มน้ำย่อยตามลำดับ ซึ่งใช้สมการสมดุลน้ำมาพิจารณากระบวนทางอุทกวิทยา ดังสมการที่ (1) จากนั้นแบบจำลองจะทำการการ เลียนแบบ (model simulate) โดยมีการ calibration and validation ด้วยข้อมูล observation runoff ด้วย ค่าพารามิเตอร์ที่มีความอ่อนไหวต่อแบบจำลอง (parameter sensitivity analysis) และทำการประเมินประสิทธิภาพของแบบจำลองด้วย coefficient of determination (R^2) และ NashSutcliffe coefficient of efficiency (NSE)

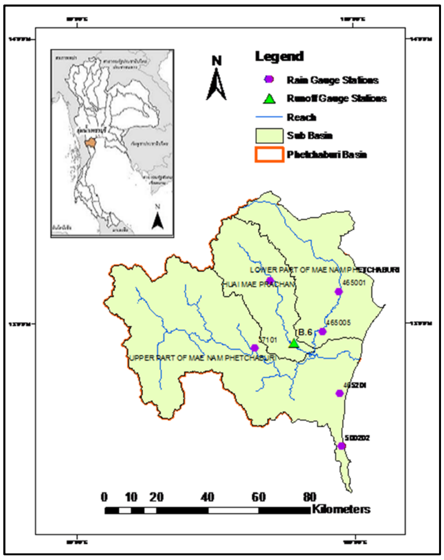


Figure 1 Boundary of study area and stream network of Phetchaburi basin

$$SW_t = SW_o + \sum_{i=1}^{t}(R_{day} - Q_{surf} - E_a - w_{seep} - Q_{gw}) \quad (1)$$

โดยที่ SW_t คือ ปริมาณน้ำในดินสุดท้าย (มม.), SW_0 คือ ปริมาณน้ำในดินเริ่มต้นในวันที่ i (มม.), t คือ เวลา (วัน), Q_{surf} คือ ปริมาณน้ำผิวดินในวันที่ i (มม.), E_a คือ ปริมาณการคายระเหยในวันที่ i (มม.), W_{seep} คือ ปริมาณน้ำไหลซึมลงสู่ชั้นใต้ดินในวันที่ i (มม.), Q_{gw} คือ ปริมาณน้ำใต้ดินที่ไหลกลับสู่ลำน้ำในวันที่ i (มม.)

แบบจำลอง SWAT การคำนวณปริมาณของน้ำท่าผิวดิน วิธีที่นิยมกันใช้อย่างแพร่หลายในประเทศไทย ในการทำนายน้ำท่าผิวดินคือ SCS curve number ดังสมการ (2), (3)

$$Q = \frac{(R-0.2s)^2}{R+0.8s}, \qquad R > 0.2s \quad (2)$$

$$Q = 0.0, \qquad R \leq 0.2s \quad (3)$$

เมื่อ Q คือปริมาณน้ำท่าเฉลี่ยรายวัน (ลบ.ม./วินาที), R คือปริมาณน้ำฝนรายวัน (มม.), และ s คือ Retention Parameter, ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่า CN (Curve number) ดังสมการ (4)

$$S = 254 \cdot \left[\frac{100}{CN} - 1\right] \quad (4)$$

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อค่า CN (curve number) คือ คุณสมบัติทางอุทกวิทยาของดิน (hydrologic soil group) สิ่งปกคลุม (land cover) สภาพอุทกวิทยา (hydrologic condition) การจำแนกการใช้ประโยชน์ที่ดิน (land use classification) และเงื่อนไขความชื้นในดินเริ่มต้น (antecedent moisture content: AMC)

ข้อมูลที่ใช้ในแบบจำลอง

ข้อมูลที่ใช้ในแบบจำลอง SWAT แสดงดัง Table 1 และ Figure 2 โดยทำการจำลอง 2 แบบจำลองจากลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 และ ปี 2009 ซึ่งแสดงข้อมูลรายละเอียดการใช้ประโยชน์ที่ดินทั้ง 2 ลักษณะ ดัง Table 2 โดยเริ่มจากการนำเข้าข้อมูลลักษณะทางกายภาพของลุ่มน้ำ จากนั้นทำการกำหนดพื้นที่ลุ่มน้ำ ตาม

ข้อมูล DEM แล้วทำการนำเข้าข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดิน กลุ่มชุดดิน และกำหนดเกณฑ์ความลาดชันของพื้นที่ จากนั้นทำการกำหนดหน่วย จัดการทางอุทกวิทยา (Hydrologic Response Unit) ซึ่งจะถูกแบ่งตามกลุ่มพื้นที่ย่อยที่มี การใช้ประโยชน์ที่ดิน, กลุ่มชุดดิน และความลาดชันของพื้นที่ ที่คล้ายคลึงกัน ขั้นตอนสุดท้ายคือการนำข้อมูลอุตุ-อุทกวิทยา เช่น ข้อมูลปริมาณน้ำฝน และข้อมูลสภาพภูมิอากาศอื่น ๆ ตามลำดับ

Table 1 Data and information for model SWAT setup

Data	Type	Source
Digital Elevation Model (DEM)	Raster	http://www.waterbase.org
Watershed boundary (2004)	GIS file	Department of Water Resources (DWR)
Stream and river (2004)	GIS file	Royal Irrigation Department (RID)
Runoff station	GIS file	Royal Irrigation Department (RID)
Weather station	GIS file	Thai Meteorological Department (TMD)
Rainfall station	GIS file	TMD, RID
Land used data (2002 and 2009)	GIS file	Land Development Department (LDD)
Soil group (2004)	GIS file	Land Development Department (LDD)
Daily runoff data (1989-2013)	Attribute	Royal Irrigation Department (RID)
Daily rainfall data (1989-2013)	Attribute	Thai Meteorological Department (TMD)
Monthly average weather data	Attribute	TMD, RID

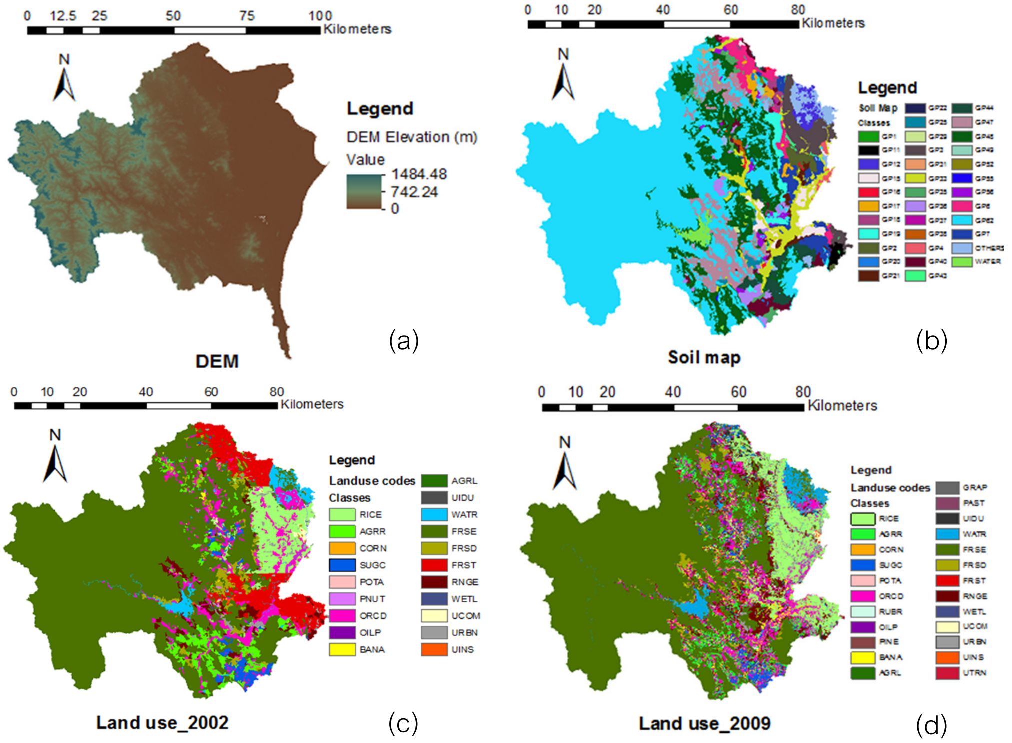


Figure 2 Digital elevation model/DEM (a), Soil map of Phetchaburi basin (b), Land use_2002 (c) and Land use_2009 (d)

Table 2 Land use change between 2002 and 2009 in Phetchaburi basin

LANDUSE		Area[km2]		% different
CODE	Description	2002	2009	
AGRR	Agricultural Land-Row Crops	194.50	236.56	0.81
ORCD	Orchard	339.01	407.02	1.31
FRSE	Forest-Evergreen	3685.05	3397.33	-5.52
FRSD	Forest-Deciduous	65.05	27.03	-0.73
FRST	Forest-Mixed	454.24		-8.71
RNGE	Range-Grasses	26.38	345.21	6.11
RICE	Rice	309.08	526.64	4.17
SUGC	Sugarcane	71.11	54.85	-0.31
BANA	Bananas		10.98	0.21
URBN	Urban or built-over area		94.53	1.81
WATR	Water	68.69	112.97	0.85
Total		5,213.11	5,213.11	

การวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์

การวิเคราะห์ความอ่อนไหวค่าพารามิเตอร์ (Sensitivity Analysis) เป็นขั้นตอนหลังจากมีการนำเข้าข้อมูลและคำนวณปริมาณน้ำท่าเสร็จสิ้นแล้ว แบบจำลอง SWAT มีค่าพารามิเตอร์จำนวนมาก การศึกษานี้จึงได้เลือกพารามิเตอร์ทั้งหมด 8 ตัวประกอบด้วย Cn2, Sol_Awc, Esco, Gwqmn , Gw_Revap, Soil_K, Gw_Delay และ Alpha_Bf ซึ่งการเลือกพารามิเตอร์แต่ละตัวได้ศึกษาจากคู่มือพื้นฐานของแบบจำลอง SWAT เพื่อความรวดเร็วในการวิเคราะห์ความอ่อนไหวของค่าพารามิเตอร์ที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำท่า ซึ่งหลังจากวิเคราะห์ความอ่อนไหว จะทำให้ทราบว่าควรปรับค่าพารามิเตอร์ตัวใดบ้างเพื่อให้แบบจำลองทำการคำนวณปริมาณน้ำท่า ให้ได้ค่าใกล้เคียงสภาพความเป็นจริงมากที่สุด

การปรับเทียบ (Calibration) **และตรวจพิสูจน์แบบจำลอง** (Validation)

เมื่อคำนวณปริมาณน้ำท่าจากแบบจำลองแล้ว ต้องมีการตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลอง โดยการนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลน้ำท่าที่วัดได้จริงจากสถานีตรวจวัด เพื่อให้กราฟน้ำท่าที่คำนวณได้มีความสัมพันธ์หรือเข้ากันได้มากที่สุดกับกราฟน้ำท่าที่ได้จากข้อมูลของสถานีตรวจวัด โดยจะตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) และค่า Nash-Sutcliffe Efficiency (E_{ns}) ดังสมการที่ (5) และ (6) ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ใช้ข้อมูลการน้ำท่าที่สถานีตรวจวัด B.6 ในช่วงปี 2001-2003 ในการปรับเทียบแบบจำลอง และใช้ข้อมูลน้ำท่าปี 2006 ในการตรวจพิสูจน์แบบจำลอง โดยใช้ข้อมูล Land use ปี 2009 เป็นฐาน ในการการปรับเทียบและตรวจพิสูจน์แบบจำลอง

$$R^2 = \left(\frac{\sum_{i=1}^{n}(O_i - O_{avg})\sum_{i=1}^{n}(P_i - P_{avg})}{\left[\sum_{i=1}^{n}(O_i - O_{avg})^2 \sum_{i=1}^{n}(P_i - P_{avg})^2\right]^{0.5}} \right)^2 \quad (5)$$

$$E_{ns} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n}(Q_i - P_i)^2}{\sum_{i=1}^{n}(Q_i - O_{avg})^2} \quad (6)$$

โดยที่ i เท่ากับ ลำดับที่ของข้อมูล, n เท่ากับ จำนวนข้อมูลทั้งหมด, O_i คือ ข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัด, $O_{av}g$ คือ ค่าเฉลี่ยข้อมูลจากการตรวจวัด, P_i ข้อมูลที่ได้จากแบบจำลอง, P_{avg}ค่าเฉลี่ยข้อมูลที่ได้จากแบบจำลอง

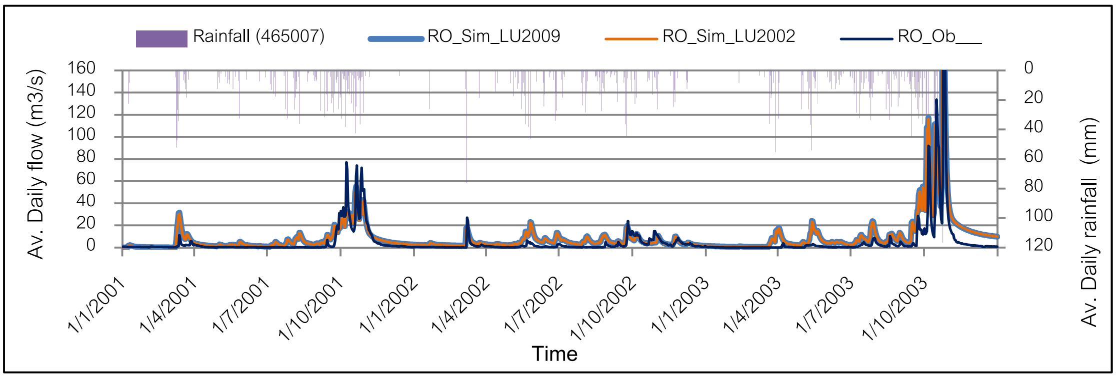
ผลการคำนวณและวิจารณ์

ผลการปรับเทียบและตรวจพิสูจน์แบบจำลอง

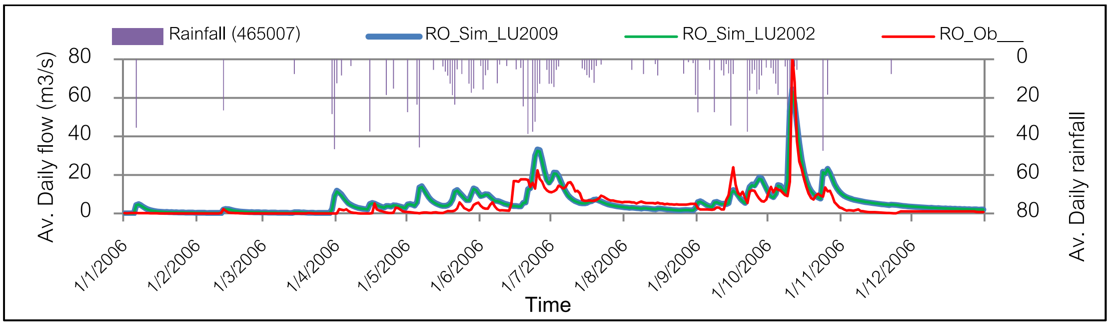
ในการปรับเทียบและตรวจพิสูจน์แบบจำลอง ได้พิจารณาการใช้ข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่ดินปี พ.ศ. 2002 และ 2009 ดัง Table 2 คำนวณแบบจำลองซ้ำหลายครั้ง โดยการปรับค่าพารารามิเตอร์ จากการวิเคราะห์ความอ่อนไหวที่ส่งผลต่อปริมาณน้ำท่า จนได้ชุดพารามิเตอร์ที่ดีที่สุด 1 ชุด แสดงผลการปรับเทียบและตรวจพิสูจน์แบบจำลองดัง Table 3, และ Figure 3

Table 3 Summary of model performance for calibration and validation periods.

Period	Rainfall (mm)	Surface runoff generated in watershed for the day (mm)			Daily model Efficiency measures	
		Using Default Parameter	Calibration	Validation	R^2	NSE
Calibration	1249.80	139.36	30.50	-	0.715	0.492
Validation	1384.70	157.28	-	17.48	0.781	0.521



(a)



(b)

Figure 3 Hydrograph of the observed and simulated daily flow for the calibration (a) and validation (b) period.

ผลการประเมิน และเปรียบเทียบปริมาณน้ำท่า

ผลการประเมินปริมาณน้ำท่าที่จุดออกของลุ่มน้ำเพชรบุรี จากการคำนวณแบบจำลอง SWAT ในช่วงระยะเวลา 1 ปี ระหว่างวันที่ 1 พ.ย. 2012 ถึง 31 ต.ค. 2013 มีปริมาณน้ำฝนรายปีเท่ากับ 1,534.9 ม.ม. พบว่าสองลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 และปี 2009 มีค่าปริมาณน้ำท่ารายเดือนแตกต่างกันดัง Figure 4 โดยปริมาณน้ำท่าในลำน้ำจะมีน้ำไหลตลอดทั้งปี และมีปริมาณน้ำท่ามากที่สุดในเดือน ต.ค.

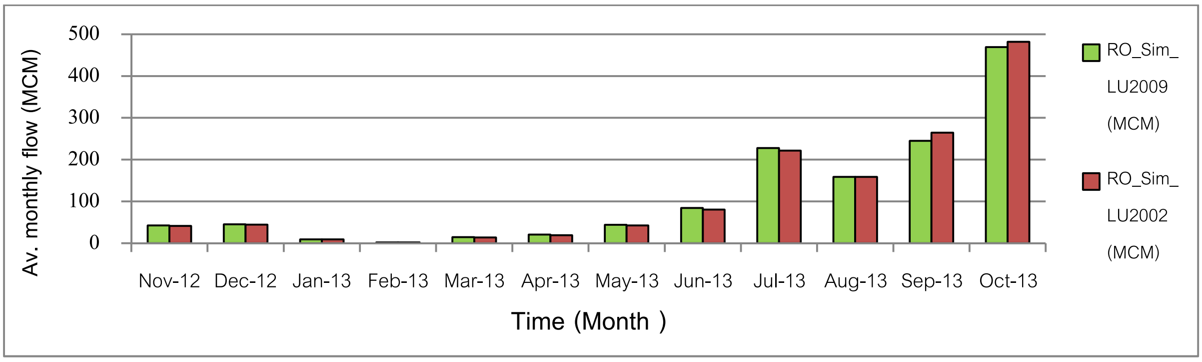


Figure 4 Comparison of Runoff due to land use year 2002 and 2009

ผลการประเมินเปรียบเทียบปริมาณน้ำท่าเฉลี่ยรายปีของการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 และปี 2009 พบว่าลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2009 ลดลงร้อยละ 1.191 โดยปริมาณน้ำท่านอกช่วงฤดูฝน (พ.ย. -เม.ย.) เพิ่มขึ้น ร้อยละ 3.280 และปริมาณน้ำท่าในช่วงฤดูฝน (พ.ค.-ต.ค.) ลดลงร้อยละ 1.506

ผลการศึกษา และเปรียบเทียบองค์ประกอบของสมดุลน้ำ

ผลการศึกษาองค์ประกอบของสมดุลน้ำ พื้นที่ลุ่มน้ำเพชรบุรี แสดงดัง Table 4 ในกรณีศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดิน ปี 2002 และปี 2009 พบว่าจากการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินในปี 2009 มีปริมาณน้ำผิวดิน (Surface runoff) ลดลงร้อยละ 29.63 และมีปริมาณการคายระเหยมากขึ้นร้อยละ 0.84

ปริมาณสมดุลน้ำรายเดือนพบว่า ปริมาณน้ำผิวดินจากลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 สูงสุดในช่วงเดือน เม.ย. และปริมาณน้ำผิวดินลักษณะการใช้ประโยชนที่ดินปี 2009 สูงสุดในช่วงเดือน ก.ย. และพบว่าปริมาณการคายระเหยของลักษณะ การใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2009 มากกว่า ลักษณะการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 ในทุกเดือน

Table 4 Average annual water balances simulated for a base period of 1989-2013

Water Balance Components Amount (mm)	Amount (mm)		Different
	LU_2002	LU_2009	
Precipitation; Precip	1189.30	1189.30	0
Surface runoff ; Sur_Q	34.73	26.79	-29.63
Lateral soil flow contribution; Lat_Q	151.46	156.61	3.28
Ground water contribution to streamflow; Gw_Q	108.95	108.93	-0.01
Revap or shallow aquifer recharges	10.33	10.25	-0.78
Deep Aquifer Recharges	5.45	5.45	0
Total water yield; Twyld	295.14	292.32	-0.96
Percolation out of soil; Perc	118.40	118.48	0.06
Actual evapotranspiration; ET	887.30	894.90	0.84
Potential evapotranspiration; PET	1568.10	1577.90	0.62

สรุป

การศึกษาในครั้งชี้ให้เห็นว่าในพื้นที่ลุ่มน้ำที่มีพื้นที่ป่าไม้ลดลงเป็นส่วนใหญ่ จากการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินปี 2002 ในสภาพอดีต เป็นลักษณะการใช้ประโยชน์ในปี 2009 ซึ่งใกล้เคียงกับสภาพปัจจุบัน กรณีศึกษาพื้นที่ลุ่มน้ำเพชรบุรี ส่งผลต่อน้ำท่าเฉลี่ยรายปีลดลงร้อยละ 1.19 และทำให้องค์ประกอบของสมดุลน้ำในพื้นที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณการคายระเหย เฉลี่ยรายปีมีปริมาณเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.84 ดังนั้นจึงควรมีการวางแผนการใช้ประโยชน์ที่ดินให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ในปัจจุบันให้มากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ลุ่มน้ำที่เป็นต้นน้ำลำธารที่สำคัญ และควรมีการอนุรักษ์และพื้นฟูพื้นที่ป่าไม้ บริเวณพื้นที่ภูเขาสูงที่เป็นแหล่งต้นน้ำลำธารที่สำคัญให้คงอยู่ตลอดไป

เอกสารอ้างอิง

ธีรวัฒน์ สุวรรณเลิศเจริญ. 2011. **การประยุกต์แบบจำลอง SWAT ในการประเมินปริมาณน้ำท่า และตะกอนแขวนลอยจากพื้นที่ลุ่มน้ำขนาดเล็ก: กรณีศึกษา ลุ่มน้ำย่อยแม่พูล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Arnold, J.G., Srinivasan, R., Muttiah, R.S. and Williams, J.R. 1998. Large Area Hydrologic Modeling and AssessmentPart I: Model Development. **Journal of American Water Resources Association** 34: 73-89.

Neitsch, S.L., J.G. Arnold, J.R. Kiniry and J.R. Williams. 2005. **Soil and Water Assessment Tool Theoretical Documentation (Version2005).** Available Source:http://swatmodel.tamu.edu/media/1292/SWAT2005theory.pdf, January 20, 2012.

การศึกษาสมบัติทางกายภาพของปลากะตักแห้งเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดขนาด

Study on Physical Property of Dried Anchovy: Criteria for Sizing

อำนาจ คูตะคุ[1] เอกสิทธิ์ ศรีธรรม[1] เอกพงษ์ ชีวิตโสภณ[1*] และ สาทิป รัตนภาสกร[1]

Amnat Kutaku[1], Eakasit Sritham[1], Ekkapong Cheevitsopon[1*] and Satip Rattanapaskorn[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาสมบัติทางกายภาพที่สำคัญของปลากระตักแห้ง ได้แก่ ความยาว ความกว้าง ความหนา มวล พื้นที่ภาพฉาย ความหนาแน่นรวม ความเร็วลมต่ำสุด และสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิตของตัวอย่างกับพื้นผิวต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการคัดขนาดปลากะตักแห้ง 5 ขนาด ตามเกณฑ์ที่ผู้ประกอบการใช้อยู่ในปัจจุบัน ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างทั้ง 5 ขนาด มีสมบัติทางกายภาพส่วนใหญ่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ($p<0.05$) แต่ค่าสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิตของตัวอย่างมีความแตกต่างกันค่อนข้างน้อย ความยาว ความกว้าง และความหนาของตัวอย่างมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน ($0.85 < r < 0.89$) และเป็นแบบเส้นตรง ($0.74 < R^2 < 0.79$) ซึ่งค่าความกว้างและความยาวมีความสัมพันธ์กันมากที่สุด โดยการกระจายตัวของข้อมูลความกว้างของตัวอย่างเป็นแบบปกติ (n=500) ผลการศึกษาของงานวิจัยนี้แสดงถึงความเป็นไปได้ในการคัดขนาดปลากะตักแห้งโดยใช้ความกว้างเป็นเกณฑ์แทนการใช้ความยาว สำหรับออกแบบและพัฒนาเครื่องคัดขนาดปลากะตักแห้งแบบต่อเนื่องโดยใช้ตะแกรงทรงกระบอก

ABSTRACT

This research aimed to study important physical properties of dried anchovy including the width, length, thickness, mass, projected area, bulk density, terminal velocity and coefficient of static friction on various surfaces. These physical properties were used to sort samples into 5 sizes according to the criteria currently adopted by local food industry. The results showed that most of the physical properties of samples were significantly different ($p<0.05$), whereas the coefficient of static friction of samples were slightly different. There was a positive ($0.85 < r < 0.89$) and linear correlation ($0.74 < R^2 < 0.79$) among the length, width, and thickness of anchovy samples. Especially, the width and length were the most correlated properties and the width of samples exhibited the standard normal distribution (n=500). The results suggest the feasibility of dried anchovy sizing using the width instead of the length for the design and development of a continuous dried anchovy sizing-machine with a cylindrical sieve.

Key Words: sizing, dried anchovy, physical properties

*Corresponding author; e-mail address: cheevitsopon@gmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

คำนำ

ปลากะตัก หรือปลาไส้ตัน หรือภาษาอังกฤษเรียกว่า Anchovy เป็นปลาทะเลขนาดเล็กอยู่ในวงศ์ Engraulidae มีขนาดยาวโดยเฉลี่ย 3-10 เซนติเมตร ปลากะตักเป็นปลาเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ซึ่งสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น น้ำปลา ปลาป่น บูดู และปลาแห้ง ผลิตภัณฑ์ปลากะตักแห้งมีคุณค่าในด้านโภชนาการเนื่องจากมีแคลเซียม ไอโอดีนสูง และมีโอเมกา 3 (Omega 3) ซึ่งช่วยป้องกันโรคสมองเสื่อม จากสถิติข้อมูลของกรมประมง ปี พ.ศ. 2557 มีปริมาณการจับปลากะตักจำนวน 127,691 ตัน มีมูลค่าประมาณ 1,856 ล้านบาท (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, 2557) การผลิตปลากะตักแห้งประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 2 ขั้นตอน คือ 1) การต้ม และ 2) การตากแห้ง โดยนำปลากะตักมาต้มกับเกลือให้สุก หลังจากนั้นนำปลากะตักไปตากแห้งเพื่อลดปริมาณความชื้น ให้มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 20 ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน และคัดขนาดด้วยแรงงานคนเพื่อจำหน่าย

การคัดขนาดหมายถึงการคัดแยกผลิตผลให้เป็นกลุ่มที่มีขนาดต่าง ๆ ซึ่งขนาดของผลิตผลมีอิทธิพลต่อราคาด้วย สมบัติทางกายภายที่สำคัญสำหรับการคัดขนาดได้แก่ รูปร่าง ขนาด ปริมาตร มวล พื้นที่ผิว ความหนาแน่น หรือสี เป็นต้น (Mohsenin, 1970) ข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญมากสำหรับใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดขนาดผลิตผล รวมถึงใช้เป็นข้อมูลในการออกแบบเครื่องคัดขนาด หรือเครื่องคัดแยกผลิตผล Sirisomboon *et al*. (2007) ศึกษาสมบัติทางกายภาพของถั่วแระญี่ปุ่น เช่น ความกว้าง ความยาว ความหนา มวล พื้นที่ภาพฉาย ความหนาแน่นปรากฏ ความหนาแน่นรวม และความแน่นเนื้อ ซึ่งพบว่าความหนามีความเหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ออกแบบเครื่องคัดแยกถั่วแระญี่ปุ่นระหว่างฝักสมบูรณ์และฝักไม่สมบูรณ์ออกจากกัน จตุรงค์ และคณะ (2556) ศึกษาขนาดความยาว ความกว้าง ความหนา และมุมเสียดทานภายในของกลีบกระเทียม เพื่อออกแบบเครื่องคัดขนาดกลีบกระเทียมแบบตะแกรงทรงกระบอกหมุนซ้อนกันสามชั้นให้คัดขนาดได้สามขนาด ซึ่งมีความแม่นยำสูงร้อยละ 90.8 วีระพล (2556) ศึกษาขนาดความกว้าง ความหนาของหัวปลาดุก และความยาวของปลาดุก เพื่อออกแบบเครื่องคัดขนาดปลาดุก โดยใช้ขนาดความหนาของหัวปลาดุกเป็นเกณฑ์ในการกำหนดขนาดความกว้างของรางคัดขนาดแบบร่องรูปตัววี ซึ่งคัดขนาดปลาดุกได้สี่ขนาดและมีความแม่นยำถึงร้อยละ 92.4

จากข้อมูลงานวิจัยทั้งหมดชี้ให้เห็นว่าการศึกษาสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างมีความจำเป็นเพื่อให้สามารถวิเคราะห์ปัจจัยที่มีความสำคัญและมีอิทธิพลต่อการคัดขนาด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพของปลากะตักแห้งเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดขนาด รวมทั้งการออกแบบและพัฒนาเครื่องคัดขนาดปลากะตักแห้งต่อเนื่องที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ทดแทนแรงงานคนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างปลากะตักแห้งชนิดรวมได้รับจากบริษัทมารีน ฟายน์ ฟูดส์ จำกัด จังหวัดระยอง คัดขนาดด้วยความยาว และแบ่งออกเป็น 5 ขนาด คือ ขนาดเล็กมาก ขนาดเล็ก ขนาดปานกลาง ขนาดใหญ่ และขนาดใหญ่มาก (Figure 1) ตามความยาวดังต่อไปนี้ 2.00-2.50, 2.51-3.50, 3.51-4.50, 4.51-5.50 และ 5.51-7.50 เซนติเมตร ตามลำดับ ตัวอย่างแต่ละขนาดมีมวลรวม 1 กิโลกรัม เก็บในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนแบบซิปล็อคซ้อนสองชั้น และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ตัวอย่างที่นำมาทดลองให้ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมง สุ่ม

ตัวอย่างของแต่ละขนาด และวัดสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ความยาว ความกว้าง ความหนา มวล พื้นที่ภาพฉาย ความหนาแน่นรวม ความเร็วลมต่ำสุด และสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิตของตัวอย่างกับพื้นผิวต่าง ๆ

ขนาดและมวล

ปลากะตักแห้งถูกสุ่มมาขนาดละ 100 ตัว วัดความยาว ความกว้าง และความหนา (Mohsenin, 1970) ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Mitutoyo Corporation, Japan) และชั่งมวลตัวอย่างแต่ละตัวด้วยเครื่องชั่งมวลไฟฟ้า (UX3200G, Shimadzu Corporation, Japan)

พื้นที่ภาพฉาย

วิธีการหาพื้นที่ภาพฉายดัดแปลงจากวิธีการที่ระบุในงานวิจัยของ Ercisli *et al.* (2012) วางปลากะตักแห้งบนกระดาษขาวพื้นผิวเรียบ ครั้งละ 10 ตัว ถ่ายภาพตัวอย่างจากด้านบนด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิตอลที่มีความละเอียด 5 ล้านพิกเซล วิเคราะห์หาพื้นที่ภาพฉายของตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบกับพื้นที่พิกเซลของขนาด 10x10 ตารางมิลลิเมตร ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์รูปภาพ Adobe Photoshop

ความหนาแน่นรวม

ใส่ปลากะตักแห้งลงในกระบอกตวงปริมาตร 1,000 มิลิลิตร อ่านค่าปริมาตรรวม และชั่งมวลของตัวอย่าง คำนวณความหนาแน่นรวมจากอัตราส่วนมวลต่อปริมาตร (Mohsenin, 1970) ในหน่วยกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

สัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิต

วางปลากะตักแห้งลงบนพื้นเอียงของชุดทดสอบสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิต วัสดุที่เป็นพื้นเอียงของชุดทดสอบ ได้แก่ แผ่นเหล็กกล้าไร้สนิม แผ่นไม้ และแผ่นยาง พื้นเอียงสามารถปรับระดับได้ บันทึกค่ามุมของพื้นเอียง (θ) ที่ทำให้ตัวอย่างเริ่มเคลื่อนที่ และคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิต (μ) (Mohsenin, 1970) ระหว่างตัวอย่างปลากะตักแห้งกับแผ่นเหล็กกล้าไร้สนิม แผ่นไม้ และแผ่นยาง

วัดค่าความเร็วลมสุดท้าย

ปลากะตักแห้งถูกปล่อยจากด้านบนของท่อทรงกระบอกของชุดทดสอบค่าความเร็วลมสุดท้าย บันทึกค่าความเร็วลมที่ทำให้ตัวอย่างลอยนิ่ง (Kashaninejad *et al.*, 2006) ด้วยเครื่องวัดความเร็วลมแบบใบพัด (DA-43A, Digicon, Japan)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) และทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

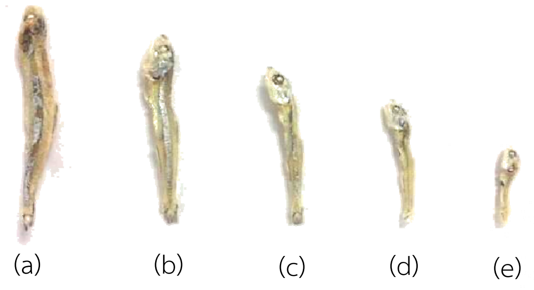


Figure 1 Dried anchovy samples: (a) extra, (b) large, (c) medium (d) small, and (e) very small

ผลการทดลองและวิจารณ์

การกระจายขนาดของตัวอย่าง

จากการสุ่มตัวอย่างปลากะตักแห้งชนิดรวมก่อนทำการคัดขนาดด้วยแรงงานคนที่บริษัทมารีน ฟายน์ ฟูดส์ จำกัด จังหวัดระยอง พบว่าปลากะตักแห้งชนิดรวมน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ประกอบด้วยปลากะตักขนาดเล็กมาก จำนวนร้อยละ 1.58 ปลากะตักขนาดเล็กจำนวนร้อยละ 30.15 ปลากะตักขนาดปานกลางจำนวนร้อยละ 35.53 ปลากะตักขนาดใหญ่จำนวนร้อยละ 10.19 ปลากะตักขนาดใหญ่มากจำนวนร้อยละ 4.21 เศษชิ้นส่วนปลาที่ไม่สมบูรณ์จำนวนร้อยละ 14.93 และปลาชนิดอื่นจำนวนร้อยละ 3.41 จากการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าปลากะตักแห้งขนาดปานกลาง และขนาดเล็ก เป็นสองขนาดที่มีจำนวนสัดส่วนมากที่สุดเรียงตามลำดับกัน อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์นี้ชี้ให้เห็นว่าในกระบวนการผลิตปลากะตักแห้งจำเป็นต้องมีการคัดแยก (Sorting) เอาปลาชนิดอื่นและเศษชิ้นส่วนปลาที่ไม่สมบูรณ์ออก (Figure 2) ซึ่งมีจำนวนรวมกันมากถึงร้อยละ 18.34 หลังจากนั้นจึงทำการคัดขนาด (Sizing) ปลากะตักแห้งตามขนาดที่กำหนด

(a) (b)

Figure 2 The characteristic of: (a) other fish, and (b) imperfect fish

สมบัติทางกายภาพของปลากะตักแห้ง

ทำการแบ่งตัวอย่างปลากะตักแห้งจำนวน 5 ขนาด ได้แก่ ขนาดเล็กมาก ขนาดเล็ก ขนาดปานกลาง ขนาดใหญ่ และขนาดใหญ่มาก ทำการทดสอบสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างเหล่านี้ ผลการศึกษาแสดงอยู่ใน Table 1 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลสมบัติทางกายภาพของแต่ละขนาด พบว่าตัวอย่างปลากะตักแห้งทั้ง 5 ขนาด มีค่าเฉลี่ยของความยาว ความกว้าง ความหนา มวล พื้นที่ภาพฉาย ความหนาแน่นรวม และความเร็วลมสุดท้าย แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ตามขนาดของตัวอย่างทั้ง 5 ขนาด ซึ่งสมบัติทางกายภาพเหล่านี้มีค่าเพิ่มขึ้นตามขนาดของตัวอย่าง โดยเรียงลำดับจากค่าน้อยไปหาค่ามาก สำหรับตัวอย่างปลากะตักขนาดเล็กมาก ขนาดเล็ก ขนาดปานกลาง ขนาดใหญ่ และขนาดใหญ่มาก ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ว่าค่าความยาว ความกว้าง ความหนา มวล พื้นที่ภาพฉาย ความหนาแน่นรวม และความเร็วลมสุดท้ายสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดขนาดได้ สำหรับค่าสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิตระหว่างปลากะตักแห้งกับพื้นผิวแผ่นเหล็กกล้าไร้สนิม แผ่นไม้ และแผ่นยาง แสดงให้เห็นว่าขนาดของตัวอย่างปลากะตักแห้งมีอิทธิพลต่อค่าสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิตบนพื้นผิวแผ่นเรียบชนิดต่าง ๆ น้อย ไม่สามารถใช้ค่าสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิตแบ่งกลุ่มตัวอย่างปลากะตักแห้งออกเป็น 5 ขนาด ได้อย่างชัดเจน

โดยทั่วไปแล้ววัสดุหรือผลิตผลทางการเกษตรมักมีความสัมพันธ์ระหว่างความยาว ความกว้าง และความหนาโดยตรง (Kashaninejad *et al*., 2006; Gezer *et al*., 2002) ซึ่งในหัวข้อต่อไปในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึง

ความสัมพันธ์ของความยาว ความกว้าง และความหนาของปลากะตักแห้ง เพื่อเลือกใช้ตัวแปรที่มีความสัมพันธ์มากที่สุดกับความยาวสำหรับออกแบบและพัฒนาเครื่องคัดขนาดปลากะตักแห้งแบบต่อเนื่องให้มีประสิทธิภาพ

Table 1 The physical properties of dried anchovy samples

Physical properties	Size of dried anchovy samples				
	Very small	Small	Moderate	Large	Very large
Length (mm)	22.76±1.96[a]	31.46±2.40[b]	39.83±2.94[c]	48.42±3.32[d]	59.31±3.44[e]
Width (mm)	3.16±0.64[a]	3.86±0.75[b]	4.86±0.96[c]	7.64±0.96[d]	8.54±0.90[e]
Thickness (mm)	1.51±0.35[a]	1.88±0.39[b]	2.30±0.52[c]	3.47±0.83[d]	4.24±0.72[e]
Mass (g/dried sample)	0.05±0.12[a]	0.09±0.06[b]	0.17±0.07[c]	0.54±0.08[d]	0.86±0.09[e]
Project area (mm^2)	7.30±0.10[a]	13.60±0.19[b]	19.50±0.13[c]	28.20±0.26[d]	41.60±0.12[e]
Bulk density (g/cm^3)	0.14±0.01[a]	0.16±0.01[b]	0.18±0.01[c]	0.21±0.01[d]	0.25±0.01[e]
Terminal velocity (cm/s)	4.39±0.37[a]	5.24±0.41[b]	5.80±0.53[c]	9.14±0.51[d]	11.43±0.76[e]
μ (stainless steel surface)	1.31±0.26[c]	1.12±0.17[c]	1.09±0.07[b]	0.91±0.14[a]	0.94±0.09[a]
μ (wood surface)	0.82±0.14[b]	0.78±0.12[b]	0.73±0.12[ab]	0.68±0.11[a]	0.68±0.11[a]
μ (rubber surface)	0.94±0.21[c]	0.92±0.21[c]	0.81±0.20[bc]	0.75±0.17[ab]	0.63±0.20[a]

Different letters in the same row indicated that values are significantly different ($p<0.05$).

ความสัมพันธ์ระหว่างความยาว ความกว้าง และความหนา

จากข้อมูลความยาว ความกว้าง และความหนาของตัวอย่างปลากะตักแห้ง ซึ่งประกอบด้วยปลากะตักแห้งจำนวน 5 ขนาด จำนวนขนาดละ 500 ตัว (Table 2) แสดงให้เห็นว่าข้อมูลมีลักษณะการกระจายตัวค่อนข้างเป็นแบบปกติ โดยพิจารณาจากค่าเฉลี่ย (Mean) ค่ามัธยฐาน (Median) และค่าฐานนิยม (Mode) ที่มีค่าใกล้เคียงกัน ความสัมพันธ์ระหว่างความยาว ความกว้าง และความหนาของตัวอย่างปลาตักแห้งเป็นไปในทิศทางเดียวกันอย่างมากที่ระดับความเชื่อมั่น $p<0.01$ ดังแสดงใน Table 3 ความสัมพันธ์ของขนาดเหล่านี้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (r) อยู่ระหว่าง 0.85 ถึง 0.89 ความสัมพันธ์มากที่สุดคือความความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับความกว้าง ($r=0.89$) และความสัมพันธ์น้อยที่สุดคือความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับความหนา ($r=0.85$) จากการวิเคราะห์ความถดถอยอย่างง่าย (Simple regression) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับความกว้าง (Figure 3) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับความหนา (Figure 4) และความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างกับความหนา (Figure 5) เป็นความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง เมื่อตัวอย่างปลากะตักแห้งมีความยาวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความกว้างและความหนาของตัวอย่างปลากะตักแห้งเพิ่มขึ้นด้วย โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ระหว่าง 0.74-0.79 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาว ความกว้าง และความหนาของผลิตผลทางการเกษตรที่เป็นความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ได้แก่ ถั่วพิสตาชีโอ (Kashaninejad *et al*., 2006) เมล็ดแอปริคอท (Gezer *et al*., 2002) และผลแฮคเบอร์รี่ (Demır *et al*., 2002) เป็นต้น

Table 2 The statistical distribution of dimension data of dried anchovy samples

Dimension	Size	Mean value	Median value	Mode value
Length	Very small	22.76	22.80	24.70
	Small	31.46	31.83	33.70
	Moderate	39.83	39.80	38.00
	Large	48.54	48.18	45.00
	Very large	58.98	58.70	56.10
Width	Very small	3.22	3.30	3.20
	Small	3.90	3.88	3.55
	Moderate	4.74	4.65	4.65
	Large	7.57	7.93	8.55
	Very large	8.38	8.30	7.40
Thickness	Very small	1.48	1.42	1.35
	Small	1.88	1.80	1.60
	Moderate	2.38	2.25	2.20
	Large	3.32	3.30	2.95
	Very large	3.79	3.70	3.25

Data number of each size is 500 data.

Table 3 Correlation coefficients between length, width, and thickness of dried anchovy samples

Dimension	Length	Width	Thickness
Length	1	0.89**	0.84**
Width	0.89**	1	0.88**
Thickness	0.84**	0.88**	1

** Correlation is significant at the $p<0.01$.; * Correlation is significant at the $p<0.05$.

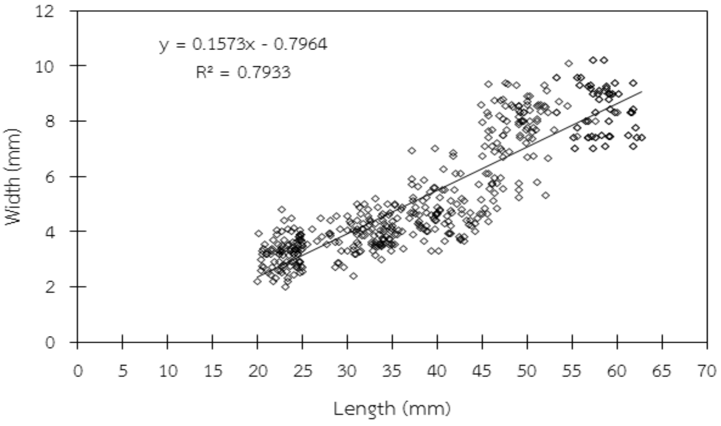


Figure 3 The relationship between the length and width of dried anchovy samples

แนวทางการออกแบบและพัฒนาเครื่องคัดขนาดปลากะตักแห้งแบบต่อเนื่อง

จากผลการศึกษาของงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ขนาดความกว้างของปลากะตักแห้งเป็นเกณฑ์แทนการใช้ความยาว โดยออกแบบเครื่องคัดขนาดปลากะตักแห้งมีส่วนประกอบหลัก 4 ส่วน (Figure 6) คือ 1) ส่วนโครงรองรับ 2) ชุดรองรับการป้อนและแยกฝุ่นละออง 3) ชุดกลไกต้นกำลัง และ 4) ชุดคัดขนาด เมื่อป้อนตัวอย่างเข้าสู่ชุดรองรับการป้อนและแยกฝุ่นละออง เศษชิ้นส่วนของตัวอย่าง เช่น ส่วนหัว ส่วนหาง หรือเศษส่วน

อื่น ๆ รวมทั้งฝุ่นละออง หรือสิ่งปนเปื้อนขนาดเล็กจะถูกแยกออกด้วยการดูดของลมเข้าสู่อุปกรณ์ไซโคลน จากนั้นตัวอย่างจะเคลื่อนที่เข้าสู่ชุดคัดขนาด ซึ่งเป็นตะแกรงทรงกระบอกและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูตะแกรงที่แตกต่าง โดยวางเรียงกันอย่างต่อเนื่องตามขนาดของตัวอย่างที่ต้องการ เมื่อตะแกรงทรงกระบอกหมุน ตัวอย่างจะเคลื่อนที่รอดผ่านรูตะแกรงตามขนาดที่กำหนด ซึ่งรายละเอียดทั้งหมดแสดงในคำขอรับอนุสิทธิบัตรประเทศไทย เลขที่คำขอ 1603001609 (สาทิป และคณะ, 2559)

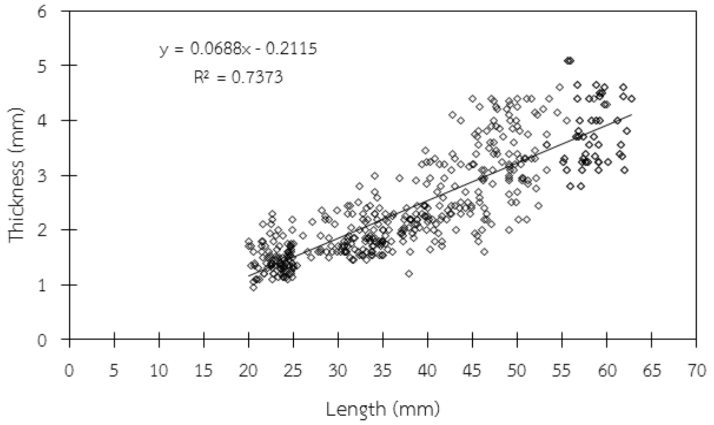


Figure 4 The relationship between the length and thickness of dried anchovy samples

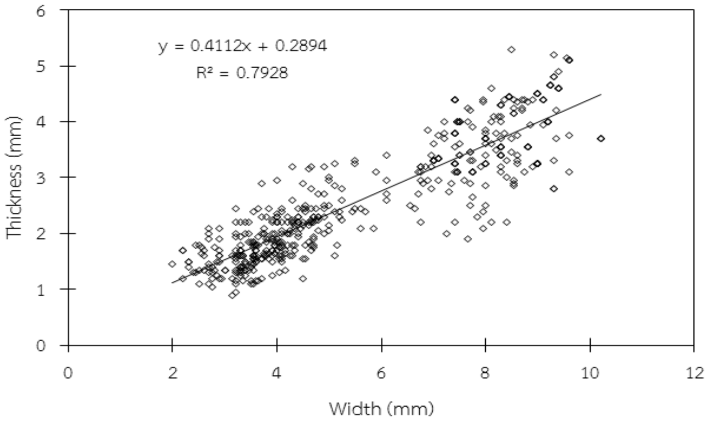


Figure 5 The relationship between the width and thickness of dried anchovy samples

สรุป

ตัวอย่างปลากะตักแห้งทั้ง 5 ขนาด มีสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ($p<0.05$) ได้แก่ ความยาว ความกว้าง ความหนา มวล พื้นที่ภาพฉาย ความหนาแน่นรวม และความเร็วลมต่ำสุด แต่ค่าสัมประสิทธิ์แรงเสียดทานสถิตระหว่างปลากะตักแห้งกับพื้นผิวที่ศึกษามีความแตกต่างกันน้อยมาก ตัวอย่างมีความสัมพันธ์ระหว่างความยาว ความกว้าง และความหนาในทิศทางเดียวกัน โดยความกว้างมีความสัมพันธ์กับความยาวมากที่สุด (R^2 = 0.7933) และข้อมูลความกว้างของปลากะตักแห้งทุกขนาดมีการกระจายตัวเป็นแบบปกติ ดังนั้นผลลัพธ์งานวิจัยนี้แสดงถึงความเป็นไปได้ของการคัดขนาดปลากะตักแห้งโดยใช้ความกว้างเป็นเกณฑ์แทนการใช้ความยาว เพื่อออกแบบและพัฒนาเครื่องคัดขนาดปลากะตักแห้งแบบต่อเนื่องโดยใช้ตะแกรงทรงกระบอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูตะแกรงที่แตกต่างกันต่อไป

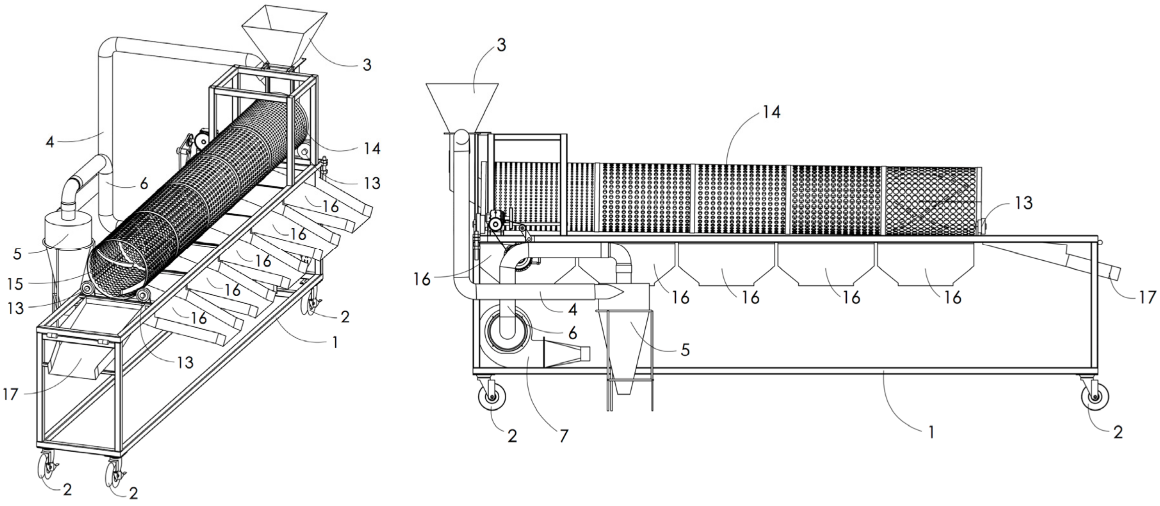


Figure 6 The diagram of a continuous dried anchovy sizing-machine (สาทิป และคณะ, 2559)

เอกสารอ้างอิง

จตุรงค์ ลังกาพินธุ์, สุนัน ปานสาคร, ราชัญทร์ หงษ์โต, อรรถกร จันทร์ชนะ และ อาทิตย์ พูลทวี. 2556. ออกแบบและพัฒนาเครื่องคัดขนาดกระเทียม. **แก่นเกษตร** 41 (2): 191-198.

วีระพล แก้วกำ. 2556. การพัฒนาเครื่องคัดขนาดปลาดุก. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการเครือข่ายวิศวกรรมเครื่องกลแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 27**. สมาคมวิศวกรรมเครื่องกล, กรุงเทพฯ.

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2557. **สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2557**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สาทิป รัตนภาสกร, เอกพงษ์ ชีวิตโสภณ และ อำนาจ คูตะคุ. 2559. **เครื่องคัดแยกและคัดขนาดปลาแห้ง**. อนุสิทธิบัตรประเทศไทย เลขที่คำขอ 1603001609.

Demır, F., H. Doğan, M. Özcan and H. Haciseferoğullari. 2002. Nutritional and physical properties of hackberry (*Celtis australis* L.). **Journal of Food Engineering** 54: 241-247.

Ercisli, S., B. Sayinci, M. Kara, C. Yildiz and I. Ozturk. 2012. Determination of size and shape features of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars using image processing. **Scientia Horticulturae** 133: 47-55.

Gezer, I., H. Haciseferoğullari and F. Demir. 2002. Some physical properties of Hacıhaliloğlu apricot pit and its kernel. **Journal of Food Engineering** 56 (1): 49-57.

Kashaninejad, M., A. Mortazavi, A. Safekordi and L.G. Tabil. 2006. Some physical properties of Pistachio (*Pistacia vera* L.) nut and its kernel. **Journal of Food Engineering** 72: 30-38.

Mohsenin, N.N. 1970. **Physical Properties of Plant and Aanimal Materials.** Gordon and Breach Science Publishers, NY.

Sirisomboon, P., P. Pornchaloempong and T. Romphophak. 2007. Physical properties of green soybean: Criteria for sorting. **Journal of Food Engineering** 79: 18-22.

The Design of 2-DOF Fractional Order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ Controller for Coupled-Tank Process

Sarasit Ritthanont[1*], Jutarut Chaoraingern[1], Vittaya Tipsuwanporn[1] and Arjin Numsomran[1]

ABSTRACT

This paper describes the design of two degrees of freedom (2-DOF) fractional order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller for coupled-tank process. Due to uncertainty, nonlinear characteristic of coupled-tank process, it is challenged plant for testing performance of the controller. By using the proposed method, the mathematical model of process is estimated from experimental data for model identification. Then, the 2-DOF fractional order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller is designed and optimized by minimizing the function of integral square error (ISE) performance index. Simulation validates theoretical analysis, and demonstrates the enhanced performance of the fractional order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller for coupled-tank process compared with integer order PID controller.

Key words: 2-DOF Fractional-order Control, PID Control, Coupled-Tank Process

*Corresponding author; e-mail address: mr.sarasit@gmail.com

[1]Department of Instrumentation and Control Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

INTRODUCTION

The control of liquid level is an essential function in a diverse range of industrial process. Controller design several models have been developed and implemented till present. In this paper, an implementable of fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller (YangQuan et al., 2009) is developed and evaluated. Main contributions are to test the performance of two degrees of freedom (2-DOF) fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ control on coupled-tank process

Fractional order proportional-integral-derivative (FO PID) control was proposed algorithms for the control of dynamic systems (Oustaloup et al., 1995). This paper focuses on the design of 2-DOF fractional order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller for coupled-tank process. By using the proposed method, the mathematical model of process is estimated from experimental data for model identification. Then, designed and optimized by minimizing the function of ISE performance index. Simulation validates theoretical analysis and demonstrates the enhanced performance of the fractional order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller compared with integer order PID controller.

MATERIALS AND METHODS

1. Coupled-Tank Process

Consider Coupled-tank process configured into single input single output (SISO) system in Fig.1. The performance design in the interacting condition. The target is to control the level height of water in tank2 $h_2(t)$ by input voltages to pump $u_1(t)$. Mass balances and Bernoulli's law yield the linearized dynamics is represented by

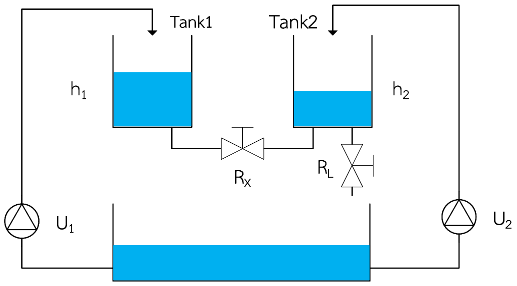


Figure 1 Schematic of Coupled-Tank Process

$$\begin{aligned} \frac{dh_1(t)}{dt} &= -\frac{\beta_x a_{12}}{A_1}\sqrt{2g\left(h_1(t)-h_2(t)\right)} + \frac{k}{A_1}u(t) \\ \frac{dh_2(t)}{dt} &= -\frac{\beta_l a_2}{A_2}\sqrt{2gh_2(t)} + \frac{\beta_x a_{12}}{A_2}\sqrt{2g\left(h_1(t)-h_2(t)\right)} \end{aligned} \qquad (1)$$

Where A_1 and A_2 are cross section area of tank1 and tank2 (cm^2), a_2 is a cross section area of outlet of tank2 (cm^2), a_{12} is a cross section area of jointed pipe between tank1 and tank2 (cm^2) , β_l is a value ratio at the outlet of tank2, β_x is a value ratio between tank1 and tank2, g is the gravity (cm^2/s) and k is the gain of pump (cm^3/V·s) according to (1) is linearized as (2).

$$\begin{aligned}\frac{dH_1(t)}{dt} &= \frac{1}{T_{12}}\left(-H_1(t)+H_2(t)\right)+\frac{k}{A_1}U(t)\\ \frac{dH_2(t)}{dt} &= -\frac{1}{T_2}H_2(t)+\frac{1}{T_{12}}\left(H_1(t)-H_2(t)\right)\end{aligned} \tag{2}$$

where $T_{xl} = \dfrac{A_1}{\beta_x a_1}\sqrt{\dfrac{2(\overline{h_1}-\overline{h_2})}{g}}$, s $\quad T_2 = \dfrac{A_2}{\beta_l a_2}\sqrt{\dfrac{2\overline{h_2}}{g}}$, s

$\overline{h_1}$ and $\overline{h_2}$ is a water level at operating point of coupled-tank process, T_{xl} is a time constant between tank1 and tank2 , T_2 is a time constant of tank2 and k is a gain of pump. For the (2) can be modeled as the (3).

$$\frac{H_2(s)}{U(s)} = G(s) = \frac{K}{T_{xl}T_2 s^2 + (T_{xl}+2T_2)s+1},\ K = \frac{kT_2}{A_2},\text{cm/V} \tag{3}$$

2. Model Identification and Validation

In Fig. 2, The open-loop step response of coupled-tank process without controller is presented. The process identification as a second order plus dead time model has been used for approximating the process transfer function (TF). From experimental data, model can provide as (4). The validated result in Fig.2 is showing a performance of the model identification is 98.97% best fit at 0.543% error.

$$G(s) = \frac{1.212}{2345s^2 + (759.8)s + 1}e^{-52.7s} \tag{4}$$

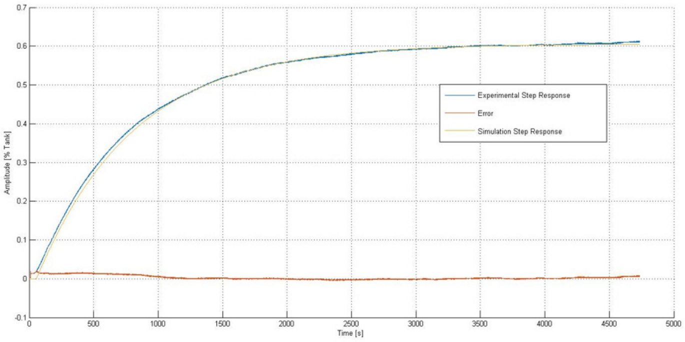


Figure 2 Process Optimization Using Model Fit to Data

3. Frequency-domain Analysis

A bode diagram in Fig. 3. represents a frequency domain analysis as stable process with gain margin is 28.1 dB at frequency 0.445 rad/s and phase margin is 144 deg. at frequency 0.00971 rad/s.

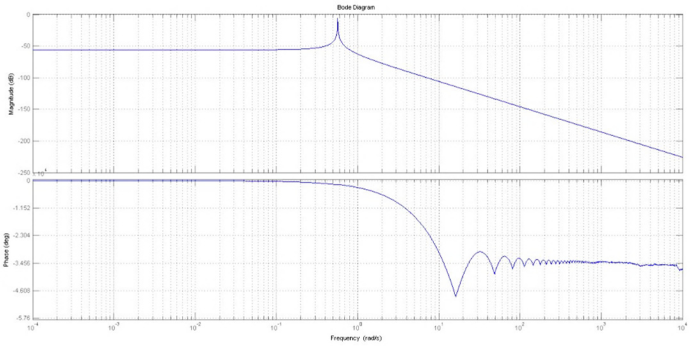


Figure 3 Bode Diagram of Process

4. A Definition of Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ Control

A differentiation- integration operator used in fractional calculus is defined as:

$$ {}_aD_t^q = \begin{cases} \frac{d^q}{dt^q} & q>0 \\ 1 & q=0 \\ \int_a^t (dt)^{-q} & q<0 \end{cases} \tag{5} $$

where q is the fractional-order. a and t are the limits of the operation.

A definition for fractional derivatives given by Grunwald–Letnikov (D. Xue, 2007) is shown as follows:

$$ {}_aD_t^q f(t) = \frac{d^q f(t)}{d(t-a)^q} = \lim_{N\to\infty}\left[\frac{t-a}{N}\right]^{-q} \sum_{j=0}^{N-1}(-1)^j \binom{q}{j} f\left(t-j\left[\frac{t-a}{N}\right]\right) \tag{6} $$

where N is the first integer which is not less than q i.e. n-1 ≤ q < n

For functions f(t) having n continuous derivatives for t ≥ 0 where n-1 ≤ q < n, The Laplace transforms of fractional integral and derivative are given as follows:

$$ L\left\{ {}_aD_t^q f(t) \right\} = s^q F(s) \tag{7} $$

5. Refined Oustaloup's approximate realization method

In this paper, a refined Oustaloup's approximate realization method (D. Xue, 2007) is applied for approximating the fractional-order derivative $\left(s^{\alpha}\right)$ in the specified frequency range (ω_b, ω_h) to a continuous rational transfer function which can be written as

$$ s^{\alpha} \approx \left(\frac{d\omega_h}{b}\right)^{\alpha} \left(\frac{ds^2 + b\omega_h s}{d(1-\alpha)s^2 + b\omega_h s + d\alpha}\right) \prod_{k=-N}^{N} \frac{s+\omega_k'}{s+\omega_k} \tag{8} $$

where $\omega_k' = \left(\frac{d\omega_b}{b}\right)^{\frac{\alpha-2k}{2N+1}}, \omega_k = \left(\frac{b\omega_h}{d}\right)^{\frac{\alpha+2k}{2N+1}}, \quad b=10, \quad d=9$

6. The Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ Controller Design

A fractional-order PID controller is the $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller involving an integrator of order λ and a differentiator of order μ . Fig. 4. depicts a block-diagram of FOPID which has a control characteristic described by bode plot in Fig.6. The transfer function of the $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller can be expressed as

$$ G_{FOPID}(s) = \frac{U(s)}{E(s)} = k_p + k_I \frac{1}{s^{\lambda}} + k_D s^{\mu}, \qquad (\lambda, \mu > 0) \tag{9} $$

where $G_{FOPID}(s)$ is the transfer function of the controller, $E(s)$ is an error, and $U(s)$ is a controller output, λ and μ are real numbers.

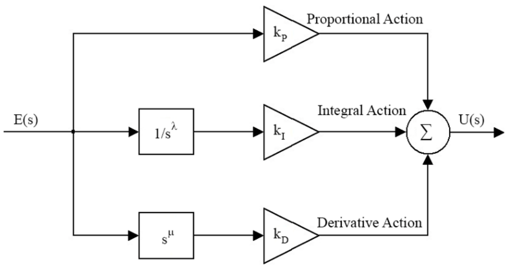


Figure 4 Block-diagram of FOPID

7. 2-DOF Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ Controller

A set-point filter type (*SF*) of 2-DOF Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ control structure is shown in Fig. 5, where the controller consists of two compensators $G_{FOPID}(s)$ and $G_{FOSF}(s)$. In order to enhance the control performance, set-point filter $G_{FOSF}(s)$ has been designed as a transfer function written in (10). (A. Ates, 2016)

$$G_{FOSF}(s) = \frac{(1-\beta)(k_d / k_i)s^{\mu} + (1-\alpha)(k_p / k_i)s^{\lambda}}{1 + (k_p / k_i)s^{\lambda} + (k_d / k_i)s^{\mu}} \quad (10)$$

where $(\lambda,\ \mu > 0\ ,\ \beta = 0.7555,\ \alpha = 2.1217)$

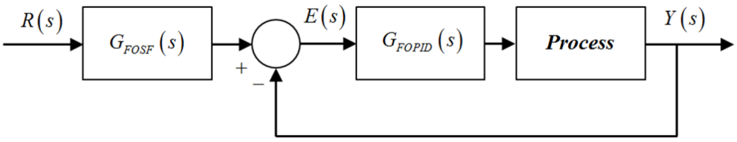


Figure 5 Set-point filter type 2-DOF Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ Control Structure

RESULTS AND DISCUSSION

In order to validate the performance of the fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller designed for coupled-tank process, a simulation application is developed in SIMULINK, MATLAB. The comparison between the response results from the one degree of freedom (1-DOF), 2-DOF of $PI^{\lambda}D^{\mu}$ fractional-order control and integer-order (IO) PID control is made.

1. Comparative Performance between IO PID and FO PID

a) b)

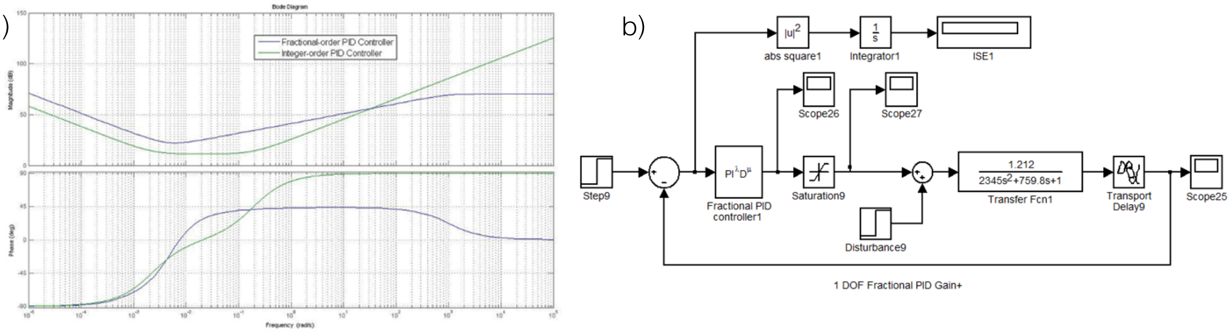


Figure 6 a) Bode diagram of controllers, where a blue line shows bode plot of $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller, a green line shows bode plot of PID controller. and b) Simulink of 1-DOF fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ control

Initially the PID parameters are set to $K_p = K_i = K_d = 1$, $\lambda = \mu = 0.5$. Search limits are set to $K = [-100;\ 100]$ for gains $\lambda = [1.01;\ 1.90]$ and $\mu = [0.01;\ 0.90]$. Specifications are as follows. Gain margin is set to 10 dB, phase margin is set to 65 degrees. Using ISE optimization with these settings leads to the following controller TF. IO PID controller (11) and FO PID controller (12)

$$G_{PID}(s) = 3.7282 + 0.00837\frac{1}{s} + 19.2407s \tag{11}$$

$$G_{FOPID}(s) = 3.72823 + 0.00837\frac{1}{s^{1.55}} + 19.240797s^{0.49} \tag{12}$$

It can be seen in Fig. 7a that the response of fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ control has more value of overshoot but less settling time at 254 second and the value of steady state error is zero.

a) b)

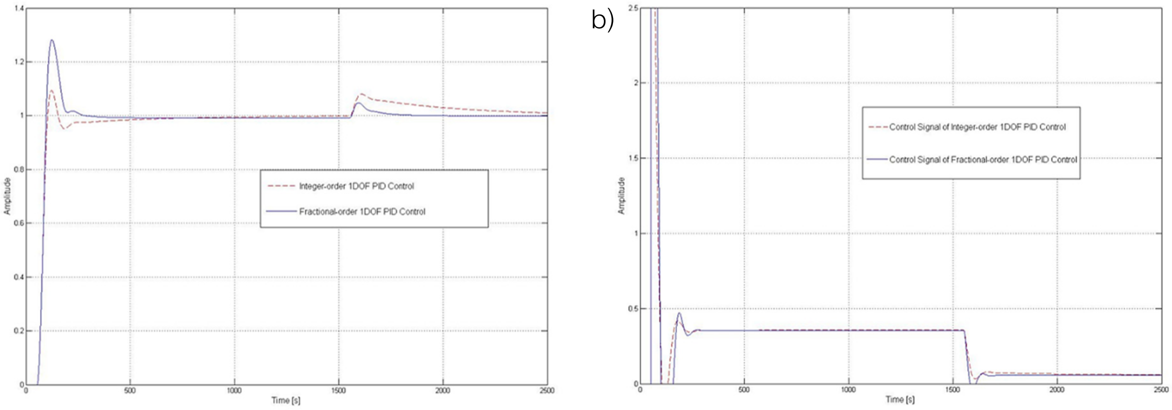


Figure 7 a) Step Responses, and b) Control signal, of FO $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller compared with IO PID controller

2. Fractional Parameter (λ, μ) Optimization

To validate appropriate values, we plot results of ISE, with respect to λ and μ which are enumerated from 0.5 to 1.9 with step of 0.1 and approximate order $N = 5$. The proper values of fractional parameter (λ, μ) are in the range of $\lambda = [1.55;\ 1.68]$ and $\mu = [0.49;\ 0.57]$ respectively.

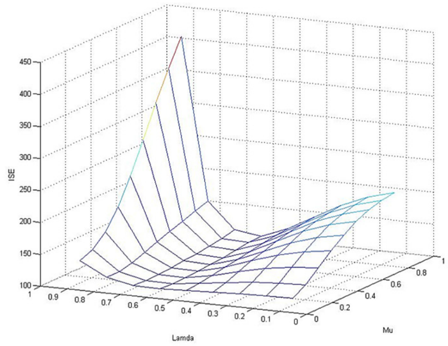


Figure 8 Appropriate values of λ and μ (ISE)

3. 2-DOF Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ Controller

The control structure in fig.5 offers a more powerful means to limit the rate of the change in the set point variable. It enables us to avoid the large overshoot of dynamic response. Due to the set-point

filter TF in (10), parameters and optimized SF parameters are given by $[k_p = 3.7282,\ k_i = 0.00837,$ $k_d = 19.2407,\ \lambda = 1.55, \mu = 0.49\ \ \alpha = 0.45,\ \beta = 0.45]$, we obtain compensators $G_{FOSF}(s)$ as

$$G_{FOSF}(s) = \frac{(1-0.45)(19.2407/0.00837)s^{0.49} + (1-0.45)(3.7282/0.00837)s^{1.55}}{1+(3.7282/0.00837)s^{1.55} + (19.2407/0.00837)s^{0.49}} \tag{13}$$

A comparison results shown in Fig. 9. It can be seen that the overshoot in the dynamic response of Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ is suppressed and the settling time has been decreased to 198 sec.

a) b)

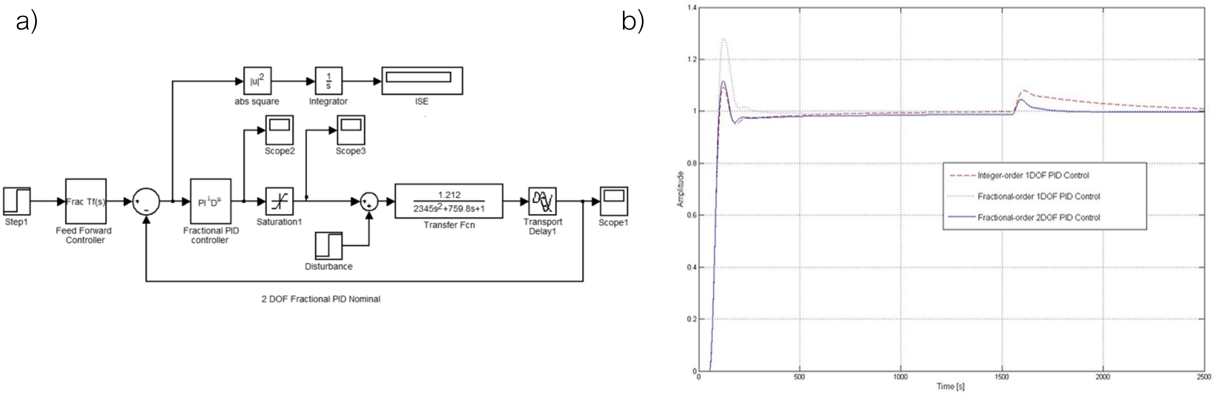


Figure 9 a) Simulink of 2-DOF fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller. b) Step Responses of (1-DOF, 2-DOF) fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller compared with (1-DOF) integer-order PID controller

4. Robustness to Process Perturbations *K*

This paper considers the perturbation of process gain occurred from changing pump efficiency caused by temperature rising. Nominal parameter process gain 1.212 and ±30% perturbation are 1.5756, 0.8484

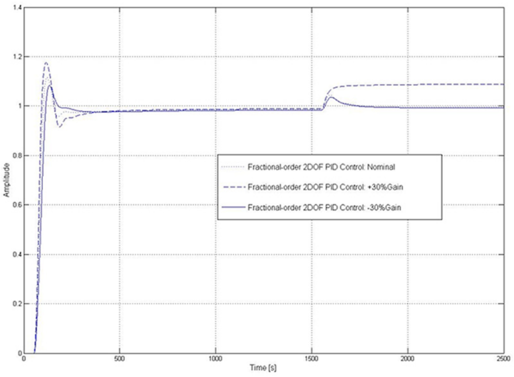


Figure 10 Step Responses of 2-DOF Fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller with process gain perturbation

Resulting time responses are shown in Fig.10 The solid line shows a response of the nominal plant, the dashed line shows a response of the +30%, while the dotted line shows a response of the -30% process gain perturbation. It can be observed that the 2-DOF fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller can achieve robustness evaluation for nominal and perturbed plant. From this results, 2-DOF fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller can achieve both of control performance and robustness evaluation.

CONCLUSION

In this paper, a 2-DOF fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ control is examined on coupled-tank process. The proposed 2-DOF fractional-order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ controller is implemented to achieve control performance and robustness of control system. The controller design of the proposed system has been derived, and the effective performance has been validated via MATLAB simulation. The results from the evaluation can keep stability and satisfy the performance specification even if the parameters of the plant are perturbed.

REFERENCES

A. Ates and C. Yeroglu. 2016. Online Tuning of Two Degrees of Freedom Fractional Order Control Loops. **Balkan Journal of Electrical & Computer Engineering,** Vol.4 No.1: pp. 5-11, 2016.

A. Tepljakov, E. Petlenkov and J. Belikov, 2011. FOMCON: Fractional-order modeling and control toolbox for MATLAB, pp. 684-689. *In* **2011 Proceedings of the 18th International Conference Mixed Design of Integrated Circuits and Systems (MIXDES),** June 16-18, 2011 Gliwice, Poland.

D. Xue, Y.Q. Chen and D.P. Atherton. 2007. **Linear Feedback Control Analysis and Design with MATLAB.** Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia

I. Podlubny. 1999. Fractional-order systems and $PI^{\lambda}D^{\mu}$ -controllers. **IEEE Transactions on Automatic Control,** vol. 44: pp. 208-214.

Jaisue, R., Chaoraingern, J., Tipsuwanporn, V., Numsomran A. and holkeaw, P. 2012. A design of fuzzy PID controller based on ARM7TDMI for coupled-tanks process, pp. 610-613. *In* **2012 12th International Conference on Control, Automation and Systems (ICCAS),** Oct. 17-21, 2012, JeJu Island, Korea.

Kangwanrat, S.**,** Tipsuwannaporn V. and Numsomran, A. 2010. Design of PI controller using MRAC techniques for coupled-tanks process, pp. 485-490. *In* **International Conference on Control Automation and Systems 2010 (ICCAS),** Oct. 27-30, 2010, Gyeonggi-do, Korea.

K. Erenturk. 2013. Fractional-Order $PI^{\lambda}D^{\mu}$ and Active Disturbance Rejection Control of Nonlinear Two-Mass Drive System. **IEEE Transactions on Industrial Electronics** vol. 60, no. 9: pp. 3806-3813

Mituhiko Araki and Hidefumi Taguchi. 2003. Tutorial Paper Two-Degree-of-Freedom PID Controllers. **International Journal of Control, Automation, and Systems** Vol. 1, No. 4: pp. 401-411.

Oustaloup A., B. Mathieu and P. Lanusse. 1995. The CRONE control of resonant plants: application to a flexible transmission. **European Journal of Control,** Vol. 1 No.2: pp. 559-576.

YangQuan Chen, Ivo Petr´asˇ and Dingyu¨ Xue. 2009. Fractional Order Control - A Tutorial, pp. 1397-1411. *In* **American Control Conference 2009,** June 10-12, 2009, St. Louis, MO, USA.

การสำรวจความพึงพอใจในการทำงานและความตั้งใจในการลาออกจากงานของวิศวกรในอุตสาหกรรมก่อสร้างไทย

Investigation of Job Satisfaction and Turnover Intention of Engineers in Thai Construction Industry

กิตติเชษฐ์ ปะทีปพรศักดิ์[1*] และ ปิยนุช เวทย์วิวรณ์[1]

Gittichaet Pateeppohnsak[1*] and Piyanut Wethyavivorn[1]

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความพึงพอใจในการทำงานและความตั้งใจในการลาออกของวิศวกรในอุตสาหกรรมก่อสร้างไทย ปัจจัยความพึงพอใจในการทำงานแบ่งเป็น 3 ด้าน คือ ปัจจัยความพึงพอใจในงาน ปัจจัยความขัดแย้งในชีวิตการงานกับชีวิตส่วนตัว และปัจจัยความผูกพันกับองค์กร โดยการเก็บข้อมูลผ่านแบบสอบถาม วิศวกรที่มีประสบการณ์การทำงานตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไป จำนวนทั้งสิ้น 408 ชุด ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของปัจจัย และการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่มีอายุ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 35 ปี กับกลุ่มวิศวกรอายุมากกว่า 35 ปี t-test พบว่า ปัจจัยที่วิศวกรรู้สึกไม่พึงพอใจโดยรวมคือ ชั่วโมงการทำงานที่มากเกินไป การที่ไม่สามารถรับผิดชอบภาระหน้าที่กับครอบครัวได้ดีนัก และการที่งานส่งผลต่อการไม่มีเวลาเข้าสังคมเท่าที่ควร อีกทั้งพบว่าวิศวกรเห็นว่าการจงรักภักดีต่อองค์กร เป็นเรื่องที่ไม่สำคัญ และมักมีความคิดลาออก แต่ยังคงอยู่ในวิชาชีพเดิม

ABSTRACT

This research aims to investigate the satisfaction in work and turnover intention of engineers in Thai construction industry. Satisfaction in work includes job satisfaction, work-life conflict, and organization commitment. Data were collected from 408 Thai engineers with more than three years of work experiences. Descriptive statistic was used to analyze data and t-test was employed to compare the mean difference between engineers with less than and equal to 35 years old and those more than 35 years old. It was found that engineers were not happy with the long work-hour, inability to fulfill family responsibilities, and the lack of social life. Furthermore, it revealed that engineers felt not loyal to the organization and they often looked for a new work place but remained in the same profession.

Key Words :job satisfaction, work-life conflict, organization commitment, turnover intention

*Corresponding author; e-mail address: mhon_khang@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

วิศวกรเป็นทรัพยากรสำคัญที่มีส่วนช่วยขับเคลื่อนให้โครงการก่อสร้างประสบความสำเร็จ และมีประโยชน์ใช้สอยสูงสุด ปัญหาและอุปสรรคที่สำคัญอย่างหนึ่งของอุตสาหกรรมก่อสร้างในประเทศไทย คือ ปัญหาการลาออกจากงานของวิศวกร ซึ่งส่งผลให้บริษัทต้องสูญเสียโอกาสทางธุรกิจ สูญเสียในด้านทรัพยากรมนุษย์ ขวัญกำลังใจของพนักงาน รวมถึงการสิ้นเปลืองทรัพยากรที่มีค่าของบริษัทไปกับกระบวนการสรรหา การคัดเลือก การฝึกฝนอบรมและพัฒนาวิศวกรใหม่ เพื่อให้สามารถทำงานทดแทนวิศวกรคนเก่าที่ลาออกไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและประสิทธิผลสูงสุด

การลาออกส่งผลกระทบอย่างยิ่งต่อบริษัท เพื่อนร่วมงาน และต่อตัวของวิศวกรเอง (Mowday, Porter, & Steer, 1982) ซึ่งการลาออกของวิศวกรที่มีความเชี่ยวชาญและมีประสบการณ์ในการทำงานสูง ส่งผลให้บริษัทเสียค่าใช้จ่ายและเกิดปัญหาในการดำเนินงาน (Holtom, Mitchell, Lee, & Eberly, 2008) ตลอดระยะเวลาหลายสิบปีที่ผ่านมา การศึกษาปัญหาการลาออกได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง โดยนักวิจัยได้ให้ความหมายของการลาออก (turnover) ไว้ดังนี้ การหยุดหรือการสิ้นสุดการเป็นสมาชิกขององค์กร (Mobley, 1982) การที่พนักงานหยุดการทำงานใด ๆ ที่ตนทำอยู่ในองค์กรในช่วงระยะเวลาใดเวลาหนึ่ง (Spector, 1996)

การศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยมุ่งศึกษาความตั้งใจลาออกจากองค์กรที่เกิดจากความสมัครใจของพนักงาน เนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมาระบุว่า ความตั้งใจลาออกมีความสัมพันธ์กับการลาออกจากงานของพนักงาน โดยที่ความตั้งใจลาออกในที่นี้ หมายถึง การที่พนักงานมีความต้องการที่จะสิ้นสุดสถานภาพการเป็นสมาชิกขององค์กรปัจจุบัน แต่อาจยังไม่มีการตัดสินใจลาออก Ferris, Rossen และ Barhum (1996) ได้ระบุว่า เมื่อเกิดความรู้สึกเช่นนี้ อาจส่งผลให้เกิดการลาออกจากงานได้จริงในอนาคต โดยความตั้งใจลาออกเป็นตัวแปรที่สามารถทำนายการลาออกได้ดีที่สุด

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความพึงพอใจในงาน (Job Satisfaction)

Smith et al. (1969) ได้ให้ความหมายไว้ว่า ความพึงพอใจในงานของบุคลากรต่อองค์กร มีความสำคัญต่อองค์กรเป็นอย่างมาก บุคลากรคนใดที่มีความพึงพอใจในงานจะปฏิบัติงานของตนเองอย่างเต็มที่ ส่งผลให้งานนั้น ๆ มีคุณภาพและมีประสิทธิภาพ ทำให้องค์กรนั้นก้าวหน้าบรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ แต่ถ้าบุคลากรคนใดไม่มีความพึงพอใจในงานนั้น ๆ แล้ว จะทำให้ไม่มีกำลังใจในการทำงานให้บรรลุวัตถุประสงค์ และอาจส่งผลให้เกิดการลาออกจากงานอีกด้วย

ความขัดแย้งในชีวิตการงานกับชีวิตส่วนตัว (Work Life Conflict)

Wiley (1987) ได้ให้ความหมายไว้ว่า เป็นความรู้สึกของบุคคลเกี่ยวกับสภาวะที่เกิดความไม่สมดุลในด้านการทำงาน และด้านการใช้ชีวิตส่วนตัว โดยแบ่งออกเป็น 2 ด้าน ได้แก่

1. ความขัดแย้งที่เกิดจากการใช้ชีวิตส่วนตัวไปขัดขวางชีวิตการทำงาน คือ ความขัดแย้งที่เกิดจากความรับผิดชอบของการใช้ชีวิตส่วนตัวแล้วเกิดผลกระทบต่อความรับผิดชอบในชีวิตการทำงาน

2. ความขัดแย้งที่เกิดจากการใช้ชีวิตการทำงานไปขัดขวางชีวิตส่วนตัว คือ ความขัดแย้งที่เกิดจากความรับผิดชอบของการใช้ชีวิตในการทำงานแล้วเกิดผลกระทบต่อความรับผิดชอบในชีวิตส่วนตัว

Thomas and Ganster (1995) ได้ให้ความหมายไว้ว่า ความขัดแย้งระหว่างการทำงานและชีวิตส่วนตัว เป็นความขัดแย้งที่เกิดจากความรับผิดชอบที่มีต่อบทบาทหนึ่งส่งผลกระทบความรับผิดชอบอีกบทบาทหนึ่ง ทำให้การทำหน้าที่ในแต่ละบทบาทเกิดความบกพร่องไม่สมบูรณ์ เกิดปัญหาความเครียด และการลาออกจากงาน

ความผูกพันกับองค์กร (Organization Commitment)

Allen and Meyer (1991) ได้ให้ความหมายไว้ว่า เป็นความผูกพันทางด้านจิตใจของบุคลากรที่มีต่อองค์กร ซึ่งบุคลากรที่มีความผูกพันกับองค์กรสูงจะมีแนวโน้มในการลาออกจากองค์กรต่ำ รวมถึงส่งผลในด้านความรู้สึกสอดคล้องเป็นอันหนึ่งอันเดียวกับองค์กร ความทุ่มเททำงานเพื่อองค์กร ความจงรักภักดี โดยแบ่งความผูกพันกับองค์กรออกเป็น 3 ด้าน ดังนี้

1. ความผูกพันกับองค์กรด้านจิตใจ หมายถึง ความผูกพันของบุคลากรที่มีต่อองค์กร รู้สึกถึงการมีส่วนร่วมและเป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน บุคลากรที่มีความผูกพันกับองค์กรทางด้านจิตใจมากพวกเขาจะทุ่มเททำงานให้องค์กรอย่างเต็มความสามารถและไม่คิดลาออก

2. ความผูกพันกับองค์กรด้านการคงอยู่ หมายถึง ความผูกพันที่อยู่บนพื้นฐานของอัตราผลตอบแทนเมื่อบุคลากรลาออกจากองค์กร บุคลากรที่มีความผูกพันกับองค์กรด้านการคงอยู่สูงเป็นเพราะความจำเป็นที่ต้องทำงานอยู่ในองค์กรต่อไป

3. ความผูกพันกับองค์กรด้านบรรทัดฐาน หมายถึง ความรู้สึกของบุคลากรว่าเป็นหน้าที่ที่จะต้องทำงานอยู่ในองค์กรนี้ต่อไป บุคลากรที่มีความผูกพันกับองค์กรด้านบรรทัดฐานสูงเป็นเพราะคิดว่าควรจะทำงานอยู่ในองค์กรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

จากการรวบรวมงานวิจัยที่ผ่านมา ปัจจัยความพึงพอใจในการทำงาน แบ่งเป็น 3 ด้าน คือความพึงพอใจในงาน ความขัดแย้งในชีวิตการงานกับชีวิตส่วนตัว และความผูกพันกับองค์กร นำไปสร้างแบบสอบถามรวบรวมข้อมูลจากกลุ่มวิศวกรในอุตสาหกรรมก่อสร้างไทย

ผู้วิจัยเก็บข้อมูลโดยส่งแบบสอบถามไปยังวิศวกรที่มีประสบการณ์การทำงาน 3 ปีขึ้นไป จำนวนทั้งสิ้น 408 ตัวอย่าง แสดงการกระจายของข้อมูล ดังรูปที่ 1

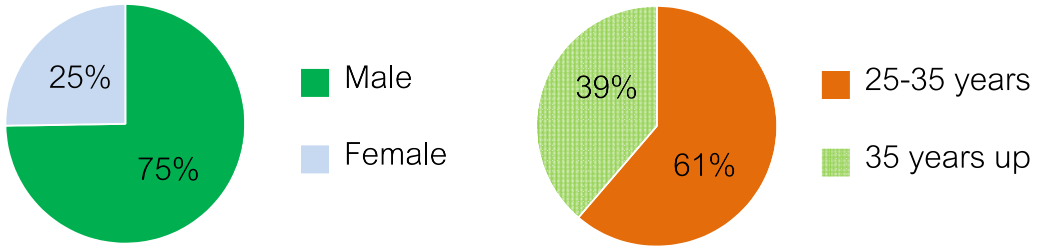


Figure 1 Questionnaire distribution

ส่วนประกอบของแบบสอบถาม

ส่วนที่ 1 สอบถามข้อมูลส่วนตัว ได้แก่ เพศ อายุ วุฒิการศึกษา และประสบการณ์การทำงาน เป็นต้น

ส่วนที่ 2 สอบถามความคิดเห็นในด้านความพึงพอใจในงาน ด้านความขัดแย้งในชีวิตการทำงานกับชีวิตส่วนตัว ด้านความผูกพันกับองค์กร และด้านความตั้งใจในการลาออกจากองค์กร มีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้ ระดับ 5 คือ เห็นด้วยกับเรื่องดังกล่าวมากที่สุด ระดับ 4 คือ เห็นด้วยกับเรื่องดังกล่าวมาก ระดับ 3 คือ เห็นด้วยกับเรื่องดังกล่าวปานกลาง ระดับ 2 คือ เห็นด้วยกับเรื่องดังกล่าวน้อย ระดับ 1 คือ ไม่เห็นด้วยกับเรื่องดังกล่าว

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากแบบสอบถาม ได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลหาค่าเฉลี่ย พบว่า ความพึงพอใจในการทำงานเรียงตามลำดับความสำคัญจากมากไปน้อย ได้แก่ ปัจจัยความขัดแย้งในชีวิตการงานกับชีวิตส่วนตัว ปัจจัยความพึงพอใจในงาน และปัจจัยความผูกพันกับองค์กร

Table 1 Factor of satisfaction in work

Description	Total Mean	Mean		t-sig.
		25-35 yrs.	35-60 yrs.	
Work-life Conflict	2.72			
Difficult to fulfill my family responsibilities	2.09			
My work affects my enjoyment of my social life	2.16			
I have come home from work too tired to do the chores which need to be done	2.76			
Work too tired to function well because of the household work I had done	2.93			
I feel that my work prevents me from being as good a parent as I would like to be	3.01			
My marriage/relationship suffers because of my work	3.05	3.63	2.12	0.00
I find it difficult to “switch” off when I finish work	3.07			
Job Satisfaction	2.85			
Properly work hours	1.90	1.87	1.96	0.00
Variety work	2.33	2.22	2.51	0.00
Opportunities for promotion	2.42	1.98	3.12	0.00
Feedback has received attention	2.56	1.98	3.47	0.00
Good relationship with the subcontractor	2.57	2.06	3.38	0.00
Satisfaction to do your job	2.59			
Freedom of choice how they work	2.75	2.15	3.78	0.06
Satisfied with your supervisor	2.78			
The relationship between the management and workers of the company are consistent	2.80			
Allows you to use your talents fully	2.82			
Satisfied with salary	2.84	2.24	3.78	0.01
Satisfaction with job responsibilities as assigned	2.84	2.53	3.34	0.07
Security at work	2.94			
Good relationships with coworkers	2.99			

Description	Total Mean	Mean		t-sig.
		25-35 yrs.	35-60 yrs.	
Good relationship with customers	3.05			
Recognized the work you do, the boss and colleagues	3.21			
Proper environment at work	3.37	3.19	3.65	0.00
Proper environment at site	3.57			
Good relationships with associates other people	3.74			
Organization Commitment	3.15			
Loyalty is important	2.30			
You will have a life of trouble. If you decide to resign	2.46	1.78	3.35	0.00
A intensely feelings to be part of this company	2.56	1.98	3.47	0.00
The company's difficulties it is like your own	2.59			
Shortages of qualified people to work instead of the original space	2.64			
Do not take or effort if you leave the company at the moment	2.71	2.33	3.61	0.00
You work with the company's needs as well as your needs	2.78	2.15	3.78	0.06
There is too fewer choices if you leave the company	2.80	2.11	3.65	0.08
If you take the rest in this profession. Working with this company	2.84	2.24	3.78	0.01
Affiliations with other companies as well this company	3.09			
Offers a better job than other companies	3.15			
This company is very meaningful for you	3.20			
Fear what will happen if you leave the area	3.21			
It is unlikely to resign. I would like to leave a lot of time	3.35			
Take pleasure in talking about the company that you work to others	3.37			
Changing jobs is not unethical for you	3.45			
You have any emotional ties to this company	3.48			
Everything used to be a good approach. When work with a company	3.52			
Other companies may not offer the benefits you will receive	3.53			
Employees of each organization, the move worked	3.57			
To instill the notion of loyalty to the company	3.60			
You are a part of this company	3.88			
A desire to represent the company is reasonable	4.12			
Turnover Intention	3.32			
You never thought to quit. (Also in the same profession)	2.27			
You do not think to look for a new job. (The professional) within 12 months from now	2.31			
You have no idea who will resign from work in the profession	4.10			
You do not think to look for a new job. (In addition to the new line of professional engineers) within 12 months from now	4.23	4.10	4.44	0.00

จากผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของปัจจัยความพึงพอใจในการทำงาน เรียงลำดับความสำคัญของตัวแปรในแต่ละปัจจัยจากมากไปน้อย 3 ลำดับแรก คือ

ปัจจัยความขัดแย้งในชีวิตการงานกับชีวิตส่วนตัว เรียงลำดับความสำคัญของตัวแปรจากมากไปน้อย ได้แก่ การที่ไม่สามารถรับผิดชอบภาระหน้าที่กับครอบครัวได้ดีนัก ($\bar{x}$ = 2.09), การที่งานส่งผลต่อการไม่มีเวลาเข้าสังคมเท่าที่ควร ($\bar{x}$ = 2.16) และความเหน็ดเหนื่อยจากการทำงานและการเดินทางทำให้ไม่สามารถทำงานบ้านได้ดีพอ ($\bar{x}$ = 2.76)

ปัจจัยความพึงพอใจในงาน เรียงลำดับความสำคัญของตัวแปรจากมากไปน้อย ได้แก่ การมีชั่วโมงการทำงานที่มากเกินไป ($\bar{x}$ = 1.90), ความน่าเบื่อหน่ายในการทำงาน ($\bar{x}$ = 2.33) และการที่ไม่ค่อยมีโอกาสในการเลื่อนตำแหน่ง ($\bar{x}$ = 2.42)

ปัจจัยความผูกพันกับองค์กร เรียงลำดับความสำคัญของตัวแปรจากมากไปน้อย ได้แก่ การเห็นว่าความจงรักภักดีต่อองค์กรเป็นเรื่องที่ไม่สำคัญ ($\bar{x}$ = 2.30), การคิดว่าชีวิตจะไม่ลำบากมากเท่าไรหากลาออกจากองค์กรในตอนนี้ ($\bar{x}$ = 2.46) และการไม่รู้สึกถึงความเป็นส่วนหนึ่งในองค์กรแห่งนี้ ($\bar{x}$ = 2.56)

ทำการเปรียบเทียบกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 คือ วิศวกรที่มีอายุตั้งแต่ 25 – 35 ปี และกลุ่มที่ 2 คือ วิศวกรที่มีอายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไป โดยใช้ t-test ซึ่งตัวแปรที่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญมากกว่า 0.10 จะไม่นำมาวิเคราะห์ผล พบว่า

ปัจจัยความขัดแย้งในชีวิตการทำงานกับชีวิตส่วนตัว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเพียงตัวแปรเดียว คือ การทำงานส่งผลต่อความสัมพันธ์ของคู่สมรส

ปัจจัยความพึงพอใจในงาน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 9 ตัวแปร ได้แก่ ความเหมาะสมของชั่วโมงการทำงาน ความหลากหลายของการทำงาน โอกาสในการเลื่อนตำแหน่ง การได้รับความสนใจในข้อเสนอแนะ ความสัมพันธ์กับผู้รับเหมาย่อย การเลือกวิธีการทำงาน ความพึงพอใจในเงินเดือนที่ได้รับ ความพึงพอใจในงานที่ได้รับมอบหมาย และสภาพแวดล้อมในการทำงาน

ปัจจัยความผูกพันกับองค์กร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 6 ตัวแปร ได้แก่ การมีชีวิตที่ยากลำบากหากตัดสินใจลาออกในตอนนี้ ความเป็นส่วนหนึ่งขององค์กร การตัดสินใจเกี่ยวกับการลาออกจากองค์กร การทำงานอยู่ในองค์กรด้วยความจำเป็น ทางเลือกในงานใหม่ต่อการตัดสินใจลาออก และความสุขในการใช้เวลาที่เหลือในอาชีพกับองค์กรแห่งนี้

ปัจจัยความตั้งใจในการลาออกจากงาน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเพียงตัวแปรเดียว ได้แก่ การลองมองหางานใหม่ในวิชาชีพใหม่

สรุป

จากการวิเคราะห์ข้อมูลจากแบบสอบถาม ความพึงพอใจในการทำงานและความตั้งใจในการลาออกจากงานของวิศวกรในอุตสาหกรรมก่อสร้างไทย พบว่า ปัจจัยที่วิศวกรรู้สึกไม่พอใจโดยรวมคือ ชั่วโมงการทำงานที่มากเกินไป การที่ไม่สามารถรับผิดชอบภาระหน้าที่กับครอบครัวได้ดีนัก การที่งานส่งผลต่อการไม่มีเวลาเข้าสังคมเท่าที่ควร อีกทั้งการที่วิศวกรเห็นว่าความจงรักภักดีต่อองค์กรเป็นเรื่องที่ไม่สำคัญ และมักมีความคิดลาออกแต่ยังคงอยู่ในวิชาชีพเดิม ซึ่งองค์กรควรตระหนักและให้ความสำคัญกับปัญหาเหล่านี้

ข้อเสนอแนะสำหรับองค์กร

การส่งเสริมให้พนักงานเกิดความพึงพอใจในงานและความผูกพันกับองค์กรในระดับสูง จะมีส่วนช่วยลดความตั้งใจในการลาออกจากงานได้ โดยองค์กรควรมีนโยบายส่งเสริมให้พนักงานอยากที่จะทำงานอยู่ในองค์กร

เป็นระยะเวลานานด้วยการให้ผลตอบแทนพิเศษเมื่อพนักงานทำงานครบ 3, 6, 9 ปีขึ้นไป รวมทั้งการจัดกิจกรรมต่าง ๆ ภายในองค์กร เพื่อสร้างความสัมพันธ์อันดีกับเพื่อนร่วมงาน หัวหน้างาน เกิดความผูกพันและรู้สึกถึงความเป็นอันหนึ่งอันเดียวกับองค์กร อีกทั้งควรมีการจัดกิจกรรมส่งเสริมความสัมพันธ์ภายในครอบครัวของพนักงานด้วย เช่น ให้สวัสดิการค่ารักษาพยาบาลแก่ครอบครัว ให้สิทธิการลางานเพื่อเลี้ยงดูบุตร และจัดศูนย์ดูแลบุตรของพนักงานประจำสำนักงาน นอกจากนี้องค์กรควรเปิดโอกาสในการพูดคุย สอบถามถึงความต้องการ ทำให้พนักงานเห็นว่าองค์กรให้ความสำคัญแก่พนักงานทุกคน หากมีพนักงานคนใดมีแนวโน้มไม่มีความสุขในการทำงานและมีความคิดที่จะลาออก ทางองค์กรก็จะได้แก้ไขปัญหาได้อย่างทันท่วงที

เอกสารอ้างอิง

Allen, N.J., & Meyer, J.P. 1991. A three-component conceptualization of organizational commitment. **Human Resource Management Review**, 1, 61-89.

Ferris, G.R., Rossen, S.D., & Barhum, D.T. 1996. Handbook of Human Resource Management. **Oxford: Blackwell**.

Holtom, B.C., Mitchell, T.R., Lee, T.W., & Eberly, M.B. 2008. Turnover and retention research: A glance at the past, a closer review of the present, and a venture into the future. **Academy of Management Annals**, 2, 231-274.

Mobley, W.H. 1982. Employee turnover: Cause, consequences, and control. **Reading, MA: Addison-Wesley**.

Mowday, R.T., Porter, L.M., & Steer, R.M. 1982. Employee-organization linkages: The psychology of commitment, absenteeism and turnover. **New York: Academic**.

Smith, P.C., L.M. Kendall, & C.L. Hulin. 1969. The measurement of satisfaction in work and retirement. **Chicago: Rand McNally**.

Spector, P.E. 1996. Industrial and organizational psychology. **New York: John Wiley & Sons**.

Thomas, L.T., & Ganster, D.C. 1995. Impact of Family-Supportive Work Variables on Work-Family Conflict and Strain: A Control Perspective. **Journal of Applied Psychology**, 80, 6-15.

Wiley, D.L. 1987. The Relationship between work/non-work Conflict and Job Related Outcomes: Some Unanticipated Findings. **Journal of Management**, 13, 467-472.

การผลิตกระแสไฟฟ้าจากน้ำเสียอุตสาหกรรมนมโดยเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ

Electricity Generation from Dairy Industry Wastewater Using Microbial Fuel Cell

ศศิยา บูชา[1*] และ ภัชราภรณ์ สุวรรณวิทยา[1]

Sasiya Boocha[1*] and Patcharaporn Suwanvitaya[1]

บทคัดย่อ

เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพผลิตกระแสไฟฟ้าโดยการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้กับขั้วไฟฟ้า ในการศึกษานี้ผลิตกระแสไฟฟ้าจากน้ำเสียอุตสาหกรรมนมโดยใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพแบบห้องคู่ ใช้แผ่นแกรไฟต์เป็นขั้ว โดยใช้เซลล์ 2 ขนาด คือ MFC1 (1 ลิตร พื้นที่ผิวแอโนด 78 ซม.^{2}) และ MFC2 (1.7 ลิตร พื้นที่ผิวแอโนด 150 ซม.^{2}) ภายใต้สภาวะการทดลองแบบแบทช์ ในระยะเวลา 20 วัน พบว่าการเพิ่มขนาดเซลล์ไม่มีผลชัดเจนต่อการกำจัดสารอินทรีย์ โดยที่ค่า ในขณะที่การเพิ่มขนาดเซลล์มีผลให้ประสิทธิภาพการผลิตกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้น โดยที่ MFC1 และ MFC2 ให้ความหนาแน่นกระแสไฟฟ้าสูงสุดเท่ากับ 4.36 และ 7.90 mA/m^2 กำลังไฟฟ้าสูงสุด 148.53 และ 935.95 mW/m^2 หรือ ผลิตกระแสไฟฟ้าได้ 34.04 และ 69.7 µA/l ตามลำดับ ถึงแม้ว่าทั้ง 2 ชุดการทดลองมีประสิทธิภาพคูลอมบ์ (Coulombic efficiency) ไม่สูงนัก (ร้อยละ 7.34 และ 16.04) แต่เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพสามารถบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมนมควบคู่การผลิตกระแสไฟฟ้าได้

ABSTRACT

Microbial Fuel Cell(MFC) generates electrical current via the transfer of electrons from degradation of organic compounds. In this study, electrical current was generated using wastewater from Kasetsat University Dairy Product Center, in two-chamber MFC with graphite electrodes. The batch experiments were conducted in 2 sets of reactors differed in chamber and electrode size, MFC1 (1 litre with 78 cm^2 anode surface area) and MFC2 (1.7 litre with 150 cm^2 anode surface area). It was found that the increase in size did not affect organic removal. In 20 days, COD was removed by 78.45 and 78.08%, BOD removed by 77.63 and 79.38%, respectively. The generation of electrical current increased with an increase in cell size. Electrical density was found to be maximum at 4.36 and 7.90 mA/m^2 with maximum power density of 148.53 and 935.95 mW/m^2. The maximum generation rate were 34.04 and 69.70 µA/l. Although the Coulombic efficiency of the cells (7.34 and 16.04%) were not high but electrical current generation and dairy wastewater treatment could be simultaneously achieved.

Key Words: Microbial fuel cell, Dairy industry wastewater, Electricity generation, Wastewater treatment

*Corresponding author; e-mail address: sasiya.boo@gmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Environmental Engineering , Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ปัจจุบันแหล่งพลังงานฟอสซิลซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักลดลงจนไม่เพียงพอต่อความต้องการของมนุษย์ จึงมีการหาแหล่งพลังงานอื่นเพื่อทดแทน แหล่งพลังงานที่ได้รับความสนใจมากคือน้ำเสียและของเสีย ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทางสิ่งแวดล้อมทั้งในแง่ชนิดและปริมาณที่เพิ่มขึ้นตามจำนวนประชากรโลก และการเติบโตของภาคอุตสาหกรรม ตามปกติแล้วก่อนที่จะปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ น้ำเสียนั้นต้องผ่านการบำบัดก่อนเพื่อให้ผ่านค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้ง ซึ่งการจัดการระบบบำบัดน้ำเสียนั้นต้องมีค่าใช้จ่าย การนำน้ำเสียมาใช้เป็นแหล่งพลังงานได้จึงเป็นข้อดี ได้ทั้งประโยชน์และการบำบัดน้ำเสียไปพร้อมกัน

เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพเป็นเซลล์ไฟฟ้าเคมีที่ผลิตกระแสไฟฟ้าจากการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลชีพ เซลล์พื้นฐานประกอบด้วยขั้วแอโนด (anode) และขั้วแคโทด (cathode) ซึ่งอยู่แยกส่วนกันโดยกั้นแยกด้วยเยื่อเลือกผ่านโปรตอน(Proton exchange membrane: PEM) หลักการทำงานเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ คือ ในส่วนแอโนดจุลชีพจะย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic) ทำให้สารอินทรีย์ลดลง ถือเป็นการบำบัดน้ำเสีย (Lovley, 2006) โปรตอน (H^+) และ อิเล็กตรอน (e^-) จะถูกปลดปล่อยจากสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลาย โดยอิเล็กตรอนถ่ายโอนจากในเซลล์จุลชีพไปที่ขั้วแอโนด จากนั้นอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ผ่านวงจรภายนอกไปยังส่วนของขั้วแคโทดเกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น ในขณะที่โปรตอนจะเคลื่อนที่ผ่านเยื่อ PEM ไปยังส่วนแคโทด และ เข้ารวมกับออกซิเจน (ที่เติมโดยเครื่องเติมอากาศ) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำ (Zhang *et al*., 2008) การส่งผ่านอิเลกตรอนจะเกิดได้ดียิ่งขึ้นเมื่อมีการใช้สารสื่อกลาง (mediator) ช่วย ผลจากงานวิจัยของ Jang *et al*. (2004) แสดงให้เห็นว่า เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพชนิดไม่ใช้เยื่อเลือกผ่านและสารสื่อกลางนั้นให้ผลผลิตพลังงานไฟฟ้าต่อหน่วยต่ำ

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพมีหลากหลายชนิด อย่างไรก็ตามการใช้กลุ่มจุลชีพที่มีหลายสายพันธุ์ (Mixed Culture) ให้ผลที่น่าสนใจกว่าการใช้สายพันธุ์เดียว (Pure Culture) จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตไฟฟ้าระหว่างการใช้ Pure culture ของ *Geobacter metallireducens* และ Mixed culture โดย Min *et al*. (2005) ได้กำลังไฟฟ้า 38 mW/m^2 และ 40 mW/m^2 ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sun *et al*. (2009) ซึ่งพบว่าการใช้ Mixed culture ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพสามารถเพิ่มความหนาแน่นกำลังไฟฟ้าได้ง่ายกว่าการใช้ Pure culture

น้ำเสียจากอุตสาหกรรมนมเกิดจากขั้นตอนต่างๆในกระบวนการผลิต น้ำเสียที่เกิดขึ้นมีองค์ประกอบหลักเป็นสารอินทรีย์ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักและมีปริมาณมากในน้ำนมจึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งให้อิเล็กตรอนแก่เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพได้ จากงานวิจัยของ Holasut ในปี 2009 ซึ่งใช้น้ำเสียจากโรงงานนมในเซลล์เชื้อเพลิงแบบห้องเดี่ยวสามารถผลิตไฟฟ้าได้สูงสุดถึง 170 mW/m^2 ในขณะที่

งานของ H.J. Mansoorian *et al.* (2014) ได้กำลังไฟฟ้าสูงสุดถึง 621.13 mW/m^2 จากน้ำเสียโรงงานนมในเซลล์เชื้อเพลิงแบบห้องคู่

ในการศึกษานี้ใช้น้ำเสียจากศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการในเซลเชื้อเพลิงจุลชีพแบบห้องคู่ ที่มีแกรไฟต์เป็นขั้วไฟฟ้า เพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าโดยอาศัยกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลชีพที่เป็นเชื้อประจำถิ่นของน้ำเสียอุตสาหกรรมนม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากน้ำเสียในการผลิตกระแสไฟฟ้าในเซลเชื้อเพลิงจุลชีพ พร้อมประเมินศักยภาพการผลิต ผลที่ได้จะเป็นแนวทางในการบำบัดน้ำเสียพร้อมกับได้แหล่งพลังงานทางเลือก

อุปกรณ์และวิธีการ

เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ

เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพที่ใช้ในการทดลองเป็นแบบห้องคู่ ขั้วแอโนดและแคโทดแยกอยู่ต่างช่องกัน เชื่อมต่อกันด้วยข้อต่อพีวีซี โดยกั้นแยกด้วยเยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Proton exchange membrane: PEM -Nafion®) ใช้แผ่นแกรไฟต์เป็นขั้วไฟฟ้า โดยต่อเข้ากับตัวต้านทานภายนอกขนาด 1 kΩ และมัลติมิเตอร์ แบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ MFC1 และ MFC2 ซึ่งต่างกันที่ขนาดของเซลล์ องค์ประกอบของระบบแสดงใน Figure 1 และ Figure 2 ชุดการทดลอง MFC1 ใช้เซลล์ที่มีปริมาตรของช่องแอโนดและแคโทด 1 ลิตร ทำจากท่ออคริลิกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.5 ซม. สูง 18.5 ซม. ใช้แผ่นเยื่อ PEM ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 ซม. (พื้นที่ผิว 7 ตร.ซม.) ขั้วไฟฟ้าใช้แผ่นแกรไฟต์ขนาด 9 ซม.x 3 ซม.x 1ซม. (พื้นที่ผิว 78 ตร.ซม.) ชุดการทดลอง MFC2 เพิ่มขนาดจากชุดแรก ช่องแอโนดและแคโทดมีปริมาตร 1.7 ลิตร ใช้ท่ออคริลิกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.5 ซม. สูง 30 ซม. เพิ่มจุดเชื่อมต่อเป็น 2 จุด โดยมีพื้นที่ผิวรวมของ PEM เท่ากับ 14 ตร.ซม. ใช้แผ่นแกรไฟต์ขนาด 18 ซม.x 3 ซม.x 1 ซม. (พื้นที่ผิว 150 ตร.ซม.)

การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดและการผลิตกระแสไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ

น้ำตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียจากอุตสาหกรรมนม เก็บจากกระบวนการผลิตของศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ในการทดลองเติมน้ำเสียเข้าระบบในช่องแอโนด ส่วนช่องแคโทดเติมด้วยน้ำกลั่น ทั้งสองชุดการทดลอง (MFC1 และ MFC2) เป็นการทดลองแบบแบตช์ ในช่วงเวลา 20 วัน เก็บข้อมูลค่าความต่างศักย์ และ ความต้านทานผ่านเครื่องมัลติมิเตอร์ทุกๆ 1 ชั่วโมงตลอดระยะเวลาทดลอง และ เก็บตัวอย่างน้ำเสียทุกๆ 4 วัน เพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ตามวิธีใน Standard method for

examination of water and wastewater 20th edition (APHA, AWWA and WEF, 2005) รายละเอียดแสดงใน Table1

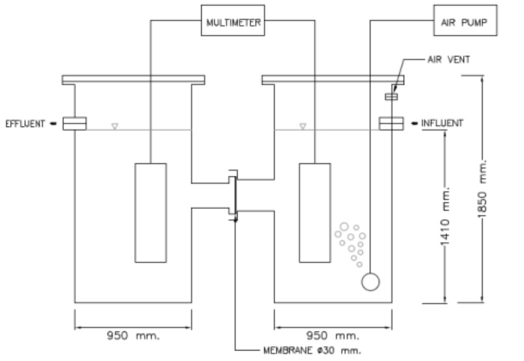


Figure 1 The schematic view of the MFC1

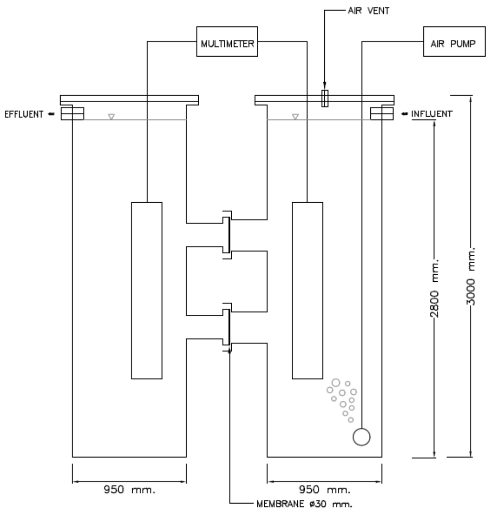


Figure 2 The schematic view of the MFC2

Table 1 Analytical methods for determination of wastewater characteristics

	Wastewater characteristics	Standard method (APHA, AWWA and WEF)
TSS	Total Suspended Solids, Dried at 103-105 °C	2540D
BOD	5-Day Biological Oxygen Demand	5210-BOD
COD	Chemical Oxygen Demand, Closed Reflux - Titrimetric	5220C
pH	Direct measurement	-

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากศูนย์ผลิตภัณฑ์นม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากศูนย์ผลิตภัณฑ์นมฯซึ่งเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ พศ. 2559 แสดงใน Table 2 น้ำเสียมีค่า pH เป็นกลางอยู่ในช่วง 6-7 มีปริมาณสารอินทรีย์ทั้งในรูปของ BOD และ COD ค่อนข้างสูง เมื่อพิจารณาจากสัดส่วน BOD : COD จะเห็นว่ามีค่าในช่วง 0.7 – 0.8 แสดงว่าสารอินทรีย์ในน้ำเสียนี้มีองค์ประกอบที่ย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (Biodegradable) อยู่ค่อนข้างสูง จึงจัดเป็นน้ำเสียที่มีศักยภาพในการใช้ประโยชน์ในกระบวนการทางชีวภาพอย่างเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ

Table 2 Characteristics of dairy wastewater

Parameter	Value
TSS (mg/l)	54 – 62
BOD (mg/l)	760 – 880
COD (mg/l)	973 – 990
pH	6 – 7

ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ

ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์และการถ่ายโอนอิเลคตรอนจะเกิดในช่องแอโนด ในการทดลองนี้ได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า BOD และ COD ของน้ำเสียในช่องแอโนด ในช่วง 20 วันของการทดลอง ผลดังแสดงใน Figure 3 พบว่าในทั้งชุดการทดลอง MFC1 และ MFC2 ค่า COD ลดลงอย่างต่อเนื่อง จากค่าตั้งต้น 990 mg/l เป็น 231.33 mg/l และจาก 973.33 mg/l เป็น 213.33 mg/l คิดเป็นประสิทธิภาพการบำบัดร้อยละ 78.45 และ 78.08 ตามลำดับ สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า BOD ซึ่งลดลงจาก BOD เริ่มต้น 760 mg/l เป็น 170 mg/l และ 880 mg/l เป็น 181.43 mg/l คิดเป็นประสิทธิภาพการบำบัดร้อยละ 77.63 และ 79.38 ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อสังเกตที่ขั้วแอโนดจะพบว่าเกิดฟิล์ม (biofilm) เคลือบบนผิวของแอโนด การเกิด biofilm และ การลดลงของสารอินทรีย์ในช่องแอโนดแสดงให้เห็นว่ามีกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์เกิดขึ้น

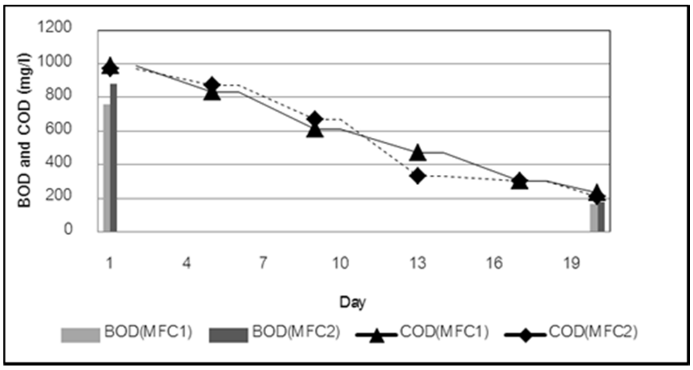


Figure 3 BOD and COD removal in dairy wastewater by microbial fuel cell

การผลิตกระแสไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพ

ในการศึกษานี้ได้ติดตามการผลิตกระแสไฟฟ้าในเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพที่ใช้น้ำเสียจากอุตสาหกรรมนมเป็น substrate โดยบันทึกค่าความต่างศักย์และคำนวณหากระแสไฟฟ้า จากผลที่แสดงใน Figure 4 ซึ่งพล็อตระหว่างกระแสไฟฟ้ากับเวลา จะเห็นว่าทั้งชุดการทดลอง MFC1 และ MFC2 มีการผลิตกระแสไฟฟ้าอย่างต่อเนื่อง เมื่อพิจารณาจากรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงปริมาณกระแสไฟฟ้า จะเห็นว่ามีรูปแบบที่สอดคล้องกับรูปแบบการเจริญของจุลชีพในสภาวะมีทรัพยากรจำกัด ในช่วงแรกจุลชีพอยู่ในช่วงปรับตัวระบบผลิต

กระแสไฟฟ้าได้ค่อนข้างต่ำแล้วค่อยเพิ่มขึ้น เมื่อจุลชีพปรับตัวได้แล้วจะมีการเจริญแบบ exponential ผลผลิตที่ได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แล้วเข้าสู่สภาวะคงที่อยู่ช่วงหนึ่ง ในช่วงสุดท้ายที่ปริมาณอาหารลดลงกิจกรรมและผลผลิตจะลดลงไปด้วย ทั้งนี้จะสามารถเห็นแนวโน้มในชุดการทดลอง MFC2 ได้ชัดเจนกว่า เนื่องจากระบบที่มีขนาดใหญ่กว่า ด้วยปริมาณน้ำและพื้นที่ผิวของแอโนดเพิ่มเป็น 2 เท่าของ MFC1 ในช่วงสภาวะคงที่(ช่วงวันที่ 10-16 ของการทดลอง) ในขณะที่ความต่างศักย์สูงสุดของ MFC1 มีค่า 34.04 mV ของ MFC2 มีค่า 118.49 mV คิดเป็นกระแสไฟฟ้า 34.04 μA และ 118.49 μA ตามลำดับ (ในการทดลองนี้ ขั้วไฟฟ้าต่อกับความต้านทาน 1 kΩ) โดยคำนวณเป็นกระแสไฟฟ้าต่อปริมาตรน้ำเสีย ได้เท่ากับ 34.04 μA/l และ 69.7 μA/l ตามลำดับ

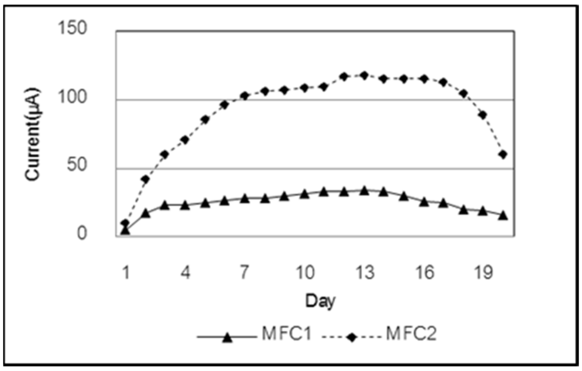


Figure 4 Electrical current generation of dairy wastewater in microbial fuel cell

เมื่อพิจารณาในแง่ประสิทธิภาพการผลิตกระแสไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพต่อหน่วยพื้นที่ผิวของขั้วแอโนด พบว่า ความหนาแน่นกระแสไฟฟ้า (current density) สูงสุดของ MFC1 เท่ากับ 4.36 mA/m^2 โดยที่ MFC2 มีประสิทธิภาพสูงกว่า โดยมีความหนาแน่นกระแสไฟฟ้าสูงสุดเท่ากับ 7.90 mA/m^2 เมื่อพิจารณาถึงกำลังไฟฟ้าที่ได้ พบว่า ความหนาแน่นกำลังไฟฟ้าสูงสุดของ MFC1 และ MFC2 เท่ากับ 148.53 mW/m^2 และ 935.95 mW/m^2 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขนาดของเซลล์ (ปริมาตรน้ำเสีย และ พื้นที่ผิวของขั้ว) มีผลเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกระแสไฟฟ้า (Figure 5)

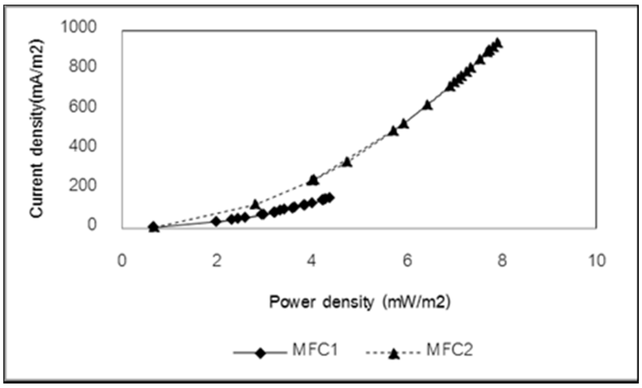


Figure 5 Current density and power density generated using MFC

ประสิทธิภาพคูลอมบ์ (Coulombic efficiency) ซึ่งเป็น อัตราส่วนของประจุที่วิ่งผ่านขั้วไฟฟ้าในวงจรต่อประจุที่ได้จากการลดค่า COD คำนวณได้จากสมการ (1) ซึ่งเสนอโดย Logan *et al.* (2006)

$$CE\,(\%) = M\,(\int_0^{t_b} Idt\,)\,/(Fbv\,\Delta COD\,)*100 \qquad (1)$$

โดยที่ M_i คือ น้ำหนักโมเลกุลของออกซิเจน (M_w = 32 g mol^{-1}), I คือ ค่ากระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นตลอดเวลา (C/s), F คือ ค่าคงที่ของ Faraday มีค่า 96,485 C mol^{-1}, b คือ จำนวนของโมลอิเล็กตรอนที่ผลิตได้ต่อโมลของออกซิเจน (b = 4), ΔCOD คือ ค่าความต่างของความเข้มข้นของสารตั้งต้นและสุดท้าย (g/l), V คือ ปริมาตรของสารละลาย (L)

ค่าประสิทธิภาพคูลอมบ์ เป็นค่าที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจากสารตั้งต้นสู่ขั้วไฟฟ้าแล้วได้เป็นพลังงานออกมา หรือ เป็นการอธิบายถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงอิเล็กตรอนทั้งหมดในสารอินทรีย์ตั้งต้นเป็นไฟฟ้านั่นเอง พบว่า MFC1 และ MFC2 มีประสิทธิภาพคูลอมบ์ร้อยละ 7.34 และ 16.04 ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตว่าเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพที่ใช้น้ำเสียอุตสาหกรรมนมมีประสิทธิภาพคูลอมบ์ไม่สูงนัก แต่เมื่อนำประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ (ร้อยละ 78) มาพิจารณาร่วมด้วยจะเห็นว่าการใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพเป็นทางเลือกที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นการใช้ประโยชน์จากน้ำเสียเป็นแหล่งพลังงาน

สรุป

จากการทดลองผลิตกระแสไฟฟ้าจากน้ำเสียอุตสาหกรรมนมโดยใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพแบบห้องคู่ ใช้แผ่นแกรไฟต์เป็นขั้ว โดยใช้เซลล์ 2 ขนาด คือ MFC1 (ปริมาตรห้อง 1 ลิตร พื้นที่ผิวของขั้วแอโนด 78 cm^2) และ MFC2 (ปริมาตรห้อง 1.7 ลิตร พื้นที่ผิวแอโนด 150 cm^2) ภายใต้สภาวะการทดลองแบบแบทซ์ พบว่าเซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพสามารถใช้บำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมนมโดยได้ผลผลิตเป็นกระแสไฟฟ้าด้วย โดยที่

1. เซลล์เชื้อเพลิงจุลชีพทั้ง 2 ชุด สามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้ดีในระดับเดียวกัน ในระยะเวลา 20 วัน สามารถลดค่า COD ได้ร้อยละ 78.45 และ 78.08 ลดค่า BOD ได้ 77.63 และ 79.38 ตามลำดับ
2. MFC1 ผลิตกระแสไฟฟ้าได้สูงสุดต่อปริมาตรน้ำเสีย 34.04 μA/l ความหนาแน่นกระแสไฟฟ้าสูงสุดเท่ากับ 4.36 mA/m^2 และ กำลังไฟฟ้าสูงสุด 148.53 mW/m^2 ในขณะที่ MFC2 ผลิตกระแสไฟฟ้าได้สูงสุดต่อปริมาณน้ำเสีย 69.7 μA/l ความหนาแน่นกระแสไฟฟ้าสูงสุดเท่า 7.90 mA/m^2 และกำลังไฟฟ้าสูงสุด 935.95 mW/m^2
3. MFC1 และ MFC2 มีประสิทธิภาพคูลอมบ์ (Coulombic efficiency) ร้อยละ 7.34 และ 16.04 ตามลำดับ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

APHA, AWWA and WEF. 1998. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** 20th edition, Washington, D.C: American Public Health Association.

D. Majumder, J.P. Maity, M.J. Tseng, V.R. Nimje, H.R. Chen, C.C. Chen, Y.F. Chang, T.C. Yang and C.Y. chen. 2014. Electricity Generation and Wastewater Treatment of Oil Refinery in Microbial Fuel Cells Using *Pseudomonas putida*. **Molecular Sciences**. 15: 16772-16786.

Der-Fong Juang. 2012. Organic Removal Efficiencies and Power Production Capabilities of Microbial Fuel Cells with Pure Cultures and Mixed Culture. **APCBEEE Procedia**. 1: 2-7.

Jang, J.K., T.H. Pham, I.S. Chang, K.H. Kang, H. Moon, K.S. Cho, and B.H. Kim. 2004. Construction and Operation of a Novel Mediator- and Membrane-Less Microbial Fuel Cell. **Process Biochem**. 39: 1007–1012

H.J. Mansoorian, A.H. Mahvi, A.J. Jafari and N. Khanjani. 2016. Evaluation of Dairy Industry Wastewater Treatment and Simultaneous Bioelectricity Generation in Catalyst-less and Mediator-less Membrane Microbial Fuel Cell. **Journal of Saudi Chemical Society**. 20: 88-100.

Haiping Wang, Sunny C. Jiang, Yun Wang and Bo Xiao. 2013. Substrate Removal and Electricity Generation in a Membrane-less Microbial Fuel Cell for Biological Treatment of wastewater. **Bioresource Technology**. 138: 109-116.

Holasut K., Ngamsai K., Wareesongnoen S. and Kumwachara K.. 2008. **Electricity Generation from Wastewater by Using Membrane-less Single Chamber Microbial Fuel Cell.** Paper present at Technology and Innovation for Sustainable Development Conference (TISD2008). Khonkaen. Sofitel hotel.

Logan, B.E., B. Hamelers, R. Rozendal, U. Schröder, J. Keller, S. Freguia, P. Aelterman, W. Verstraete and K. Rabaey. 2006. Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. **Environmental Science and Technology**. 40 (17): 5181-5192.

Lovley, D.R. 2006. Microbial Fuel Cell: Novel Microbial Physiologies and Enginerring Approaches. **Biotechnol**. 17: 327-332.

Min B., Cheng S., Logan B.E. 2005. Electricity Generation using Membrane and Salt Bridge Microbial Fuel Cell. **Water Res**. 39: 1675-1686.

Sun J., Hu Y., Bi Z. and Cao Y. 2009. Improved Performance of Air-cathode Single-chamber Microbial Fuel Cell for Wastewater Treatment using Microfiltration Membranes and Multiple Sludge Inoculation. **J. Power Source**. 187:471-479.

Zhang J.N., Zhao Q.L., Aelterman P., You S.J. and Jiang J.Q. 2008. Electricity Generation in Microbial Fuel Cell with a Microbially catalyzed Cathode. **Biotechol**. 30: 1771-1776.

การศึกษาต้นทุนค่าก่อสร้างร้านค้าปลีกที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว

Costs of Green Retail Space

จิราพร นวลเขียว[1*] และ ปิยนุช เวทย์วิวรณ์[1]

Jiraporn Nuankheio[1*] and Piyanut Wethyavivorn[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาต้นทุนค่าก่อสร้างของร้านค้าปลีกที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานอาคารเขียว LEED ประเภท Retail-Commercial Interior ในประเทศไทยที่ก่อสร้างแล้วเสร็จและได้รับการรับรองในระดับประกาศนียบัตรจนถึงระดับแพลทินั่มซึ่งเป็นระดับการรับรองสูงสุด โดยพิจารณาเลือกกรณีตัวอย่างจำนวน 4 กรณี จากร้านกาแฟ สตาร์บัคส์ ผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่าต้นทุนค่าก่อสร้าง ระดับประกาศนียบัตรจะเพิ่มขึ้น 990.56 บาทต่อตารางเมตร ระดับซิลเวอร์ต้นทุนเพิ่มขึ้น 1,495.29 บาทต่อตารางเมตร ระดับโกลด์ต้นทุนเพิ่มขึ้น 1,680.18 บาทต่อตารางเมตร และระดับแพลทินั่มต้นทุนเพิ่มขึ้น 2,069.09 บาทต่อตารางเมตร ปัจจัยที่ส่งผลให้ต้นทุนเพิ่มสูงขึ้นคือการออกแบบให้มีอุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อลดการใช้พลังงาน ค่าดำเนินการระหว่างก่อสร้างของผู้รับเหมา รวมถึงการว่าจ้างที่ปรึกษา LEED และการจัดจ้างวิศวกรเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของระบบให้เป็นไปตามมาตรฐานอาคารเขียว อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อให้ผลลัพธ์ที่ได้นำมาอ้างอิงและใช้ประกอบการพิจารณาในการก่อสร้างโครงการที่มีลักษณะใกล้เคียงกันในอนาคต

ABSTRACT

This research was conducted to study the construction cost of the retail store that achieved the LEED for Retail-Commercial Interior. The case studies have been completed and certified in certified level to platinum level. Considering 4 cases from Starbucks Coffee store. It was shown that the construction cost of certified level increased 990.56 baht per square meter, silver level increased 1,495.29 baht per square meter, gold level increased 1,680.18 baht per square meter and platinum level increased 2,069.09 baht per square meter. The factors affecting the cost was the selected design for high efficiency to reduce energy consumption, the overhead of construction contractor and LEED consultant service. However, there should be more research to provide results as references for the similar construction project in the future.

Key Words: green retail space, LEED, cost comparison

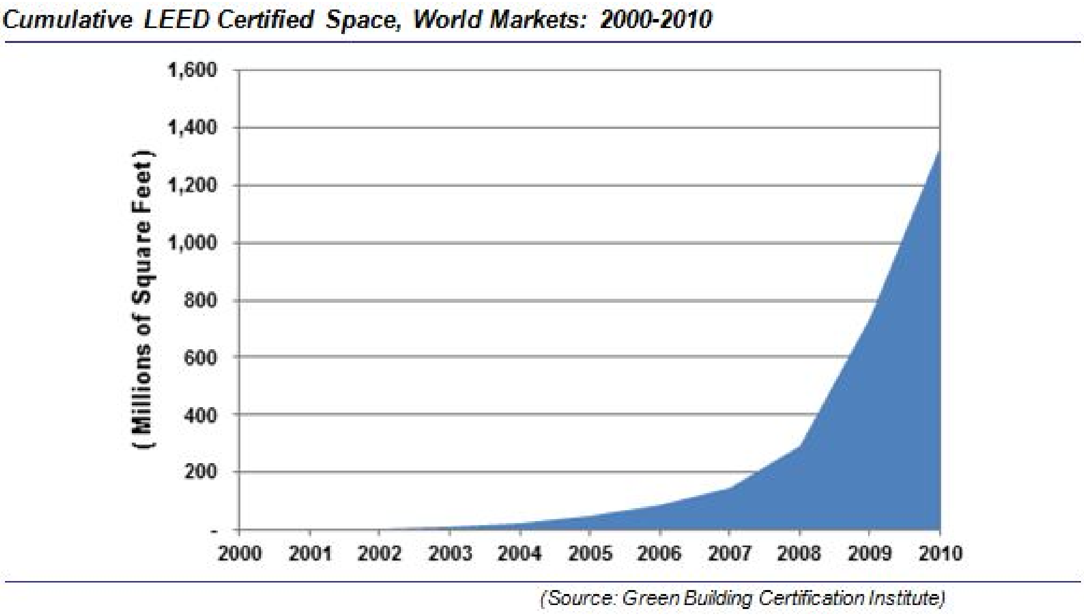
*Corresponding author; e-mail address: quazlocks@outlook.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Civil Engineer, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

อาคารเขียวเป็นเกณฑ์ที่ใช้ควบคุมการก่อสร้างอาคาร เพื่อให้ผู้ออกแบบ ผู้ทำการก่อสร้าง และเจ้าของโครงการถือเป็นแนวปฏิบัติ ในปี ค.ศ. 2000 ถึงปี ค.ศ. 2010 มีจำนวนอาคารที่ได้รับการรับรองจากเกณฑ์อาคารเขียว LEED ทั่วโลกคิดเป็นพื้นที่มากกว่า 10.5 พันล้านตารางฟุต จากสถิติของโครงการที่ขอรับรองในช่วง 5 ปีแรกจะมีปริมาณน้อย และเริ่มมีโครงการขอรับรองเพิ่มมากขึ้นในช่วง 5 ปีหลัง แสดงให้เห็นถึงความสนใจในการออกแบบและก่อสร้างอาคารให้ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว (ชนิกานต์, 2558) ดังแสดงในรูปที่ 1



Fixture 1 Cumulative LEED Space

ความสนใจอาคารเขียวยังขยายไปยังกลุ่มผู้ประกอบการร้านค้าปลีก โดยจากรายงาน LEED in Motion Retail ของ U.S. Green Building Council เมื่อปี ค.ศ.2014 มีโครงการที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว LEED ประเภทร้านค้าปลีกแล้วจำนวน 3,522 โครงการ คิดเป็นพื้นที่ 515.8 ล้านตารางฟุต ในประเทศไทยมีจำนวนร้านค้าปลีกที่ออกแบบและก่อสร้างให้ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวแล้วจำนวน 38 โครงการ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับต่างประเทศถือว่ามีจำนวนน้อย ทั้งนี้เนื่องมาจากมูลค่าการลงทุนที่ต้องเพิ่มสูงขึ้น

มีงานวิจัยในประเทศจีนที่ศึกษาต้นทุนและอุปสรรค์ในการประยุกต์ใช้เกณฑ์อาคารเขียวกับการพัฒนาโครงการอสังหาริมทรัพย์ ซึ่งผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าต้นทุนค่าก่อสร้างอาคารเขียวจะเพิ่มสูงขึ้นอันเนื่องมาจากการลงทุนเพิ่มเติมเกี่ยวกับเทคโนโลยี (Xiaoling et al, 2011) ส่วนการส่งเสริมให้เกิดการสร้างอาคารเขียวในประเทศจีนคือแรงจูงใจจากรัฐบาล (Liu et al., 2012) สำหรับประเทศไทยได้มีการศึกษาต้นทุนและผลประโยชน์ของการลงทุนก่อสร้างอาคาเขียว (กมลทิพย์, 2556) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า การลงทุนก่อสร้างอาคารเขียวยังคงมีต้นทุนที่สูงกว่าอาคารที่ไม่ใช่อาคารเขียว โดยต้นทุนดังกล่าวจะยิ่งสูงขึ้นกับการก่อสร้างอาคารขนาดใหญ่ที่มีพื้นที่ใช้สอยมาก

สำหรับงานวิจัยที่ผ่านมา ส่วนมากเป็นงานวิจัยที่ศึกษากรณีตัวอย่างในต่างประเทศจากกลุ่มตัวอย่างอาคารที่ผ่านเกณฑ์ LEED ในประเภทการคำนึงถึงพื้นที่ส่วนกลาง และกรอบอาคาร (Core & Shell) และในกลุ่ม

ของอาคารสร้างใหม่ (New Construction) โดยสังเกตว่างานวิจัยลักษณะนี้ในประเทศไทยมีไม่มากนัก ในขณะที่ยังมีความต้องการงานวิจัยเพื่อนำไปเป็นกรณีเปรียบเทียบ เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ใกล้เคียงความจริง อันจะเป็นประโยชน์สำหรับเจ้าของโครงการใช้ประกอบการพิจารณาตัดสินใจก่อสร้างอาคารเขียว

วิธีการดำเนินการศึกษาวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงกรณีศึกษาเพื่อหาต้นทุนค่าก่อสร้าง และปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อต้นทุนค่าก่อสร้างร้านค้าปลีกที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว LEED ประเภท Retail-Commercial Interior ของร้านกาแฟสตาร์บัคส์ในประเทศไทย จากการสัมภาษณ์บุคลากรที่เกี่ยวข้องภายในองค์กร ผู้ออกแบบ และผู้รับเหมาพบว่าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554 ถึง พ.ศ. 2557 มีร้านที่ถูกสร้างขึ้น และผ่านเกณฑ์อาคารเขียว LEED ทั้งหมด 38 สาขา ในการศึกษาได้พิจารณาเลือกกรณีศึกษามาทั้งหมด 5 กรณี ประกอบด้วย ร้านที่ไม่ผ่านเกณ์อาคารเขียว (Base Case) ร้านที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวระดับประกาศนียบัตร (Case I) ร้านที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวระดับซิลเวอร์ (Case II) ร้านที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวระดับโกลด์ (Case III) และร้านที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวในระดับแพลทินั่ม (Case IV) ดังแสดงในตารางที่ 1

Table 1 A summary of the profiles of project under study

Case	Project	Total Cost (฿)	Total Area (m^2)	Location	Certification level	Version
Base Case	Starbucks Robinson Samutprakarn	10,232,328	266	Samutprakarn	Non	Non
Case I	Starbucks Robinson Chacheongsao	10,313,795	248	Chacheongsao	Certified	v1.0
Case II	Starbucks The Scene Town in Town	14,591,028	326	Bangkok	Silver	v1.0
Case III	Starbucks Porto Chino	21,248,762	390	Samutsongkarm	Gold	v1.0
Case IV	Starbucks SCG Head Office	8,952,298	160	Bangkok	Platinum	v1.0

จากเอกสารรายงานอาคารเขียวพบว่า 4 กรณีศึกษาที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวมีระดับคะแนนดังนี้ กรณีศึกษาที่ 1 ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวระดับประกาศนียบัตรได้คะแนนทั้งหมด 21 คะแนน กรณีศึกษาที่ 2 ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวระดับซิลเวอร์ได้คะแนนทั้งหมด 31.5 คะแนน กรณีศึกษาที่ 3 ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวระดับ

โกลด์ได้คะแนนทั้งหมด 37 คะแนน และ กรณีศึกษาที่ 4 ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวระดับแพลทินั่มได้คะแนนทั้งหมด 81 คะแนน ดังแสดงในตารางที่ 2

Table 2 Total project score of LEED certification

Title	Case I	Case II	Case III	Case IV
Sustainable Sites	2	4.5	4	21
Water Efficiency	2	1	2	11
Energy and Atmosphere	6	9	9	22
Materials and Resources	0	2	5	7
Indoor Environmental Quality	6	10	12	10
Innovation in Design	5	5	5	6
Regional Priority Credits	0	0	0	4
Total Project Score	**21**	**31.5**	**37**	**81**

การวิเคราะห์หาต้นทุนค่าก่อสร้างที่เพิ่มขึ้นจะพิจารณาจากคะแนนแต่ละหมวดในเอกสารรายงานอาคารเขียวดังแสดงในตารางที่ 2 คะแนนในแต่ละหมวดที่ได้จะเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้มีการออกแบบ การเลือกใช้วัสดุและการดำเนินงานระหว่างการก่อสร้างแตกต่างจากร้านทีไม่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว เมื่อแยกส่วนต่างดังกล่าวข้างต้นได้แล้วนำไปพิจารณาเพื่อหาส่วนต่างของการลงทุนจากบัญชีแสดงค่าวัสดุและค่าแรงของผู้รับเหมา

ผลการศึกษา

จากการศึกษาเพื่อหาต้นทุนค่าก่อสร้างร้านค้าปลีกที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว ผลที่ได้พบว่า ต้นทุนของการดำเนินการในแต่ละขั้นตอนเพื่อให้ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวมีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น โดยจะมีค่าสูงมากขึ้นเมื่อต้องการให้ผ่านเกณฑ์อาคารเขียวในระดับที่สูงขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 3

Table 3 Impact of LEED certification on retail construction cost

Title		Base	Case I	Case II	Case III	Case IV
		Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)
Sustainable Sites		**0.00**	**0.00**	**40.43**	**64.77**	**0.00**
SSc3	Alternative Transportation	0.00	0.00	40.43	64.77	0.00
Water Efficiency		**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**	**0.00**
WEp1	Water Use Reduction, 20% Reduction	Standard design	Standard design	Standard design	Standard design	Standard design
WEc1	Water Use Reduction, 30/35/40% Reduction	Standard design	Standard design	Standard design	Standard design	Standard design

Table 3 Impact of LEED certification on retail construction cost

Title		Base	Case I	Case II	Case III	Case IV
		Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)	Add Cost (฿/m^2)
Energy and Atmosphere		**0.00**	**178.63**	**384.43**	**392.33**	**544.09**
EAc1.1	Optimize Energy Performance- Lighting Power 15/20/25/30/35% Reduction	0.00	178.63	366.03	373.10	532.22
EAc1.2	Optimize Energy Performance- Lighting Controls	0.00	0.00	18.40	19.23	11.88
Materials and Resources		**0.00**	**0.00**	**306.75**	**448.72**	**468.75**
MRc2	Construction Waste Management, Divert 50/75%	0.00	0.00	0.00	64.10	156.25
MRc5	Regional Materials, 20% Manufactured, 10% Extracted & Manufactured	0.00	0.00	306.75	384.62	312.5
Indoor Environmental Quality		**0.00**	**449.03**	**591.90**	**630.77**	**706.25**
EQc1	Outdoor Air Delivery Monitoring	0.00	201.61	230.06	192.31	225.00
EQc2	Increased Ventilation	0.00	247.42	315.83	400.00	325.00
EQc3.1	Construction IAQ Management Plan, During Construction	0.00	0.00	46.01	38.46	156.25
Innovation in Design		**0.00**	**362.90**	**171.78**	**143.59**	**350.00**
IDc2	LEED Accredited Professional	0.00	362.90	171.78	143.59	350.00
Grand Total		**0.00**	**990.56**	**1,495.29**	**1,680.18**	**2,069.09**

จากตารางที่ 3 ในหมวดของที่ตั้งยั่งยืน (Sustainable Sites) กรณีที่ 2 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 40.43 บาทต่อตารางเมตร และกรณีที่ 3 จะมีตุ้นทุนเพิ่มขึ้น 64.77 บาทต่อตาราเมตร เนื่องมาจากการจัดเตรียมที่จอดจักรยาน

หมวดการบริหารการใช้น้ำ (Water Efficiency) ไม่มีต้นทุนเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีการกำหนดไว้ในแบบมาตรฐานให้ใช้สุขภัณฑ์ที่ลดการใช้น้ำ

หมวดพลังงานและบรรยกาศ (Energy and Atmosphere) กรณีที่ 1 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 178.63 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 2 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 384.43 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 3 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 392.33 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 4 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 544.09 บาทต่อตารางเมตร มูลค่าการลงทุนเพิ่มสูงขึ้นเนื่องมาจากการ

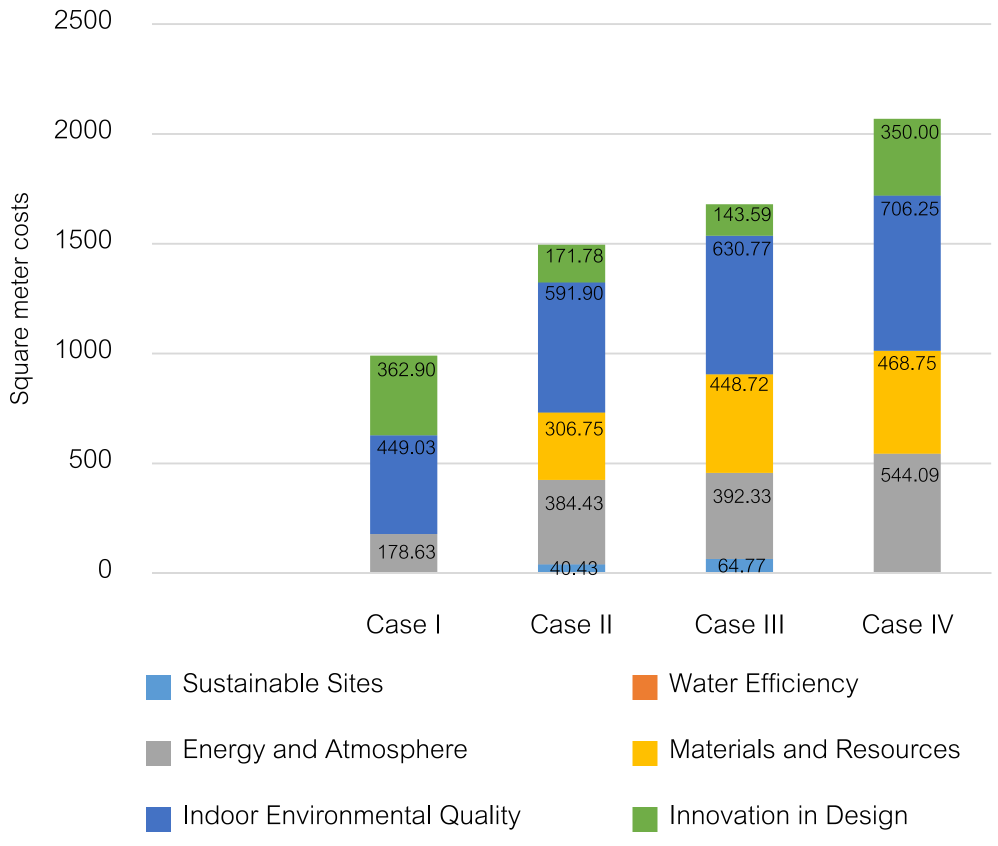
ออกแบบเพื่อลดการใช้แสดงสว่างโดยการเปลี่ยนมาใช้หลอดไฟ LED ที่มีราคาสูงขึ้น และการติดตั้งอุปกรณ์จำกัดวัตต์ของไฟฟ้าแสงสว่าง

หมวดวัสดุและทรัพยากรในการก่อสร้าง (Materials and Resources) กรณีที่ 2 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 306.75 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 3 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 448.72 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 4 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 468.75 บาทต่อตารางเมตร มูลค่าต้นทุนที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากใช้วัสดุที่อยู่ที่อยู่ไม่ห่างจากสถานที่ก่อสร้างเกิน 250 ไมล์ และค่าดำเนินการในการติดตั้งพัดลมระบายอากาศระหว่างก่อสร้าง การจัดเตรียมอุปกรณ์จัดเก็บและแยกขยะ

หมวดคุณภาพและสภาพแวดล้อมภายในอาคาร (Indoor Environmental Quality) กรณีที่ 1 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 449.03 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 2 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 591.90 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 3 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 630.77 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 4 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 706.05 บาทต่อตารางเมตร มูลค่าที่เพิ่มขึ้นในหมวดนี้เกิดจากการออกแบบให้มีระบบการเติมอากาศ การติดตั้งอุปกรณ์ตรวจจับคาร์บอนด์ไดออกไซด์ และการจัดการระบบหมุนเวียนอากาศในระหว่างการก่อสร้าง

หมวดนวัตกรรมและขั้นตอนการออกแบบ (Innovation in Design) กรณีที่ 1 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 362.90 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 2 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 171.78 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 3 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 143.59 บาทต่อตารางเมตร กรณีที่ 4 จะมีต้นทุนเพิ่มขึ้น 350.00 บาทต่อตารางเมตร มูลค่าการลงทุนเพิ่มสูงขึ้นเนื่องมาจากการจัดจ้างที่ปรึกษา LEED ค่าลงทะเบียนและขอรับเอกสารรับรอง

สัดส่วนของการลงทุนในการก่อสร้างร้านค้าปลีกให้ผ่านเกณฑ์ของทั้ง 4 กรณี แสดงไว้ในรูปที่ 2



Fixture 2 Square meter costs associated with LEED Certification

จากรูปที่ 2 กรณีศึกษาทั้ง 4 กรณีที่ผ่านเกณฑ์จะมีต้นทุนจะสูงขึ้นโดยระดับประกาศนียบัตรจะเพิ่มขึ้น 990.56 บาทต่อตารางเมตรเทียบกับกรณีทีไม่ผ่านเกณฑ์คิดเป็นร้อยละ 9.91 ระดับซิลเวอร์ต้นทุนเพิ่มขึ้น 1,495.29 บาทต่อตารางเมตรเทียบกับกรณีที่ไม่ผ่านเกณฑ์คิดเป็นร้อยละ 14.95 ระดับโกลด์ต้นทุนเพิ่มขึ้น 1,680.18 บาทต่อตารางเมตรเทียบกับกรณีที่ไม่ผ่านเกณฑ์คิดเป็นร้อยละ 16.80 และระดับแพลทินั่มต้นทุนเพิ่มขึ้น 2,069.09 บาทต่อตารางเมตรเทียบกับกรณีไม่ผ่านเกณฑ์คิดเป็นร้อยละ 20.69

สรุป

ต้นทุนค่าก่อสร้างของร้านค้าปลีกที่ผ่านเกณฑ์อาคารเขียว LEED จะมีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นตามระดับของการรับรอง โดยปัจจัยที่ส่งผลกระทบทำให้ต้นทุนเพิ่มขึ้นคือการออกแบบที่เพิ่มระบบต่างๆ เพื่อให้ผ่านเกณฑ์ และในระหว่างการก่อสร้างจะมีค่าดำเนินการของผู้รับเหมาในการบริหารจัดการพื้นที่ก่อสร้างให้เป็นไปตามข้อกำหนด และรวมถึงการว่าจ้างที่ปรึกษา LEED และการจัดจ้างวิศวกรเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของระบบให้เป็นไปตามมาตรฐานอาคารเขียว อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อให้ผลลัพธ์ที่ได้นำมาอ้างอิงและใช้ประกอบการพิจารณาในการก่อสร้างโครงการที่มีลักษณะใกล้เคียงกันในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ บริษัท สตาร์บัคส์ (ประเทศไทย) จำกัด และบุคลากรในฝ่ายก่อสร้าง ที่ให้การสนับสนุนด้านข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ เพียรพิกุล. 2556. **ประเด็นเศรษฐศาสตร์สำนักงานเขียวในประเทศไทย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์

ชนิกานต์ ยิ้มประยูร. 2558. **ความเคลื่อนไหวอาคารเขียว**. แหล่งที่มา: http://www.tgbi.or.th/news_detail.php?n=225, 15 ตุลาคม 2559

Lui,J.Y., Low, S.P., He,X. 2012.Green Practices in The Chinese Building Industry:Drivers and Impediment. **Journal of cleaner production**.7(1): 50-63

Xiaoling Zhang, Andrew Platten, Liyin Shen. 2011. Green property development in China: cost and barriers. **Building and environment** 46(11): 2153-2160

การศึกษาศักยภาพพลังงานลมเพื่อการสูบน้ำในพื้นที่การเกษตรเขต 21 จังหวัดภาคกลางของประเทศไทย

A Study Potential Wind Energy for Pumping in Agricultural Areas in The 21 Provinces of Central Thailand

<u>แสนทรัพย์ ชูรัศมี</u>[1*] และ จำลอง ปราบแก้ว[1]

<u>Sansup Churassamee</u>[1*] and Chamlong Prabkeaw[1]

บทคัดย่อ

บทความนี้เป็นการนำเสนอผลการศึกษาศักยภาพพลังงานลมในพื้นที่ทำการเกษตรของเกษตรกรที่ต้องการสูบน้ำมาใช้เพื่อการเกษตรในเขต 21 จังหวัดภาคกลางของประเทศไทย ได้แก่จังหวัด กาญจนบุรี นนทบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท นครนายก นครปฐม ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี เพชรบุรี ราชบุรี ลพบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระแก้ว สระบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อยุธยาและอ่างทอง โดยใช้ข้อมูลความเร็วลมที่วัดได้จากเครื่องมือวัดความเร็วและทิศทางลมที่ติดตั้งบนเสาวัดความเร็วลมที่ระดับความสูง 12 เมตรในพื้นที่เป้าหมายในระยะเวลา 1 ปี เริ่มตั้งแต่ เดือนกันยายน 2558 จนถึงเดือน สิงหาคม 2559 ค่าความเร็วลมเฉลี่ยและทิศทางลมและกำลังลมเฉลี่ยที่วัดได้จะถูกวิเคราะห์และแสดงในรูปของกราฟและตารางของแต่ละพื้นที่ของสถานีวัดลม จากการศึกษาพบว่าทุกจังหวัดทั้ง 21 จังหวัดที่ความเร็วลมเฉลี่ยมากที่สุด คือที่ จังหวัดสมุทรปราการที่มีค่าอยู่ที่ 3.2 m/s และมีความหนาแน่นกำลังลม 27 W/m^{2}ค่าความเร็วลมเฉลี่ยต่ำสุดคือจังกวัดนครนายก อยู่ที่ 1.1 m/s และความหนาแน่นกำลังลม 6 W/m^2 เนื่องจากค่าความเร็วลมที่สามารถนำไปใช้กับกังหันลมความเร็วลมต่ำเพื่อการสูบน้ำได้นั้นเฉลี่ยอยู่ที่ 2 – 8 m/s

ABSTRACT

The objective of this research was to study the wind potential in agricultural in the 21 provinces of central Thailand. Kanchanaburi, Nonthaburi, Chachoengsao, ChaiNat, NakhonNayok, NakhonPathom, SamutSakhon, SamutPrakan, SamutSongkhram, LopBuri, Ratchaburi, Phetchaburi, PrachuapKhiriKhan, PrachinBuri, SaKaeo, Saraburi, SingBuri, AngThong, Ayutthaya, SuphanBuri, PathumThani. Wind speed velocity by installation wind measure tower. This research used value wind average speed and wind direction at height level 12 m above ground level. using all information collected 12 months since September 2015 up to August 2016. The data displayed in form of a graphs and tables to compare the area of wind measure stations with the highest wind speed to show that the region contained high energy. It was found that from 21 provinces, the average max wind speed(3.2 m/s) and power(27 W/m^2) province was and could be Samut Prakan applied to a low speed pumpimg(2-8m/s).

Keywords: Wind energy,The average wind speed maximum, Pumping windmill

*Corresponding author; e-mail address: Bluegold789@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

[1]Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang , Bangkok 10520

คำนำ

พลังงานลมเป็นพลังงานสะอาดที่ใช้แล้วไม่หมด เป็นพลังงานหมุนเวียนที่ได้ฟรีจากธรรมชาติที่สามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ เป็นพลังงานที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยลดระดับการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซต์ที่ก่อให้เกิดภาวะโลกร้อน ถือเป็นประโยชน์ด้านสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่สุดของการผลิตพลังงานลม ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ พลังงานลมได้กลายเป็นพลังงานทางเลือกสำหรับหลายๆประเทศทั่วโลก จากรายงานของสภาพพลังงานลมโลก (Sawyer and Rave, 2011) กำลังการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานลมของโลกในปี ค.ศ. 2010 เพิ่มขึ้น 35,802 MW ซึ่งคิดเป็น 22.5% จากกำลังที่ผลิตได้ทั้งหมด 194,390 MW เกือบครึ่งหนึ่งเพิ่มขึ้นในประเทศจีนเนื่องจากอัตราการเติบโตทางเศรษฐกิจและจำนวนประชากรที่สูงขึ้น ประกอบกับประเทศจีนมีความเชี่ยวชาญในเรื่องกังหันลมเป็นอย่างดีจึงทำให้ผลิตกำลังไฟฟ้าจากพลังงานลมได้เพิ่มขึ้น 65% ประเทศอินเดีย ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และไต้หวัน มีการผลิตไฟฟ้าจากพลังงานลมเพิ่มขึ้นประมาณ 2,139 MW ทำให้ในปี 2010 ภูมิภาคเอเชียกลายเป็นตลาดพลังงานที่ใหญ่ที่สุด ที่สามารถผลิตกำลังไฟฟ้าเพิ่มได้มากกว่า 19,022 MW นอกจากนี้ยังมีการใช้พลังงานลมเพื่อการสูบน้ำเพื่อการบริโภค อุปโภค การเกษตร การทำนาเกลือ และการเลี้ยงสัตว์มาเป็นเวลาหลายร้อยปีมาแล้ว ต่อมาเมื่อปี 1994 (Smulders,1986) และ (Smulders and de Jongh,1994) ได้นำเสนอความคิดเกี่ยวกับการใช้พลังงานลมในการสูบน้ำที่มีความทันสมัย ประหยัด และมีศักยภาพมากที่สุด (Mohsen and Akash, 1998) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้พลังงานลมเพื่อการสูบน้ำในเมืองต่างๆ ของประเทศจอแดนผลการศึกษาพบว่าพื้นที่ที่สามารถนำพลังงานลมมาใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด 11 พื้นที่ เพื่อใช้ในการสูบน้ำที่ประเทศจอแดนร์ (Al-Suleimani and Rao, 2000) ได้ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องสูบน้ำ ที่ความเร็วลมที่แตกต่างกัน และปริมาณน้ำที่ได้รายเดือน เทียบกับค่าปริมาณที่ออกแบบโดยผู้ผลิตซึ่งสรุปได้ว่าสามารถนำพลังงานลมมาใช้ในการสูบน้ำบาดาลได้สำเร็จ สำหรับพื้นที่ห่างไกลในประเทศโอมานซึ่งมีทรัพยากรลมที่สามารถใช้ได้อย่างเพียงพอ (Bouzidi, 2011)รายงานการใช้ทรัพยากรพลังงานลม เพื่อใช้ในการสูบน้ำในภูมิภาค Adrar ของประเทศแอลจีเรีย (Algeria) พบว่าระบบสูบน้ำด้วยพลังงานลม สามารถใช้ได้ดีทั้งด้านเทคนิคและความประหยัด เมื่อเทียบกับระบบการสูบน้ำด้วยโซลาร์เซลล์ (Hammad,1995; Harries, 2002) นำเสนอบทความการออกแบบ การทดสอบภาคสนาม และประสบการณ์ของการผลิตของ BHEL (Bharat Heavy Electricals Ltd.) ในการพัฒนากังหันลม สำหรับการสูบน้ำในพื้นที่ชนบทที่ห่างไกล เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในแอฟริกา (Bragg and Schmidt,1979) นำเสนอวิธีการขั้นตอนการเลือกปั๊มสูบน้ำและกังหันลมเพื่อใช้ในการสูบน้ำ ด้วยข้อมูลของความเร็วลม ซึ่งนำไปสู่การเลือกปั๊มสูบน้ำและกังหันลมที่ดีที่สุดสำหรับการประยุกต์ใช้งาน

บทความนี้ได้นำเสนอผลการศึกษาศักยภาพพลังงานลมในพื้นที่ทำการเกษตรของเกษตรกรที่ต้องการสูบน้ำมาใช้เพื่อการเกษตรในเขต 21 จังหวัดภาคกลางของประเทศไทย ได้แก่จังหวัด กาญจนบุรี นนทบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท นครนายก นครปฐม ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี เพชรบุรี ราชบุรี ลพบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระแก้ว สระบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อยุธยา อ่างทอง โดยใช้ข้อมูลความเร็วลมที่วัดได้จากเครื่องมือวัดความเร็วและทิศทางลมที่ติดตั้งบนเสาวัดความเร็วลมที่ระดับความสูง 12 เมตรในพื้นที่เป้าหมายในรอบ 12 เดือน เริ่มตั้งแต่ เดือน กันยายน 2558 จนถึงเดือน สิงหาคม 2559 ซึ่งจากการศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลของลมนั้นจะแสดงให้เห็นว่าในการติดตั้งกังหันลมสูบน้ำนั้นควรจะอยู่ในบริเวณไหนที่มี

ความเร็วลมที่เหมาะสมที่สามารถให้พลังงานได้ตามที่ต้องการได้ ซึ่งการติดตั้งกังหันลมสูบน้ำจะนำมาติดตั้งและทดสอบในงานวิจัยในอนาคตต่อไป กังหันความเร็วลมต่ำจะสามารถเริ่มทำงาน ได้ที่ความเร็วลม 2 เมตร/วินาที สำหรับงานวิจัยนี้จะทำการประเมินศักยภาพความหนาแน่นกำลังลมและความเร็วลมเฉลี่ยในพื้นที่การเกษตรขนาดเล็ก 1-3 ไร่ใน 21 จังหวัดภาคกลางของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

เสาวัดความเร็วลมมีความสูง 12 เมตร ประกอบด้วยเครื่องวัดความเร็วลมและศรเพื่อวัดทิศทางลม จะทำการวัดข้อมูลทุกๆวินาทีและบันทึกข้อมูลเฉลี่ยทุกๆ 10 นาที ในงานวิจัยนี้เราจะใช้ตัวเก็บข้อมูลยี่ห้อ WindLog ของบริษัท RainWise ของประเทศอเมริกา ซึ่งอุปกรณ์ที่เป็นอุปกรณ์ทีมีราคาไม่แพงมากและออกแบบมาเพื่อพิจารณาในการเลือกซื้อกังหันอีกด้วย จากรูปที่ 1 จะแสดงอุปกรณ์ที่การวัดศักยภาพของลม

Figure 1 Dataloger and Wind measurement equipment

การติดตั้งเสาวัดความเร็วลม

ในการเก็บข้อมูลความเร็วลมนั้นจะทำการติดตั้งเสาวัดความเร็วลมขนาดความสูงของเสา12เมตร จำนวน 21 สถานีจำนวน 21 เสา และสถานีติดตั้งเครื่องวัดความเร็วลมและทิศทางจะติดตั้งจะใกล้กับแหล่งน้ำและมีพื้นที่ใกล้ทำการเกษตร พิกัดตำแหน่งของเสาวัดลมในพื้นที่แต่ละสถานีที่ใช้ในงานวิจัยจะสรุปไว้ใน Table 1

Table 1 Show location of the wind measurement stations

Station	Latitude (degree)	longitude (degree)	Sea level (M)
Kanchanaburi	14.611	99.451	137.34
Chachoengsao	13.806	101.218	3.06
Chai Nat	15.201	100.197	19.21
NakhonNayok	14.247	101.194	9.48
NakhonPathom	14.021	99.981	12.36
Pathum Thani	13.984	100.445	4.35
PrachuapKhiriKhan	12.071	99.806	22.06
Prachin Buri	14.116	101.372	17.02
Phetchaburi	12.653	99.863	58.01
Ratchaburi	13.863	99.932	13.87
Lop Buri	14.902	101.024	65.73
Samut Prakan	13.691	100.872	2.39
Samut Songkhram	13.344	99.885	3.86
Samut Sakhon	13.611	100.158	4.74
Sakaeo	14.043	102.231	222.44
Saraburi	14.543	100.924	20.75
Sing Buri	14.826	100.377	10.85
Supanburi	14.441	100.126	9.88
Ayutthaya	14.134	100.422	3.65
Ang Thong	14.494	100.462	10.13
Nonthaburi	13.862	100.514	8.43

วิธีการเก็บข้อมูล

เมื่อทำการติดตั้งเสาวัดความเร็วลมพร้อมกับอุปกรณ์ตรวจวัดข้อมูลลมแล้ว ข้อมูลความเร็วลมที่วัดได้จะส่งไปยังเครื่องบันทึกข้อมูล (Data logger) ที่มีอัตราการตรวจวัดค่าความเร็วเฉลี่ยลมทุกๆ 10 นาที ข้อมูลลมที่ได้จะถูกบันทึกไว้ใน เครื่องบันทึกข้อมูล ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นความเร็วลม และ ทิศทาง และ ความเร็วลมสูงสุด หลังจากนั้นข้อมูลที่ได้จะถูกบันทึกลงในเครื่องบันทึกข้อมูลแล้วนำไปแปลงไฟล์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Symphonies Data Retriever เป็นไฟล์นามสกุล .xls เพื่อใช้ร่วมกับโปรแกรม Excel และนำข้อมูลมาวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลทางเลขาคณิต

การวิเคราะห์ความเร็วลมเฉลี่ยในช่วงเวลาที่พิจารณาเช่น ความเร็วลมเฉลี่ยรายเดือน สามารถคำนวณได้จากการทำ Wind speed frequency distribution ในรูปกราฟที่เรียกว่า histogram ซึ่งสามารถนำคำนวณความเร็วลมเฉลี่ยในช่วงเวลาต่างๆ

$$V_m = \frac{V_1N_1 + V_2N_2 + ..V_nN_n}{N_1 + N_2 + ..N_n} \quad (1)$$

เมื่อ V_m คือ ความเร็วลมเฉลี่ยตลอดช่วงเวลาที่ ตรวจวัด, m/s

V_n คือ ความเร็วลมที่ตำแหน่งกึ่งกลางของ Bins range, m/s

N_n คือ จำนวนชั่วโมงรวมในช่วง Bins range, h

ความหนาแน่นกำลังลมนั้นจะแปรผันกับกำลัง 3 ของความเร็วลม และแปรผันโดยตรงกับความหนาแน่นของอากาศ ความหนาแน่นของอากาศมีค่าลดลงถ้าระดับความสูง และอุณหภูมิมีค่าสูงขึ้น ทำให้ความหนาแน่นกำลังลมลดลง ทุ่งกังหันลมที่ติดตั้งอยู่บนภูเขา และอยู่ในเขตร้อนต้องคำนึงถึงผลกระทบนี้ด้วยการเปรียบเทียบแหล่งของทรัพยากรลม พิจารณาจากค่าความหนาแน่นกำลังลมที่แบ่งออกเป็นหลายระดับ โดยวัดความเร็วลมที่ความสูงที่กำหนด การคำนวนกำลังที่ได้รับจากลม กำลังที่ได้รับจากลม มีหน่วยเป็นวัตต์ (Power, Watt) สามารถคำนวนได้จากสูตร

$$\overline{P} = \frac{1}{2}\rho A(\overline{V})^3 \quad (2)$$

เมื่อ P คือ กำลังของลม (วัตต์)

M คือ มวลของอากาศที่ตกกระทบตั้งฉากกับทิศทางการไหลต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ต่อหนึ่งหน่วยเวลา

V คือ ความเร็วลม (เมตรต่อวินาที)

A คือ พื้นที่พื้นที่วงกลมของใบพัดของเครื่องวัดลม มีหน่วยเป็นตารางเมตร

ρ คือ ความหนาแน่นของมวลอากาศ *(กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร)*

ผลการวิเคราะห์

จากการเก็บข้อมูลลมทั้ง 21 สถานีเป็นระยะเวลา 1 ปี ใน ตั้งแต่เดือน กันยายน 2558 – สิงหาคม 2559 โดยนำข้อมูลความเร็วลมเฉลี่ยแต่ละสถานีมาวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความสูงของเสาวัดลม 12 เมตร โดยใช้โปรแกรม OWC Wizard เพื่อแสดงการแจกแจงความถี่ของความเร็วและทิศทางของลมในบริเวณนั้นๆ จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลลมดิบ จะแสดงออกมาในรูป wind rose และ Weibull distribution ซึ่งการแสดงออกมาในรูปแบบนี้นั้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายระดับตัวอย่างการแสดงข้อมูลใน Figure 2 จะเห็นว่ากราฟแผนภูมิแท่งในรูปขวาแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วลมกับความถี่ (หรือปริมาณ) โดยที่แกน x ใช้แสดงค่าความเร็วลมตั้งแต่1m/sถึง 8 m/s เป็นต้น แกน y ใช้แสดงความถี่ของลมแต่ละช่วง คิดเป็น % ส่วนรูปด้านซ้ายแสดง ความถี่ของทิศทางลม และเมื่อสังเกตุจาก Figure 2 จะพบว่าค่า U คือค่าความเร็วลมเฉลี่ย ง่ายที่สุดซึ่งสามารถนำไปใช้งานภาพของกังหันลมเบื้องต้น ส่วนค่า A,K คือค่าเร็วและพารามิเตอร์ในรูป K ซึ่งจะนำไปวิเคราะห์ในทางเทคนิคให้มีศักยภาพที่ดียิ่งขึ้น ส่วน ค่า P คือความหนาแน่นกำลังลม ต่อไปจะแสดงผลวิเคราะห์ความเร็วเฉลี่ยและความ

หนาแน่นกำลังลมและทิศทางในรูปของ Wind rose และ Weibull distribution เฉพาะที่มีค่ามากสุดคือสถานีที่ จ. สมุทรปราการ ใน Figure 2 และสถานีที่เหลือจะแสดงผลวิเคราะห์ใน Table 2

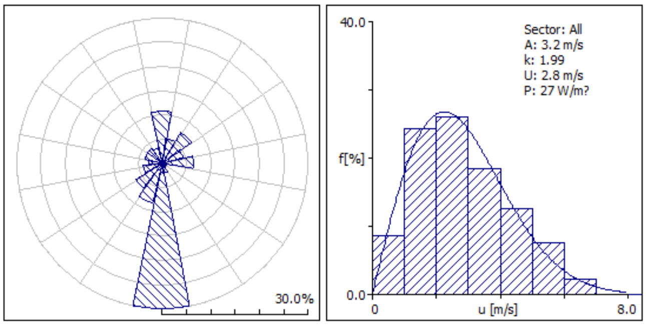


Figure 2 The analysis of average speed and wind direction at Samutprakan station

จาก Figure 2 แสดงให้เห็นว่าความเร็วลมเฉลี่ยที่มีความถี่สูงสุดอยู่ที่ 3.2 m/s และมีกำลังลมเฉลี่ยอยู่ที่ 27 W/m และ ทิศทางโดยรวมอยู่ที่ทิศใต้ จ.สมุทรปราการ จาก Figure 3 จะแสดงผลความเร็วเฉลี่ยแต่ละเดือนทุก 21 สถานีแล้วนำมาวิเคราะห์ในรูปแบบของกราฟ จากกราฟจะพบว่าเดือนที่มีค่าความเร็วเฉลี่ยสูงสุดจะอยู่ในช่วงเดือน กุมภาพันธ์ – พฤษภาคม

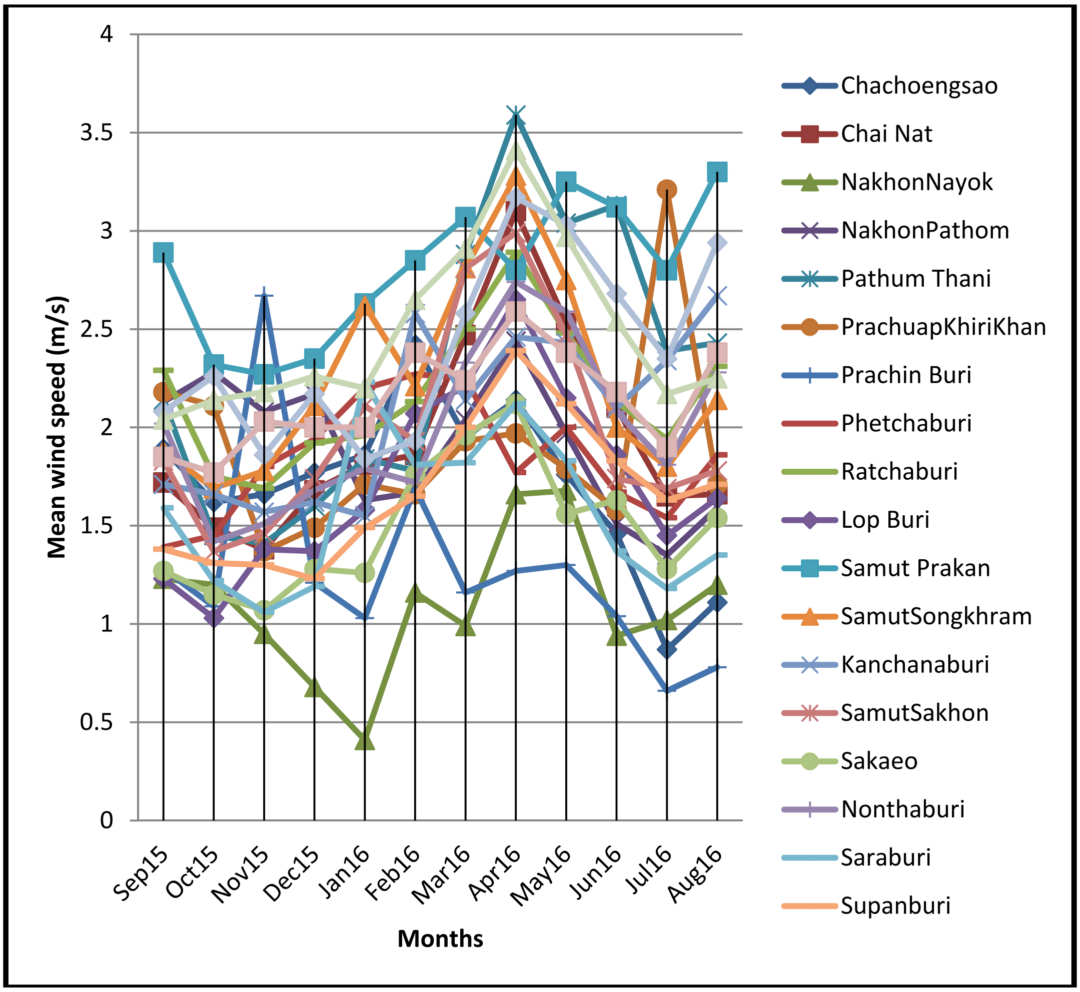


Figure 3 Monthly variation of wind speeds of the year for selected stations

Table 2 Show the average wind speed and average wind power density and Direction of 21 stations

stations	Period 1 year		
	Average wind speed	Wind power density	Direction
PrachuapKhiriKhan	2.1 m/s	11 W/m^2	NW
Phetchaburi	2.2 m/s	12 W/m^2	N
SamutSongkhram	2.6 m/s	18 W/m^2	SE
SamutSakhon	1.9 m/s	8 W/m^2	N
Chachoengsao	2.1 m/s	10 W/m^2	N
Chai Nat	2.1 m/s	9 W/m^2	N
NakhonNayok	1.1 m/s	6 W/m^2	N
Pathum Thani	2.9 m/s	25 W/m^2	N
Prachin Buri	1.4 m/s	5 W/m^2	NE
Ratchaburi	2.4 m/s	12 W/m^2	SE
Lop Buri	2.0 m/s	8 W/m^2	N
Samut Prakan	3.2 m/s	27 W/m^2	S
Sakaeo	1.5 m/s	5 W/m^2	NE
Supanburi	2.0 m/s	7 W/m^2	SW
Saraburi	1.7 m/s	7 W/m^2	SW
Nonthaburi	2.1 m/s	9 W/m^2	NS
NakhonPathom	2.2 m/s	11 W/m^2	N
Ayutthaya	2.4 m/s	12 W/m^2	N
Ang Thong	2.3 m/s	17 W/m^2	N
Sing Buri	2.7 m/s	16 W/m^2	NW
Kanchanaburi	2.1 m/s	10 W/m^2	SW

สรุป

จากงานวิจัยนี้สามารถทราบถึงศักยภาพของพลังงานลมเฉพาะพื้นที่ใกล้แหล่งทำการเกษตร 21 จังหวัด ภาคกลาง ได้แก่จังหวัด กาญจนบุรี นนทบุรี ฉะเชิงเทรา ชัยนาท นครนายก นครปฐม ปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี เพชรบุรี ราชบุรี ลพบุรี สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สระแก้ว สระบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อยุธยา อ่างทอง โดยทำการตรวจวัดข้อมูลความเร็วลมจากการติดตั้งเสาวัดลมในพื้นที่ 21 จังหวัด เป็นระยะเวลา

1 ปี ตั้งแต่เดือน กันยายน 2558 ถึง สิงหาคม 2559 ที่ระดับความสูงของเสา 12 เมตรจากพื้นที่ติดตั้ง เพื่อศึกษาความเร็วลมและกำลังลมเพื่อทำมาประเมินศักยภาพในการติดตั้งกังหันสูบน้ำเพื่อการเกษตรในอนาคต ซึ่งพบว่าพื้นที่ที่มีพลังงานลมสูงสุดอยู่ที่สถานี หมู่ 10 ตำบลเปร็ง อำเภอบางบ่อ จังหวัดสมุทรปราการ มีศักยภาพสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ 20 สถานีที่เหลือ ส่วนค่าความเร็วลมเฉลี่ยต่ำสุดจะอยู่ที่สถานีหมู่ 9 ตำบลพรหมณี อำเภอเมืองนครนายก จังหวัดนครนายก ส่วนความเร็วลมเฉลี่ยนั้นจะมีแนวโน้มสูงสุดในช่วงเดือนกุมภาพันธ์–พฤษภาคม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบคุณกรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงานที่ให้ทุนสนับสนุนการทำโครงการในครั้งนี้และขอขอบคุณผู้ที่มีส่วนร่วม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรของพื้นที่ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูลที่ดีในการดำเนินงานโครงการนี้ทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

S. Sawyer and K. Rave. 2011. The Global Status of Wind Power. **Global wind energy Council (GWEC)** [accessed 27.03.11]: 10-17.

PT. Smulders. 1986. Wind energy for water pumping in developing countries. **In: Proceedings of the 6th EWEC conference** 1: 99-105.

PT. Smulder. and J. De Jongh. 1994. Wind water pumping: status, prospects and barriers. **Renewable Energy** 5(1): 587-94.

MS. Mohsen. and BA. Akash. 1998. Potentials of wind energy development for water pumping in Jordan. **Renewable Energy** 14(1-4): 441-6.

Z. Al-Suleimani and NR. Rao 2000. Wind-powered electric water-pumping system installed in a remote location. **Applied Energy** 65: 339-47.

B. Bouzidi. 2011. Viability of solar or wind for water pumping systems in the Algerian Sahara regions-case study Adrar. **Renewable and Sustainable Energy Reviews.**

M. Hammad. 1995. Photovoltaic wind and diesel: a cost comparative study of water pumping options in Jordan. **Energy Policy** 23(8): 723-6.

M. Harries. 2002. Disseminating wind pumps in rural Kenya-meeting rural water needs using locally manufactured wind pumps. **Energy Policy** 30: 1087-94.

GM. Bragg and WL. Schmidt. 1979. Performance matching and optimization of wind powered water pumping systems. **Energy Conversion and Management** 19: 33-9.

การออกแบบและทดสอบประสิทธิภาพปั๊มน้ำแบบก้นหอยในแนวตั้ง

Design and Testing of a Vertical Scroll Pump Efficiency

จีรวัฒน์ โภคานิตย์[1*] และ พลกฤต กฤชไมตรี[1]

Jeerawat Pokanit[1*] and Pollakrit Kritmaitree[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้จะเสนอการออกแบบปั๊มน้ำแบบก้นหอยแนวตั้งและทดสอบหาประสิทธิภาพของปั๊มน้ำแบบก้นหอยแนวตั้ง ในการออกแบบและสร้างใบของปั๊มน้ำแบบก้นหอยจะใช้สมการทางคณิตศาสตร์เส้นเวียนโค้งของใบอยู่กับที่(Fixed scroll wrap)และเส้นเวียนโค้งของใบที่เคลื่อนที่(Orbiting scroll wrap) ของปั๊มน้ำแบบก้นหอย โดยให้ค่าสัมประสิทธิ์ก้นหอย(α)เท่ากับ 1.75 มิลลิเมตรและค่าความแตกต่างของมุมเริ่มต้นการโค้ง(β)เท่ากับ 0.3π เรเดียน สำหรับชุดทดสอบจะสร้างและทดสอบตามมาตรฐานอังกฤษ (BS EN 143343:2005) การทดลองหาค่าอัตราการไหล,ความดันและความเร็วรอบเก็บค่าโดยใช้ไมโครคอนโทรลเลอร์ ส่วนค่าการใช้พลังงานไฟฟ้าของมอเตอร์ของปั๊มน้ำใช้วัตต์มิเตอร์ ความเร็วรอบในการทดสอบปั๊มน้ำคือ 600,700, 800,900,1000,1100,1200,1300,1400 และ 1500 รอบต่อนาที ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าเมื่อค่าของอัตราการไหลที่มีค่าเพิ่มขึ้นค่าความดันจะลดลง ในทำนองเดียวกันเมื่อค่าของอัตราการไหลที่มีค่าเพิ่มขึ้นค่าของประสิทธิภาพจะลดลง เมื่อค่าความดันมีค่าเพิ่มขึ้นค่าของประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นด้วย โดยค่าประสิทธิภาพที่สูงสุดที่วัดได้ในงานวิจัยนี้คือ 27.75 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการไหล 42.53 ลิตรต่อนาที และความดัน 18.55 เมตร และความเร็วรอบ 1500 รอบต่อนาที

ABSTRACT

This research presented design a vertical scroll pump and the efficiency testing of a vertical scroll pump. the mathematical models of the fixed scroll wrap and orbiting scroll wrap was used in design and construction of a vertical pump. The scroll coefficient was 1.75 mm. and the discrepancy of starting roll angle was 0.3π radian. The testing of a vertical scroll pump were designed and constructed under the British Standard (BS EN 143343:2005). The testing find the values of the water flow rate and the pressure head and the speed of pump were collected by microcontroller while the value of the power of the electrical motor was collected by watt meter. The speed of pump tests were 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 and 1500 rpm. The results showed that the values of the flowrate were increasing, the values of the pressure head were decreasing. Similarly, when the values of the flowrate were increasing, the values of the efficiency were decreasing. When the values of the pressure head were increasing, the values of the efficiency were also increasing. The maximum efficiency of a Vertical scroll pump was 27.75 % at the volume flow 42.53 L/min., the pressure head 18.55 m. and the speed of pump 1500 rpm.

Key Words :scroll pump, vertical scroll pump, efficiency of pump, pump testing

*Corresponding author; e-mail address: pokanitj@gmail.com, pokanitjeer54@gmail.com

[1]ภาควิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ปั๊มน้ำแบบก้นหอยจัดอยู่ในชนิดเครื่องปั๊มน้ำแบบปริมาตรแทนที่เชิงบวก ได้ถูกวิจัยและพัฒนาครั้งแรกเพื่อใช้ในการหล่อเย็นของเตาปฏิกรณ์นิวเคลียร์ซึ่งในขณะนั้นเป็นเพียงแค่การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำหลักการทำงานของคอมเพรสเซอร์แบบก้นหอยมาใช้งานในการสูบน้ำ (Kritmaitree, P. 2002) หลังจากนั้นในปี 2552 ปั๊มน้ำแบบก้นหอยแนวนอนได้ถูกพัฒนาขึ้นแต่ประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำเนื่องจากการการเสียดสีของชุดใบโดยไม่สามารถทำงานที่ความเร็วรอบสูงได้ค่าความเร็วรอบสูงสุดที่สามารถทำได้ในการทดสอบคือ 1050 รอบต่อนาที (จีรวัฒน์, 2552) เพื่อลดการสึกหรอของปั๊มน้ำแบบก้นหอยได้เปลี่ยนวัสดุสำหรับสร้างใบและชุดขับเคลื่อนทั้งหมดเป็นเหล็ก S45C โดยผ่านกระบวนการชุบแข็งด้วยความร้อน (Heat treatment) โดยใช้ค่าความแข็งที่ 50 HRC จากการทดสอบพบว่าใบและชุดขับเคลื่อนไม่มีการสึกหรอและความเร็วรอบสูงสุดที่สามารถทำงานได้ในการทดสอบคือ 1100 รอบต่อนาที (สุกิจ, 2556) จากงานวิจัยในอดีตที่ผ่านมาทั้งหมดปั๊มน้ำแบบก้นหอยจะเป็นแบบแนวนอนทั้งหมด สำหรับงานวิจัยนี้ได้ออกแบบและทดสอบหาประสิทธิภาพปั๊มน้ำแบบก้นหอยแบบใหม่ซึ่งเป็นปั๊มน้ำแบบก้นหอยแนวตั้งและศึกษาแนวทางเพื่อเพิ่มรอบการหมุนของตัวปั๊มน้ำแบบก้นหอยให้สูงกว่า 1100 รอบต่อนาที

การวิเคราะห์แรงเขย่า

การพัฒนาปั๊มน้ำแบบก้นหอยในอดีตที่ผ่านมาเป็นแนวนอนซึ่งมีลักษณะการติดตั้งแบบคานยื่นในการวิเคราะห์การสั่นสะเทือนจะวิเคราะห์แรงเขย่าที่กระทำที่เพลาดังสมการที่ 1

$$F = m\omega^2 r \tag{1}$$

โดยที่

F = แรงเขย่า (นิวตัน)

m = มวล (กิโลกรัม)

ω = ความเร็วเชิงมุม (รอบต่อนาที)

r = ระยะที่มวลเยื้องศูนย์จากแนวเส้นศูนย์กลางมวล (เมตร)

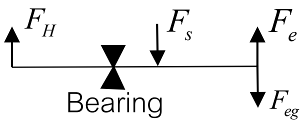


Figure 1 Acting force on the shaft of the horizontal scroll pump

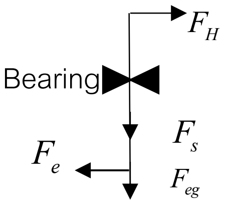


Figure 2 Acting force on the shaft of the vertical scroll pump

โดยที่ F_H = แรงเขย่าที่กระทำที่เพลา (นิวตัน)

F_e = แรงเขย่าขอใบพัดที่กระทำที่เพลา (นิวตัน)

F_{eg} = แรงเขย่าของน้ำหนักใบพัดที่กระทำที่เพลา (นิวตัน)

F_s = แรงเขย่าของน้ำหนักเพลาที่กระทำที่เพลา (นิวตัน)

จากภาพที่ 1 และ 2 แสดงเส้นแนวแรงที่กระทำที่แกนเพลาของปั๊มน้ำแบบก้นหอยพบว่าปั๊มน้ำในแนวตั้งสามารถลดแรงเขย่าเนื่องมาจากน้ำหนักของเพลาหลักได้ ดังนั้นการทำปั๊มน้ำให้อยู่ในแนวตั้งสามารถทำงานที่รอบการหมุนมากกว่า 1100 รอบต่อนาที ซึ่งเป็นรอบที่มากที่สุดของปั๊มน้ำแบบก้นหอยในแนวนอนได้

สมการพิกัดเชิงเส้นเวียนก้นหอย

สมการพิกัดเชิงเส้นเวียนก้นหอย (Kritmaitree, P. 2002) เพื่อใช้ในการคำนวณหาขนาดใบของก้นหอยโดยกำหนดให้โดยให้ค่าสัมประสิทธิ์ก้นหอย(α)เท่ากับ 1.75 มิลลิเมตรและค่าความแตกต่างของมุมเริ่มต้นการโค้ง(β)เท่ากับ 0.3π เรเดียน รอบการหมุน(θ) เท่ากับ 2π เรเดียน โดยที่ค่า $\gamma = \alpha(\pi - \beta)$ ดังแสดงในสมการที่ (2) ถึง (9)

Fixed Wrap เส้นเวียนโค้งภายใน

$$x = \alpha(\cos\lambda + (\lambda + \pi - \beta)\sin\lambda) \quad (2)$$

$$y = \alpha(\sin\lambda - (\lambda + \pi - \beta)\cos\lambda) \quad (3)$$

โดยที่มุมเริ่มต้นของใบ $2\pi \le \lambda \le 5\pi$

Fixed Wrap เส้นเวียนโค้งภายนอก

$$x = \alpha(\cos\lambda + (\lambda - \pi)\sin\lambda) \quad (4)$$

$$y = \alpha(\sin\lambda - (\lambda - \pi)\cos\lambda) \quad (5)$$

โดยที่โดยที่มุมเริ่มต้นของใบ $4\pi \le \lambda \le 7\pi$

Orbiting Wrap เส้นเวียนโค้งภายใน

$$x = \alpha(\cos\lambda + (\lambda - \beta)\sin\lambda) + \gamma\cos\theta \quad (6)$$

$$y = \alpha(\sin\lambda - (\lambda - \beta)\cos\lambda) + \gamma\cos\theta \quad (7)$$

โดยที่โดยที่มุมเริ่มต้นของใบ $3\pi \le \lambda \le 6\pi$

Orbiting Wrap เส้นเวียนโค้งภายนอก

$$x = \alpha(\cos\lambda + \lambda\sin\lambda) + \gamma\cos\theta \quad (8)$$

$$y = \alpha(\sin\lambda - \lambda\cos\lambda) + \gamma\sin\theta \quad (9)$$

โดยที่โดยที่มุมเริ่มต้นของใบ $3\pi \le \lambda \le 6\pi$

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการทดสอบและอุปกรณ์

ทดสอบตามมาตรฐานทดสอบตามมาตรฐานอังกฤษ (BS EN 143343:2005) ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบและออกแบบเครื่องปั๊มน้ำปั๊มแบบปริมาตรแทนที่เชิงบวกดังแสดงในภาพที่ 5 แสดงการติดตั้งชุดอุปกรณ์สำหรับทดสอบปั๊มน้ำแบบก้นหอยตามมาตรฐานอังกฤษ (BS EN 143343:2005) ในการทดสอบจะวัดค่าอัตราการไหล

,ความดัน,ความเร็วรอบและพลังงานไฟฟ้าที่ 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500 รอบต่อนาทีและปรับวาล์วควบคุมความดันด้านส่งตามตำแหน่งการเปิดวาล์วที่ 50%, 60%, 70%, 80%, 90%,100% โดยการทำงานทั้งหมดของชุดทดลองควบคุมผ่านไมโครคอนโทรลเลอร์และเก็บข้อมูลผ่านอุปกรณ์จัดเก็บข้อมูล

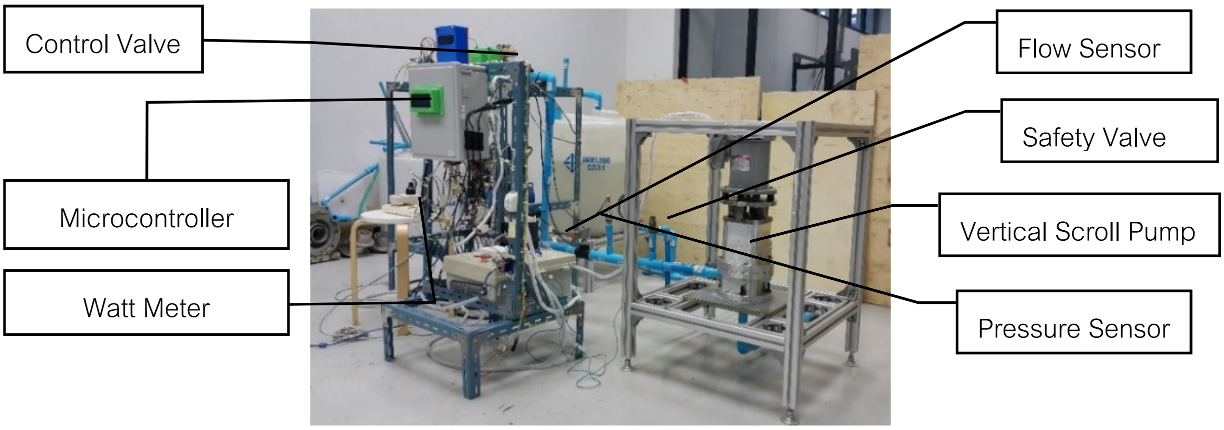


Figure 5 Testing for vertical scroll pump by the British Standard (BS EN 143343:2005).

ประสิทธิภาพของปั๊มน้ำแบบก้นหอย (η_p)หาได้จากนิยามดังต่อไปนี้

ประสิทธิภาพปั๊ม = (พลังงานที่ปั๊มให้แก่น้ำ /พลังงานไฟฟ้าที่ปั๊มได้รับ) x 100

$$\eta_p = \frac{w_o}{w_i} \times 100 \qquad (10)$$

โดยที่

w_o =พลังงานที่ปั๊มให้แก่น้ำ $9.81 \times \rho \times Q \times H_w$ (W)

w_i = พลังงานไฟฟ้าที่ปั๊มได้รับ (W)

Q = อัตราการไหลของน้ำ, m^3/s

H_w = ความดันเฮดที่เพิ่มขึ้น, m (ความดันทางออก - ความดันทางเข้า)

ρ = ความหนาแน่นของน้ำ, kg/m^3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ความเร็วรอบของมอเตอร์ปั๊มน้ำแบบก้นหอย 600 ถึง 1500 รอบต่อนาทีพบว่าค่าความสัมพันธ์ระหว่างความดันและอัตราการไหล (H-Q Curve)เปลี่ยนแปลงในแนวเชิงเส้น เมื่อความดันมีค่าสูงขึ้นอัตราการไหลจะมีการเปลี่ยนแปลงลดลงในช่วงที่ค่อนข้างน้อยเนื่องมาจากการยกตัวของใบเคลื่อนที่ (Orbiting Scroll)ทำให้มีการรั่วขอใบอัตราการไหลจึงมีค่าเปลี่ยนแปลงเมื่อความดันสูงขึ้นแต่ก็จะเปลี่ยนแปลงไม่มากดังแสดงในภาพที่ 6,7,8 ซึ่งเป็นลักษณะโดยทั่วไปของปั๊มน้ำแบบอาศัยการแทนที่ปริมาตรขจัด (Positive Displacement Pump) ค่าประสิทธิภาพปั๊มน้ำแบบก้นหอยในแนวตั้งจะแปรผันตามผลของความดันเมื่อความดันสูงขึ้นประสิทธิภาพจะสูงตามดังแสดงในภาพที่ 12,13,14 สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพและอัตราการไหล เมื่อความอัตราการไหลมากขึ้นค่าของประสิทธิภาพจะมีความลดลงดังแสดงในภาพที่ 9,10,11 เนื่องมาจากการที่อัตราการไหลเพิ่มขึ้นค่าของความดันจะลดลงอย่างรวดเร็วดังแสดงในภาพที่ 6,7,8 ทำให้ค่า

พลังงานที่ปั๊มให้แก่น้ำมีค่าน้อยที่รอบการทำงานคงที่จึงทำให้ค่าประสิทธิภาพของปั๊มน้ำมีค่าลดลงเมื่อมีอัตราการไหลมากขึ้น

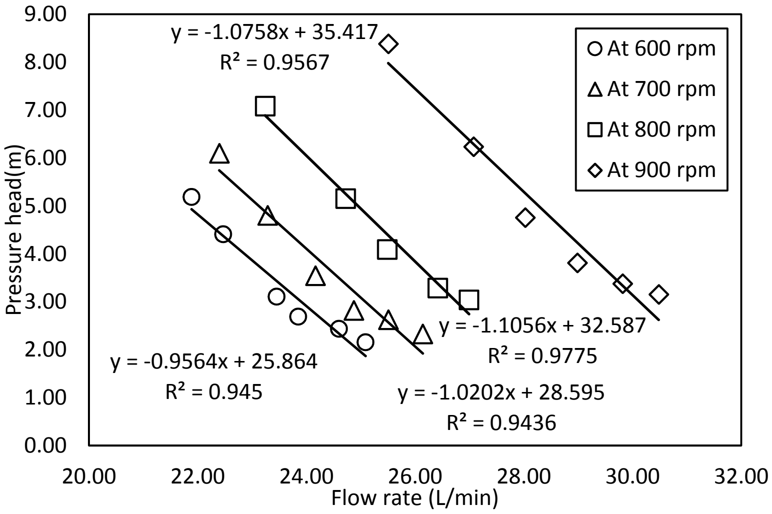


Figure 6 The relationship between flow rate and pressure head at 600 to 900 rpm.

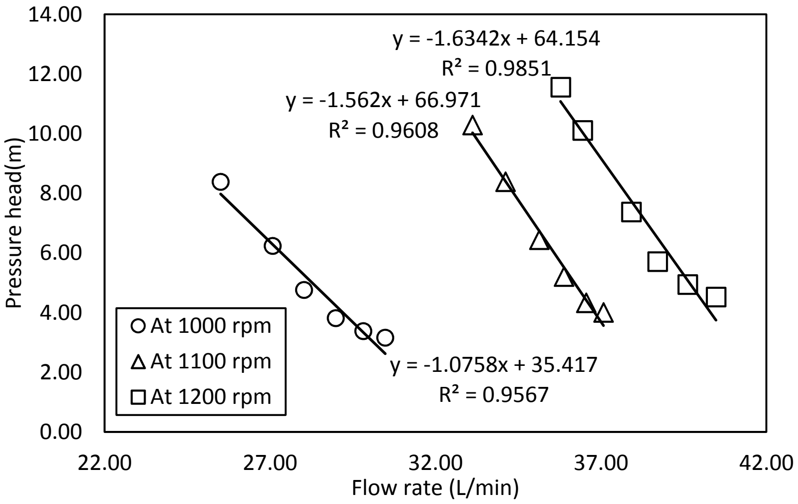


Figure 7 The relationship between flow rate and pressure head at 1000 to 1200 rpm

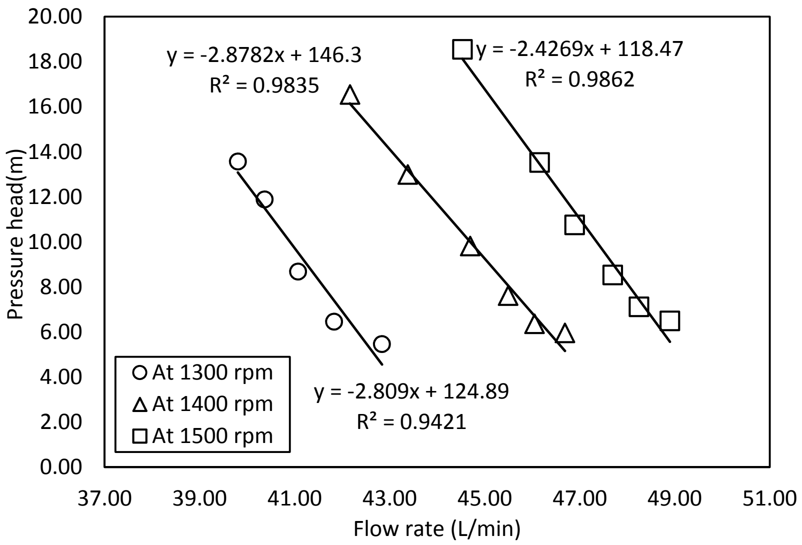


Figure 8 The relationship between flow rate and pressure head at 1300 to 1500 rpm.

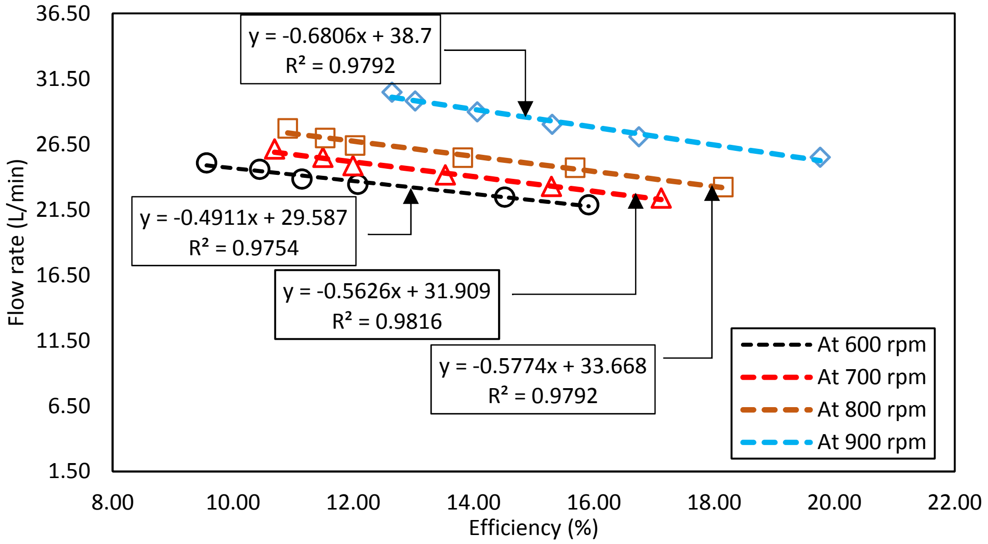


Figure 9 The relationship between efficiency and flow rate at 600 to 900 rpm.

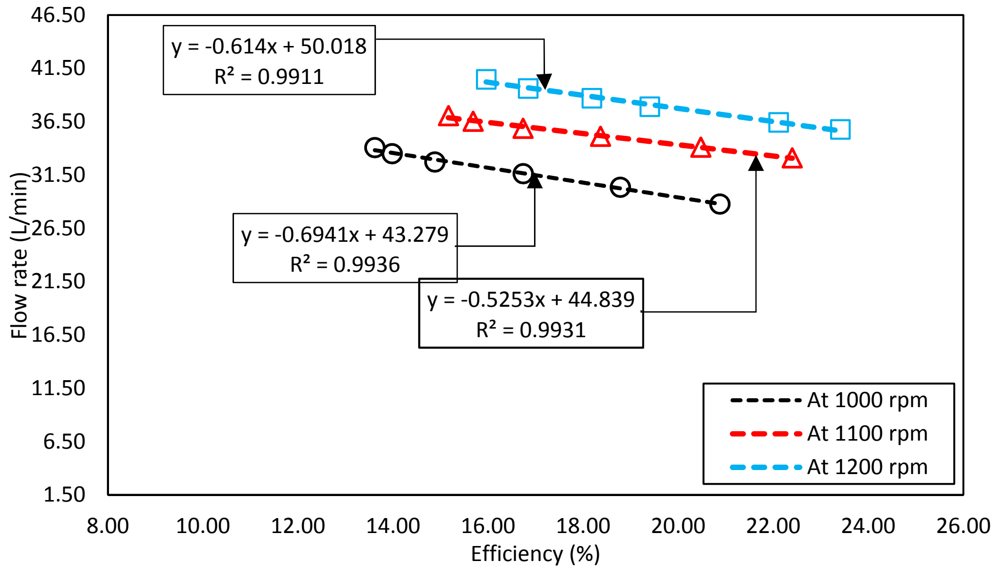


Figure 10 The relationship between efficiency and flow rate at 1000 to 1200 rpm.

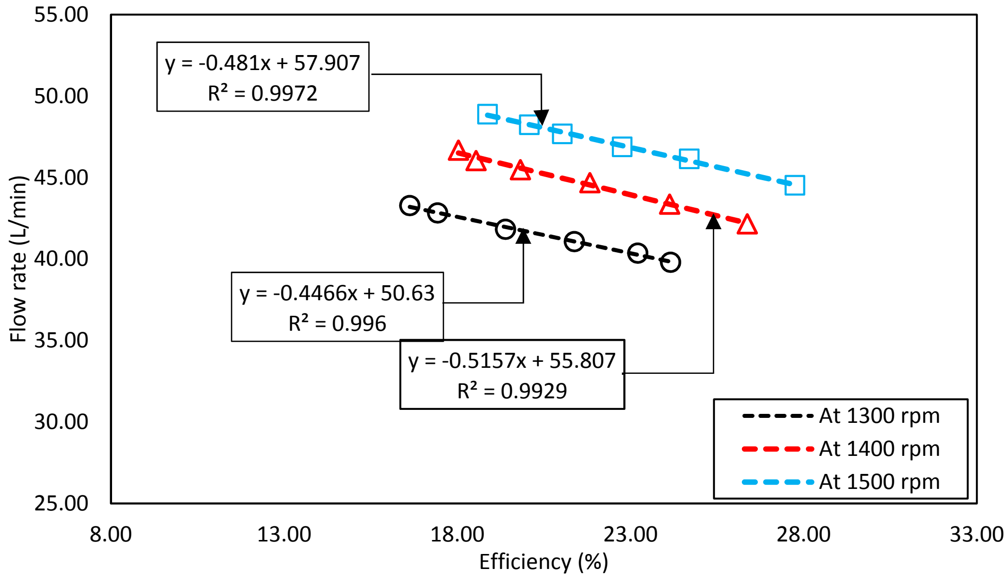


Figure 11 The relationship between efficiency and flow rate at 1300 to 1500 rpm.

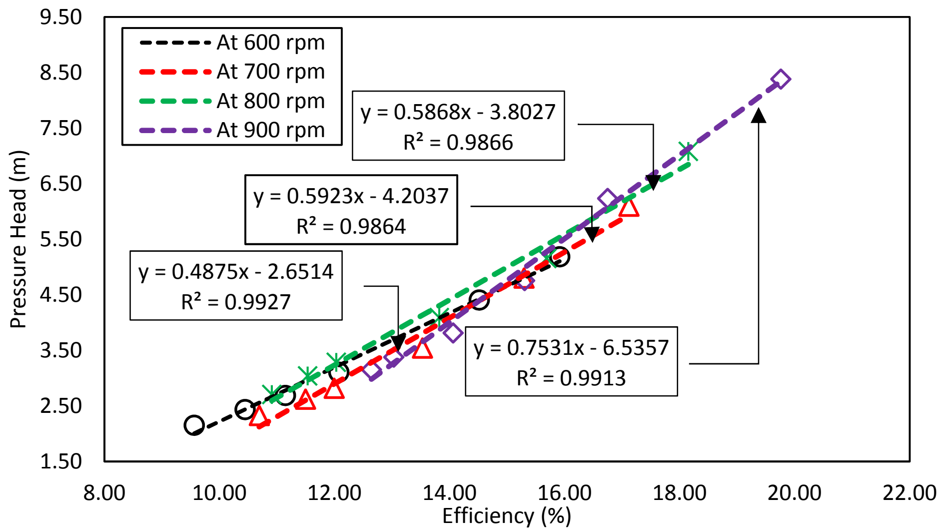


Figure 12 The relationship between efficiency and pressure head at 600 to 900 rpm.

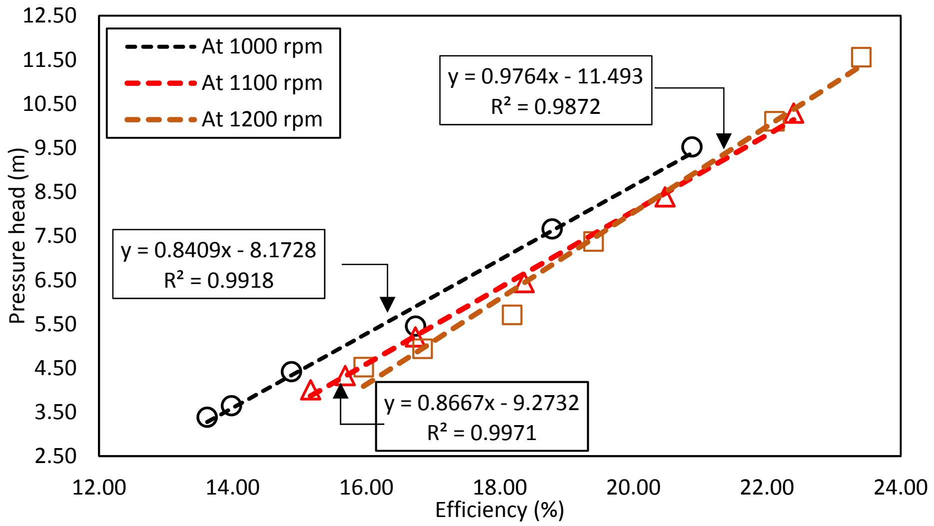


Figure 13 The relationship between efficiency and pressure head at 900 to 1200 rpm.

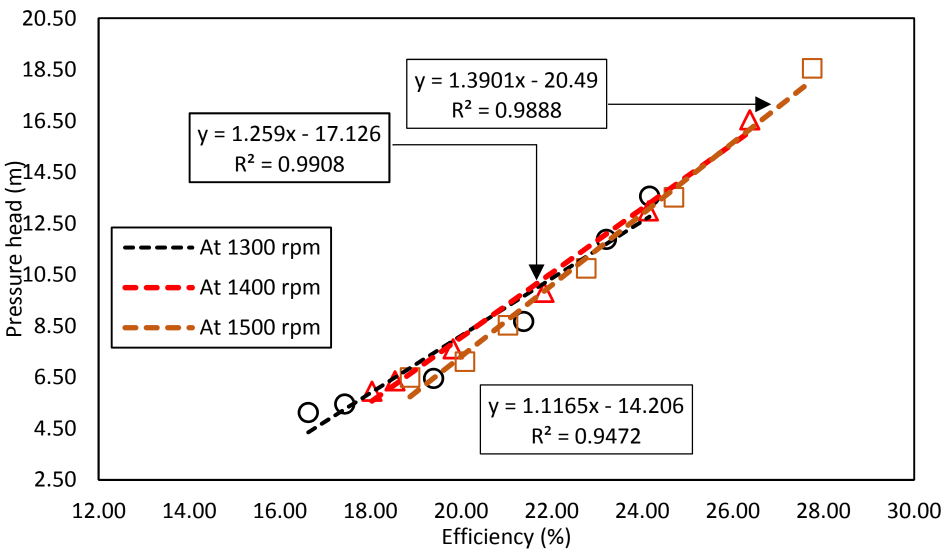


Figure 14 The relationship between efficiency and pressure head at 1300 to 1500 rpm.

สรุป

จากการออกแบบและทำการทดสอบปั๊มน้ำแบบก้นหอยในแนวตั้ง ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลและความดันของปั๊มน้ำแบบกันหอยในแนวตั้งจะมีลักษณะเชิงเส้น เมื่อค่าอัตราการไหลเพิ่มความดันจะมีค่าลดลง ความสัมพันธ์ค่าอัตราการไหลและประสิทธิภาพของปั๊มน้ำแบบก้นหอยเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้นค่าของประสิทธิภาพจะมีค่าลดลง ความสัมพันธ์ค่าความดันและประสิทธิภาพเมื่อความดันสูงขึ้นประสิทธิภาพของปั๊มน้ำจะสูงตามด้วย โดยมีค่าประสิทธิภาพของปั๊มน้ำสูงสุดเท่ากับ 27.75% อัตราการไหล 44.53 ลิตรต่อนาทีและความดัน 18.55 เมตร ที่ความเร็วรอบ 1500 รอบต่อนาที การทำให้ปั๊มน้ำเป็นแนวตั้งสามารถลดแรงเขย่าเนื่องจากน้ำหนักของเพลาทำให้ปั๊มน้ำหมุนที่ความเร็วรอบสูงๆได้โดยค่ามากสุดที่ได้คือ 1500 รอบต่อนาที จากรูปแบบความสัมพันธ์ที่กล่าวมาแล้วนั้นพบว่าปั๊มน้ำนี้จะเหมาะสมกับระบบส่งน้ำที่ต้องการรักษาอัตราการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลที่ค่อนข้างคงที่ภายใต้การเปลี่ยนแปลงความดันตลอดเวลา สำหรับแนวทางการนำมาใช้งานในอนาคตของปั๊มน้ำก้นหอยในแนวตั้งจะนำมาใช้ในงานด้านการเกษตรเป็นหลักโดยอาจจะใช้รวมกับ กังหันลม หรือพลังงานแสงอาทิตย์ก็ได้เช่นกัน ตัวอย่างงานที่สามารถนำมาใช้งาน อย่างเช่น งานระบบส่งน้ำเข้าพื้นที่การเกษตร งานระบบรดน้ำต้นไม้ด้วยระบบน้ำหยด เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลที่ให้ใช้พื้นที่สำหรับทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

จีรวัฒน์ โภคานิตย์ 2552. **การออกแบบและทดสอบปั๊มน้ำแบบก้นหอย**. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุกิจ ลิติกรณ์ 2556. **การออกแบบและทดสอบประสิทธิภาพปั๊มน้ำแบบก้นหอย**. วิทยานิพนธ์ ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

British Standard (2005) Rotary positive displacement pumps - Performance tests for acceptance. BS EN 14343 British Standard : London, United Kingdom .

Kritmaitree, P. (2002). Study of Volumetric Scroll Pump for the Cold Moderator System. Ph.D. Thesis, Utsunomiya University, Japan.

การศึกษาพฤติกรรมทางด้านกำลังดัดของคานคอนกรีตเสริมเหล็กที่เสริมกำลังด้วยแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอน

Experimental Study on Flexural Behavior of Reinforced Concrete Beams Strengthened with CFRP Sheets

ธีรเดช พรหมเจริญ[1*] และ วันชัย ยอดสุดใจ[1]

Theeradeth Phromjaroen[1*] and Wanchai Yodsudjai[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบพฤติกรรมของคานคอนกรีตเสริมเหล็กเมื่อได้รับการเสริมกำลังด้วยแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์ โดยทำการทดสอบโครงสร้างคานที่มีการติดตั้งแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์ในหลายลักษณะ ได้แก่ การติดแบบไม่เต็มความยาวคาน เต็มความยาวคาน และการเต็มความยาวคานโดยยึดปลายด้วยแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์ และในแต่ละลักษณะมีการติด 1 ชั้น 2 ชั้น และ 3 ชั้น ผลจากการทดสอบพบว่า การแตกร้าวของคานคอนกรีตเสริมเหล็กที่ได้รับการเสริมกำลังด้วยแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์มีความแตกต่างที่ชัดเจนในขณะวิบัติกล่าวคือ การติดแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์แบบไม่เต็มความยาวคานนั้นเกิดรอยร้าวที่เกิดจากแรงเฉือนที่มากกว่าแบบอื่น สำหรับแบบเต็มความยาวคานเกิดการอัดแตกของคอนกรีตผิวบนกลางคาน และสำหรับคานคอนกรีตเสริมเหล็กที่เสริมกำลังด้วยแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์ แบบเต็มความยาวคานโดยยึดปลายด้วยแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์พบรอยร้าวที่เกิดจากแรงเฉือนเล็กน้อยแต่มีลักษณะที่ทำให้วิบัติคือการอัดแตกของคอนกรีตที่ตรงกลางคานส่วนของผิวบนของคานคอนกรีตเสริมเหล็ก ในด้านการรับกำลัง คานที่ติดแผ่นคาร์บอนไฟเบอร์แบบเต็มความยาวคานสามารถรับกำลังดัดจุดที่เกิดโมเมนต์สูงสุดได้ดี รองลงมาคือ คานที่ติดแบบเต็มความยาวคานโดยยึดปลาย และคานที่ติดแบบไม่เต็มความยาวคาน

ABSTRACT

The objective of this study was to test the behavior of reinforced concrete beams strengthened with CFRP sheets with various patterns. Three patterns; partial length installation, full length installation and full length installation with the CFRP anchorage at both ends, were considered. In each installation pattern, 1, 2 and 3 layers were applied. As a result, the failure patterns of the strengthen beams were different with different installation patterns. In the partial length strengthen beam, cracks caused by shear were found more than those of other patterns of installation. In the full length strengthen beam and the full strengthen with the CFRP anchorage, the crushing of concrete at upper surface at midspan found. For load carrying capacity, the full length strengthen beam was the highest and followed by the full length strengthen beam with the CFRP anchorage and partial length strengthen beam, respectively.

Key Words: Strengthening, Reinforced concrete beam, CFRP Sheet, Cracking, CFRP Layer

*Corresponding author; e-mail address: pingping.tp@gmaill.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ปัจจุบันการใช้แผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอนไฟเบอร์ ในการเสริมกำลังมีอย่างแพร่หลายมากขึ้น ทั้งนี้แผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอนยังมีแนวโน้มที่จะถูกนำมาใช้ทดแทนแผ่นเหล็กเสริมรับแรงดึงในอนาคต โดยงานวิจัยที่ผ่านมาในอดีตที่เกี่ยวกับคานที่ถูกซ่อมแซมหรือเสริมกำลังด้วยแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอน แบ่งออกเป็น 2 ประเภท นั่นคือ งานวิจัยมุ่งเน้นถึงพฤติกรรม และประมาณค่าความเหนียวของคานภายใต้การเสริมกำลังด้วยแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยต่อกำลังรับแรงดัด (Grace et al, 1999) และงานวิจัยที่ศึกษาแบบจำลองอธิบายการเกิดความเข้มของหน่วยแรง โดยได้ศึกษาพฤติกรรมจริงของคานเนื่องจากบริเวณปลายแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยเป็นบริเวณที่มีค่าโมเมนต์ดัดต่ำ ทำให้หน่วยแรงต่างๆที่เกิดจากแรงดัดมีค่าน้อย ส่งผลให้วัสดุในบริเวณดังกล่าวมีพฤติกรรมแบบยืดหยุ่นเป็นเส้นตรง ซึ่งแบบจำลองพิจารณาหน่วยแรงเฉือน และหน่วยแรงตั้งฉากแยกออกจากกัน (Malek et al, 1999) ส่วนงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับโมเมนต์กับมุมความโค้งของคาน (Moment - Curvature, Ø) ภายใต้การเสริมกำลังด้วยแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใย ยังไม่ครอบคลุมและยังมีการศึกษาอยู่น้อย และด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้น งานวิจัยชิ้นนี้จึงถูกทำขึ้นเพื่อศึกษาลักษณะการวิบัติและความสัมพันธ์ระหว่างโมเมนต์กับมุมความโค้งของคาน (Moment - Curvature, Ø) ที่เกิดขึ้นในคานคอนกรีตเมื่อเสริมกำลังด้วยแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอนไฟเบอร์ ภายใต้องค์อาคารรับแรงดัด

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบกำลังประลัยของคอนกรีต

จากการออกแบบ ได้เลือกวิธีการทดสอบโดยใช้คอนกรีตผสมเสร็จ (Ready mixed concrete) กำหนดให้กำลังรับแรงอัดของคานคอนกรีตตัวอย่างมีค่าประมาณ 240 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อายุ 28 วัน (Table 1) จะทำการเก็บตัวอย่างคอนกรีตรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 15 เซนติเมตร และสูง 30 เซนติเมตร จำนวน 3 ตัวอย่าง แล้วนำไปทดสอบกำลังรับแรงอัด (ASTM C39, 2004) ผลการทดสอบกำลังรับแรงอัดประลัยที่ได้ (Table 2)

Table 1 Mix proportion of concrete.

W/C	Compressive (ksc.)	Cement (kg.)	Dry rock (kg.)	Dry sand (kg.)	Water (kg.)	Slump (cm.)
0.636	240	314	761	984	222	8 to 10

Table 2 Ultimate compression strength of concrete.

Specimen	Ultimate compression strength (kg/cm^2)
1	271
2	256
3	275
Average	**267**

กำลังรับแรงดึงของแผ่นเส้นใยคาร์บอน

ในส่วนของการทดสอบกำลังรับแรงดึงประลัยของแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอนได้ใช้ชิ้นตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง (ASTM D3039, 2014) และลักษณะของชิ้นตัวอย่าง (Figure 1) ผลการทดสอบกำลังรับแรงดึงประลัย (Table 3)

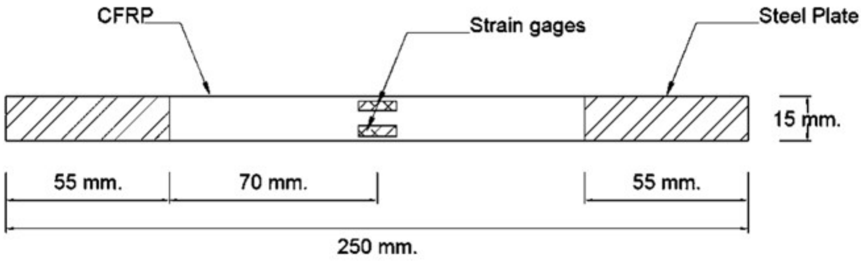


Figure 1 The test specimen tensile strength of carbon fiber reinforced plastic.

Table 3 Ultimate tensile strength of carbon fiber reinforced plastic.

Specimen	Ultimate tensile strength (kg/cm^2)	Modulus of elasticity (kg/cm^2)
1	31,000	1.829×10^6
2	30,333	1.729×10^6
3	28,500	1.652×10^6
4	28,700	1.664×10^6
5	28,500	1.536×10^6
Average	29,406	1.682×10^6

วัสดุและอุปกรณ์

จำนวนคานตัวอย่างที่ใช้ทำการทดสอบใช้เหล็กข้ออ้อย (Deformed Bar) มีกำลังรับแรงดึงที่จุดครากเท่ากับ 3,000 กก./ตร.ซม. จำนวนทั้งหมด 20 ตัวอย่าง โดยแสดงรายละเอียด และลักษณะการติดตั้ง (Table 4, Figure 2, Figure3 and Figure 4)

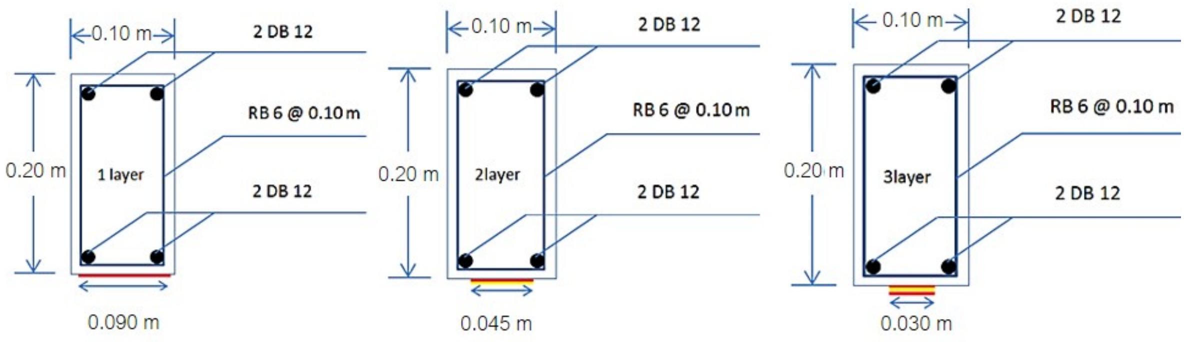


Figure 2 Installation of CFRP sheets 1 layer, 2 layers and 3 layers. (Section)

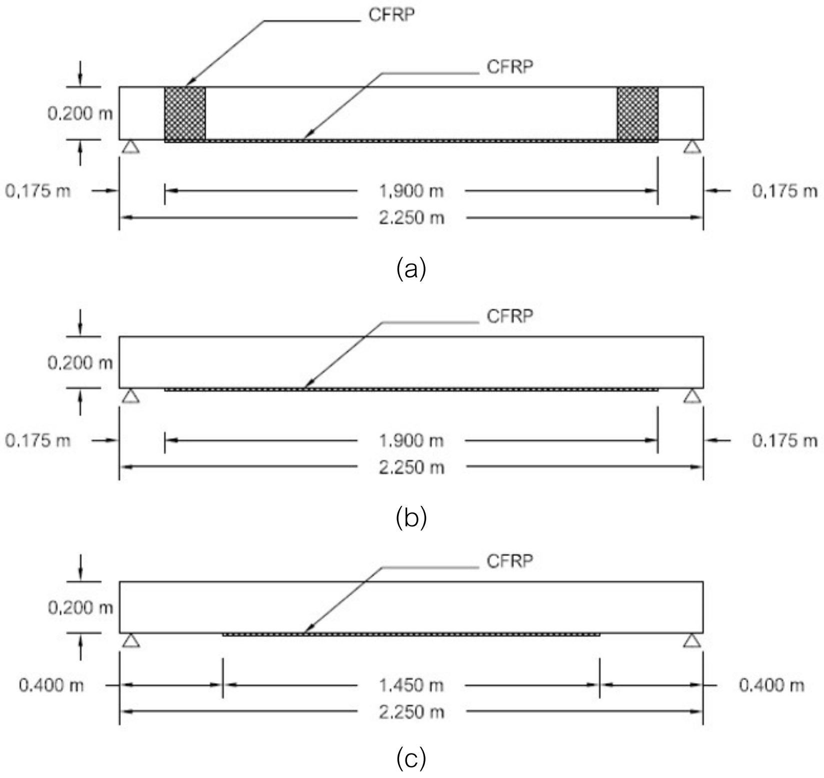


Figure 3 Installation of CFRP sheets (Elevation)

(a) Full length installation with the CFRP anchorage at both beam ends.

(b) Full length installation.

(c) Partial length installation.

Table 4 Reinforced concrete beams Strengthened installation with CFRP sheets.

Number of Specimen	Type	Remark
2	Control	-
2	Full length	1 Layer
2	Full length	2 Layer
2	Full length	3 Layer
2	Full length with the CFRP anchorage	1 Layer
2	Full length with the CFRP anchorage	2 Layer
2	Full length with the CFRP anchorage	3 Layer
2	Partial length	1 Layer
2	Partial length	2 Layer
2	Partial length	3 Layer

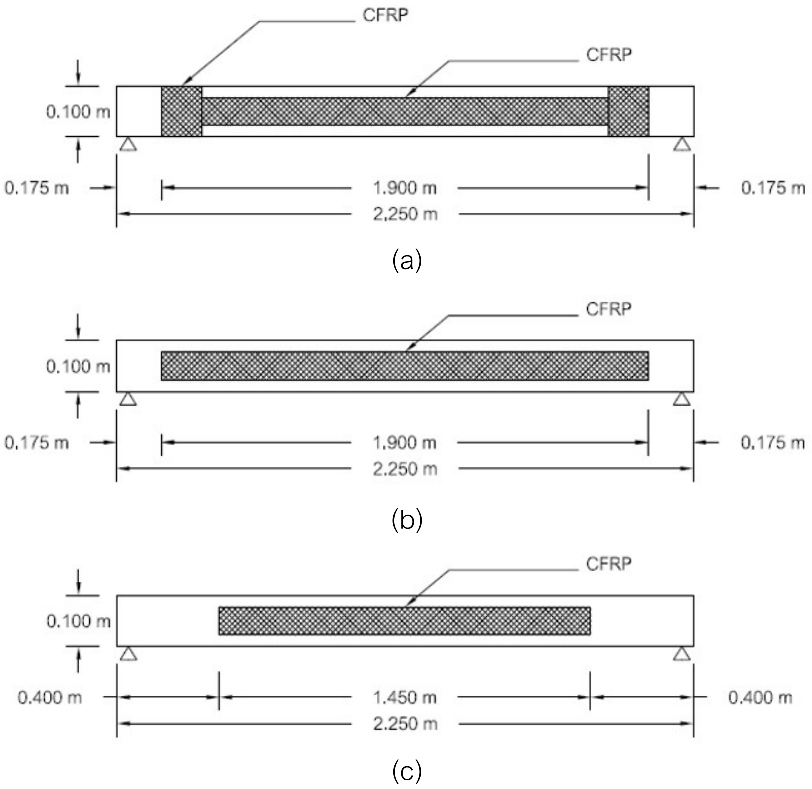


Figure 4 Installation of CFRP sheets (Under side plan)

(a) Full length installation with the CFRP anchorage at both beam ends

(b) Full length installation.

(c) Partial length installation.

เมื่อคานตัวอย่างติดแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยคาร์บอนเรียบร้อยแล้ว (Figure 5) จึงนำคานตัวอย่างเข้าเครื่องทดสอบโดยทำการติดตั้งอุปกรณ์ทดสองได้แก่ อุปกรณ์วัดค่าแรงกระทำ (Load Cell) เครื่องวัดค่าการโก่งตัว (Linear Variable Differential Transformer; LVDT) มาตรวัดความเครียด (Strain Gauge) และแม่แรงไฮโดรลิค (Hydraulic Jack)

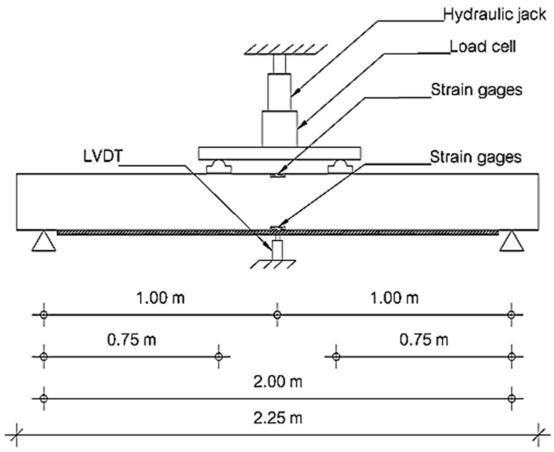


Figure 5 Show the installation of equipment test.

ซึ่งหน่วยวัดน้ำหนักกระทำ และเครื่องวัดค่าการโก่งตัว รวมทั้งมาตรวัดความเครียดที่ติดตั้งในตำแหน่งต่าง ๆ ของคานตัวอย่างจะถูกต่อเข้ากับเครื่องจัดเก็บข้อมูล (Data Logger) เพื่อจัดเก็บข้อมูลลงในเครื่องคอมพิวเตอร์

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผล

ผลการทดลองกำลังรับแรงดัด

จากผลการทดลองกำลังรับแรงดัดได้พบว่า การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโมเมนต์ดัด และเส้นความโค้ง (Moment - Curvature, Ø) ก็ทำให้สามารถวิเคราะห์จุดที่เริ่มต้นการครากของเหล็ก และจุดกำลังสูงสุดของหน้าตัดคานคอนกรีตตัวอย่าง (Figure 6) จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าคานคอนกรีตเสริมเหล็กที่เสริมแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบขวางแนวคาน หรือแบบรัดปลายคานมีส่วนช่วยลดความเสียหายจากแรงเฉือน และความเสียหายจากการหลุดล่อนของแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใย (Esfahani et al, 2007)

โดยกำหนดให้ FL หมายถึง คานตัวอย่างที่เสริมแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน PL หมายถึง คานตัวอย่างที่เสริมแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบไม่เต็มความยาวคาน และตัวเลข หมายถึง จำนวนชั้นการเสริมแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใย โดย A คือ การเสริมแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน (รัดปลาย) เช่น FL1A คือ คานตัวอย่างที่เสริมแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยเต็มความยาวคาน (รัดปลาย) 1 ชั้น เป็นต้น

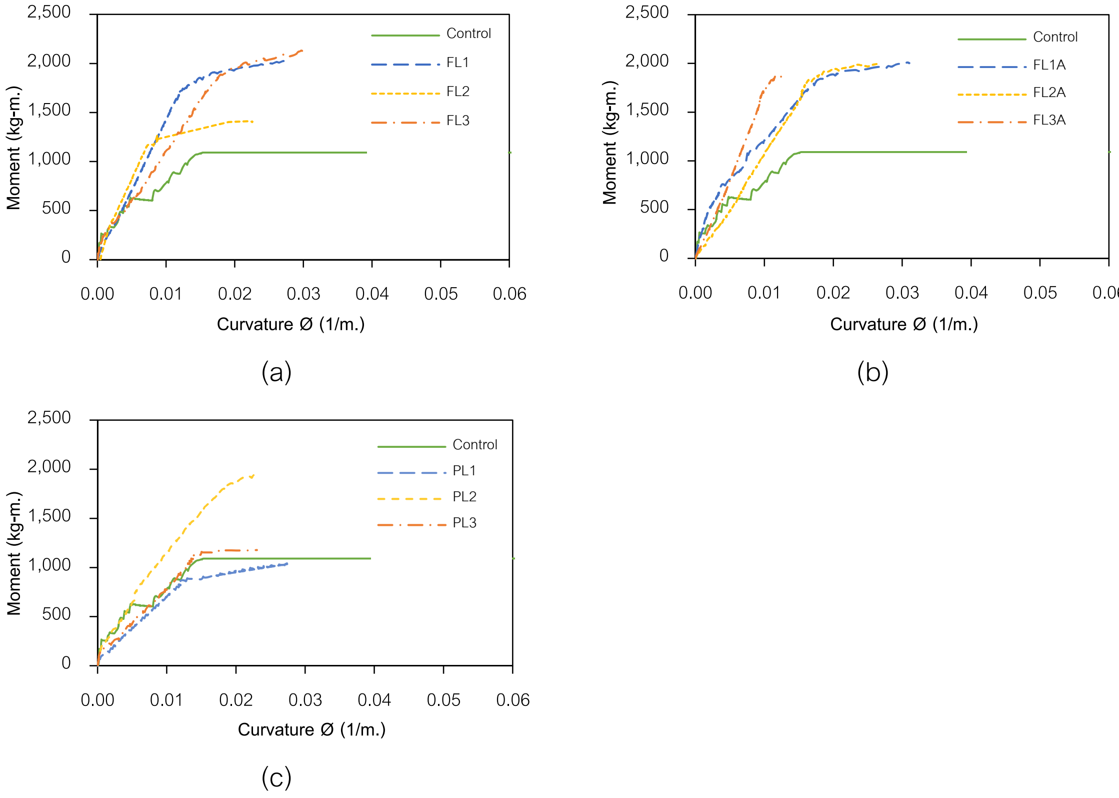


Figure 6 The relationship between Moment – Curvature of beam.

(a) Full length.

(b) Full length with the CFRP anchorage.

(c) Partial length

ผลการทดสอบกำลังรับแรงดัดของคานตัวอย่างคอนกรีตเสริมเหล็กติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยเต็มความยาวคาน พบว่า โมเมนต์ที่จุดคราก (Yield Point, My) คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยเต็มความยาวคาน 1 ชั้น และ 3 ชั้น มีค่าโมเมนต์ดัดและมุมความโค้งของคาน (Moment – Curvature, Ø) โดยเฉลี่ยใกล้เคียงกัน และคานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน 2 ชั้น มีค่าน้อยที่สุด สำหรับจุดที่เกิดโมเมนต์สูงสุด (Ultimate Point, Mu) พบว่า คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน 3 ชั้น มีค่าโมเมนต์ดัดและมุมความโค้งของคาน (Moment – Curvature, Ø) โดยเฉลี่ยมากที่สุด รองลงมาคือ คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน 1 ชั้น และ คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน 2 ชั้น มีค่าน้อยที่สุด

คานตัวอย่างคอนกรีตเสริมเหล็กติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบไม่เต็มความยาวคาน พบว่า โมเมนต์ที่จุดคราก (Yield Point, My) คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบไม่เต็มความยาวคาน 2 ชั้น มีค่าโมเมนต์ดัดและมุมความโค้งของคาน (Moment – Curvature, Ø) โดยเฉลี่ยมากที่สุด และจุดที่เกิดโมเมนต์สูงสุด (Ultimate Point, Mu) พบว่า คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบไม่เต็มความยาวคาน 1 ชั้น และ 3 ชั้น มีค่าโมเมนต์ดัดและมุมความโค้งของคาน (Moment – Curvature, Ø) โดยเฉลี่ยใกล้เคียงกัน และคานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบไม่เต็มความยาวคาน 2 ชั้น มีค่าโดยเฉลี่ยมากที่สุด

คานตัวอย่างคอนกรีตเสริมเหล็กติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน รัดปลาย พบว่า โมเมนต์ที่จุดคราก (Yield Point, My) คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน รัดปลาย 1 ชั้น และ 2 ชั้น มีค่าโมเมนต์ดัดและมุมความโค้งของคาน (Moment – Curvature, Ø) โดยเฉลี่ยใกล้เคียงกัน และสำหรับจุดที่เกิดโมเมนต์สูงสุด (Ultimate Point, Mu) พบว่า คานตัวอย่างที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน รัดปลาย1 ชั้น มีค่าโมเมนต์ดัดและมุมความโค้งของคาน (Moment – Curvature, Ø) โดยเฉลี่ยมากที่สุด (Table 5)

Table 5 Test result of flexural strength with CFRP sheets.

Specimen	My (kg-m)	Øy (1/m)	Mu (kg-m)	Øu (1/m)	Failure Mode
Control	1,044.86	0.012	1,081.69	0.107	Flexural Failure
FL1	1,719.91	0.012	2,025.61	0.027	Concrete Compression Failure
FL2	1,136.04	0.007	1,406.95	0.023	Tensile Failure
FL3	1,838.93	0.017	2,117.66	0.029	Shear Failure
PL1	884.45	0.014	1,043.39	0.027	Tensile Failure
PL2	1,629.05	0.015	1,914.02	0.022	Plat –End Interfacial Debonding
PL3	1,128.08	0.015	1,178.89	0.023	Plat –End Interfacial Debonding
FL1A	1,791.17	0.017	2,011.56	0.031	Tensile Failure
FL2A	1,672.50	0.015	1,996.67	0.026	Concrete Compression Failure
FL3A	1,555.39	0.009	1,873.87	0.012	Concrete Compression Failure

สรุป

จากการศึกษาเรื่องพฤติกรรมทางด้านกำลังดัดของคานคอนกรีตเสริมเหล็กที่เสริมกำลังด้วยแผ่นคาร์บอนนั้นสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

ผลการทดสอบกำลังรับแรงดัดที่จุดคราก (Yield Point, My) คานตัวอย่างคอนกรีตเสริมเหล็กที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน 3 ชั้น มีค่าโมเมนต์มากที่สุด ส่วนที่น้อยที่สุดคือคานตัวอย่างคอนกรีตเสริมเหล็กที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบไม่เต็มความยาวคาน 1 ชั้น

ผลการทดสอบกำลังรับแรงดัดจุดที่เกิดโมเมนต์สูงสุด (Ultimate Point, Mu) คานตัวอย่างคอนกรีตเสริมเหล็กที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบเต็มความยาวคาน 3 ชั้น สามารถรับกำลังต้านทานโมเมนต์ดัดได้มากมากที่สุด และน้อยที่สุดคือ คานตัวอย่างคอนกรีตเสริมเหล็กที่ติดตั้งแผ่นพลาสติกเสริมเส้นใยแบบไม่เต็มความยาวคาน 1 ชั้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณคณาจารย์ เพื่อนนิสิต และรุ่นน้อง ภาควิชาวิศวกรรมโยธาทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยให้คำปรึกษา เวลา กำลังแรงงาน ในการช่วยทำงานวิจัยครั้งนี้ โดยที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ล้วนมีส่วนช่วยให้งานวิจัยนี้สามารถดำเนินไปได้ด้วยดีตลอดเวลาที่ทำการวิจัย ผู้เขียนขอบขอบคุณอย่างที่สุดไว้ ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

ASTM C39 / C39M-04. 2004. Standard Test Method for Compressive Strength of Cylindrical Concrete Specimens, **ASTM International**, West Conshohocken, PA.

ASTM D3039 / D3039M-14. 2014. Standard Test Method for Tensile Properties of Polymer Matrix Composite Materials, **ASTM International**, West Conshohocken, PA.

Esfahani, M. R., Kianoush, M. R., and Tajari, A. R., 2007. Flexural behaviour of reinforced concrete beams strengthened by CFRP sheets. **Engineering Structures**, 29(10), 2428-2444.

Grace, N. F., Sayed, G. A., Soliman, A. K., and Saleh, K. R., 1999. Strengthening Reinforced Concrete Beams Using Fiber Reinforced Polymer (FRP) Laminates .**ACI Structural Journal-American Concrete Institute**, 96(5), 865-874.

Malek, A. M., Saadatmanesh, H., and Ehsani, M. R., 1998. Prediction of Failure Load of R/C Beams Strengthened with FRP Plate Due to Stress Concentration at The Plate End. **ACI structural Journal**, 95(2), 142-152.

การพยากรณ์ยอดขายสินค้าแฟชั่นในตลาดออนไลน์ กรณีศึกษาแฟนเพจจำหน่ายเสื้อผ้าแฟชั่น

Demand Forecasting on Fashion Products in E-Commerce: A Case Study of Cloths Retail Fanpage

พจนีย์ ศรีอำพันธ์[1] และ พัชรี โตแก้ว ทองรัตนะ[1]

Posjanee Sriampan[1] and Phatcharee Tokaew Thongrattana[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการพยากรณ์ยอดขายเสื้อผ้าออนไลน์ในเว็บไซต์เฟซบุ๊ก โดยศึกษาปัจจัยทางเศรษฐกิจและเทคโนโลยี ที่มีผลต่อยอดขาย การพยากรณ์ใช้วิธีการวิเคราะห์การถดถอย ความแม่นยำของการพยากรณ์ใช้ค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมบูรณ์เฉลี่ย จากการศึกษาพบว่า ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับยอดขาย คือ ค่าโฆษณา ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค และจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต ซึ่งจากสมการถดถอยที่ได้ อธิบายได้ว่า ยอดขายมีความสัมพันธ์ทางเดียวกับ ค่าโฆษณา ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค และจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต กล่าวคือ เมื่อค่าโฆษณา ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค และจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต เพิ่มมากขึ้น ยอดขายก็จะมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 84.6% จากนั้นนำสมการที่ได้ไปพยากรณ์ยอดขายในแต่ละเดือน และตรวจสอบความแม่นยำของค่าพยากรณ์ด้วยค่า MAPE พบว่า MAPE มีค่า 32.85%

ABSTRACT

The purpose of this research is to develop a regression equation of demand forecasting of clothing Facebook site. This study evaluates factors that are the economic and technological factors which have potential to affect demand. The accuracy of prediction is measured by the average absolute percentage error. The study found that advertisement cost, consumer sentiment index and the number of internet users significantly increased demand of the case study. The coefficient of determination (R^2) is 84.6%. Moreover, the accuracy of the prediction (MAPE) is 32.85%.

Key Word: forecasting, e-commerce, regression

*Corresponding author; e-mail address: ln_x-1@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Industrial Engineering, Faculty of Engineering , Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

เนื่องด้วยอุตสาหกรรม e-commerce มีอัตราการเติบโตอย่างมากในปัจจุบัน ประกอบกับในปัจจุบันเป็นยุคที่โลกกำลังก้าวเข้าสู่ ยุคเศรษฐกิจดิจิทัล หรือยุคที่มีการนำระบบดิจิทัลเข้ามาสนับสนุนการดำเนินงานทางธุรกิจ ซึ่ง ETDA หรือ สำนักงานพัฒนาธุรกรรมทางอิเล็กทรอนิกส์ ได้ให้ความหมายของเศรษฐกิจดิจิทัลว่า คือ การขับเคลื่อนเศรษฐกิจของประเทศไทยโดยการนำเอาไอทีหรือเทคโนโลยีดิจิทัลเข้ามาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิต เพิ่มผลงาน โดยใช้เวลาน้อยลงและสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่สินค้าและบริการต่างๆ เพื่อให้เราแข่งกับชาติต่างๆได้ ดังนั้น Social และเทคโนโลยีต่างๆ กลายเป็นเครื่องมือสำคัญในการเข้าถึงกลุ่มลูกค้า ตอบโจทย์ความต้องการ และเปิดโอกาสใหม่ๆ ทางธุรกิจได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันนี้ เป็นยุคของอุปกรณ์พกพา เช่น สมาร์ทโฟนและแท็บเล็ต กลายเป็นส่วนหนึ่งในชีวิตประจำวันของเรา ซึ่งถ้าใครสามารถนำข้อมูลบนโลก Social และพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์เหล่านั้นมาต่อยอดให้เกิด ประโยชน์ต่อธุรกิจได้สูงสุด จะกลายเป็นผู้นำของตลาดในยุค Digital Economy ทันที

เนื่องจากงานวิจัยส่วนใหญ่ที่ศึกษาในปัจจุบัน ศึกษาทางด้านพฤติกรรมและปัจจัยที่ส่งผลต่อการตัดสินใจซื้อ โดยใช้แบบสอบถามเป็นส่วนใหญ่ ส่วนการศึกษาทางด้านตัวแปรที่สัมพันธ์กับยอดขาย(ปองภพ ,2545)ยังมีไม่มากนัก ซึ่งสามารถนำตัวแปรที่มีความสัมพันธ์นี้มาใช้ในการพยากรณ์ยอดขายในอนาคตได้ งานวิจัยนี้ศึกษาการพยากรณ์ยอดขายเสื้อผ้าในเว็บเพจเฟซบุ๊ก ว่ามีตัวแปรใดบ้างที่มีความสัมพันธ์กับยอดขายและสามารถนำตัวแปรนั้นมาพยากรณ์ยอดขายในอนาคตได้ ด้วยวิธีสมการถดถอย ซึ่งตัวแปรที่นำมาศึกษามีทั้งปัจจัยชี้วัดทางเศรษฐกิจ เช่น ดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค อัตราเงินเฟ้อ และความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี เช่น จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต เป็นต้น

การพยากรณ์ยอดขายในอนาคต จะช่วยลดความไม่แน่นอนที่อาจเกิดขึ้นได้ และสามารถช่วยในการตัดสินใจต่อการลงทุน ทราบแนวโน้มความต้องการของลูกค้า ว่ามีมากน้อยเพียงใด ทำให้ไม่ต้องสั่งซื้อสินค้าเข้ามามากเกินความต้องการของลูกค้า หรือสินค้าไม่เพียงพอต่อความต้องการของลูกค้าได้ ซึ่งจะทำให้ลดความสูญเสียที่อาจเกิดขึ้นได้ และช่วยรักษาเงินทุนไม่ให้สูญเปล่า ช่วยวางแผนการลงทุนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปัจจัยที่นำมาศึกษานี้ มาจากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อยอดขาย คือ ตัวชี้วัดทางเศรษฐกิจต่างๆ เช่น ดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค , GDP และ จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต เป็นต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

1.เก็บรวบรวมข้อมูลยอดขายรายเดือนของเสื้อผ้าออนไลน์ จากเว็บเพจเฟซบุ๊ก ข้อมูลค่าโฆษณา ,TSSI (ดัชนีความเชื่อมั่นผู้ประกอบการภาคการค้าและบริการ),อัตราเงินเฟ้อ, ราคาน้ำมันดีเซล , ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค, GDP (ผลิตภัณฑ์มวลรวมในประเทศ), Internet user (จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต) ในแต่ละเดือน ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ.2556 ถึง เดือนกรกฎาคม พ.ศ.2559 รวมระยะเวลาประมาณ 3 ปี

2.นำข้อมูลยอดขายมาสร้าง Residual plot เพื่อทดสอบข้อสมมติฐานของการวิเคราะห์ความแปรปรวน

3.ตรวจสอบความเป็นปกติของข้อมูล ด้วยวิธี Graphical Summary

4.นำข้อมูลมาพลอตกราฟด้วยวิธี Main Effects Plot เพื่อวิเคราะห์ในเชิงผลกระทบของตัวแปรอิสระแต่ละระดับที่ส่งผลต่อตัวแปรตาม(ยอดขาย)

5. พยากรณ์ยอดขาย ด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอย ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระและตัวแปรตามตั้งแต่ปี พ.ศ. 2556 ถึงปี พ.ศ. 2559 ในการสร้างตัวแบบ ตัวแปรอิสระและตัวแปรตามที่ใช้ในการวิเคราะห์มีดังนี้

ตัวแปรอิสระ : ค่าโฆษณา ,TSSI (ดัชนีความเชื่อมั่นผู้ประกอบการภาคการค้าและบริการ), อัตราเงินเฟ้อ , ราคาน้ำมันดีเซล, ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค, GDP (ผลิตภัณฑ์มวลรวมในประเทศ, Internet user (จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนตในแต่ละเดือน)

ตัวแปรตาม : sale (ยอดขาย)

6.กรอกข้อมูลลงใน work sheet ของโปรแกรม minitab ในการศึกษาความสัมพันธ์ด้วยโปรแกรม minitab ใช้วิธี stepwise ในการคัดเลือกตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์อย่างมากกับตัวแปรตาม โดยที่ทุกครั้งที่เลือกตัวแปรอิสระตัวใหม่เข้าไปในสมการจะทำการพิจารณาว่าตัวแปรเดิมในสมการจะสามารถอยู่ในสมการได้ต่อไป หรือควรตัดออก โดยกำหนดค่า Alpha to enter และ Alpha to remove เท่ากับ 0.15

7. นำตัวแปรอิสระที่ผ่านการคัดเลือกด้วยวิธี stepwise มาสร้างสมการถดถอยด้วยฟังก์ชั่น regreesion ซึ่งตัวแปรอิสระที่สามารถนำมาสร้างสมการถดถอยได้ คือ ค่าโฆษณา ,ดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค และจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต

8.นำตัวแปรที่ผ่านการคัดเลือก มาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

9. ทดสอบสมมติฐานเพื่อทดสอบว่าสมการสามารถพยากรณ์ตัวแปรตามได้หรือไม่

10. ทดสอบความสำคัญของตัวแปรทำนายแต่ละตัว

11.นำสมการถดถอยที่ได้ไปคำนวณค่าพยากรณ์ยอดขายในแต่ละเดือน

12. เปรียบเทียบค่าความคลาดเคลื่อนของการพยากรณ์ในรูปของค่าเฉลี่ยของค่าสัมบูรณ์ของเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน (Mean Absolute Percentage Error , MAPE)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

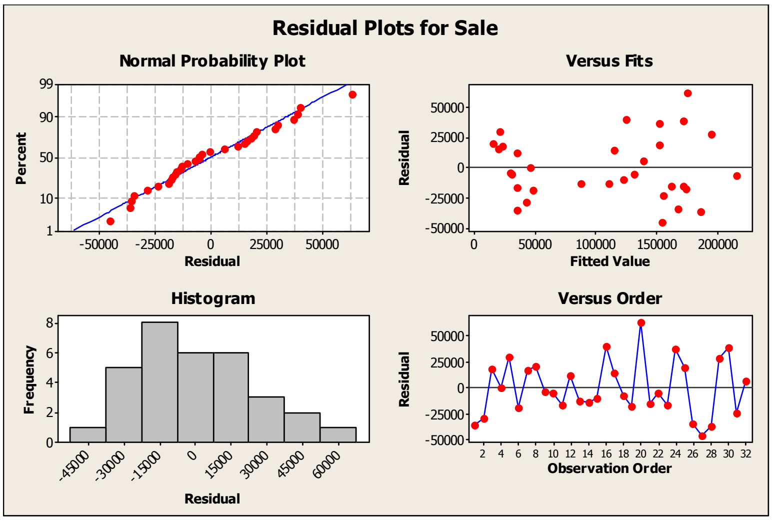


Figure 1 Graph for checking assumptions of regression.

Figure 1 พิจารณากราฟ Normal Probability Plot หรือแผนภาพการทดสอบความน่าจะเป็นของการแจกแจงแบบปกติ จากแผนภาพ จุดต่างๆเรียงตัวกันในเชิงเส้นตรง 45 องศา แสดงว่า ส่วนเหลือมีการแจกแจงแบบปกติ ซึ่งหากส่วนเหลือมีการแจกแจงที่เบี่ยงเบนจากการแจกแจงปกติมาก อาจทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดได้

พิจารณากราฟ Versus Fits แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าผิดพลาดกับค่าเฉลี่ย (Fitted Value) พบว่า ค่าผิดพลาดมีการกระจายตัวรอบแกนศูนย์อย่างสมดุลและไม่มีรูปแบบ แสดงว่า ค่าเฉลี่ยของค่าผิดพลาดเท่ากับศูนย์และความแปรปรวนมีค่าคงที่

พิจารณากราฟ Histrogram ความถี่ที่ 0 มีค่าสูง แสดงว่า ข้อมูลมีความแม่นยำ

พิจารณากราฟ Versus Order แสดงค่า residual เทียบกับตำแหน่งค่า observation

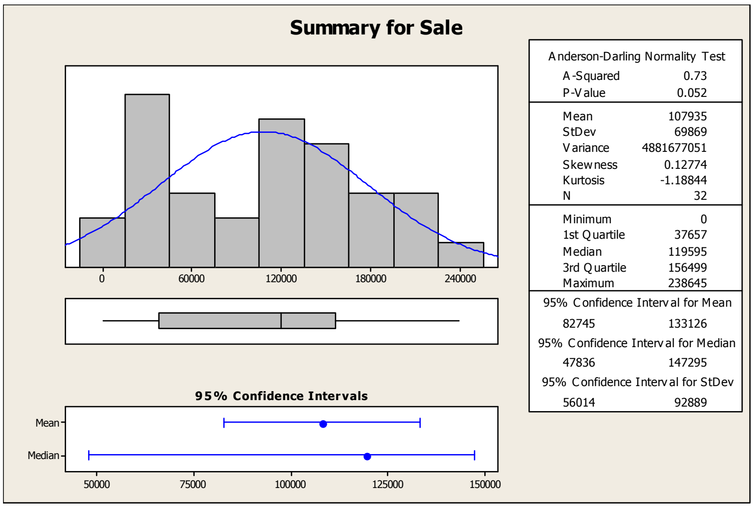


Figure 2 Graphical Summary

จาก Graphical Summary (Figure 2) พิจารณาค่า P-value ในช่อง Anderson-Darling Normality Test ที่ด้านบนสุดขวามือ ค่า P-value มากกว่า 0.05 แสดงว่าข้อมูลการกระจายแบบปกติ

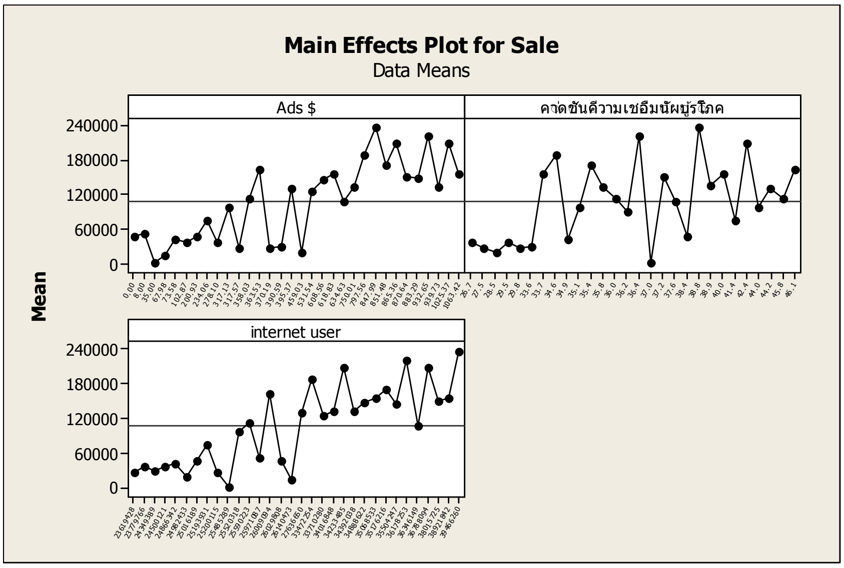


Figure 3 The graph of the relationship between sales to independent variables.

จากการพลอตกราฟด้วยวิธี main effect plot (Figure 3) เพื่อพิจารณาแต่ละระดับของตัวแปรอิสระ ส่งผลต่อตัวแปรตาม (ยอดขาย) จากความสัมพันธ์ระหว่างยอดขาย กับ ค่าโฆษณา , ดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค , จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต พบว่า แสดงความสัมพันธ์เชิงบวก

จากการวิเคราะห์การคัดเลือกตัวแปรอิสระด้วยวิธี stepwise จากโปรแกรม minitab (Figure 4) พบว่าตัวแปรอิสระที่ผ่านการคัดเลือกที่ระดับนัยสำคัญ 0.15 คือ จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต , ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค และ ค่าโฆษณา

เมื่อนำตัวแปรอิสระที่ผ่านการคัดเลือกด้วยวิธี stepwise มาสร้างสมการถดถอยด้วยฟังก์ชั่น regression จากการประมวลผลด้วยโปรแกรม minitab จะได้ตัวแบบและค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (Figure 5) แสดงค่าต่างๆได้ดังนี้

Stepwise Regression: Sale versus Ads $, TSSI, ...

Alpha-to-Enter: 0.15 Alpha-to-Remove: 0.15

Response is Sale on 7 predictors, with N = 32

Step	1	2	3
Constant	-211983	-336882	-238524
internet user	0.0106	0.0098	0.0039
T-Value	8.25	8.51	2.07
P-Value	0.000	0.000	0.048
customer confidence index		4042	4697
T-Value		3.13	4.30
P-Value		0.004	0.000
Ads $			112
T-Value			3.68
P-Value			0.001
S	39297	34545	28870
R-Sq	69.39	77.13	84.58
R-Sq(adj)	68.37	75.55	82.93
Mallows Cp	24.5	13.2	2.4
PRESS	52506384269	41876281409	30205394637
R-Sq(pred)	65.30	72.33	80.04

Figure 4 The selection of independent variables

จาก Figure 5 Results of regression analysis พบว่า ความชันของเส้นตรง คือ β_1 = 112.29 เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ประมาณค่าได้ในยอดขายโดยเฉลี่ยสำหรับค่าโฆษณาที่เพิ่มขึ้น 1 บาท โดยที่ ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภคและจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนตคงที่ ส่วน β_2 และ β_3 อธิบายความหมายได้ในทำนองเดียวกัน

ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานที่ประมาณค่าได้ (Estimated Standard Error)

ค่าประมาณของความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน σ^2 คือ S^2 = 833452400 ค่าประมาณของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความคลาดเคลื่อน σ คือ S = 28869.6 บาท คาดการณ์ว่าสมการนี้ใช้ทำนายยอดขายจะอยู่ภายใน 2S หรือโดยประมาณ 57739.2 บาท ของค่าที่แท้จริง

สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ R^2 = 86.4% โดยประมาณ 86% ของความแปรผันทั้งหมดในยอดขาย อธิบายได้ด้วยตัวแบบการถดถอย และ 14% ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยตัวแบบการถดถอย

Regression Analysis: Sale versus Ads $, ค่าดัชนีความเชื่, internet user

```
The regression equation is
Sale = - 238524 + 112 Ads $ + 4697 ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค
       + 0.00390 internet user


Predictor                             Coef   SE Coef      T      P    VIF
Constant                           -238524     51605  -4.62  0.000
Ads $                               112.29     30.53   3.68  0.001  3.828
ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค          |     4697      1093   4.30  0.000  1.075
internet user                     0.003897  0.001881   2.07  0.048  3.968


S = 28869.6   R-Sq = 84.6%   R-Sq(adj) = 82.9%

PRESS = 30205394637   R-Sq(pred) = 80.04%


Analysis of Variance

Source          DF           SS           MS      F      P
Regression       3  1.27995E+11  42665107132  51.19  0.000
Residual Error  28  23336667186    833452400
Total           31  1.51332E+11


Source                          DF       Seq SS
Ads $                            1  1.03874E+11
ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค  1 20542767137
internet user                    1   3578990124


Durbin-Watson statistic = 1.90622
```

Figure 5 Results of regression analysis

Correlations: Sale, Ads $, ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค, internet user

```
                        Sale          Ads $         ค่าดัชนีความเชื่
Ads $                  0.828
                       0.000

ค่าดัชนีความเชื่    |     0.448          0.098
                       0.010          0.593

internet user          0.833          0.855          0.211
                       0.000          0.000          0.246


Cell Contents: Pearson correlation
               P-Value
```

Figure 6 To measure the relationship between variables or correlation coefficient.

Figure 6 จากการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างยอดขายกับค่าโฆษณา ได้เท่ากับ 0.828 สามารถอธิบายได้ว่า ค่าโฆษณามีความสัมพันธ์กับยอดขายเสื้อผ้าค่อนข้างมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ r = 0.828 ส่วนค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภคก็ถือว่ามีความสัมพันธ์กับยอดขายในระดับปานกลางและเป็นไปในทิศทางเดียวกันเพราะค่า r = 0.448 ส่วนจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต มีความสัมพันธ์กับยอดขายค่อนข้างมากและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน เพราะค่า r = 0.833 เพราะฉะนั้นตัวแปรทั้งสามจึงสามารถนำมาพยากรณ์

ยอดขายเสื้อผ้าได้ อย่างไรก็ตามพบว่าจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนตและค่าโฆษณามีความสัมพันธ์ค่อนข้างมากเช่นเดียวกันคือ r = 0.855 จึงต้องระวังว่าหากนำตัวแปรทั้งสองมาใช้อาจเกิดปัญหาเนื่องจากตัวแปรอิสระมีความสัมพันธ์กันเองได้

การทดสอบสมมติฐานเพื่อทดสอบว่าสมการสามารถพยากรณ์ตัวแปรตามได้หรือไม่

ขั้นที่ 1 H_0 : $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \dots \beta_k = 0$

H_1 : β_i อย่างน้อยหนึ่งตัวไม่เท่ากับศูนย์ (เมื่อ i = 1,2,3)

ขั้นที่ 2 ขอบเขตการตัดสินใจ จะปฏิเสธ H_0 เมื่อ $F_{คำนวณ} > F_{k,n-(k+1)}$ หรือ $F_{คำนวณ} > F_{3,29}$

นั่นคือ ปฏิเสธ H_0 ถ้า $F_{คำนวณ} > 2.93$ ณ ระดับนัยสำคัญ 0.05

ขั้นที่ 3 การทดสอบจะใช้ F statistic ซึ่งจาการประมวลด้วยโปรแกรม minitab ได้ค่า F = 51.19 (Figure 5)

ขั้นที่ 4 พบว่าค่า $F_{คำนวณ}$ ได้เท่ากับ 51.19 ซึ่งค่าที่ได้มากกว่าค่า $F_{ตาราง}$ (51.19 > 2.93) ซึ่งตกอยู่ในขอบเขตที่สามารถปฏิเสธ H_0 ได้

ขั้นที่ 5 สรุปได้ว่า สมการถดถอยพหุคูณสามารถพยากรณ์การเปลี่ยนแปลงของยอดขายเสื้อผ้าได้ ณ ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 แสดงว่า ค่าโฆษณา และ/หรือค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค และ/หรือจำนวนผู้อินเตอร์เนตอย่างน้อยหนึ่งตัว สามารถนำมาพยากรณ์ยอดขายเสื้อผ้าด้วยวิธีการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณได้

การทดสอบความสำคัญของตัวแปรทำนาย (Testing the Usefulness of the Predictors)

พิจารณาค่า P-value ของแต่ละ Predictor ใน Results of regression analysis (Figure 5) เริ่มทดสอบจากตัวแปรทำนายที่มีค่า p-value มากที่สุด ซึ่งเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญน้อยที่สุดก่อน นั่นคือ จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต

ในการทดสอบว่าจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต มีผลในการทำนายยอดขาย อย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ สมมติฐานหลักและรองคือ

H_0 : $\beta_1 = 0$ vs H_1 : $\beta_1 \neq 0$

ตัวสถิติทดสอบ t และ p-value

เนื่องจาก p-value = 0.048 มีค่าน้อยกว่า α = 0.05 เราสามารถปฏิเสธสมมติฐาน H_0 ที่ว่า $\beta_1 = 0$ ดังนั้นจึงมีหลักฐานเพียงพอที่จะสรุปว่าจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนตเป็นตัวแปรทำนายที่มีความสำคัญสำหรับใช้ทำนายยอดขายได้ ส่วนตัวแปรทำนาย ค่าโฆษณา , ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค มีค่า p-value =0.001 และ 0.000 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่า α = 0.05 เราสามารถปฏิเสธสมมติฐาน H_0 ที่ว่า $\beta_1 = 0$ ดังนั้นจึงมีหลักฐานเพียง

พอที่จะสรุปว่าค่าโฆษณา , ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค เป็นตัวแปรทำนายที่มีความสำคัญสำหรับใช้ทำนายยอดขายได้

นำสมการถดถอยที่ได้ไปคำนวณค่าพยากรณ์ของยอดขายแต่ละเดือน และหาค่า MAPE และนำค่าพยากรณ์และยอดขายจริง ไปพลอตกราฟด้วยกัน เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง (Figure 7)

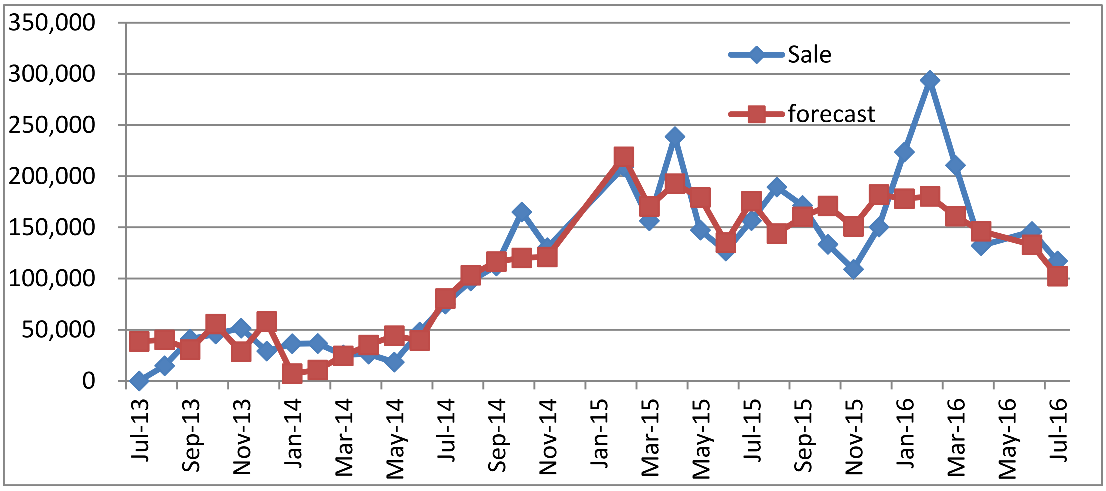


Figure 7 The actual and forecast values

คำนวณค่า MAPE จากสูตร MAPE = $\frac{1}{n}\sum_{t=1}^{n}\frac{|At-Ft|}{At}\times 100$ จากการคำนวณพบว่าค่า MAPE มีค่า 32.85% ซึ่งอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (ไม่เกิน 50%)

สรุป

เนื่องด้วยปัจจุบันอุตสาหกรรม e-commerce มีอัตราการเติบโตอย่างมาก วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ พยากรณ์ยอดขายสินค้าแฟชั่นในตลาดออนไลน์ จากตัวแปรทำนาย คือ ค่าโฆษณา ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค และจำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต ซึ่งวิธีการที่ใช้ คือ การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ จากการศึกษาพบว่าตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม(ยอดขาย) คือ ค่าโฆษณา ค่าดัชนีความเชื่อมั่นผู้บริโภค จำนวนผู้ใช้อินเตอร์เนต มีความสัมพันธ์ทางเดียวกับตัวแปรตาม คือ เมื่อค่าดังกล่าวมากขึ้น ยอดขายก็จะมากขึ้นไปด้วย และสามารถพยากรณ์ยอดขายด้วยสมการถดถอย และคำนวณค่า MAPE = 32.85% ซึ่งอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (ไม่เกิน 50%)

เอกสารอ้างอิง

นิภา นิรุตติกุล. 2553. **การพยากรณ์การขาย**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ

ปองภพ ศรีสวัสดิ์กุล. 2554. **การพยากรณ์ยอดขายของธุรกิจค้าส่งเสื้อผ้าสำเร็จรูปนำเข้าขนาดเล็ก.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการด้านโลจิสติกส์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

สายชล สินสมบูรณ์ทอง. 2559. **การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป** MINITAB for Windows. บริษัทจามจุรีโปรดักส์ จำกัด , กรุงเทพฯ

สำนักงานคณะกรรมการกิจการกระจายเสียง กิจการโทรทัศน์ และกิจการโทรคมนาคมแห่งชาติ . 2559. **รายงานผลการสำรวจข้อมูลอินเตอร์เนตในประเทศไทย** . แหล่งที่มา: http://webstats.nbtc.go.th/netnbtc/INTERNETUSERS.php , 29 กรกฎาคม 2559.

สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ. 2559. **รายงานภาวะเศรษฐกิจ ในประเทศ ปี 2558.** แหล่งที่มา: http://www.nesdb.go.th/ewt_news.php?nid=4526&filename=index , 29 กรกฎาคม 2559.

การออกแบบเครื่องบันทึกค่าอัตราการไหลปัสสาวะแบบจานหมุน
DESIGN OF UROFLOWMETRY ROTATING DISC RECORDING

สมพงษ์ อารีย์[1*] และ สิรภพ ตู้ประกาย[1]

Sompong Aree[1*] and Siraphop Tooprakai[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้แสดงการออกแบบเครื่องบันทึกค่าอัตราการไหลปัสสาวะแบบจานหมุนวงจรตรวจจับผลต่างแรงดันจะจับค่าการเปลี่ยนแปลงพลังงานที่เกิดขึ้นบนจานหมุนนำไปเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์เพื่อหาความเร็วการไหลและอัตราการไหลของปัสสาวะ ทั้งนี้ยังสามารถอ่านค่าผลการวัดแบบต่อเนื่องด้วยโปรแกรม PLX-DAQ พร้อมจัดเก็บข้อมูลใน Micro SDCard ปัจจุบันผู้ป่วยประเภทนอนติดเตียงไม่ได้รับความสะดวกในการย้ายเครื่องวัดออกนอกโรงพยาบาลยุ่งยากหลายขั้นตอนและเครื่องวัดต้องนำเข้าจากต่างประเทศทำให้ราคาแพง ในบทความวิจัยนี้ได้ออกแบบเครื่องบันทึกค่าอัตราการไหลที่สามารถพกพาสะดวกเลือกใช้วัสดุประกอบวงจรภายในประเทศจึงมีราคาถูก ผลจากการทดลองโดยปล่อยน้ำให้พุ่งไปสัมผัสจานหมุนโดยตรงเพื่อวัดค่าพลังงานที่เปลี่ยนแปลงจากมอเตอร์เพื่อนำไปเปรียบเทียบหาอัตราการไหลปัสสาวะ ผลที่ได้คือค่าผลต่างแรงดันที่วัดได้มีค่าระหว่าง 0.077 - 0.278 โวลท์ที่ได้ค่าอัตราการไหลสูงสุดอยู่ที่ 19.60 ml^3/sec เมื่อเปรียบเทียบเครื่องวัดที่สร้างขึ้นใกล้เคียงกันกับกราฟค่ามาตรฐานอัตราไหลของคนปกติที่ 16-18 ml^3/sec โดยค่าความคลาดเคลื่อนประมาณ +8.16%

ABSTRACT

This research is presented the design of uroflowmetry rotating-disc machine which reduces the energy that collides with the disc, displays results on a PLX-DAQ, and is able to record data in SDcard. Currently, the patients lying next to the bed have assembly process with several steps is not convenient and the uroflowmetry rotating disc imported from abroad is very expensive. It is recording the flow rate can be easy to move and use local materials are inexpensive. The results showed that the uroflowmetry machine tested with water directed onto the rotating disc causing voltage change received to be compared with the flow of normal urine. The different voltage ranged from 0.077 to 0.278 volts that was compared the flow rate up to 19.60 ml^3/second with the standard flow rate graph of the normal urine is 16 to 18 ml^3/second. The experimental results showed the accuracy to 8.16%.

Key words: uroflowmetry, rotating disc, different voltage, low-side voltage sensing, microcontroller, PLX-DAQ,

*Corresponding author: e-mail address : arsompong.kmitl@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมโทรคมนาคม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 10520

[1]Department of Telecommunication Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, 10520

คำนำ

ปัจจุบันโรคทางเดินปัสสาวะ เช่น โรคนิ่ว โรคต่อมลูกหมากโต(Benign Prostatic Hyperplasia : BPH) โรคมะเร็งต่อมลูกหมาก โรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ เป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินปัสสาวะทั้งสิ้น(วิสูตร คงเจริญสมบัติ ,2554) โดยมีต่อมลูกหมากทำหน้าที่ควบคุมการไหลของปัสสาวะ และผลิตโปรตีนที่เป็นแอนติเจนจำเพาะของต่อมลูกหมาก เช่น การผลิตน้ำหล่อลื่นและหล่อเลี้ยงตัวอสุจิเป็นต้น ต่อมลูกหมากมีลักษณะคล้ายลูกเกาลัดขนาดใหญ่ สำหรับผู้ป่วยเกี่ยวกับต่อมลูกหมากนั้นอาจจะไม่มีอาการอะไรเลยก็ได้ แต่ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการนั้นอาจจะมีอาการดังนี้คือ ไม่สามารถถ่ายปัสสาวะได้ ปัสสาวะต้องเบ่งนานและปัสสาวะขัด ปัสสาวะบ่อยครั้งโดยเฉพาะเวลากลางคืน ปัสสาวะอ่อนแรงไม่พุ่ง อาจมีอาการปวดแสบระหว่างการถ่ายปัสสาวะ ผู้ชายที่มีช่วงอายุประมาณ 50 ปีขึ้นไปหรือยิ่งอายุมากก็ยิ่งมีโอกาสเสี่ยงเพิ่มมากขึ้น นอกจากนั้น ยังพบว่าถ้าบุคคลในครอบครัวมีประวัติการเป็นมะเร็งต่อมลูกหมากจะมีโอกาสเสี่ยงมากกว่าบุคคลทั่วไป รวมถึงผู้ชายที่นิยมรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงก็จะจัดในกลุ่มผู้มีความเสี่ยงสูงด้วย

ปัจจุบันการตรวจยูโรพลศาสตร์ Urodynamics (Shaschke C. 1998. Fluid Mechanics) ได้รับความนิยมใช้วิธีคือการตรวจ Uroflowmetry ถ้าพบภาวะอุดตันต่อทางเดินปัสสาวะจะมีอัตราการไหลของปัสสาวะลดลง หรือถ้าปัสสาวะนานขึ้น ซึ่งมีค่า Maximum Urinary Flow Rate หรือค่า Peak Flow Rate ต่ำกว่าค่า 10 mL/sec ถือว่าผิดปกติ ถ้าค่า Maximum Urinary Flow Rate อยู่ระหว่าง 10-15 mL/sec เป็นภาวะก้ำกึ่งว่าจะมีภาวะอุดตัน ถึงแม้จะอุดตันก็อาจจะยังไม่มากนัก ต้องอาศัยซักประวัติและสังเกตอาการอื่นๆ ส่วนค่า Maximum Urinary Flow Rate มีค่า 15mL/sec แสดงว่าไม่มีภาวะอุดตันทางออกปัสสาวะ แต่อาจสาเหตุอื่น เช่น ท่อปัสสาวะตีบตัน อาจเป็นต่อมลูกหมากโตหรือมะเร็งต่อมลูกหมากก็ได้ ดังนั้นการตรวจวัดด้วยวิธี Uroflowmetry จะต้องมีปัสสาวะอย่างน้อย 150-170 mL. จึงสามารถแยกแยะโรคได้ เช่น กรณีความดันในกระเพาะปัสสาวะสูงแต่ Flow Rate ต่ำมีสาเหตุจากการอุดตัน ถ้าความดันในกระเพาะปัสสาวะต่ำแล้ว Flow Rate ต่ำด้วย มีสาเหตุมาจากกระเพาะปัสสาวะบีบตัวลง โดยปัจจุบันมีการใช้เครื่องมือวัดอัตราการไหลของปัสสาวะประกอบการวินิจัยเพื่อแยกโรคทางเดินปัสสาวะ ซึ่งข้อจำกัดของเครื่องตรวจวัดในปัจจุบันคือเคลื่อนย้ายลำบากราคาแพงการเก็บประวัติข้อมูลการตรวจวัดทำได้ยาก

ดังนั้นในงานวิจัยฉบับนี้ได้ศึกษาการออกแบบและสร้างเครื่องบันทึกอัตราการไหลของปัสสาวะแบบจานหมุน โดยใช้หลักการเปรียบเทียบผลต่างแรงดันไฟฟ้าจากตัวต้านทานแบบขนาน ซึ่งทำหน้าที่ตรวจจับค่าการเปลี่ยนแปลงตามภาระโหลดที่จานหมุนได้รับ โดยทดสอบด้วยการเทของเหลวทดสอบลงบนแผ่นจานหมุนและวัดค่าพลังงานจากวงจรตรวจจับผลต่างแรงดัน จากนั้นนำมาผ่านวงจรขยายระดับค่าแรงดันไฟฟ้าและบันทึกค่าไว้ในหน่วยความจำประเภท Micro SDCard และแสดงผลการอ่านค่าต่อเนื่องด้วยโปรแกรม PLX-DAQ(Paralax Excel) หรือรูปแบบการเก็บข้อมูลผู้ป่วยในรูปแบบไฟล์ Excel โดยใช้การประมวลผลการทำงานด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino Uno R3 โดยเครื่องที่สร้างขึ้นราคาไม่แพงเนื่องจากใช้อุปกรณ์หาได้ในประเทศและสามารถเคลื่อนย้ายได้สะดวกสำหรับใช้งานกับโรงพยาบาลห่างไกลได้และสามารถจัดเก็บประวัติการตรวจในรูปแบบอิเล็กทรอนิกส์

ทฤษฎีและหลักการงานวิจัย

ในงานวิจัยครั้งนี้ ใช้หลักการเปรียบเทียบการถ่ายของเหลวของกระเพาะปัสสาวะเป็นแทงค์น้ำเจาะรู ซึ่งกฎของทอร์ริเชลลี(Groetsch, C. W.1993) และร่วมกับหลักการของแบร์นูลลี (Bernoulli's principle)ว่าด้วยความเร็วของของไหลที่ไหลออกจากท่อเปิด อัตราเร็วของการไหล สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามเส้นทางการไหล ความดันก็สามารถเปลี่ยนแปลงได้เช่นกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสูง (หรือความลึก) เช่นเดียวกันกับในของไหลสถิต และความดันก็ขึ้นอยู่กับอัตราเร็วของการไหลด้วย เราจะหาความสัมพันธ์ระหว่างความดันอัตราเร็วของการไหล และความสูงหรือไหลตกกระทบ โดยในงานวิจัยได้ใช้แผ่นจานหมุนรับปริมาตรของเหลวแล้วแปรเป็นค่าพลังงาน ดังรูปภาพ Figure 1

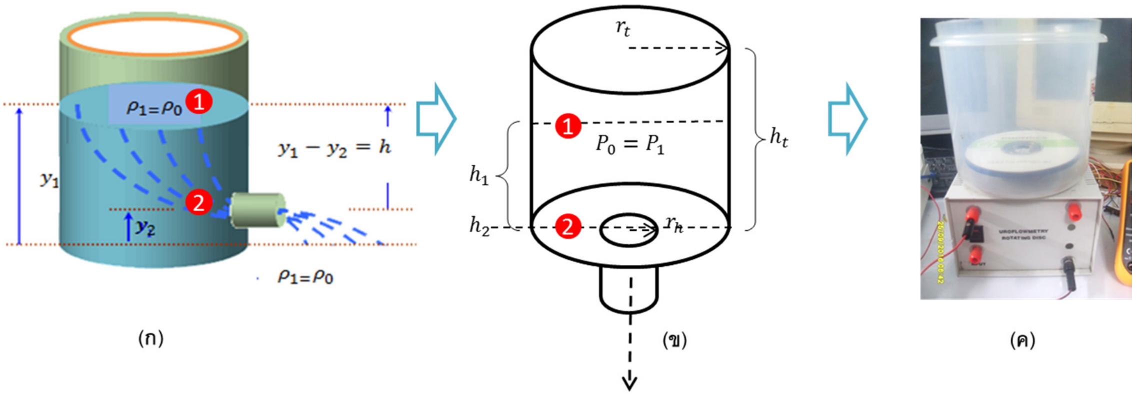


Figure 1 แสดงการเปรียบเทียบทฤษฎีแบร์นูลลี (Bernoulli's Principle) กับเครื่องวัดอัตราการไหลปัสสาวะที่สร้างขึ้น

จากรูปภาพ Figure 1.(ก) ถังน้ำบรรจุน้ำไว้ตอนเริ่มต้น มีท่อเล็ก ๆ ต่ออยู่ซึ่งอยู่ต่ำจากผิวน้ำในถังเป็นระยะ h ถ้าถังนี้มีฝาปิดความดันอากาศภายในบริเวณเหนือผิวน้ำในถังคือ P_0 ต้องการคำนวณหาอัตราเร็วของการไหลของน้ำออกจากท่อสมมุติว่า น้ำเป็นของไหลอุดมคติและบีบอัดไม่ได้ ดังนั้นสามารถใช้สมการของแบร์นูลลีในการศึกษาปัญหาการไหลของน้ำนี้ได้ กำหนดจุดที่ 1 และ 2 ดังรูปภาพ Figure 1.(ข) จะได้สมการที่ 1

$$P_1+\rho g y_1+\frac{1}{2}\rho v_1^2=P_2+\rho g y_2+\frac{1}{2}\rho v_2^2 \qquad (1)$$

เมื่อความดันที่จุดที่ 1 คือความดันบรรยากาศ $P_1=P_a$ และความดันที่จุดที่ 2 เมื่อ $P_2=P_0$ คือ

$$P_a+\rho g y_1+\frac{1}{2}\rho v_1^2=P_0+\rho g y_2+\frac{1}{2}\rho v_2^2 \qquad (2)$$

$$\frac{1}{2}\rho v_1^2=P_0-P_a-\rho g y_1+\rho g y_2+\frac{1}{2}\rho v_2^2 \qquad (3)$$

$$v_1^2=v_2^2+\frac{2(P_0-P_a)}{\rho}+2gh \qquad (4)$$

จากสมการที่ 4 ถ้าพื้นที่หน้าตัดของท่อน้ำออก A_1 มีขนาดน้อยกว่าพื้นที่หน้าตัดของแทงค์น้ำ A_2 จุดที่ 2 มาก ๆ v_1^2 จะมีค่ามากกว่า v_2^2 มาก ๆ ดังนั้นสามารถตัด v_2^2 ในสมการข้างต้นทิ้งได้ จะได้

$$v_1^2=\frac{2(P_0-P_a)}{\rho}+2gh \qquad (5)$$

จากสมการที่ 5 คืออัตราความเร็วของน้ำ v_1 ที่ไหลออกจากท่อเรียกว่า *efflux speed* ซึ่งมีค่าขึ้นกับผลต่างความดัน P_0-P_a (Wilk A. 2014) และความสูงถ้าด้านบนของถังเปิด P_0 จะเท่ากับ P_a ทำให้ได้ $P_0-P_a=0$ และถ้าถังเป็นระยะ h อัตราเร็วที่ได้นี้มีขนาดเท่ากับอัตราเร็วที่วัตถุตกอย่างอิสระในระยะความสูง h ถ้าพิจารณาที่ระดับ

ความสูงคงที่เมื่อของไหลมีอัตราเร็วเพิ่มขึ้นความดันของของเหลวจะลดลง และเมื่อของไหลมีอัตราเร็วลดลงความดันของของไหลจะเพิ่มขึ้นซึ่งเรียกว่ากำหนดตัวแปรทฤษฎีแบร์นูลลี (Bernoulli's Principle) สมการอัตราเร็วของน้ำที่ไหลออกมาจากท่อ(รู) ข้างถังที่เปิดฝาหาได้จาก $v = \sqrt{2gh}$ คืออัตราความเร็วของน้ำที่ไหลออกมาจากท่อ(รู)ข้างถังที่เปิดฝาอยู่ โดยที่ท่ออยู่ต่ำกว่าผิวน้ำภายใน ดังนั้นสรุปได้ว่า

สมการอัตราเร็วของน้ำ Velocity : (mL/sec)

$$v = \sqrt{2gh} \quad (6)$$

สมการอัตราการไหลของน้ำ Quality(Q) : (mL^3/sec)

$$Q = A(mm.^2) * v(mL/sec) \quad (7)$$

$$Q = A * \sqrt{2gh} \;;(mL^3/sec) \quad (8)$$

สมการปริมาตรของน้ำ Volume of Fluid : (mL)

$$V = A * \pi r^2 * d_{water} \quad (9)$$

โดยที่ Q =(Quanlity of Flowrate)อัตราการไหล (mL^3/sec)

h =(Height of Tank)ความสูงของระดับแทงค์น้ำ (mm.)

v =(Velocity)อัตราเร็วของน้ำ(mL/sec)

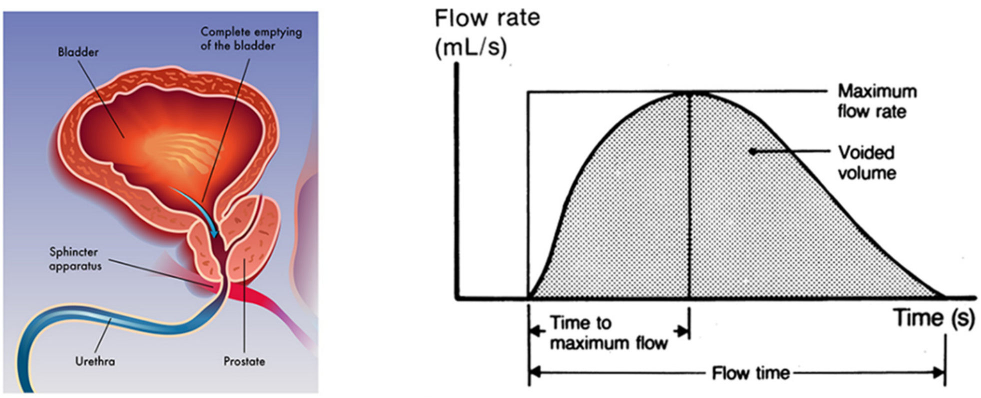
g =(Garvity)ค่าแรงโน้มถ่วง(9.81 m/sec)

V =(Volume of Fluid)ปริมาตรของน้ำ (mL)

r_h=(Radial of Bottom Hole)รัศมีของรูท่อน้ำทางออก (mm.)

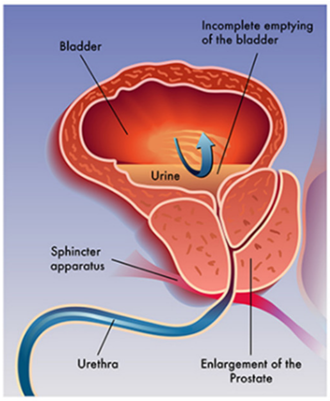
d_{water} =(Deep of water)ความลึกของน้ำในแทงค์ (mm.)

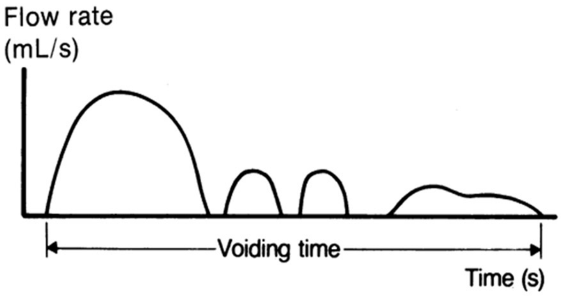
A=(Area)ขนาดพื้นที่หน้าตัดท่อส่งน้ำ (mm^2)



ก. ต่อมลูกหมากปกติ

Figure 2 (ก.) แสดงการลักษณะกราฟอัตราการไหลของต่อมลูกหมาก ในสภาวะปกติ





ข. ต่อมลูกหมากโต

Figure 2 (ข.) แสดงการลักษณะกราฟอัตราการไหลในสภาวะของต่อมลูกหมากโต

Table 1 แสดงค่ามาตรฐานปกติอัตราการไหลปัสสาวะขึ้นอยู่กับเพศและอายุ

ช่วงอายุ	อัตราการไหล (Flow Rate) : mL^3/sec	
	ผู้ชาย	ผู้หญิง
4 - 7	10	15
8 - 13	12	18
14 - 45	21	18
46 - 65	12	18
66 - 80	9	18

จากรูปภาพ **Figure 2.** แสดงการเปรียบเทียบการทำงานของต่อมลูกหมากปกติกับต่อมลูกหมากโต ซึ่งตามตาราง **Table 1.** แสดงค่ามาตรฐานปกติอัตราการไหลปัสสาวะขึ้นอยู่กับเพศและอายุ.(Hann-Chorng Kuo, M.D.,Interpretation of Uroflowmetry 2007;2:51-55) ซึ่งการตรวจวัดอัตราการไหลของปัสสาวะเป็นการตรวจขั้นต้นสาหรับผู้ป่วยที่มีอาการถ่ายปัสสาวะผิดปกติ เมื่อแพทย์ผู้ตรวจสังเกตว่าผู้ป่วยมีอาการเกี่ยวกับต่อมลูกหมากโต(วิสูตร คงเจริญสมบัติ. 2554) เช่น อาการปัสสาวะเล็ดราดหรือปัสสาวะเร็วหรืออื่นๆที่เกี่ยวกับการถ่ายปัสสาวะ นอกจากการตรวจร่างกายตามปกติแล้วแพทย์จะใช้เครื่องวัดการไหลของปัสสาวะ เพื่อทำการทดสอบสมรรถภาพของกระเพาะปัสสาวะร่วมด้วยกระเพาะปัสสาวะของผู้ป่วยอาจทำงานผิดปกติ เช่น อาจจะไม่สามารถบีบตัวให้ปัสสาวะไหลได้แรงหรือต่อเนื่องหรือจะต้องเบ่งปัสสาวะแรงๆ เป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากสาเหตุบางอย่างมาอุดกั้น เช่น ต่อมลูกหมากโต ท่อปัสสาวะตีบตัน หรือกระบังลมหย่อน ในการตรวจอัตราการไหลของปัสสาวะทำได้ไม่ยากและใช้เวลาไม่มาก โดยแพทย์จะให้ผู้ป่วยถ่ายปัสสาวะลงเครื่องมือวัด อัตราไหลความแรงของปัสสาวะเป็น mL/sec โดยมีค่าปกติเพศชายประมาณ 16 mL/sec เพศหญิงประมาณ 18 mL/sec ดังนั้นแพทย์จะวินิจฉัยจากกราฟที่วัดได้ว่า สภาวะที่เกิดขึ้นจะเกี่ยวกับต่อมลูกหมากโตหรือกระเพาะปัสสาวะของผู้ป่วยทำงานปกติหรือผิดปกติเครื่องมือวัดควรมีความเที่ยงตรงสามารถใช้งานได้จริงในทางการรักษาและใช้ประกอบการวินิจฉัยจึงต้องมีเครื่องวัดที่มีประสิทธิภาพด้วย

การออกแบบงานวิจัย

งานวิจัยฉบับนี้ได้ออกแบบและสร้างเครื่องบันทึกอัตราการไหลของปัสสาวะแบบจานหมุน โดยจะใช้หลักการเปรียบเทียบผลต่างแรงดันไฟฟ้าจากตัวต้านทานแบบขนาน ซึ่งทำหน้าที่ตรวจจับค่าการเปลี่ยนแปลงตามภาระโหลดที่จานหมุนได้รับ โดยมอเตอร์ชุดขับตัวจานหมุนต่อด้วยวงจร Low-side Voltage Sensor ค่าพลังงานที่วัดได้จากวงจรตรวจจับผลต่างแรงดันโดยใช้ตัวต้านทาน Resister-Shunt กับวงจรนำมาผ่านวงจรขยายระดับค่าแรงดันไฟฟ้า บันทึกค่าที่วัดได้ไว้ใน Micro SDCard และอ่านค่าต่อเนื่องแสดงในโปรแกรม PLX-DAQ (www.parallax.com) ผ่านวงจรประมวลผลด้วยไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino Uno R3 (www.thaieasyelec.com) ค่าพลังงานที่มีการเปลี่ยนแปลงกับตัวมอเตอร์ติดจานหมุนนั้น นำไปเขียนกราฟเปรียบเทียบอัตราการไหล (Shaschke C. 1998. Fluid Mechanics) เพื่อให้แพทย์ผู้เชี่ยวชาญใช้เป็นข้อมูลการเปรียบเทียบในการวินิจฉัยและแยกชนิดโรคเกี่ยวกับทางเดินท่อปัสสาวะโครงสร้างของวงจรรูปภาพ Figure 3

โครงสร้างของเครื่องบันทึกอัตราการไหลปัสสาวะแบบจานหมุน

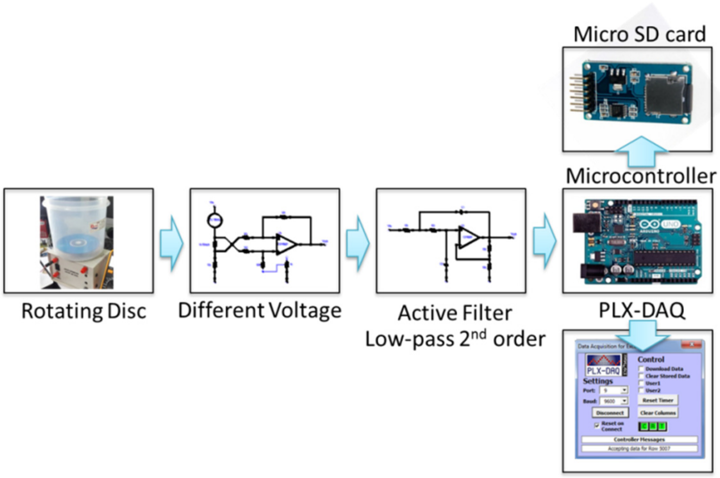


Figure 3 แสดงบล็อกไดอะแกรมการทำงานของเครื่องบันทึกค่าอัตราการไหลปัสสาวะแบบจานหมุน

- Different Voltage : เป็นวงจรตรวจจับค่าผลต่างแรงดันไฟฟ้าที่ใช้ความต้านทาน R-Shunt ต่อกับวงจร Low-side Sensor ค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบจะถูกขยายด้วยตัว OP-Amp เพื่อให้ได้ค่าผลต่างแรงดันนำไปใช้บันทึกค่า กำหนดค่าอุปกรณ์ : R_1=R_2=39kΩ, R_3=R_4=47kΩ, *R-shunt* =5Ω , R_5=10KΩ แสดงดังรูปภาพ Figure 4.

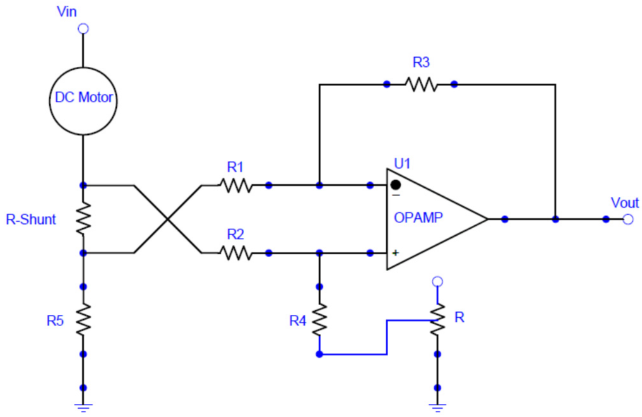


Figure 4 แสดงวงจรวัดค่าผลต่างแรงดัน Different Voltage

- Active Filter Low-pass 2nd order : วงจรกรองความถี่ต่ำผ่านแบบลำดับสองแบบ Sallen and Key โดยออกแบบที่ความถี่ตัด (Cutoff Frequency)= 1kHz, $R=R_1=R_2=48K\Omega$, $R_A=47k\Omega$, $R_B=27\ k\Omega$, $C_1=C_2=0.033\mu F$ แสดงดังรูปภาพ **Figure 5.**

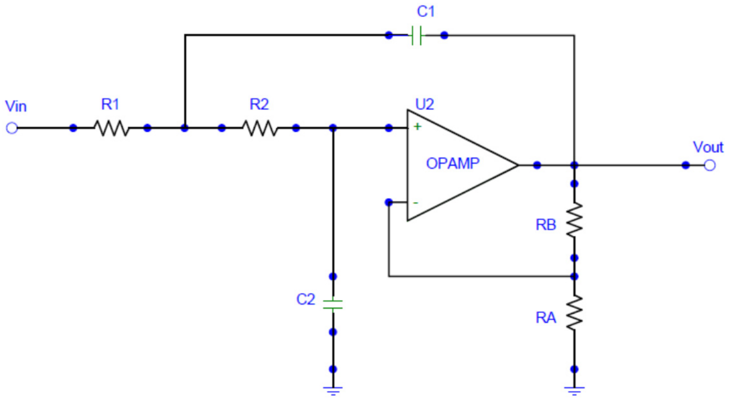


Figure 5 แสดงวงจร Active Filter Low-pass 2nd order

ในส่วนของความต้านทาน R_A และ R_B มีไว้เพื่อกำหนดอัตราการขยายของวงจร Close Loop (ACL) โดยปกติจะกำหนด ACL นี้เท่ากับ 1.586 เท่า เพื่อให้วงจรสามารถทำงานได้ประสิทธิภาพสูงสุดจึงกำหนดให้ เป็น 0.568 เท่าของ เนื่องจาก OP-Amp ต่อแบบไม่กลับเฟสค่าความต้านทานที่เหมาะสม $R_A=47k\Omega$, $R_B=27k\Omega$ ดังรูปภาพ **Figure 6**.(UA741 Operational Amplifiers 741)

- Rotating disc : เป็นอุปกรณ์จานหมุนขับด้วยมอเตอร์กระแสตรง Servo Motor ขนาดเล็กใช้งานระดับแรงดัน 12 โวลท์ ควบคุมการทำงานด้วย Microcontroller ทำหน้าที่รับโหลดจากอัตราการไหลของปัสสาวะมากระทบกับจานหมุน ซึ่งยึดติดอยู่กับเพลามอเตอร์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของจานหมุน 0.12 m. ตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของพลังงานตามภาระโหลดที่ได้รับ ดังรูปภาพ **Figure 7.**
- Microcontroller : ไมโครคอนโทรเลอร์ในงานวิจัยนี้นำเสนอบอร์ดรุ่น Arduino Uno R3[10] ทำหน้าที่ประมวลผลค่าที่ทำการตรวจวัดแล้วส่งไปยังอุปกรณ์หน่วยความจำ Micro SDCard และโปรแกรม PLX-DAQ
- Micro SDCard : หน่วยความจำขนาดเล็กที่ใช้เก็บข้อมูลอัตราการไหลปัสสาวะ
- Paralax-DAQ :โปรแกรมอ่านค่าข้อมูลที่วัดได้รูปแบบ Excel สามารถนำไปเขียนกราฟ สำหรับใช้เปรียบเทียบความถูกต้องกับเครื่องวัดต้นแบบ

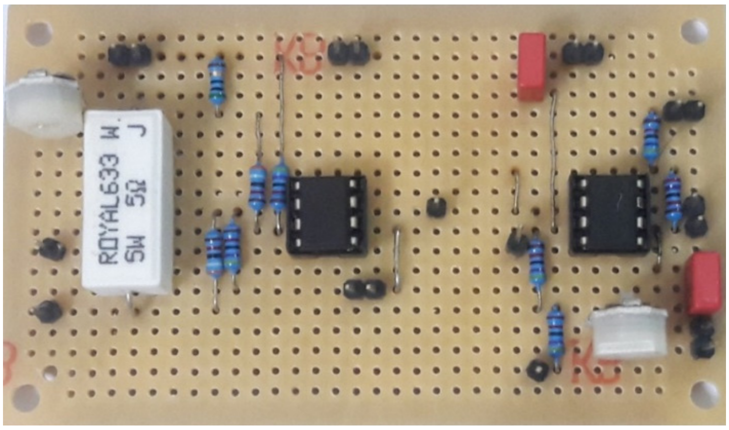


Figure 6 แสดงแผงวงจร Different Voltage และ Active Filter Low-pass 2nd order ที่สร้างขึ้น

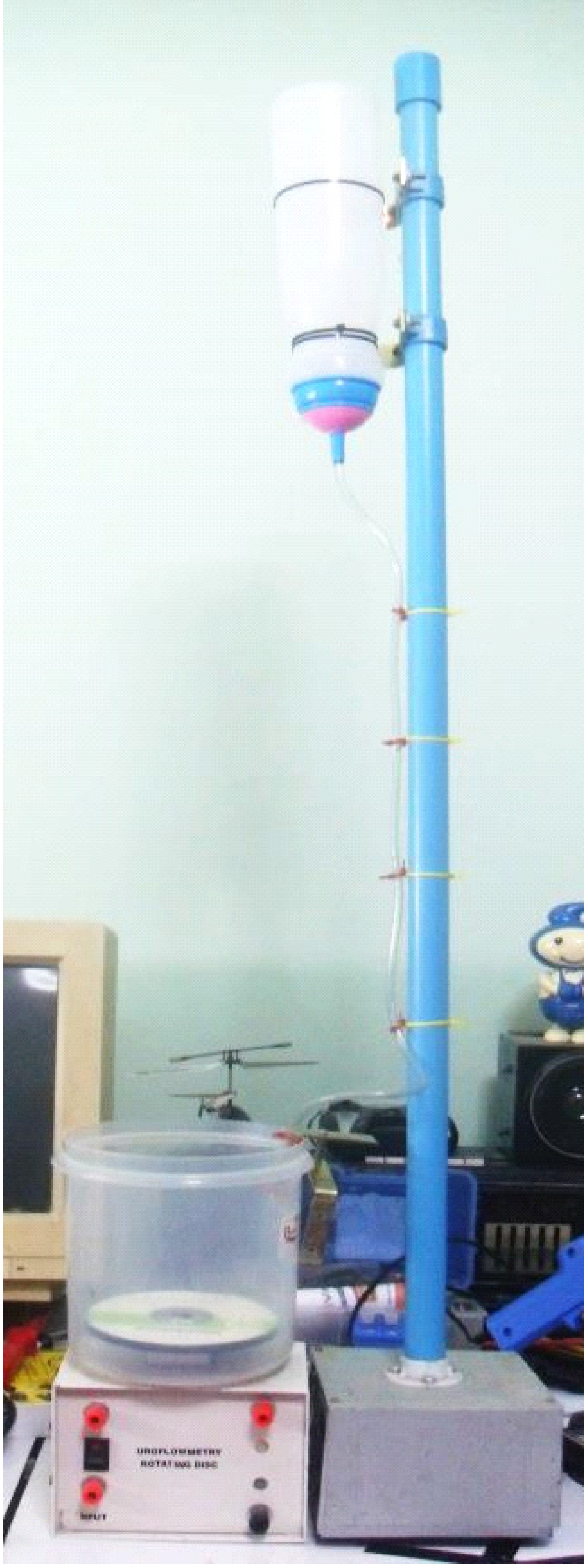


Figure 7 แสดงเครื่องต้นแบบ Rotating disc

ผลการวิจัย

จากรูปภาพ Figure 6 ,7 แสดงเครื่องต้นแบบของ Rotating disc กับแผงวงจรวัดผลต่างแรงดันที่ได้จากการทดลองพบดังแสดงใน **Figure 8.**(Hann-Chorng Kuo, M.D.,Interpretation of Uroflowmetry 2007;2:51-55)ได้แรงดันไฟฟ้าที่ได้จากการวัดจากวงจรผลต่างแรงดัน(Different Voltage)มีค่าต่ำสุดอยู่ที่ 0.077 โวลท์ ,ค่าแรงกันสูงสุดอยู่ที่ 0.278 โวลท์หรือเฉลี่ย 0.211 โวลท์ ณ ช่วงเวลาวินาทีที่ 18 ตามตาราง **Table 2.** และค่าอัตราการไหล(Flowrate)ที่วงจรวัดได้จากการทดลองโดยการเทน้ำจากแทงค์ทรงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 75 มิลลิเมตร ,ลึก 250 มิลลิเมตร ผ่านท่อขนาด 6 มิลลิเมตร โดยระยะเวลาการทดลองเท่ากับ 43 sec. หรือน้ำที่ใช้ทดลองไหลจึงหมดแทงค์ วัดค่าอัตราการไหลสูงสุด(Maximum Flowrate=19.60 mL^3/sec.) ,ค่าเฉลี่ยอัตราการไหล(Average Flowrate= 14.88 mL^3/sec) ,ระยะเวลาที่เกิดอัตราการไหลสูงสุด(Time to Max. Flow= 18 Sec.) ,ปริมาตรรวม(Void Volume= 400 mL/sec.)ดังแสดงใน **Figure 9** ,ส่วนการบันทึกค่าที่วัดได้ผ่านการประมวลผลด้วยบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์ Arduino Uno R3 เพื่อส่งไปจัดเก็บใน Micro SDCard และอ่านค่าต่อเนื่องด้วยโปรแกรม Paralax ได้จริง(www.parallax.com) ตามตาราง **Table 2**

Table 2. แสดงผลการทดลองจากการวัดจากวงจรผลต่างแรงดันมีค่าต่ำสุดอยู่ที่ 0.077 โวลท์และค่าสูงสุด 0.278 โวลท์หรือเฉลี่ย 0.211 โวลท์และการเปรียบเทียบอัตราการไหลตลอดช่วงเวลา 43 Sec. ,ปริมาตรของน้ำรวม 400 mL, อัตราการไหลเฉลี่ย 14.88 mL^3/sec.

Connect using "PLX-DAQ "

Time ช่วงเวลาการวัด	Diff. Voltage Output แรงดันผลต่าง	Velocity of Fluid ความเร็วการไหล	Flowrate อัตราการไหล	Volome of Fluid ปริมาตรของน้ำ
(Second)	**(Volt)**	**(ml/sec)**	**(ml^3/sec)**	**(ml)**
1	0.000	0.00	0.00	0.00
3	0.161	7.09	11.35	28.75
5	0.242	10.66	17.06	29.43
7	0.246	10.84	17.34	51.37
9	0.257	11.32	18.12	73.62
11	0.247	10.88	17.41	95.56
13	0.249	10.97	17.55	117.77
15	0.265	11.68	18.68	140.76
17	0.270	11.90	19.03	163.94
18	0.278	12.25	19.60	176.19
19	0.269	11.85	18.96	188.04
21	0.261	11.50	18.40	210.68
23	0.256	11.28	18.05	233.20
25	0.261	11.50	18.40	255.89
27	0.264	11.63	18.61	278.84
29	0.261	11.50	18.40	301.75
31	0.254	11.19	17.91	324.09
33	0.240	10.57	16.92	345.90
35	0.179	7.89	12.62	362.11
37	0.167	7.36	11.77	376.91
39	0.144	6.34	10.15	390.04
41	0.077	3.39	5.43	397.31
43	0.000	0.00	0.00	0.00
	0.211	**9.302**	**14.88**	**400.00**

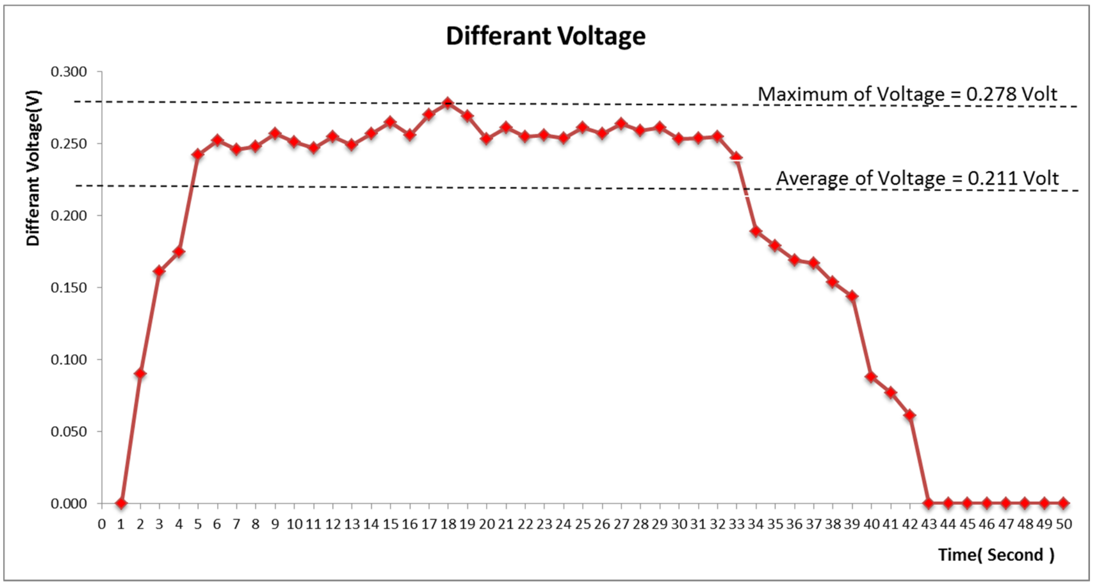


Figure 8 กราฟแสดงค่าผลต่างการวัดจากวงจรขยายแรงดัน Different Voltage มีค่าต่ำสุดอยู่ที่ 0.077 โวลและค่าสูงสุด 0.278 โวลท์หรือเฉลี่ย 0.211 โวลท์

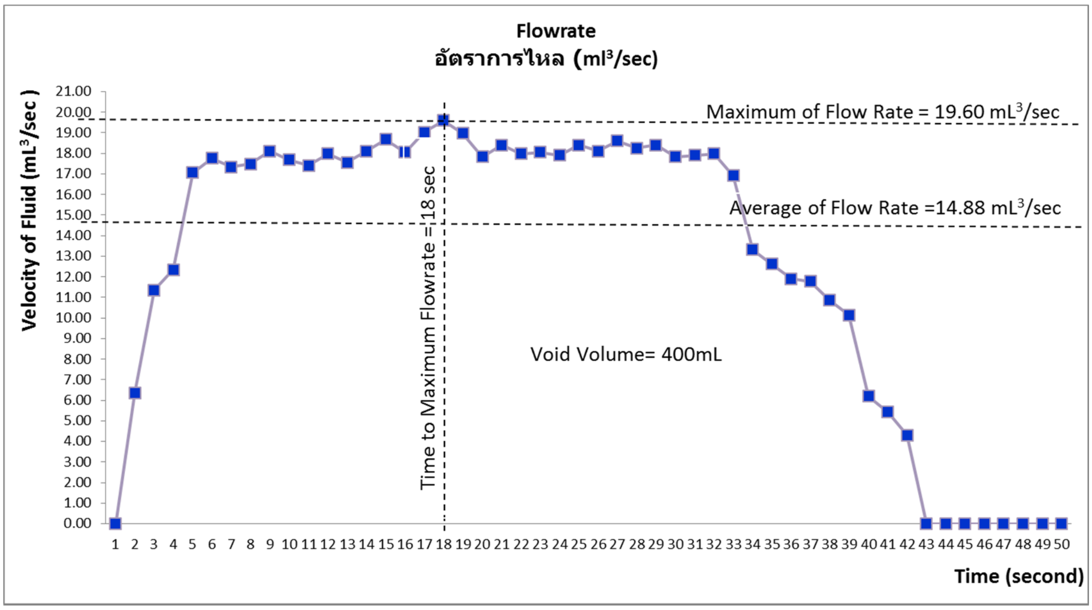


Figure 9. กราฟแสดงค่า อัตราการไหลสูงสุด(Maximum Flowrate=19.60 mL^3/sec.) ,ค่าเฉลี่ยอัตราการไหล (Average Flowrate= 14.88 mL^3/sec) ,ระยะเวลาที่เกิดอัตราการไหลสูงสุด(Time to Max. Flow= 18 Sec.) ,ปริมาตรรวม(Void Volume= 400 mL/sec.) ,

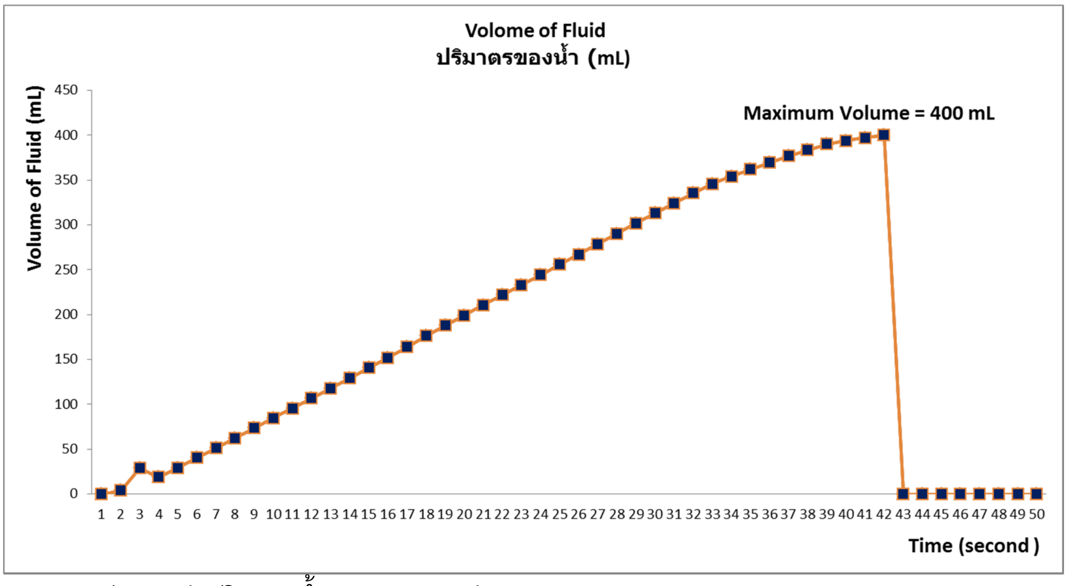


Figure 10. กราฟแสดงค่าปริมาตรน้ำสะสม ตลอดช่วงเวลาทดลอง 43 sec (Volume of Fluid= 400 mL/sec.)

สรุปผลการวิจัยและวิจารณ์

การออกแบบและสร้างเครื่องบันทึกค่าอัตราการไหลปัสสาวะแบบจานหมุน สำหรับพกพาได้สะดวกและใช้วัสดุภายในประเทศเพื่อลดต้นทุนการจัดหาเครื่องวัด จากผลการทดลองด้วยวิธีปล่อยน้ำไหลลงสัมผัสจานหมุนและเกิดการเปลี่ยนแปลงพลังงานที่จ่ายให้กับมอเตอร์ขับจานหมุน(Rotating Disc) ผลต่างแรงดันที่เกิดขึ้นจากวงจรตรวจจับ(Different Voltage) ส่งไปยังบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์(Arduino Uno R3) เพื่อควบคุมการบันทึกด้วยโปรแกรม(Paralax Excel)และจัดเก็บไว้ใน Micro SDCard ผลที่ได้จากการทดลอง จากวงจรผลต่างแรงดัน (Different Voltage)มีค่าต่ำสุดอยู่ที่ 0.077 โวลท์ ,ค่าแรงกันสูงสุดอยู่ที่ 0.278 โวลท์หรือเฉลี่ย 0.211 ค่าแรงดันที่ได้จะเปลี่ยนแปลงตามภาระโหลดที่ตกกระทบแผ่นจ่ายหมุน ค่าอัตราการไหลสูงสุด(Maximum Flowrate= 19.60 mL^3/sec.) ,ค่าเฉลี่ยอัตราการไหล(Average Flowrate= 14.88 mL^3/sec) ,ระยะเวลาที่เกิดอัตราการไหลสูงสุด (Time to Max. Flow= 18 Sec.) ,ปริมาตรรวม(Void Volume= 400 mL/sec.) เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยมาตรฐานตาม Table 1. ผู้ชายประมาณ 16 mL^3/sec. และผู้หญิงประมาณ 18 mL^3/sec. (Hann-Chorng Kuo, M.D.,Interpretation of Uroflowmetry 2007;2:51-55) ถ้าเทียบกับย่านที่ต้องวัดจริงสามารถวัดค่าได้จริง

การพัฒนาปรับปรุงเครื่องบันทึกค่าอัตราการไหลปัสสาวะแบบจานหมุน ยังมีข้อบกพร่องอยู่ คือส่วนของวงจรขยายผลต่างแรงดันผลการออกและสร้างวงจรแรงดันเอาท์พุทค่าค่อนข้างต่ำอาจจะเกิดความคลาดเคลื่อนได้ง่ายควรกำหนดอัตราการขยายให้สูงกว่านี้ อัตราการไหลที่ได้จากการวัดนั้นต้องทำการเปรียบเทียบระหว่างผลต่างแรงดันกับระยะเวลา และปริมาตรการไหลของน้ำแล้วนำมาเขียนสูตรหาความสัมพันธ์ความเร็วและอัตราการไหล ลงในโปรแกรม Paralax PLX-DAQ แล้วทำการทดลองหาค่า ซึ่งมีขั้นตอนยุ่งยาก ควรพัฒนาให้ได้โปรแกรมสำเร็จรูปให้สามารถตั้งค่าเงื่อนไขต่างๆได้ให้สะดวกยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความเมตตาช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากท่าน รศ.ดร.กอบชัย เดชหาญ และท่านอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ผู้อนุมัติเห็นชอบในการจัดทำงานวิจัยครั้งนี้ท่าน ผศ.ดร.สิรภพ ตู้ประกาย อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมโทรคมนาคม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และความกรุณาของท่านหัวหน้าภาควิชาฟิสิกส์อุตสาหกรรมและอุปกรณ์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ท่าน รศ.ดร.สุรพันธ์ ยิ้มมั่น และอาจารย์ประจำภาควิชาฟิสิกส์อุตสาหกรรมและอุปกรณ์การแพทย์ ท่านอาจารย์สุกัญญา แพรสมบูรณ์ และนายณกรณ์ ขำชัยสีเมฆ ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆในการวิจัยและสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

วิสูตร คงเจริญสมบัติ. 2554. **โรคต่อมลูกหมากโต.** สมาคมศัลยแพทย์ระบบปัสสาวะแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ โรงพยาบาลรามาธิบดี. กรุงเทพ.

Groetsch, C. W. 1993. Inverse Problem and **Torricelli' Law**. The Collage Mathematics Journal 24: 210-217.

Arduino Uno R3. Available online at http://www.thaieasyelec.com/Development-Tools/Arduino/Official- Board-Made-in-Italy/Arduino-Uno.html

Ding T., Z. Zhang and Y. Wei. 1992. Momentum method for measuring uroflow parameters and the **uroflowmeter**. USA patent 5078012.

Kim K. A., E. J. Cha and S.S. Choi. 2010. Method and system for measuring **urinary flow rate**. USA patent 2010/0152684.

Micro SD Card Module. Website: http://www.thaieasyelec.com/index.php

Saleta M. E., D. Tobia, and S. Gil. 2005. Experimental study of **Bernoulli's equation** with losses. American Journal of Physics 73: 598-609.

Parallax Program a Board of Education style development board by adding an Arduino microcontroller. Website : https://www.parallax.com/catalog/microcontrollers

Shaschke C. 1998. **Fluid Mechanics**, Worked examples for engineering. 141-163. Website : www.elegance-p.com. 2015. Power Supply 35W 12VDC 3A. Elegance Power Company.

Shroff S., S. V. Ramanan. **Manual Urodynamics**. Website: http://www.medindia.net/articles/Manual-Urodynamics2.asp#3

UA741 Operational Amplifiers 741 (Op-amp) IC Website: Chiphttp://www.micontechlab.com/product/834/1x-ua741-operational-amplifiers-741-op-amp-ic-chip

Wilk A. 2014. Experimental laboratory tests of the pressure drop resulting from the liquid flow through orifices in a **rotating disc**. Experimental Thermal and Fluid Science 54. 297–303.

Hann-Chorng Kuo, M.D. , Interpretation of Uroflowmetry ,Incont Pelvic Floor Dysfunct 2007;2:51-55

การศึกษาเปรียบเทียบโรงตีมีดร้อน

A Comparative Study of Blacksmith Workshops

ณพงศ์ปกรณ์ ผลินยศ[1*]

Napongpakorn Phalinyot[1*]

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะทางสถาปัตยกรรมของโรงตีมีดร้อนและพื้นที่บริบทโดยรอบ เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบความคล้ายคลึงและความแตกต่างของรูปแบบโรงตีมีดร้อนในแต่ละพื้นที่ จากพื้นที่กรณีศึกษา 3 แห่ง ได้แก่ โรงตีมีดที่บ้านบ่อไคร้ อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน โรงตีมีดบ้านฝายมูล อ.ท่าวังผา จังหวัดน่าน และ โรงตีมีดที่บ้านม่วงหวาน อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น พบว่า โรงตีมีดร้อนแบบภูมิปัญญาท้องถิ่นกำลังเลือนหาย เนื่องจากเทคโนโลยีที่ทันสมัย มีโรงงานผลิตแบบสำเร็จรูป ช่างฝีมือที่เน้นการผลิตด้วยมือจากความต้องการแบบเฉพาะของลูกค้า จึงยังมีให้เห็นอยู่ไม่มากนัก และในส่วนรูปแบบทางสถาปัตยกรรมพื้นถิ่นนั้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับบริบทในมิติต่าง ๆ ในพื้นที่ศึกษา ซึ่งมีลักษณะบางประการที่น่าสนใจแตกต่างกัน เช่น โครงสร้างและวัสดุที่นำมาใช้ในการก่อสร้าง, การจัดวางตำแหน่งและลักษณะเครื่องมือในการใช้งาน, วัตถุดิบที่เลือกใช้, ปริมาณในการจำหน่าย และลักษณะเฉพาะทางวิถีชีวิตที่สะท้อนออกมาในรูปแบบของมีดและโรงตีมีดซึ่งสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้เก็บเป็นชุดข้อมูลเบื้องต้นในการอนุรักษ์โรงตีมีดร้อนจากภูมิปัญญาท้องถิ่นสู่รุ่นต่อไปได้

ABSTRACT

The research of blacksmith shop architecture and their context is mentioned to compare the similarity and the difference among local blacksmith workshops. The selected comparative sites are: 1) Baan Bokrai, Pang Mapha District, Mae Hong Son 2) Baanfaimun, Tha Wang Pha, Nan, and 3) Baan Muangwan, Namphong District, Khon Kaen. It was found that the traditional blacksmith workshops were fading away, and were replacing by blacksmith industry with new technology. Only a few local blacksmith craftsman are left. Vernacular blacksmith workshop architecture has many interesting multi-dimension relationships related to context which reflects local wisdom such as building materials, structure, blacksmith tools lay-out, raw materials, and volume of production which reflect craftsman's local wisdom and life style. This study collect data base of blacksmith workshop vernacular wisdom for future conservation.

Key Words: blacksmith workshops / knives / structure conservation

*Corresponding author; e-mail address: napongpakorn_p@rmutt.ac.th, tung_tung101@hotmail.com

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 121101

[1]Division of Architectural Technology Faculty of Architecture, Rajamangala University of Technology Thanyaburi Pathumthani

คำนำ

กระบวนการประดิษฐ์เครื่องมือต่าง ๆ มีการเปลี่ยนแปลงไปตามวัสดุและเทคโนโลยีที่เปลี่ยนไป ในอดีตมนุษย์ยุคหินมีการทำเครื่องมือสำหรับขุดและตัด ที่ทำจากหินเหล็กไฟ และใช้กระดูกหรือหินที่กะเทาะให้มีความแหลมคม มาประดิษฐ์เป็นมีดเพื่อใช้เป็นเครื่องมือและอาวุธในการดำรงชีวิต (วนิดา, 2550) หรือใช้ในการตัดวัสดุต่าง ๆ ซึ่งมีการขุดค้นพบเครื่องมือหินราว 30,000 ปีมาแล้ว จากแหล่งโบราณคดีในภูมิภาคต่าง ๆ ของไทย เช่น

แหล่งโบราณคดีบ้านเก่า จังหวัดกาญจนบุรี

แหล่งโบราณคดีโนนป่าหวาย แหล่งโบราณคดีบ้านท่าแค อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี

แหล่งโบราณคดีโคกเจริญ แหล่งโบราณคดีโนนนกทา อำเภอภูเวียง จังหวัดขอนแก่น

แหล่งโบราณคดีบ้านเชียง อำเภอหนองหาน จังหวัดอุดรธานี (วิกิพีเดีย, 2558)

จนเริ่มมีเทคโนโลยีโลหะวิทยา เช่น ทองแดง สำริด และเหล็ก โดยโลหะต่าง ๆ ถูกนำมาใช้ในการทำมีด เช่น มีดสำริดใช้วิธีการหลอมสำริดแล้วขึ้นรูปโดยการหล่อและการตี มักพบตามแหล่งโบราณคดีในพื้นที่ซึ่งเป็นสายแร่ทองแดง เช่น

แหล่งโบราณคดีภูโล้น ริมฝั่งแม่น้ำโขง จังหวัดหนองคาย ซึ่งมีช่วงอายุประมาณ 3,750-3,425 ปี

แหล่งโบราณคดี บ้านนาดี อำเภอหนองหาน จังหวัดอุดรธานีพบการหล่อสัมฤทธิ์เป็นเครื่องใช้และเครื่องประดับ มีอายุประมาณ 2,700-2,400 ปี

แหล่งโบราณคดีในลุ่มน้ำมูล ที่มีการใช้สำริด เช่นที่บ้านประสาท บ้านหลุมข้าว อำเภอโนนสูงจังหวัดนครราชสีมา (วิกิพีเดีย, 2558)

ต่อมาในยุคปัจจุบันช่างตีมีดในประเทศไทยเริ่มมีการใช้เหล็กมาทำมีดเนื่องจากมีคุณสมบัติด้านความแข็งและเหนียว สามารถทำคมได้ดีและหาได้ง่ายจึงทำให้เป็นวัสดุที่นิยมเช่น เหล็กแหนบรถยนต์ เหล็กตลับลูกปืน เหล็กบาร์เลื่อยยนต์ เหล็กตะไบ (ช่างวิจิตร, 2559)

มีดและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ทำจากเหล็กและใช้กันทั่วไปมีอยู่มากมายหลายชนิดหลากหลายรูปแบบ เมื่อจัดเป็นกลุ่มสามารถรวมได้เป็น 4 ตระกูลด้วยกัน ดังนี้

1. ตระกูลมีดทำครัว หรือคหกรรม เช่น มีดสำหรับหั่น ตัด สับ ปอก แกะสลัก เป็นต้น
2. ตระกูลเกษตรกรรม เช่น มีดดายหญ้า มีดโต้ จอบ เสียม พร้า เคียว ขวาน เป็นต้น
3. ตระกูลมีดเดินป่า เช่น มีดเหน็บ มีดเดินป่า
4. ตระกูลอาวุธและมีดสวยงาม เช่น ดาบไทย ดาบซามูไร หอก ง้าว ทวน กริชและมีดประดับแบบต่าง ๆ (แหล่งเรียนรู้ออนไลน์, 2012)

ขั้นตอนหลักการทำมีด

1. เตรียมคนซึ่งต้องมีร่างกายที่แข็งแกร่ง มีความสามัคคีและมีประสบการณ์มาก

2. เตรียมอุปกรณ์ เป็นอุปกรณ์และเครื่องมือเครื่องใช้ สำหรับช่างตีมีดโดยเฉพาะ เช่น ทั่ง ค้อน คีม สูบลม เตาเผาเหล็ก ตะไบ เหล็กขูด รางน้ำชุบมีด หินหยาบ-ละเอียด ทั่งขอ เป็นต้น ซึ่งอุปกรณ์ต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับแต่ละพื้นที่ด้วย

3. เตรียมวัตถุดิบ วัสดุที่สำคัญในการตีมีดเป็นอันดับแรกได้แก่ เหล็กกล้า อันดับต่อไป คือ ถ่าน(แต่ละพื้นที่ใช้แตกต่างกัน) และอันดับสุดท้ายคือ ไม้ที่ใช้ทำด้ามมีด (แหล่งเรียนรู้ออนไลน์, 2012)

โดยเริ่มจากการนำเหล็กมาตัด ให้ได้ตามขนาด เผาให้ความร้อนจนอ่อนตัว เพื่อให้สามารถเคาะขึ้นรูป " หลาบเหล็ก" ตามที่ต้องการ จากนั้นนำมีดเข้าเผาไฟในเตาจนร้อนแดง แล้วนำมา ตี ขึ้นรูปทรงตามต้องการ ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วใช้ค้อนตีจนเนื้อเหล็กเรียบเป็นมันเพื่อให้เนื้อเหล็กเหนียวแน่น คมบาง จากนั้นนำมา แต่ง ด้วยตะไบ เพื่อให้ได้รูปเล่มสวยงามขึ้น และนำมาขูดคมให้ตัวมีดขาวและบาง ต่อจากนั้นใช้ตะไบหยาบและตะไบละเอียดโสก และ พานคมมีด ให้บางและเรียบร้อยยิ่งขึ้น

ขั้นตอนต่อมานำมีดมาชุบกับน้ำ เป็นการทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วเฉพาะส่วนที่ต้องการความคม และปล่อยให้ส่วนอื่น ๆ ที่ต้องการความเหนียวเย็นตัวลงในระยะเวลาที่มากกว่า คมของมีดจะกล้าแข็งไม่อ่อนและไม่บิ่น จากนั้นนำมาลับคมโดยใช้หินหยาบและหินละเอียด แล้วจึงนำมาเข้าด้ามมีด แล้วใช้น้ำมัน ทาตัวมีดเพื่อกันสนิม เป็นเสร็จสิ้นขั้นตอนการทำมีด (แหล่งเรียนรู้ออนไลน์, 2012)

นอกจากนี้ในกระบวนการผลิตมีดของช่างตีมีดในแต่ละพื้นที่นั้นมีเทคนิคและรายละเอียดที่แตกต่างกันตั้งแต่การเลือกตำแหน่งที่ตั้งภายในชุมชน การเลือกใช้เชื้อเพลิง การเลือกแหล่งที่มาของเหล็ก ซึ่งการผลิตมีดนั้นเป็นการทำงานที่ต้องใช้ความรู้ความชำนาญในหลายขั้นตอน มีอุปกรณ์เครื่องมือเฉพาะหลายชนิด ทำให้ช่างตีต้องสร้างพื้นที่สำหรับทำงานหรือโรงตีมีด หรือเตาตีมีด ที่นับว่าเป็นลักษณะทางกายภาพที่สามารถสะท้อนมิติต่าง ๆ ด้านการตีมีดของแต่ละพื้นที่ออกมาได้อย่างชัดเจน

ลักษณะของงานสถาปัตยกรรมโรงตีมีดร้อนในแต่ละพื้นที่ มีความเหมือนและแตกต่างกันไปตามบริบทของพื้นที่นั้น ๆ โดยความโดดเด่นของโครงสร้างอาคารในงานสถาปัตยกรรม คือการออกแบบโดยใช้วัสดุภายในท้องถิ่น และเป็นโครงสร้างอย่างง่าย เช่น เสาไม้เนื้อแข็ง โครงหลังคาไม้ไผ่ และวัสดุมุงหลังคาด้วยใบจาก หรือสังกะสี ที่หาได้ทั่วไป ภายในโรงตีมีดร้อนมีลักษณะโปร่งและโล่งเพื่อการระบายอากาศได้ดี เนื่องจากมีการทำงานที่ต้องใช้ความร้อนในการทำงาน

การจัดวางอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการตีมีด ประกอบไปด้วย เตาร้อน รางชุบแข็ง ทั่ง ม้านั่ง เครื่องเจียรเป็นต้น ซึ่งลักษณะการจัดวางในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน เช่น การวางตำแหน่งให้นั่งอยู่ที่เดิมและมีการเผาให้ร้อน การชุบแข็ง การตี ที่ต่อเนื่องกันเพื่อง่ายต่อการใช้งาน ส่วนบางพื้นที่จะเป็นลักษณะของการ แยกหน้าที่การทำงานออกอย่างชัดเจน ในส่วนของการใช้งานของช่างตีมีดที่มีความสัมพันธ์กับการจัดวางตำแหน่งอุปกรณ์ต่าง ๆ ภายในโรงตีมีด จะสะท้อนถึงลักษณะและพฤติกรรมการทำงาน เช่นการนั่งตีมีด และการยืนตีมีด โครงสร้างอาคารก็เป็นปัจจัยหนึ่งในการออกแบบเพื่อให้ตอบสนองต่อการใช้งานในแต่ละพื้นที่ เช่นการกำหนดความสูงของโรงตีมีดและการจัดวางอุปกรณ์ให้เกิดการใช้งานที่เหมาะสม

อุปกรณ์และวิธีการ

กรณีศึกษา ทั้ง 3 แห่ง ที่เลือกมาศึกษา ได้แก่ โรงตีมีดที่บ้านบ่อไคร้ อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน โรงตีมีดบ้านฝายมูล อ.ท่าวังผา จังหวัดน่าน และ โรงตีมีดที่บ้านม่วงหวาน อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น โดยมีเกณฑ์ในการพิจารณาเลือกพื้นที่เพื่อนำมาศึกษา ได้แก่ ความแตกต่างด้านบริบทของพื้นที่ตั้งโรงตีมีดซึ่งมีทั้งอยู่ในชุมชนเมืองและอยู่ในพื้นที่ชนบทบนภูเขา, วัตถุประสงค์ของการผลิตมีดเพื่อการใช้งานเองและการผลิตเพื่อเป็นสินค้าส่งขาย, ลักษณะของอุปกรณ์ที่นำมาใช้งานที่แตกต่างกัน เช่น อุปกรณ์ที่ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมาที่ใช้ไฟฟ้าหรือแบบจำเป็นต้องใช้เครื่องมือไฟฟ้าเข้ามาช่วยผ่อนแรงในการทำงาน รวมไปถึง การเลือกพื้นที่กรณีศึกษาจากพื้นที่ที่

สามารถลงสำรวจเก็บข้อมูลได้สะดวก เพื่อนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างและสาเหตุความแตกต่างของรูปแบบโรงตีมีดร้อน ลักษณะทางสถาปัตยกรรมโรงตีมีดร้อน การใช้งานและการเลือกวัสดุที่มาใช้ทำเชื้อเพลิง,การจัดวางตำแหน่งของอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงาน , โครงสร้างอาคาร ในแต่ละชุมชนได้

ในงานวิจัยชิ้นนี้ทำการสำรวจเก็บรวบรวมข้อมูลโรงตีมีดร้อนจากพื้นที่กรณีศึกษา โดยได้ทำการสำรวจโรงตีมีด 3 แห่ง ได้แก่

1. โรงตีมีดบ้านบ่อไคร้ อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
2. โรงตีมีดบ้านม่วงหวาน อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น
3. โรงตีมีดบ้านฝายมูล อ.ท่าวังผา จน่าน

โดยแบ่งข้อมูลเป็นการสัมภาษณ์ช่างผู้ตีมีดในพื้นที่นั้น ๆ และการเก็บข้อมูลทางกายภาพ โดยการวาดภาพ และการบันทึกภาพ ในด้านต่าง ๆ เช่น ตำแหน่งที่ตั้งของโรงตีมีดภายในชุมชน โครงสร้างทางสถาปัตยกรรมของโรงตีมีด การจัดวางตำแหน่งของเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ วัตถุดิบที่เลือกใช้ นำข้อมูลที่ได้มาแปลงเป็นแบบทางสถาปัตยกรรมเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการวิเคราะห์ลักษณะของโรงตีมีดร้อนแต่ละพื้นที่ที่ได้ทำการสำรวจต่อไป

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการลงสำรวจข้อมูลโรงตีมีดร้อน ในพื้นที่ กรณีศึกษา ทั้ง 3 แห่ง ได้ข้อมูลในแต่ละด้านของพื้นที่ดังนี้

1. โรงตีมีดบ้านบ่อไคร้ อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน

ภูมิประเทศเป็นภูเขาสูง มีที่ราบระหว่างภูเขาเพียงเล็กน้อยเพื่อใช้เป็นที่อยู่อาศัย คนในชุมชนส่วนมากเป็นชาวเขาเผ่ามูเซอ ส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมและเลี้ยงสัตว์สำหรับการตีมีดของคนในชุมชนเพื่อใช้ประกอบอาชีพในการเกษตรกรรมและการล่าสัตว์ ซึ่งมีดนั้นมีลักษณะพิเศษของรูปแบบด้านการใช้งานแต่ละประเภท และในส่วนโครงสร้างอาคารก่อสร้างเป็นเพิงไม้ชั่วคราว มุงด้วยหญ้าคา เปิดโล่ง ระบายอากาศได้ดี วัสดุที่เป็นเครื่องมือในการทำงานตีมีดถูกออกแบบด้วยเทคนิคที่เรียบง่ายของคนในท้องถิ่น และพื้นที่ในการทำงานของโรงตีมีดมีขนาดกะทัดรัด

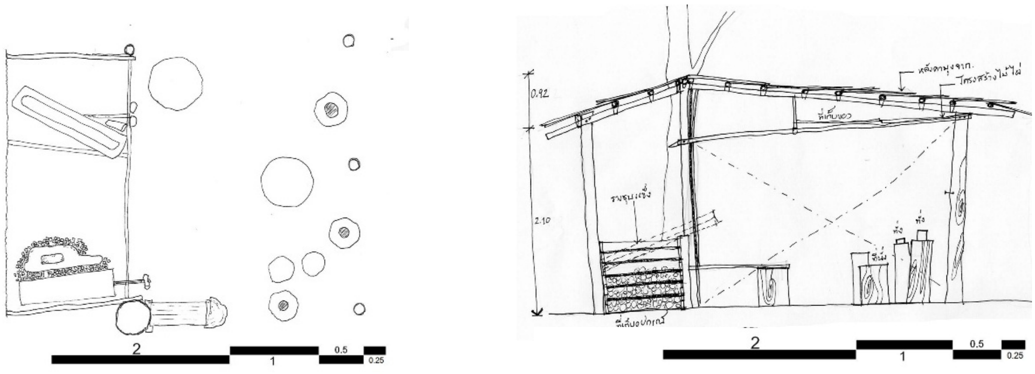


Figure 1 Blacksmith workshop's plan and section at Baan BoKrai, Mae Hong Son

2. **โรงตีมีดบ้านม่วงหวาน อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น**

ภูมิประเทศของบ้านม่วงหวานเป็นที่ราบสูงคนในชุมชนส่วนใหญ่มีอาชีพ ทำไร่ทำนา และเกษตรกรรมเป็นหลัก สำหรับผลิตภัณฑ์ของชุมชนคือ มีด ซึ่งที่บ้านม่วงหวานมีการจัดตั้งกลุ่มตีมีด โดยคัดเลือกผู้ที่สนใจการตีมีดและมีความรู้ ความสามารถในเรื่องการตีมีด ระดมเงินทุนจากสมาชิก เพื่อจัดซื้อวัสดุ อุปกรณ์การตีมีด จัดหาสถานที่ตั้งภายในชุมชน ช่างตีมีดในชุมชนส่วนใหญ่จะตีมีดโต้หัวใหญ่เป็นหลัก ส่วนมีดอื่น ๆ ช่างตีมีดจะตีจากความต้องการของลูกค้า เช่น ขนาดความยาว น้ำหนัก ความหนา ก็สั่งได้ตามความต้องการ ในส่วนของการทำด้ามจับ เลือกใช้ไม้ประดู่เป็นหลัก ในส่วนของที่ตั้งโครงตีมีดของชุมชนบ้านม่วงหวาน กระจายตัวอยู่ตามชุมชนของแต่ละบ้านที่ตั้งเป็นกลุ่มตีมีด ในส่วนโครงสร้างอาคารถูกต่อเติมจากอาคารที่พักอาศัย ก่อสร้างเป็นเพิงไม้ มุงด้วยสังกะสี เปิดโล่ง ระบายอากาศได้ดี วัสดุที่เป็นเครื่องมือในการทำงาน เริ่มมีการใช้เทคโนโลยีเข้ามาช่วย เช่น โบเวอร์เป่าลม เครื่องเจียรไฟฟ้า เป็นต้น

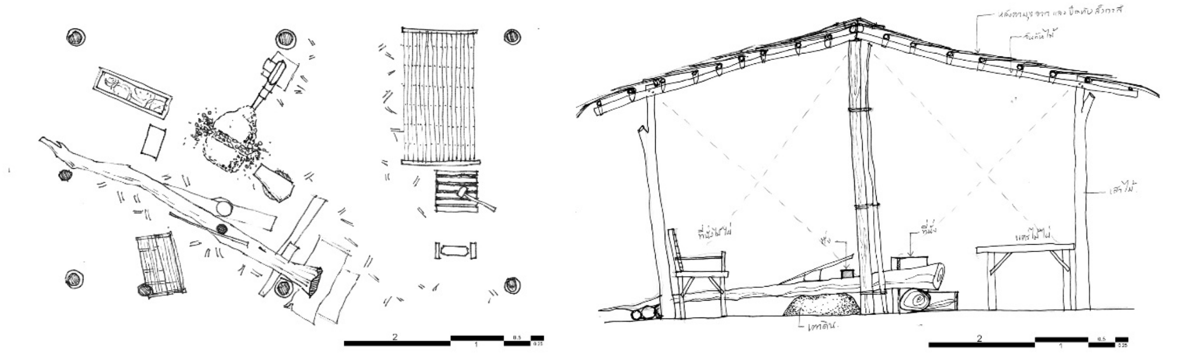


Figure 2 Blacksmith workshop's plan and section at Baan Muang Wan, Khon kaen

3. **โรงตีมีดบ้านฝายมูล อ.ท่าวังผา จังหวัดน่าน**

ท่าวังผาเป็นเมืองเก่าแก่ยุคเดียวกับสุโขทัยภูมิประเทศมีสภาพพื้นที่เป็นเทือกเขาใหญ่น้อยสลับซับซ้อนและมีแม่น้ำไหลผ่านหลายสาย โดยในหมู่บ้านฝายมูล อำเภอท่าวังผา คนในชุมชนสืบเชื้อสายมาจากชาวไทยพวนที่ยึดอาชีพการตีเหล็ก มีถิ่นฐานเดิมอยู่ที่เมืองเชียงขวางเมืองมอก เมืองสุย ปัจจุบันอยู่ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว อพยพมาพร้อมกับชาวไทยพวน มาตั้งถิ่นฐานอยู่ที่เมืองน่าน การดำเนินชีวิตของราษฎรบ้านฝายมูล หนุ่มสาวจะทำไร่ ทำนา หาเลี้ยงครอบครัว เมื่อมีอายุมากขึ้น ผู้เฒ่าผู้แก่จะอยู่บ้านตีเหล็กไว้ให้ลูกหลานใช้ กลุ่มตีเหล็กบ้านฝายมูล เริ่มก่อตั้งครั้งแรกเมื่อ ปี พ.ศ. 2519 แต่ปัจจุบันโรงตีมีดร้อนของชุมชนมีเหลือเพียงไม่กี่แห่งลักษณะของโครงสร้างโรงตีมีดใช้ไม้ทำโครงสร้าง และมุงด้วยสังกะสี มีพื้นที่เก็บวัสดุที่ใช้ทำงาน เช่น ถ่านเชื้อเพลิง เหล็กสำหรับนำมาทำมีด รวมถึง อุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทำงาน ช่างตีมีดของบ้านฝายมูล เริ่มมีการใช้อุปกรณ์เครื่องใช้ไฟฟ้าเข้ามาช่วย เช่น โบเวอร์เป่าลม เครื่องเจียรไฟฟ้า เป็นต้น

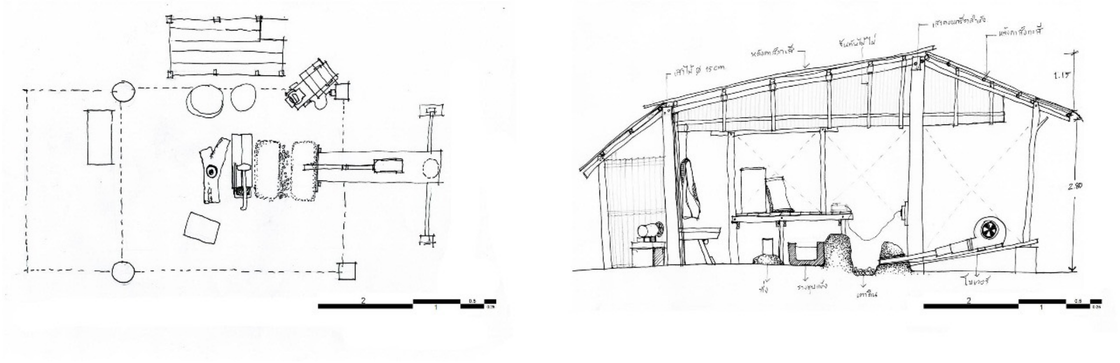
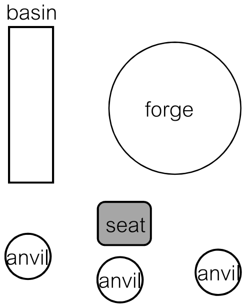
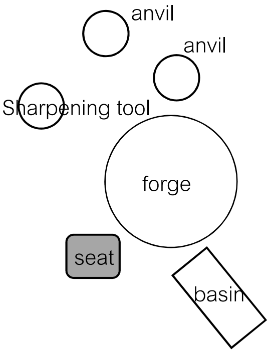
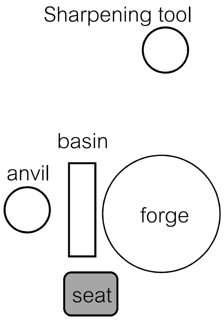


Figure 3 Blacksmith workshop's plan and section at Baan Fai Mool, Tha Wang Pha , Nan

Table 1 The comparison of context and blacksmith workshops architecture of case study 3 local areas.

Architectural information	Source of information		
	Baan Bo Krai	Baan Muang Wan	Baan Fai Mool
1. Location	In the village	In the village	Main roadside
2. Structure system	Temporary timber	Timber and RC	Temporary timber
3. Roof material	Grass	Steel sheet	Steel sheet
4. spacing size	3.85mx3.05m = 11.75 sq.m	8.47mx4.1m5 = 35 sq.m	5.50mx3.50m =19 sq.m
5.Tool order			
6. Wood for charcoal	Gue Jea (ไม้กือแจ หรือ ไม้รัก)	Nam Klearng (น้ำเกลี้ยง)	Hard wood
7. Air Pumping	Hand power PVC pipe	Electric blower	Electric blower
8. Container for Quenching	Wood	Wood	Concrete
9. Sharpening tool	Sand stone	Electric grinder	Electric grinder

สรุป

การสำรวจข้อมูลครั้งนี้ ได้ทราบถึงความคล้ายคลึงและความแตกต่างกันของโรงตีมีดร้อนในแต่ละพื้นที่ ซึ่งอาจได้ทราบข้อมูลเพียงบางส่วนของโรงตีมีดในประเทศไทย เนื่องจากมีข้อจำกัดในด้านของเวลาและงบประมาณในกระบวนการทำงานวิจัย

การออกแบบโรงตีมีดร้อนของชุมชนพื้นถิ่นทั้ง 3 พื้นที่ เป็นงานสถาปัตยกรรมที่ถูกสร้างสรรค์ขึ้นด้วยภูมิปัญญาชาวบ้าน ซึ่งมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันในด้านโครงสร้างอาคารที่ใช้วัสดุที่หาได้ง่ายในแต่ละท้องถิ่น หน้าที่หลักเพียงแค่การป้องกันแดดและฝน และมีการระบายอากาศที่ดี อุปกรณ์หลักของการตีมีด เช่น เตาดิน รางน้ำชุบแข็ง ทั่ง ค้อน คีม มีความคล้ายคลึงกับ แต่ในส่วนของอุปกรณ์เป่าลมเพื่อเพิ่มอากาศภายในเตา มีโรงตีมีดบ้านบ่อไคร้ที่ยังคงใช้หีบลมชักมือที่ทำจากท่อ PVCแต่ปัจจุบันมีการใช้โบเวอร์เป่าลม มาช่วยทุ่นแรงในการทำงาน

สำหรับความแตกต่างของลักษณะทางกายภาพของพื้นที่ศึกษา 3 แห่ง คือ ขนาดของพื้นที่ที่มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับหน้าที่การใช้งาน ขนาดห้องเก็บของและจำนวนผู้ใช้งาน และมีลักษณะการวางตำแหน่งของอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ต่างกันเพื่อทำงาน เช่น ขั้นตอนการเผาเหล็กให้ร้อน นำมาตี และชุบน้ำให้แข็ง ซึ่งบางพื้นที่นั่งอยู่ตำแหน่งเดิม แต่บางแห่งมีการลุกเคลื่อนย้ายตำแหน่งในการทำงาน ขึ้นอยู่กับความถนัดของช่างตีมีด

จากการวิเคราะห์ผลที่ได้ ทำให้ได้ทราบข้อมูลลักษณะทางกายภาพด้านงานสถาปัตยกรรมของโรงตีมีดร้อนของชุมชนในแต่ละท้องถิ่น ที่ใช้ภูมิปัญญาช่างตีมีดไทยพื้นถิ่น เก็บไว้เป็นฐานข้อมูลเบื้องต้นของโรงตีมีดร้อนเพื่อสืบทอดภูมิปัญญาดั้งเดิมของช่างตีมีดที่สืบทอดมาแต่อดีตกาล

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ช่างเสน ช่างวิจิตร ช่างสมชาย ช่างจาแนถอย เป็นอย่างสูง ผู้ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ ในการทำวิจัยนี้ และขอขอบคุณอาจารย์ จุลพร นันทพานิช ที่ให้คำแนะนำให้ข้อมูลการเกี่ยวกับแหล่งตีมีดพื้นถิ่น ในจังหวัดแม่ฮ่องสอนและให้ข้อมูลเกี่ยวกับการชื่อในภาษาท้องถิ่น ซึ่งผู้วิจัยได้นำมาใช้ประกอบเป็นข้อมูลในเขียนบทความวิชาการในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

สืบศรี คำอุไร 2555. **เรื่องของมีด**. อินเตอร์ พับลิชชิ่ง เอ็นเตอร์ไพรส์, กรุงเทพฯ.

สัมภาษณ์ ช่างเสน. **ตำบลม่วงหวาน** อ.น้ำพอง จ.ขอนแก่น 3 กุมภาพันธ์ 2556.

สัมภาษณ์ ช่างวิจิตร ไชยมิ่ง. **ตำบลบ้านฝายมูล** อ.ท่าวังผา จังหวัดน่าน 22 พฤษภาคม 2559.

สัมภาษณ์ ช่างสมชาย และสำรวจโรงตีมีด ช่างจาแนถอย. **ตำบลบ้านบ่อไคร้** อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน 8 มกราคม 2559.

การศึกษาที่ Sakai Hamono Museum (พิพิธภัณฑ์ที่จัดแสดงการผลิตมีดแบบฉบับดั้งเดิมของเมืองซาไก)จังหวัดโอซาก้า ประเทศญี่ปุ่น วันที่ 29 พฤษภาคม 2556.

วนิดา ขำเขียว 2550. **ประวัติศาสตร์ศิลป์** .พรานนกการพิมพ์ , กรุงเทพฯ.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2558. **มีด**. แหล่งที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki/มีด,12 มกราคม 2559.

แหล่งเรียนรู้ออนไลน์ (สสวท.) , 2012. **ชนิดของมีด** (ออนไลน์). แหล่งที่มา: http://fieldtrip.ipst.ac.th/intro_sub_content.php?content_id=30&content_folder_id=332, 12 มกราคม 2559.

บทบาทของบรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่ายปลีกในกิจกรรมโลจิสติกส์

The Role of Retail Ready Packaging in Logistics Activities

ตติยา เทพพิทักษ์[1*]

Tatiya Theppituck[1*]

บทคัดย่อ

Retail Ready Packaging (RRP) หรือ บรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่ายปลีก เป็นบรรจุภัณฑ์ที่ออกแบบขึ้นมาเพื่อช่วยลดขั้นตอนการบริหารจัดการภายในร้านค้าปลีกและก่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้มีส่วนเกี่ยวข้องในห่วงโซ่อุปทาน RRP นั้นมีคุณสมบัติพื้นฐาน 5 ประการ คือ 1) ช่วยในการจำแนกสินค้าได้ง่าย 2) เปิดใช้งานง่าย 3) ช่วยในการจัดเรียงสินค้า 4) ทำให้ผู้ซื้อเลือกซื้อสินค้าได้ง่าย และ 4) ง่ายต่อการกำจัด จากคุณสมบัติดังกล่าว RRP จึงถูกนำมาใช้งานอย่างแพร่หลายในยุโรปและอเมริกา แม้ว่าการใช้ RRP ถูกยอมรับว่าเป็นหนึ่งในวิธีการที่ดีที่สุดในการใช้บรรจุภัณฑ์ช่วยจัดการงานจัดเรียงสินค้าให้สามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น แต่งานวิจัยหรือองค์ความรู้ในเชิงวิชาการที่เกี่ยวข้องกับหลักการออกแบบ RRP นั้นยังมีอยู่น้อยมาก บทความฉบับนี้มีวัตถุประสงค์ในการอธิบายและระบุคุณลักษณะที่สำคัญของ RRP โดยพิจารณาถึงบทบาทการทำงานของ RRP ในกิจกรรมโลจิสติกส์ ตั้งแต่ต้นน้ำ (product filling point) จนถึงปลายน้ำ (point of sell) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการดำเนินงานในร้านค้าปลีก นอกจากนั้นแล้วยังอธิบายถึงปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ที่ควรคำนึงถึงในการออกแบบและพัฒนา RRP ตลอดจนประโยชน์ของการใช้ RRP ต่อผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในกิจกรรมโลจิสติกส์

ABSTRACT

Retail Ready Packaging (RRP) refers to packaging designed to reduce the process of in-store operation, and providing benefits to the total supply chain. Basically, the concept of RRP mentions five key attributes which are 1) easy to identify, 2) easy to open, 3) easy to shelve, 4) easy to shop, and 5) easy to dispose. With these principles, RRP has been introduced extensively in Europe and U.S.A. Even though, RRP was recognized as one of the best practice which enables a better product availability and more efficient replenishment operations but there are very little research among an academic society has been accomplished concerning the RRP principles. The objective of this paper is to describe and identify the key attributes of RRP and their roles in logistics activities from the product filling point to the point of sell, especially in the retail stores. It also describes various factors that should be considered in designing and developing RRP including the benefits of using RRP towards those involved in logistics activities.

Key Words: retail ready packaging (RRP), logistics and supply chain, packaging

*Corresponding author; e-mail address: tatiyath@nu.ac.th

[1]ภาควิชาศิลปะและการออกแบบ คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

[1]Department of Art and Design, Faculty of Architecture, Naresuan University, Phitsanulok 65000

คำนำ

ในมุมมองทางการตลาด บรรจุภัณฑ์ ถูกจัดว่าเป็นหนึ่งในเครื่องมือที่สำคัญที่สุดในการใช้สร้างมูลค่าเพิ่ม สร้างความน่าสนใจให้กับสินค้าและกระตุ้นให้เกิดการตัดสินใจซื้อได้ (Twede, 1992) นอกจากนั้นแล้วบรรจุภัณฑ์ยังมีบทบาทสำคัญในการขับเคลื่อนกิจกรรมในระบบโลจิสติกส์และโซ่อุปทาน (logistics and supply chain) ด้วยการปกป้อง เคลื่อนย้ายสินค้าจากผู้ผลิตให้ถึงมือของลูกค้าในสภาพที่สมบูรณ์ ในเวลาที่เหมาะสม (Lancioni and Chandran, 1990; Bo, 2005) และหากมีการพัฒนารูปแบบบรรจุภัณฑ์ให้มีความเป็นสากล สามารถสนับสนุนระบบโลจิสติกส์และตอบสนองความต้องการทางธุรกิจได้อย่างมีประสิทธิภาพ ก็จะช่วยให้ธุรกิจนั้น ๆ มีข้อได้เปรียบเหนือคู่แข่งและมีโอกาสในการเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง (Twede. 1992; Lee and Lye. 2003)

ในขณะที่ซุปเปอร์มาร์เก็ต (supermarket) หรือร้านค้าปลีกขนาดใหญ่ (hyper mart) ในระดับภูมิภาคและระดับโลกให้ความสำคัญกับสินค้าที่บรรจุใน RRP เป็นลำดับแรก เพราะ RRP ช่วยลดต้นทุนการบริหารจัดการสินค้าและกิจกรรมโลจิสติกส์ในร้านค้าปลีก (in-store logistics) แต่องค์ความรู้เรื่อง RRP นั้นถูกจำกัดให้ใช้งานเฉพาะในองค์กรหรือบริษัทที่ทำธุรกิจการค้าระหว่างประเทศเท่านั้น จึงทำให้ผู้ประกอบการธุรกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (SMEs) ในประเทศไทยเข้าถึงองค์ความรู้ดังกล่าวได้ยาก ก่อให้เกิดอุปสรรคในการแข่งขันทางธุรกิจ ซึ่งหากมีการศึกษาและเผยแพร่องค์ความรู้เกี่ยวกับการออกแบบและประยุกต์ใช้ RRP อย่างเป็นระบบก็จะช่วยเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันทางธุรกิจให้แก่กลุ่ม SMEs รวมถึงตลาดอาหารและผลผลิตทางการเกษตรของประเทศไทยได้อย่างดี บทความฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการอธิบายคุณลักษณะที่สำคัญของ RRP โดยพิจารณาถึงบทบาทการทำงานของ RRP ในกิจกรรมโลจิสติกส์ เน้นการดำเนินงานในร้านค้าปลีกและอธิบายถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่ควรคำนึงถึงในการออกแบบและพัฒนา RRP รวมถึงประโยชน์ของ RRP ต่อผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในกิจกรรมโลจิสติกส์

อุปกรณ์และวิธีการ

บทความนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยเรื่องการใช้บรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่ายปลีก (RRP: retail ready packaging) ในประเทศไทย มีวัตถุประสงค์ในการหาแนวทางการออกแบบ RRP ที่เหมาะสมกับการใช้งานในกิจกรรมโลจิสติกส์ในประเทศไทย โดยการรวบรวมและนำเสนอข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นต่อการออกแบบ RRP เพื่อให้นักออกแบบและบุคคลทั่วไปเข้าใจหลักการทำงานเบื้องต้นของ RRP จึงทำการสืบค้นข้อมูลต่าง ๆ ด้วยการทบทวนวรรณกรรมจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ RRP รวมถึงหลักการออกแบบบรรจุภัณฑ์ และการใช้บรรจุภัณฑ์ในระบบโลจิสติกส์ สรุปผลข้อมูลด้วยวิธีการวิเคราะห์เนื้อหา (content analysis) เพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการกำหนดแนวทางในการเก็บรวบรวมข้อมูลภาคสนามในลำดับต่อไป

ความสัมพันธ์ระหว่างบรรจุภัณฑ์และกิจกรรมโลจิสติกส์

การทำความเข้าใจเรื่อง RRP นั้น จำเป็นต้องศึกษาถึงบทบาทหน้าที่ของระบบบรรจุภัณฑ์ที่ตอบสนองต่อกิจกรรมโลจิสติกส์ ดังนั้นในส่วนนี้จะกล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่างระบบบรรจุภัณฑ์กับกิจกรรมโลจิสติกส์ ซึ่งบรรจุภัณฑ์ในระบบโลจิสติกส์ หมายถึง กล่อง หีบห่อ ลัง หรือภาชนะบรรจุอื่น ๆ ที่สามารถใช้เป็นเครื่องมือสำหรับบรรจุสิ่งของหรือสินค้า (คำนาย, 2546; ธนิต, 2554; ประจวบและพัฒน์, 2555) มีหน้าที่หลักในการช่วย

ห่อหุ้ม ปกป้องสินค้าให้คงสภาพที่ดี จัดเรียงในคลังสินค้าภายในเนื้อที่ที่กำหนด (storage support) อำนวยความสะดวกในการเคลื่อนย้าย กระจายสินค้า (transport support) ตั้งแต่ต้นน้ำไปจนถึงปลายน้ำเพื่อการส่งมอบให้ถึงผู้บริโภคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทันเวลาและประหยัดต้นทุน (cost reduction) บรรจุภัณฑ์ที่ใช้งานในกิจกรรมโลจิสติกส์ อ้างอิงตาม ECR Europe and Kearney (1997) และ Hellström and Saghir (2007) นั้นสามารถแบ่งตามหน้าที่ได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

1) บรรจุภัณฑ์เพื่อการขายปลีก (Sales package) หรือบรรจุภัณฑ์ขั้นที่ 1 (primary packaging) เป็นบรรจุภัณฑ์ที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์โดยตรง เน้นการขายสินค้าแบบหน่วยย่อย (single unit) หรือการขายปลีก จึงมักจะถูกออกแบบให้มีคุณสมบัติในการปกป้องสินค้าควบคู่ไปกับรูปร่างรูปทรงที่สวยงาม สะดุดตาเพื่อดึงดูดความสนใจผู้บริโภคและช่วยส่งเสริมการตลาด

2) บรรจุภัณฑ์รวมหน่วย (Grouped package) โดยมากพบเห็นอยู่ในรูปแบบบรรจุภัณฑ์ขั้นที่ 2 (secondary packaging) ทำหน้าที่รวมบรรจุภัณฑ์แบบขายปลีกไว้ด้วยกันเป็นกลุ่ม มีจำนวนบรรจุที่ต้องการขายในแบบขายส่ง (wholesale package) เช่น อาจมีจำนวนบรรจุ 6,10,12 หรือ 24 ชิ้น ต่อ 1 บรรจุภัณฑ์รวมหน่วยเพื่อความสะดวกในการจัดจำหน่าย ณ จุดขาย และสะดวกต่อการส่งต่อสินค้าไปยังร้านค้าปลีก ซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการกระจายสินค้าเป็นอย่างยิ่ง (ประจวบและพัฒน์, 2555)

3) บรรจุภัณฑ์เพื่อการขนส่ง (Transport package) หรือ บรรจุภัณฑ์ขั้นที่ 3 (tertiary packaging) ถูกออกแบบให้สามารถจัดการกับความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นกับสินค้าในระหว่างการขนส่ง ช่วยป้องกันการกระแทก กันความชื้นและสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ในระหว่างการขนส่ง จึงต้องมีโครงสร้างที่แข็งแรง ช่วยปกป้องสินค้า ลดความเสี่ยงในการกดทับเสียดสีขณะขนส่ง สามารถจัดเรียงทับซ้อนกันได้ประหยัดพื้นที่ในการขนส่งได้ บรรจุภัณฑ์เพื่อการขนส่งนั้นสามารถเป็นได้ ตั้งแต่ กล่องกระดาษ ลังพลาสติก พาเลท จนถึงตู้คอนเทนเนอร์

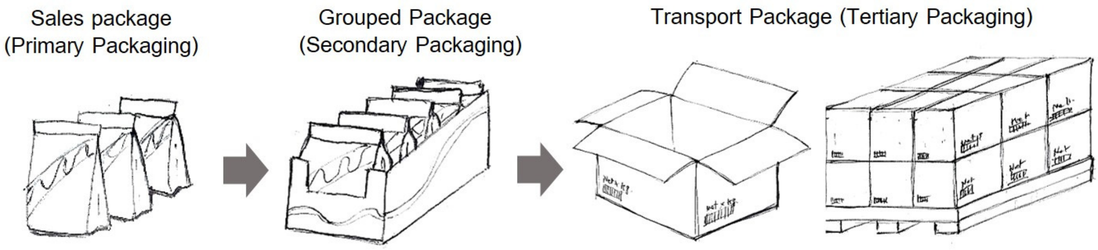


Figure 1 Types of Packaging Logistics.

จะเห็นได้ว่าบรรจุภัณฑ์นั้นมีความสำคัญต่อการขับเคลื่อนผลิตภัณฑ์ในชีวิตประจำวันเป็นอย่างยิ่ง ไม่ว่าจะเป็นบรรจุภัณฑ์เพื่อการขายปลีก (sales package) บรรจุภัณฑ์รวมหน่วย (grouped package) และบรรจุภัณฑ์เพื่อการขนส่ง (transport package) เพราะคุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์เหล่านี้สามารถตอบสนองการใช้งานและเข้ามาช่วยเติมเต็มการขับเคลื่อนกิจกรรมโลจิสติกส์ได้ตั้งแต่ การผลิต การจัดเก็บ การเคลื่อนย้าย การกระจายสินค้าและการจัดจำหน่ายให้ดำเนินไปได้อย่างราบรื่น ดังนั้นปฏิสัมพันธ์ระหว่างบรรจุภัณฑ์และกิจกรรมโลจิสติกส์ จึงมีส่วนสำคัญต่อประสิทธิภาพการดำเนินงานของระบบโลจิสติกส์ ทั้งในด้านเวลาและต้นทุนเป็นอย่างยิ่ง ซึ่ง Hellstrom และ Saghir (2007) อธิบายถึงความสัมพันธ์ของระบบบรรจุภัณฑ์กับกิจกรรมต่าง ๆ ในกระบวนการโลจิสติกส์ โดยแบ่งกลุ่มผู้มีส่วนเกี่ยวข้องในกิจกรรมโลจิสติกส์ออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ผู้ผลิต

(manufacturer) ศูนย์กระจายสินค้า (distribution center) และร้านค้าปลีก (retail outlet) ดังแสดงในตารางที่ 1 เห็นได้ชัดว่า หน้าที่ของบรรจุภัณฑ์โลจิสติกส์ ทั้ง 3 ประเภทนั้นมีความสัมพันธ์กับการดำเนินงานในร้านค้าปลีก ภายใต้กิจกรรมหลักคือ การรับและการเบิกจ่ายสินค้า (receiving and picking) การเติมสินค้า (replenishing process) และการจัดการบรรจุภัณฑ์หลังการใช้งาน (re-use and recycle)

Table 1 Interaction between packaging system and logistics process modified from Hellström and Saghir (2007)

Supply chain members	Logistics processes	Packaging System		
		Primary Packaging	Secondary Packaging	Tertiary Packaging
Manufacturer	•Filling process	✓	✓	✓
	•Warehousing process			✓
	•Transport			✓
Distribution center	•Receiving process			✓
	•Storing process			✓
	•Picking process		✓	✓
	•Shipping process			✓
	•Transport			✓
Retail outlet	•Receiving and Picking		✓	✓
	•Replenishing	✓	✓	✓
	•Re-use and recycle	✓	✓	✓

RRP contextual framework

การศึกษาถึงความสัมพันธ์ของระบบบรรจุภัณฑ์กับกิจกรรมโลจิสติกส์นั้น ทำให้ทราบถึงบทบาทหน้าที่ของบรรจุภัณฑ์แต่ละประเภทว่ามีการทำงานอย่างไรในกิจกรรมโลจิสติกส์ อีกทั้งช่วยทำให้มองเห็นภาพของสภาพแวดล้อมของการใช้งานบรรจุภัณฑ์นั้น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมในร้านค้าปลีก ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำมาใช้เป็นความรู้พื้นฐานในการสำรวจและวิเคราะห์ถึงหลักการทำงานของ RRP ได้เข้าใจมากยิ่งขึ้น หากนำข้อมูลในส่วนนี้มาใช้เทียบเคียงกับแนวคิดการใช้งานของ RRP ก็จะทำให้ทราบถึงขอบเขตหน้าที่ในการใช้งานของ RRP ได้เป็นอย่างดี

บรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่ายปลีก

บรรจุภัณฑ์พร้อมจำหน่ายปลีก (Retail ready packaging) สามารถเรียกโดยย่อว่า RRP เป็นคำที่ใช้ในอุตสาหกรรมค้าปลีก หมายถึงบรรจุภัณฑ์ที่สามารถทำหน้าที่พร้อมจัดจำหน่ายปลีก เป็นบรรจุภัณฑ์ที่สามารถบรรจุ ปกป้อง ขนส่งและช่วยลดขั้นตอนในการในการจัดเรียงสินค้า ณ จุดขายได้ RRP ถูกพัฒนามาจากแนวคิดของบรรจุภัณฑ์ขั้นที่สอง (secondary packaging) ที่ผลิตขึ้นเพื่อการใช้งานในกระบวนการผลิตและการกระจายสินค้าเท่านั้น มิได้ถูกออกแบบมาเพื่อใช้ในงานจัดเรียงสินค้าในร้านขายปลีกแต่อย่างใด เมื่อบรรจุภัณฑ์ขั้นที่สองที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มบรรจุภัณฑ์ขั้นที่หนึ่งซึ่งห่อหุ้มตัวสินค้าไว้ ได้ถูกนำมาส่งยังร้านค้าปลีกและเมื่อสินค้าถูกจัดเรียงในร้านค้าปลีกเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ตัวบรรจุภัณฑ์ขั้นที่สองจะกลายเป็นกองขยะปริมาณมาก ซึ่งเป็นปัญหาในการกำจัด ด้วยเหตุนี้ RRP จึงถูกพัฒนาขึ้นและมีรูปแบบที่แตกต่างกันออกไป เช่น กล่องกระดาษที่บรรจุขวดไวน์พร้อมกราฟิกบนบรรจุภัณฑ์ที่สวยงาม ถาด ลังพลาสติกที่ใช้ใส่ผัก ผลไม้สด และใส่ผลิตภัณฑ์จากนม ซึ่งบางครั้งถูกเรียกว่า returnable package (IGD, 2005; ECR Europe. 2006) ทั้งหมดนี้สามารถใช้ในการขนส่งและสามารถนำมาจัดวางในร้านค้าปลีกเพื่อจำหน่ายให้แก่ผู้บริโภคขั้นสุดท้ายได้ด้วย ซึ่ง RRP อาจถูกจัดวางอยู่บน

ชั้นเรียงสินค้า หรือแม้แต่วางบนพื้นตามทางเดินในร้านค้าปลีกก็ได้ ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย สามารถสรุปได้ว่า RRP ต้องมีคุณสมบัติสำคัญ 5 ประการดังนี้

1) **ง่ายต่อการจำแนก** (Easy to identify) การบ่งชี้ ระบุข้อมูลของสินค้าบนกล่อง ลัง หรือบรรจุภัณฑ์ จะต้องมีรายละเอียดของสินค้า แหล่งที่ผลิตและแหล่งที่สินค้าจะมีการส่งมอบและหลังส่งมอบ เพื่อการจำแนกสินค้าได้โดยง่าย รวดเร็วและถูกต้องแม่นยำ เมื่อสินค้าอยู่คลังสินค้า

2) **ง่ายต่อการเปิด** (Easy to open) RRP ต้องเปิดง่าย ใช้เวลาน้อย และไม่ควรใช้สิ่งของมีคมในการเปิด เพราะอาจสร้างความเสียหายต่อสินค้าภายใน หรือเกิดอันตรายแก่ผู้ปฏิบัติงานได้ กราฟิกบน RRP ควรบอกวิธีการเปิดให้ผู้ใช้งานเข้าใจและปฏิบัติตามได้ในเวลาอันสั้น

3) **ง่ายต่อการเรียงสินค้า** (Easy to shelve) RRP ต้องอำนวยความสะดวกให้การจัดเรียงสินค้าเป็นไปได้โดยง่าย รวดเร็ว สามารถจัดเรียงสินค้าหลายหน่วยได้ภายใต้การเคลื่อนย้าย แค่ 1 ครั้ง (One Movement) และสามารถปกป้องสินค้าให้อยู่ในสภาพที่ดีระหว่างเคลื่อนย้ายได้

4) **ง่ายต่อการซื้อ** (Easy to shop) RRP ต้องนำเสนอสินค้าที่มีสภาพสมบูรณ์ หากเป็นกล่องกระดาษ ไม่ควรมีการฉีกขาดของขอบกล่อง กราฟิกบน RRP มีความชัดเจนในการนำเสนอการรับรู้ของแบรนด์ (Brand) ให้สินค้าสามารถขายตัวเองได้ พร้อมทั้งช่วยให้ผู้จับจ่ายสินค้าเลือกหยิบหรือวางคืนสินค้าได้อย่างสะดวกสบาย

5) **ง่ายต่อการกำจัด** (Easy to dispose) โครงสร้างของ RRP ที่ดีนั้น เมื่อใช้งานเสร็จแล้วควรจัดเก็บออกจากพื้นที่ได้โดยง่าย เช่น ตัวกล่องต้องสามารถพับให้แบนได้ง่ายและไม่ก่อให้เกิดเศษขยะที่เป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อให้ง่ายต่อการกำจัดและไม่ควรใช้วัสดุในการผลิตที่มีความหลากหลายมากนัก

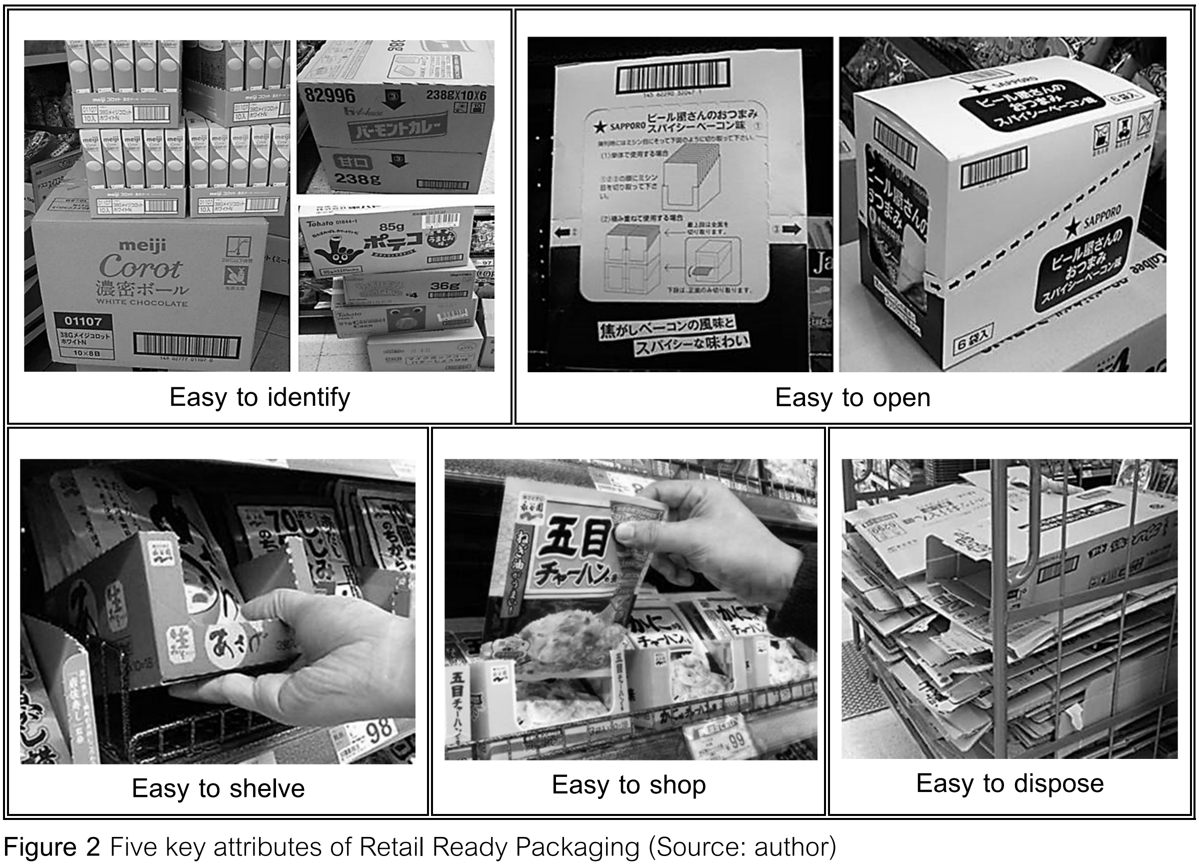


Figure 2 Five key attributes of Retail Ready Packaging (Source: author)

บทบาทของ RRP ในกิจกรรมโลจิสติกส์

เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ในงานวิจัยที่ต้องการหาแนวทางการออกแบบ RRP ที่เหมาะสมกับการใช้งานในกิจกรรมโลจิสติกส์นั้น การทำความเข้าใจถึงบทบาทหน้าที่ของ RRP ในกิจกรรมโลจิสติกส์จึงเป็นสิ่งจำเป็นที่จะทำให้ทราบถึงปัจจัยที่ควรคำนึงถึงในการออกแบบ RRP ให้สอดคล้องและตอบสนองกิจกรรมโลจิสติกส์ที่เกิดขึ้นในร้านค้าปลีกได้ ดังแสดงในตารางที่ 2 ที่แสดงความสัมพันธ์ของคุณสมบัติทั้งห้าประการของ RRP กับกิจกรรมโลจิสติกส์ในร้านค้าปลีก ได้แก่ การรับและการเบิกจ่ายสินค้า (receiving and picking) การเติมและจัดเรียงสินค้า (replenishing process) และการจัดการบรรจุภัณฑ์หลังการใช้งาน (re-use and recycle)

Table 2 The roles of RRP interact with logistical activities at retail outlet

RRP 5 key attributes \ logistical activities at retail outlet	Receiving and picking (Back of store)	Replenishing (In-store)	Re-use and recycle (In-store and back of store)
Easy to Identify	✓	✓	✓
Easy to open		✓	
Easy to shelve	✓	✓	
Easy to shop		✓	
Easy to dispose			✓

ในขั้นตอนการรับและการเบิกจ่ายสินค้านั้น RRP ช่วยให้การแยกแยะประเภทของสินค้านั้นทำได้โดยง่ายรวดเร็วและแม่นยำ ดังนั้นควรจัดวางข้อมูลที่จำเป็นต่อการระบุตัวตนของสินค้าบน RRP ในตำแหน่งที่สามารถมองเห็นได้ชัดแม้ในขณะที่ RRP ถูกจัดเรียงซ้อนกัน ขนาดของภาพและตัวอักษรต้องมีความคมชัดอ่านได้ง่าย ควรระบุจำนวนซ้อนทับของ RRP ให้สอดคล้องกับขนาดและน้ำหนักของสินค้าที่บรรจุอยู่ภายในเพื่อให้พนักงานสามารถจัดเรียงสินค้าในคลังสินค้าได้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้โครงสร้างของ RRP ควรมีขนาดสอดคล้องกับขนาดของพาเลท ชั้นวางสินค้าและมีน้ำหนักที่เหมาะสมตามหลักการยศาสตร์ (ergonomics)

ในขั้นตอนการเติมสินค้าในร้านค้าปลีกนั้น นอกจาก RRP จะช่วยให้พนักงานจำแนกประเภทสินค้าเพื่อการจัดเรียงได้อย่างง่ายแล้ว ยังช่วยให้ผู้ซื้อสามารถระบุตัวตนของสินค้าได้ง่ายด้วยเช่นกัน และเพื่อให้ RRP เปิดได้ง่ายควรให้ข้อมูลที่อธิบายวิธีเปิดโดยแสดงลำดับ ตำแหน่งและทิศทางการเปิดให้ชัดเจนบน RRP โครงสร้างของ RRP ควรมีความแข็งแรงสอดคล้องกับปริมาณ รูปทรงและน้ำหนักของบรรจุภัณฑ์ขั้นที่ 1 และต้องมั่นใจได้ว่าข้อมูลกราฟิกบน RRP นั้นสามารถมองเห็นได้ชัดเจนไม่ว่า RRP จะอยู่ตำแหน่งใดของชั้นวางสินค้าก็ตาม

RRP ช่วยให้การจัดการบรรจุภัณฑ์หลังการใช้งานนั้นทำได้ง่ายด้วยการออกแบบโครงสร้างให้สามารถพับหรือเรียงวางทับซ้อนได้เพื่อช่วยประหยัดพื้นที่และความเป็นระเบียบเรียบร้อยในร้านค้าปลีก ควรระบุชนิดของวัสดุของ RRP รวมถึงเครื่องหมายต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการจัดการบรรจุภัณฑ์หลังการใช้งาน เช่น เครื่องหมาย Reuse และ Recycle เพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและเลือกใช้วิธีการจัดการได้อย่างเหมาะสม

ประโยชน์ของการใช้ RRP ต่อผู้มีส่วนเกี่ยวข้องในกิจกรรมโลจิสติกส์

ผลการวิจัยของ Pira (2014) พบว่า RRP มีบทบาทสำคัญต่อการขับเคลื่อนผลิตภัณฑ์อาหารเป็นอย่างยิ่ง และมีการใช้ RRP อย่างแพร่หลายในตลาดโลกอีกทั้งการเปลี่ยนแปลงวิถีชีวิตของผู้บริโภคที่ต้อง การใช้บรรจุ

ภัณฑ์ที่สะดวกมากขึ้น ในขณะที่ผู้ผลิตต้องใช้บรรจุภัณฑ์ที่สามารถจัดการได้ง่ายและต้องไม่เพิ่มภาระต้นทุน RRP จึงเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการจัดการบรรจุภัณฑ์ด้วยการลดกระบวนการที่ยุ่งยากในการจัดการสินค้าควบคู่ไปกับการส่งมอบประสบการณ์ที่ดีให้ผู้ผลิต ผู้จัดจำหน่าย ร้านค้าปลีก และผู้บริโภคขั้นสุดท้ายอีกด้วย

สำหรับผู้ผลิตที่เปลี่ยนมาใช้ RRP จำเป็นต้องใช้เงินลงทุนเพิ่มขึ้น แต่ RRP สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์ที่จัดเรียงอยู่ในร้านค้านั้นมีภาพลักษณ์ที่ดีขึ้น เมื่อกราฟิกบนบรรจุภัณฑ์มีความชัดเจนและง่ายต่อการจำแนกประเภทสินค้า การหยิบจับได้ง่ายช่วยสร้างประสบการณ์ที่ดีให้กับลูกค้าในการเลือกซื้อ ทำให้สินค้าถูกขับเคลื่อนไปยังผู้ซื้อได้ง่ายและเร็วขึ้น ถึงแม้ว่าสิ่งเหล่านี้จะเพิ่มต้นทุนการผลิตโดยรวมก็ตาม (Dujak, Francic and Franjkovic, 2014)

การใช้ RRP ยังมีประโยชน์ต่อขั้นตอนการกระจายสินค้าที่กิจกรรมส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการจัดเก็บและการจัดส่งสินค้าที่ใช้แรงงานคนเป็นหลัก (Hellström and Saghir, 2007) เนื่องจากข้อมูลที่จำเป็นเกี่ยวกับการจัดเก็บและขนส่งมีความชัดเจน อยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมบน RRP ทำให้พนักงานแยกแยะประเภทของสินค้าเพื่อจัดเก็บ เรียงซ้อนสินค้าได้อย่างเหมาะสม ช่วยลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการจัดส่งและเบิกจ่ายสินค้า นอกจากนั้นแล้วการใช้งาน RRP ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการจ้างแรงงานเพื่อจัดเรียงสินค้าและต้นทุนการบริหารจัดการภายร้านค้าปลีกอย่างมีนัยสำคัญ (Smithers Pira, 2014) เพราะข้อมูลที่ชัดเจนบน RRP ทำให้พนักงานแยกประเภทของสินค้าได้ง่ายและจัดเรียงสินค้าได้เร็วขึ้น RRP ที่เปิดง่ายช่วยให้สินค้าด้านในคงสภาพสมบูรณ์หลังการเปิด หลีกเลี่ยงการเกิดอุบัติเหตุที่อาจจะเกิดขึ้นในระหว่างการเปิดโดยใช้ของมีคมได้

สรุป

การจัดการห่วงโซ่อุปทานให้สามารถขับเคลื่อนอย่างมีประสิทธิภาพจากต้นน้ำจนถึงปลายน้ำนั้น ต้องอาศัยแรงหนุนจากร้านค้าปลีกเป็นตัวช่วยในการกระจายสินค้าไปยังผู้บริโภคขั้นสุดท้ายให้รวดเร็วที่สุด ในขณะที่ร้านค้าปลีกขนาดใหญ่เองนั้นก็ต้องพึ่งพาผู้จัดหาวัตถุดิบ (supplier) และผู้กระจายสินค้า (distributor) จากหลายแหล่งด้วยกัน เพื่อให้มีสินค้าที่ตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้เพียงพอ ควบคู่ไปกับการประหยัดต้นทุนการบริหารจัดการสินค้าภายในร้านค้าปลีก ดังนั้นการเลือกใช้ RRP จึงเป็นหนึ่งในวิธีการสำคัญที่จะช่วยลดต้นทุนดังกล่าวได้ ซึ่งในมุมมองของผู้ผลิตอาจมองเห็นว่าการใช้ RRP มีประโยชน์ต่อร้านค้าปลีกเท่านั้น แต่หากมองในมุมของการขับเคลื่อนกิจกรรมโลจิสติกส์แล้ว การที่ผู้ผลิตหันมาใช้ RRP จะเป็นการลงทุนที่ช่วยให้ห่วงโซ่อุปทานนั้นสามารถขับเคลื่อนได้อย่างคล่องตัวและนำมาซึ่งผลประโยชน์ต่อผู้ผลิตสินค้านั้น ๆ ด้วย

การเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่ดีเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่ช่วยให้การดำเนินธุรกิจประสบความสำเร็จได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งธุรกิจที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์อาหาร และสินค้าเกษตรจำเป็นที่จะต้องใช้บรรจุภัณฑ์ที่ตอบสนองต่อกิจกรรมโลจิสติกส์และห่วงโซ่อุปทาน เนื่องจากวัตถุดิบของสินค้าประเภทนี้มีอายุสั้นและจะเสื่อมคุณภาพไปตามเวลา ซึ่ง RRP เป็นบรรจุภัณฑ์ที่สามารถตอบสนองต่อกิจกรรมดังกล่าวได้ ดังนั้นจึงเป็นเรื่องจำเป็นอย่างยิ่งที่ผู้ประกอบการ ผู้ผลิต ผู้พัฒนาสินค้า รวมทั้งนักออกแบบบรรจุภัณฑ์ควรให้ความสำคัญต่อองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับ RRP เพื่อการพัฒนา RRP ในอนาคตให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละประเภทควบคู่ไปกับการใช้งานในกิจกรรมโลจิสติกส์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

คำนาย อภิปรัชญาสกุล. 2546. **โลจิสติกส์และการจัดการซัพพลายเชน**. กรุงเทพฯ: นัฐพรการพิมพ์.

ประจวบ เพิ่มสุวรรณ และพัฒน์ พิสิฐเกษม. 2555. **จะจัดการบรรจุภัณฑ์โลจิสติกส์อย่างไรให้มีประสิทธิภาพ**.Executive Journal **วารสารนักบริหาร** ปีที่ 32 ฉบับที่ 1 มกราคม – มีนาคม; 130 – 137 (Online).http://www.bu.ac.th/knowledgecenter/executive_journal/ jan_mar_12/pdf/aw018. pdf, 4 มกราคม 2558

ธนิต โสรัตน์. 2554. **Packaging Logistics. LOGISTICS DIGEST Logistics and Supply Chain Information for Thai Industies**, 2011. (Online).http://www.logisticsdigest.com/component/ content/article/29-october-2006/27-packaging-logistics.html, 4 มกราคม 2558

Bo R. 2005. **The multi-faceted dimension of packaging : Marketing logistic or marketing tool?.** British Food Journal, Vol. 107 Iss: 9: 670 – 684

Hellström D. and Saghir M. 2007. **Packaging and Logistics Interactions in Retail Supply Chains.** Packaging Technology and Science. 2007; 20: 197–216

Efficient Consumer Respond Europe (ECR) and A.T. Kearney. **The Efficient Unit Loads Report.** (Online) Retrieved March 11, 2011 from Rethttp://ecr-all.org/wp-content/uploads/ pub_1997_efficient_unit_Respond Europe, 1997; loads.pdf

Efficient Consumer Respond Europe. 2006. **Shelf Ready Packaging (Retail Ready Packaging)** Addressing the challenge: a comprehensive guide for a collaborative approach by ECR Europe and Accenture 2006; Retrieved March 12, 2014, from http://www.esrnet.org

Institute of Grocery Distribution (IGD). 2005, ECR's UK**. Retail Ready Packaging Blue Book**; Retrieved January 11, 2014 from http://www.igd.com/our-expertise/Supply-chain /In-store/3477/Retail-Ready-Pack Efficient Consumer Respond Europe

Dujak, D., M. Francic and J. Franjkovic. 2014. **Retail Ready Packaging – What's in it for food and manufacturer?.** Business Logistics in Modern Management 2014.14th International Scientific Conference - Osij ek, Croatia: 31-42

Richard A. Lancioni, Rajan Chandran.1990. **The Role of Packaging in International Logistics**. International Journal of Physical Distribution & Logistics management, Vol:20. Issue: 8.

S.G.Lee and S.W. Lye. 2003. **Design for manual packaging.** International Journal of Physical Distribution & Logistics management, Vol.33. Number 2.

Smithers Pira, **The Future of Retail Ready Packaging to 2017**, Retrieved November 12, 2014 from https://www.smitherspira.com/retail-ready-packaging-markets-are-forecast -to-reach- 63-4-billion-by-2017.aspx

Twede D.1992.**The Process of logistical packaging innovation**. Journal of Business Logistics, Vol.13, No.1.

Changes and Factors Influencing the Transformation of French Colonial Building in Vientiane

Annita Southiphong[1*]

ABSTRACT

This research explores the factors of French Colonial building transformation and adaptation to suit with globalization trend in Vientiane nowadays. This study addresses out the significance of historic buildings and French Colonial during 30 years under the rule of France from observation of a colonial architecture in Laos. The study took place in Vientiane which was the most notable to its French architecture from 19th – 20th century. More than 200 colonial buildings registered to be a heritage site for conservation. Restoration have become increasingly common as the authorities have realized the historical value of this unique architectural legacy. According to the growth of socio-economic in this area, many colonial buildings have been changed their original building functions for several purposes. Meanwhile, to find appropriate new functions, various factors need to be considered which would affect the long term change.

Factors influencing the transformation of French Colonial Building were studied with focuses on office buildings as well as residential buildings in Vientiane to identify each type of the buildings from the previous and current purposes. Furthermore, this study focused on the investigation of the influential factors by gathering information and reviewing literatures on the conservation theory as well as by analyzing the process of changes, the basic spatial formations, elements and components, especially to find out the factors of such transformation. The study reveals that the transformation of the French Colonial building is subject to not just one single factors but to a numbers of factors such as the development pressure, land use, law and regulation, economy and spatial aspect factors all of which play important roles on these changes.

Key Words: colonial architecture, influence, heritage values, transformation, conservation

*Corresponding author; e-mail address: pouk_sp@hotmail.com

[1]Department of Architecture, Faculty of Architecture, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

INTRODUCTION

During the French Colonial era, Laos was colonized by France since 1893. French architecture elements were integrated into Lao architecture and modified to suit with the climate (hot and humid). The French Colonial style has been affecting the architecture of several major towns and cities including Vientiane. During 30 years under French ruling, Vientiane's most notable to its French influence is its architecture. A number of large-scale construction projects were implemented, including the Bureau de la Résidence (In 1915, now is the offices of the Ministry of Information and Culture), the Lycée Auguste Pavie (In 1920, now is part of the School of Medicine), the Hotel du Commissariat (In 1925, now is the Lao National Museum), etc. Many excellent French Colonial architecture examples can still be seen today in older parts of town, along the Mekong riverside.

By more than 200 colonial buildings registered to be heritage sites for conservation (In 2000 by Institute of Urban Planning, Ministry of Public works and Transportation), restoration has become increasingly common as the authorities have realized the historical value of this unique architectural legacy. There were only two types of French Colonial buildings constructed during the colonial era: office buildings and residences. The French Colonial architectural legacy consists of two-story brick and wood structure, which are the main components with tile roofs, wooden shuttered doors and windows, and some Art Deco decorations with mortar materials, high ceilings, thick-walled bearing structures.

Figure 1 Example of French Colonial building in Vientiane capital city.

In discussing historical buildings or French Colonial buildings in Laos, a number of local and foreign researchers have pointed out different issues, these studies mostly focus on the influences and factors causing transformation of French Colonial architecture not only on the office building but also on the residential building. Some studies had mentioned about the approaches to conserve the French Colonial buildings (In Vanmany's master thesis, the preservation of French Colonial building in old wall area Vientiane capital city, 2011). Meanwhile, there are limited numbers of studies which directly address the issue on the criteria for determining appropriate concepts, functions and requirements to conserve historic buildings.

RESEARCH METHODOLOGY

Conducted by observation on French Colonial architecture in Laos especially in Vientiane Capital city from 19-20th century, this research's literature would span from the background of the French Colonial period, the impacts and its influences to the buildings in Vientiane. Therefore, this study would help to illustrate the relationship between the architectural development and the significance of colonial buildings. This study reviewed the design of the French Colonial architecture buildings through the spatial design and architectural elements. The study was conducted by identifying not only the literature reviews, but also data collections, case studies analysis, land use, as well as law and regulations of historical buildings and related charters

HISTORY OF FRENCH COLONIAL BUILDING IN LAOS

In studies about the French Colonial architecture in Vientiane, there were only two types of French Colonial buildings which are office buildings and residential buildings. The French Colonial architectural legacy consists of two-story brick and stucco, the thick walled structures were modified with balconies and verandahs. The style was modified according to the traditional art, culture, and tropical climate of Laos. Under the rule of French colonization, France introduced many kinds of building innovations to Lao architecture, especially to the traditional Lao house. The evolution was made in terms of factors such as materials, structural systems, some western decoration styles, utilized modern materials mixed with local materials and integrated traditional form with western style.

From 1893 - 1953 Laos was colonized by France. At the same period, modern architecture in Europe was growing rapidly and also spreading its influences throughout the world. During the French ruling, French architecture elements have infiltrated Laotian traditional architecture in Vientiane and Luang Prabang provinces and were adapted for use with the climate in tropical countries, which was a combination between Lao Architecture and French Colonial Architecture. This architectural combination had become features of the architecture unique and valuable to Laos cities which continues to be protected until nowadays.

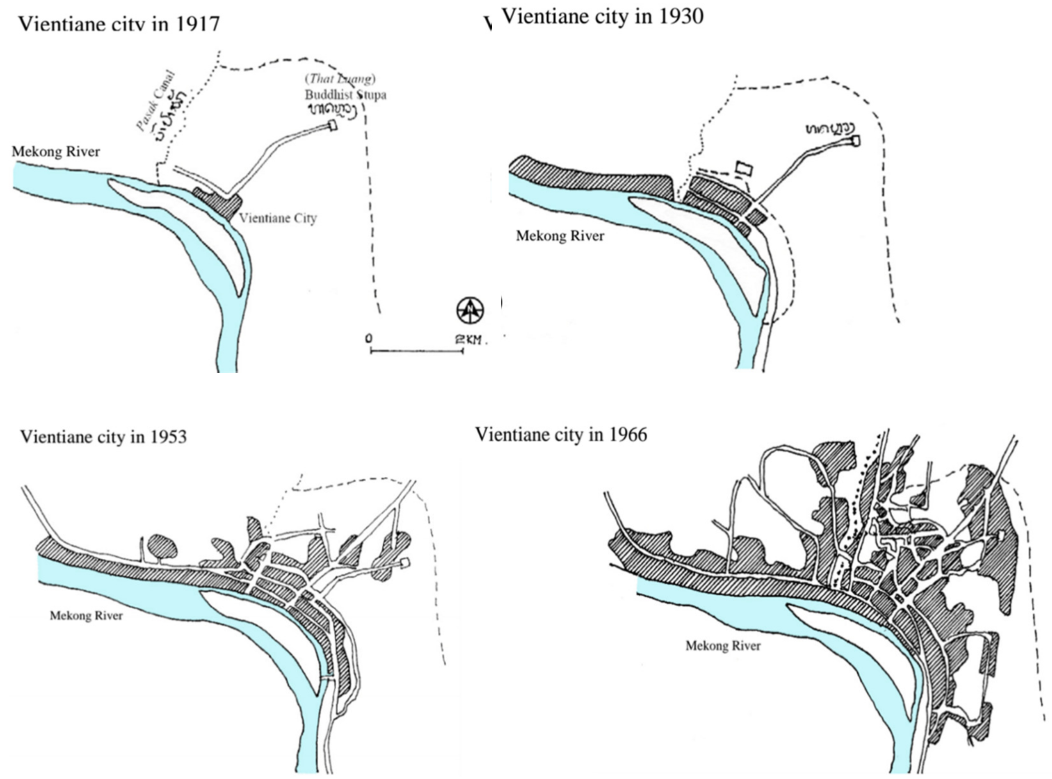


Figure 2 Transformation of the capital city of Vientiane from 1917-1966

France made modest impacts on the architecture of several cities and towns including Luang Prabang, Vientiane, Thakhek, Savannakhet, Salavan and Champasak provinces. In Vientiane, many excellent French Colonial architecture examples can still be seen today mostly in historic part of towns. Vientiane city has been developing along Mekong River since 1917 as a result of the fact that the socio-economic situation was rapidly growth. The city has been expanded and developed parallel with Mekong River (Figure 2). Nowadays, more than 200 colonial buildings in the historic part of Vientiane, which has been built during 1960 - 1983 have been registered to be heritage sites for conservation and restoration. The task is responsible under the Laos government bodies such as the Urban Research Institute, Ministry of Public Works and Transport (Figure 3)

In 2000, the importance of the cultural values still continues. Department of Museums and Ancients has assigned the responsibility in surveying and registration of the historic buildings which still preserve their both historical and architectural values in historic part of Vientiane for example: Laos traditional residential, French Colonial residential and office buildings, religious buildings, towns, to the Urban Research Institute, Ministry of Public Works and Transport. The survey were conducted by identifying the age of the buildings, cultures, and memories. In 2001 Laos government announced the historic part of Vientiane to become the national heritage preservation area. Thus, restoration has become increasingly common in Vientiane. Concepts of preservation is becoming the norm and regulations rather than demolition.

Figure 3 Type of French Colonial buildings in Vientiane Capital

FRENCH COLONIAL ARCHITECTURE CHARACTERISTICS

Through observation of pictures, plans and many documents, most of the French Colonial buildings were often built in the large land, surrounded by many huge trees, has a spacious yard around the building encircled by the brick blowhole walls. It has been found that two-story buildings with rectangular shape, normally have downstairs and upstairs shaped differently. In some buildings, the patterns of the main entrances of the building were often constructed with the stucco work above the entrances with large splendid scale. The upstairs often provide long enclosed corridors.

TRANSFORMATION ANALYSIS

The factors affecting the transformation of French Colonial buildings in Vientiane city could be determined to included not just one single factors, but a number of factors. All of these factors can be divided into 3 categories which are development pressure (globalization), economic aspects, and social aspects, which play important roles of all the changes.

1. Development pressure (globalization)

The development pressure or globalization played more important role than other factors. Most French Colonial buildings, which are mostly used as government office buildings, are located in Vientiane conservation area today. Laos's government plans to relocate these government office buildings to the city's outer zone (Land use plan 2010-2030). In accordance with the city's plan, the French Colonial office building tend to be converted to other functions and purposes such as restaurants, and boutique hotels. Those historical colonial buildings might be uninhabited and unused. Therefore, there would be a room for the domestic and foreign investors to develop further. Many

measures including the relaxation of visa, infrastructure improvement have been applied to boost the tourism sector. But one of the most important measures is the foreign investment. Laos allows foreign investors in constructing tourism facilities such as hotels, guesthouses, resorts, restaurants, in order to improve quality and standard of service particularly in Vientiane capital. According to above reasons, the colonial buildings in this area would be possible to transform into several functions and purposes, On the other hand, for the purpose of developing Laos tourism sector, Laos government allows investors to renovate the lands and buildings in Laos especially in Vientiane capital to construct tourism facilities but it must be performed under the local regulations. Particularly, historical and colonial buildings are not allowed to be demolished. Only renovation activities are allowed in order to conserve historical values and heritage of Laos.

Figure 4 French Colonial office building and shophouses transformation

2. Economy

The second factor is economy, many colonial buildings in the conservation area of Vientiane had been converted mostly for commercial purposes such as restaurants, shops, guesthouses, hotels, and coffee shops. The Laos People's Democratic Republic (Laos PDR) opened the country to international tourist in 1989. Since then, the tourism industry has developed rapidly in order to cope with number of tourists which significantly growing annually. In the traditional period, Laotian in Mekong river area used to live in the traditional society. According to the demand of tourism in this conservation area, local residents can have benefits from their residences by converting them into commercial spaces such as souvenir shops, tailoring shops, art galleries. Incoming of these commercial spaces could have many negative impacts certainly, likewise, conversion of their old colonial houses into commercial purposes has become a cost of degrading the integrity of heritage asset as well, as family residency has been decreased. People's way of life in these building was radically changed from living space to tourist facilities as the service sectors that lack in life and interest. The historical houses owners have to move to peripheral area to live because of the high living cost in this high commercial area, now it is at risk of descending their Vientiane lifestyle. Because of the tourism industry is growing and highly affecting to the transformation, the transformation from residential or office to commercial activities would be possible depending on the physical layout of the plans, in fact, because of a lack of

most suitable space for such activities such as roof top, veranda or courtyard. Nevertheless, semi-private spaces such as corridors and bedrooms are comprehensively used instead.

Figure 5 Settha Palace Hotel, Vientiane city, from 1994 to nowadays (Source from Settha Palace Hotel official website)

3. Social aspect

Social aspect is the last factor of the transformation. This factors does not play a significant role according to the changing from the traditional to the contemporary lifestyle. Religion is one of the major factors which guides the formation of house, a house is more than a structure surrounded by things. The form and functions are truly influences by the relationship of the culture and its environment according to the resident backgrounds in terms of housing experiences and religion. Most people who lives in Vientiane are Buddhist, therefore, social aspects are derived from the contexts of Buddhism, which influenced the formation of the colonial houses.

CONCLUSION

The French Colonial building transformation in Vientiane capital city has been operated to facilitate new functions, space uses, commercial and various purposes. In the traditional period, building's forms were suitable with the needs of people. However, in this contemporary period, building's form and space were not designed in concordance with people's current lifestyle. Most owners of French Colonial houses in Vientiane have converted their houses to serve the tourism business according to economic growth, government development plan and the subsequent increase in the cost of living nowadays.

This research suggests the transformation factors of the French Colonial buildings which are development pressure, economy aspect factors, and social aspect factors. The transformation is based on the change of building function, building form and facade, and building structure. The transformation influences of functions converted from the office to commercial purposes using the ground floors and the upper floors as semi-private spaces, providing specific spatial types of functioning. The transformation of building form and facade is a combination of the old colonial buildings and modern construction in accordance with the new lifestyle, new materials, climate conditions, political conditions and the owner's needs. The transformation of building structure was converting from the old building

material wood and brick with the traditional construction style to the static and permanent construction: "brick, cement and steel", which is more durable and could be easily fits the needs of the occupants.

Among those changes, to protect against the loss of this unique colonial style characteristic, the owners could not transform their colonial building to suit all their needs without following the urban heritage conservation regulations in order to preserve the historical, cultural and heritage values. In addition, in the historic part of Vientiane, more than 200 colonial buildings were registered to heritage list for conservation and restoration. Laos government also regulates several protections and management requirements such as: the protection of the monuments and religious buildings, law on urban heritage protection, law on national heritage enacted in 2005, the articles, provisions, which play important roles to ensure the proper conservation of the heritage. The regulations on the registered colonial buildings should consider several issues on conservation in terms of historical and cultural values, an appropriate use of new function or adaptation, the use of appropriate materials, the complexity, sensitivity and technical consistency of the preservation methodology, as well as the land use, policy, and building control. The conservation should prevent changes that might occur to their original conditions, the original character of the items of heritage shall be maintained (ICOMOS Burra Charter, 2013). On the other hand, non-registered colonial buildings can be not only modified in relation to the needs of residents but also based on the law and regulation of particular land area.

REFERENCES

The Project for Urban Development Plan Study in Vientiane Capital, **Land Use Plan 2010-2030.**

Vanmany Bouasenthong. 2011. **The Preservation of French Colonial Building in Old Wall area Vientiane Capital City**. Thesis for the degree of bachelor of Architecture. NUOL.

Vongpraseuth Thanousone and Kiyaoki Oikawa. 2010. **Spatial Development of Lao Urban Dwellings along the Mekong River**. Journal of Asian Architecture and Building Engineering

Atelier du Patrimoine - **l'Institut de recherche en urbanisme – l'Institut parisien de recherche Architecture, urbanistique, société, Atelier du Patrimoine IRU** – IPRAUS. (1999-2002). Project d'Inventaire et d'Etude du Patrimoine Architectural, Ubain & Paysager de la ville de Vientiane.

ICOMOS Charters. 2013. **The Burra Charter for Place of Cultural Significant.**

สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์

Subject: Architecture and Engineering

ภาคโปสเตอร์

Poster Presentation

สารสกัดผักพื้นบ้านภาคใต้ต่อความคงตัวน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ในสภาวะเร่ง

Indigenous Vegetables Extract in Southern of Thailand on Stability of Refined Palm Oil in Accelerated Storage

สุภาษิต ชูกลิ่น[1*] และ ฌานิกา แซ่แง่ ชูกลิ่น[2]

Supasit Chooklin[1*] and Chanika Saenge Chooklin[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในผักพื้นบ้านภาคใต้โดยดำเนินการสกัดฟีนอลิกทั้งหมดด้วยอัลตร้าซาวด์เสริม พบว่า ใบมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 281.98 mg GAE/g DW และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 723.91 mg vitamin C/g DW สูงสุดเปรียบเทียบกับผักพื้นบ้านชนิดอื่นๆ อีก 8 ชนิด (ใบมันปู ขมิ้น ข่า สะตอ ลูกนาง ดอกแค ดอกขี้เหล็กและลูกฉิ่ง) สภาวะที่ใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบมะม่วงหิมพานต์ด้วยอัลตร้าซาวด์เสริม คือ ความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 40 โดยปริมาตร เวลาสกัด 25 นาที และสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:50 สารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (PV และ TBARs) ในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ได้ดีกว่าชุดควบคุม BHA แต่ด้อยกว่า BHT ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.02 และ 0.1% ในการเก็บรักษาที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 60°C นาน 15 วัน ดังนั้นสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์จึงมีศักยภาพเป็นแหล่งการต้านออกซิเดชันเหมาะสำหรับประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอาหาร

ABSTRACT

An investigation evaluated total phenolic compounds and antioxidative activity of indigenous vegetables in Southern of Thailand with ultrasound-assisted extraction. Results showed that the highest total phenolic compounds (281.98 mg GAE/g DW) and antioxidant activity (723.91 mg vitamin C/g DW) was found in cashew leaves extract compare with 8 types of others indigenous vegetables (Mon-pu leaves, Duea ching, Thai copper pod, Turmeric, Agati, Stink bean, Galangal and Nang bean). The condition of extraction via ultrasound assisted extraction were ethanol 40% v/v concentration, 25 minutes extraction time, and 1:50 solid to liquid ratio. The efficacy of cashew leaves extract (0.02 and 0.1%) in stabilizing palm oil tested under accelerated storage (60°C) for a 15 days period showed that butylate hydroxytoluene > cashew leaves > butylate hydroxyanisole > control in inhibition against lipid oxidation. Thus, its results are suggested that cashew leaves extract may be used as a potential source of natural antioxidants or for application of food industry.

Key Words: cashew leaves, ultrasound extraction, oxidative stability, refined palm oil

*Corresponding author; e-mail address: **supasit.c2015@gmail.com** or **supasit_c@yahoo.co.th**

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มทร.ศรีวิชัย นครศรีธรรมราช 80240

[2]ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มทร.ศรีวิชัย ตรัง 92150

คำนำ

การออกซิเดชันของไขมันเป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมเสียทางเคมีของอาหาร ปัจจุบันมีการใช้สารต้านออกซิเดชันที่สกัดจากธรรมชาติแทนสารสังเคราะห์ เนื่องจากมีรายงานความเป็นพิษของสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์บางชนิดในสัตว์ทดลอง ซึ่งพบว่าทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติ และกลายเป็นมะเร็งเมื่อได้รับสารสังเคราะห์อย่างต่อเนื่องในปริมาณที่มากเกินไป (Madhavi and Salunkhe, 1997) โดยสารสังเคราะห์ที่นิยมใช้เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น Tertiary Hydro Quinone (TBHQ), Butylated Hydroxy Anisole (BHA), Butylated Hydroxy Toluene (BHT) และ Propyl Gallate (PG) เป็นต้น จึงทำให้ผู้บริโภคหันมาให้ความสำคัญกับสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติกันมากขึ้น (Hamilton *et al*., 1997)

ผักพื้นบ้านภาคใต้ มีศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระในระดับสูงมาก เช่น ยอดใบมะม่วงหิมพานต์ ดอกขี้เหล็ก ยอดสะตอ ดอกแคบ้าน ขมิ้นชัน และลูกฉิ่งมีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกิน 100 mg ของสาร BHA เปรียบเทียบต่อน้ำหนักสด 100 g (เกศศิณี และจันทร์เพ็ญ, 2543) ส่วนยอดมันปูและลูกเนียงมีค่า Trolox Equivalent Antioxidant Concentration (TEAC) ในการกำจัดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์สูงมากกว่า 450 mM ต่อน้ำหนักในส่วนที่รับประทานได้ (edible parts) 1 g (วิภาวดี และคณะ, 2543) และผลข่าลิง มีปริมาณโพลีฟีนอลสูงเฉลี่ยเท่ากับ 571.88 mg gallic equivalent/100 g (พูลทรัพย์และรัชนี, 2552)

จากรายงานวิจัยที่ผ่านมามีเทคนิคการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระอยู่หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) (Chotimarkon *et al*., 2008) การสกัดด้วยของไหลเหนือจุดวิกฤต (supercritical fluid extraction) (Shen *et al*., 1997) และการสกัดด้วยไมโครเวฟ (microwave extraction) (Zigoneanu *et al*., 2008) ข้อเสียของการใช้ตัวทำละลายในการสกัดแบบดั้งเดิม คือ ใช้ระยะเวลาการสกัดมาก และสิ้นเปลืองตัวทำละลาย ส่วนข้อเสียของการสกัดด้วยของไหลเหนือจุดวิกฤต คือ ราคาของเครื่องมือสูงและน้ำเข้าไปในตัวอย่าง (Camel, 2000) จากการพัฒนาแนวคิด “เคมีสีเขียว” ในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมาด้วยเทคนิคที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมได้เข้ามีบทบาทเป็นอย่างมาก การสกัดสารชีวภาพด้วยรังสีอัลตราซาวด์ (ultrasound irradiation) ช่วงความถี่ 20 – 100 kHz เป็นเทคนิคการสกัดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ ซึ่งข้อดี คือ ระยะเวลาการสกัดสั้น ง่ายในการดำเนินการ ลดการใช้ตัวทำละลาย สามารถทำได้ที่อุณหภูมิต่ำ และไม่สิ้นเปลืองพลังงาน (Chemat *et al*., 2008) โดยอัลตราซาวด์เป็นผลทางกลที่ทำให้การแพร่ของตัวทำละลายเข้าไปในตัวอย่างทำให้เพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสระหว่างเฟสของแข็งและเฟสของเหลวเป็นผลให้ตัวถูกละลายถ่ายโอนจากเฟสของแข็งไปยังตัวทำละลายได้เร็วขึ้น (Rostagno *et al*., 2003) นอกจากนี้การสกัดด้วยอัลตราซาวด์จะไม่มีสารเคมีเข้ามาเกี่ยวข้องในการสกัดซึ่งสามารถป้องกันการสูญเสียของสารที่ต้องการสกัดได้ (Wang and Weller, 2006)

งานวิจัยนี้จึงทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากผักพื้นบ้านภาคใต้ด้วยเทคนิคการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยในการสกัดและพิจารณาคุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ในระหว่างการเก็บรักษาที่สภาวะเร่ง

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างผักพื้นบ้านภาคใต้

ตัวอย่างผักพื้นบ้านภาคใต้ที่นิยมนำมารับประทานสดได้มาจากจังหวัดนครศรีธรรมราช โดยเลือกจากความแตกต่างของส่วนของผักที่นำมารับประทาน คือ ดอก ใบ เหง้า ผลและเมล็ด นำผักมาล้างทำความสะอาด ผึ่งลมให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนัก เก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์หาความชื้นเริ่มต้นด้วยเครื่องวัดความชื้นแบบอินฟาเรด (IR Moisture Determination Balance) จากนั้นนำมาตัดแต่งเพื่อเอาเฉพาะส่วนที่ใช้รับประทานไปอบด้วยเครื่องทำแห้งแบบถาด (tray dryers) ที่อุณหภูมิ 60 ºC (ความชื้นไม่เกินร้อยละ 10) จากนั้นจึงนำไปบดด้วยเครื่องบดและคัดขนาดด้วยตะแกรงร่อน (sieve) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 mm แล้วเก็บตัวอย่างผงที่ผ่านการคัดขนาดแล้วไว้ในถุงเมทัลไลซ์ (metalize) แบบมีซิบล็อค เก็บที่อุณหภูมิห้อง

การสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากผักพื้นบ้านภาคใต้

ชั่งตัวอย่างผักที่ผ่านการเตรียมแล้วมา 5 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL เติมเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยปริมาตร ลงไป 150 mL (สัดส่วนตัวอย่างต่อปริมาตรตัวทำละลายเป็น 1:50 g/mL) นำไปสกัดสารฟีนอลิกในเครื่องอัลตร้าโซนิก (VGT-1860QTD กำลัง 150 w 40 kHz) โดยตั้งค่าอุณหภูมิของเครื่องที่ 30 ºC เป็นเวลา 25 min แล้วนำตัวอย่างสารละลายที่ได้ไปแยกส่วนใสกับตะกอนออกโดยการกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และใช้ปั๊มดูดอากาศเพื่อช่วยในการกรอง เก็บส่วนใสที่ได้ใส่ไว้ในขวดสีชาแล้วแช่ตู้เย็น (4 ºC) เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก (ดัดแปลงจาก Yingngam *et al.*, 2015) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ดัดแปลงจาก Yingngam *et al.*, 2015; Tangkanakul *et al.*, 2006)

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากผักพื้นบ้านภาคใต้ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method (ดัดแปลงจาก Yingngam *et al.*, 2015) โดยนำสารสกัดที่เก็บไว้ในตู้เย็นมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีความความเข้มข้นที่เหมาะสม นำมา 0.2 mL เติมน้ำ 2.5 mL เขย่าให้เข้ากันดี และเติมสารโฟลิน (Folin-Ciocalteu Reagent) ที่ผ่านการเจือจางด้วยน้ำร้อยละ 10 โดยปริมาตร ลงไป 0.2 mL เขย่าให้เข้ากันดีแล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 น้ำหนักต่อปริมาตร ลงไป 2.0 mL เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 90 min จากนั้นนำไปวัดค่าวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm และเทียบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0 – 200 mg/L

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านภาคใต้ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging activity assay (ดัดแปลงจาก Yingngam *et al.*, 2015) โดยนำสารสกัดที่ผ่านการเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีความความเข้มข้นที่เหมาะสมมา 0.3 มิลลิลิตร เติม DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 mM ลงไป 1.5 mL เขย่าให้เข้ากันดี เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 min จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ดังสมการ

$$Inhibition(\%) = \left[\frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0}\right] \times 100$$

โดยที่

A_o = ethanol 0.3 mL + DPPH 1.5 mL

A_1 = sample 0.3 mL + DPPH 1.5 mL

A_2 = sample 0.3 mL + ethanol 1.5 mL

นำค่าร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ของสารสกัดไปคำนวณค่าความเข้มข้นที่เทียบเท่ากับกรดแอสคอร์บิก (ดัดแปลงจาก Tangkanakul *et al.*, 2006) แล้วรายงานในรูปของ mg vitamin C/g DW โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิก ซึ่งเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Y) กับ ความเข้มข้นของกรดแอสคอบิก (x)

การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดฟีนอลิกจากใบมะม่วงหิมพานต์

เปรียบเทียบผลของการเติมสารสกัดฟีนอลิกจากใบมะม่วงหิมพานต์ (Young Cashew Leaves) กับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (BHA และ BHT) ต่อการยับยั้งการหืนของน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ โดยทำการสกัดสารฟีนอลิกจากใบมะม่วงหิมพานต์ จากนั้นจึงนำมาระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 ºC ความดัน 100-150 mmHg แล้วนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) ชั่งน้ำหนักน้ำมันปาล์ม 50 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL เติมสารสกัดจากผักพื้นบ้านและสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ ที่ระดับ 0.02% และ 0.1% ของน้ำหนักน้ำมัน โดยการชั่งน้ำหนักแล้วนำมาละลายด้วยเอทานอล (99%) ปริมาตร 1 mL ก่อนที่จะเติมลงในน้ำมัน ส่วนในชุดการทดลองควบคุมจะเติมเฉพาะเอทานอล 1 mL จากนั้นนำน้ำมันไปเก็บในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 60 ºC เป็นเวลา 15 วัน เก็บตัวอย่างน้ำมันในวันที่ 3, 6, 9, 12 และ 15 เพื่อนำมาวิเคราะห์ Peroxide Value (PV) และ Thiobarbutyric Acid Reactive Substance (TBARs) โดยดำเนินการทดลอง 3 ซ้ำในแต่ละตัวอย่างทดลอง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณฟีนอลิกและการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านภาคใต้

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 3.82 – 281.98 mg GAE/g DW และ 10.71 – 723.91 mg vitamin C/g DW (Table 1) ตามลำดับ โดยสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (281.98 mg GAE/g DW) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (723.91 mg vitamin C/g DW) สูงสุดเปรียบเทียบกับผักพื้นบ้านชนิดอื่นๆ อีก 8 ชนิด (ใบมันปู ขมิ้น ข่า สะตอ ลูกนาง ดอกแค ดอกขี้เหล็กและลูกฉิ่ง) อธิบายได้ว่าความแตกต่างของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเนื่องมาจากสายพันธ์พืช ส่วนของพืช ความแก่อ่อนของพืช สถานที่ปลูก สภาวะอากาศ การตัดแต่ง การขนส่ง การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ (Rop *et al.*, 2011)

Table 1 Total phenolic content and antioxidant activity of indigenous vegetables samples of Southern Thailand

Indigenous vegetables	Total phenolic content (mg GAE/g DW)	Antioxidant activity (mg vitamin C/g DW)
Young cashew leaves	281.98 ± 0.76 [a]	723.91 ± 8.01 [a]
Mon-pu leaves	208.82 ± 27.10 [b]	469.18 ± 8.56 [b]
Duea ching	135.84 ± 0.84 [c]	226.65 ± 14.73 [c]
Thai copper pod	71.82 ± 1.23 [d]	54.81 ± 1.68 [d]
Turmeric	68.14 ± 2.19 [d]	61.06 ± 1.58 [d]
Agati	11.22 ± 0.11 [e]	13.57 ± 0.16 [e]
Stink bean	3.82 ± 0.01 [e]	10.71 ± 0.25 [e]
Galangal	12.40 ± 0.99 [e]	12.72 ± 0.48 [e]
Nang bean	4.14 ± 0.18 [e]	12.14 ± 0.75 [e]

Value are mean±SD of each vegetables derived from duplicate analysis of three single composite samples. Mean values with different superscript letters within the same column of each nutrient are significantly different at $p<0.05$, by ANOVA.

การสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยอัลตร้าซาวด์เสริม

ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบมะม่วงหิมพานต์ด้วยอัลตร้าซาวด์เสริม คือ ความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 40 เวลาในการสกัด 25 min และสัดส่วนของของแข็งต่อตัวทำละลาย 1 : 50 g/mLได้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 281.98 mg GAE/g DW จากผลการทดลองที่ได้สามารถทำนายผลได้ของปริมาณฟีนอลิกด้วยสมการพอลินอเมียลอันดับสอง ดังนี้

$$Y = 203.62 - 18.59X_1 + 83.86X_2 + 0.54X_3 - 24.34X_1X_2 + 2.40X_1X_3 - 3.85X_2X_3 - 15.81X_1^2 - 43.11X_2^2 + 0.28X_3^2$$

เมื่อนำสมการทำนายและผลจากการทดลองมาพล็อตกราฟ ดังแสดงใน Figure 1 พบว่า ค่าความสัมพันธ์ของข้อมูลจากสมการทำนายและผลจากการทดลองมีค่าสูงมาก (R^2 = 0.977) เข้าใกล้ 1 แสดงว่าแบบจำลองสามารถอธิบายผลจากการทดลองได้ร้อยละ 97.77

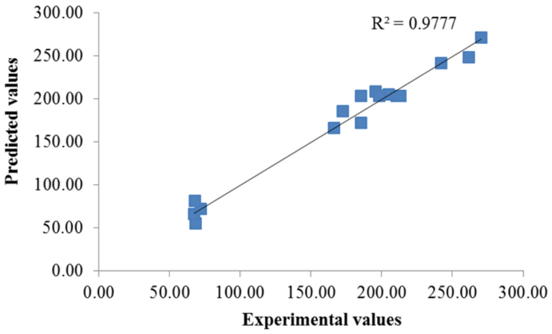


Figure 1 Linear correlation between experimental data and predicted data of total phenolic content extracted from young cashew leaves.

ผลการวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์

การเปรียบเทียบสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์กับสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ พบว่า สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดเพอร์ออกไซด์ที่เทียบเท่าได้กับสาร BHA ที่ระดับของการเติมสารที่ 0.02% ของน้ำหนักน้ำมัน ดังแสดงใน Figure 2 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 15 ค่าเพอร์ออกไซด์ของชุดควบคุม ชุดการทดลองที่เติม BHA ชุดการทดลองที่เติมสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์และชุดการทดลองที่เติม BHT มีค่าเท่ากับ 33.71±0.67, 30.37±0.16, 30.61±0.33 และ 15.78±1.25 meq peroxide/kg ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารยับยั้งการเกิดออกซิเดชันให้สูงขึ้นที่ระดับ 0.1% (Figure 3) พบว่า ชุดการทดลองที่เติม BHT มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดเพอร์ออกไซด์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ BHA และชุดควบคุม โดยค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันในวันที่ 15 มีค่าเป็น 9.36±0.04, 29.02±1.39, 31.74±0.21 และ 38.95±1.38 meq peroxide/kg ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Chong *et al.* (2015) พบว่า การใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุดในน้ำมันดอกทานตะวันในสภาวะเร่งมีค่าการยับยั้งเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันในวันที่ 24 ดังนี้ BHA > α - tocopherol > สารสกัดเปลือกมังคุด (200 ppm) > สารสกัดเปลือกมังคุด (100 ppm) > ชุดควบคุม

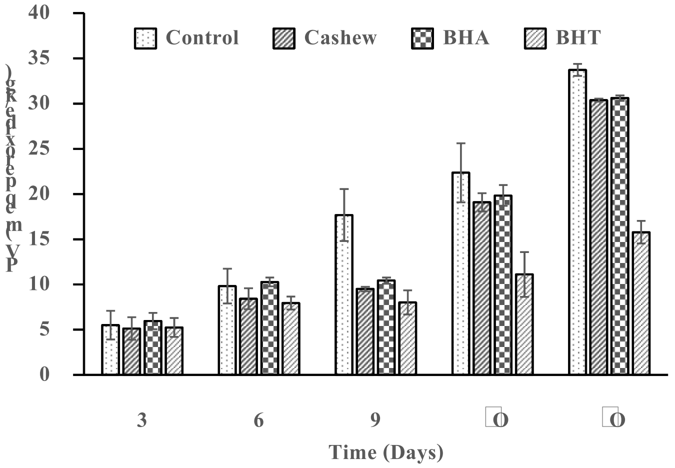


Figure 2 Peroxide values (PV) of refined palm oil supplemented with cashew leaves extract (0.02% w/v), BHA and BHT under accelerated storage at 60°C for 15 days.

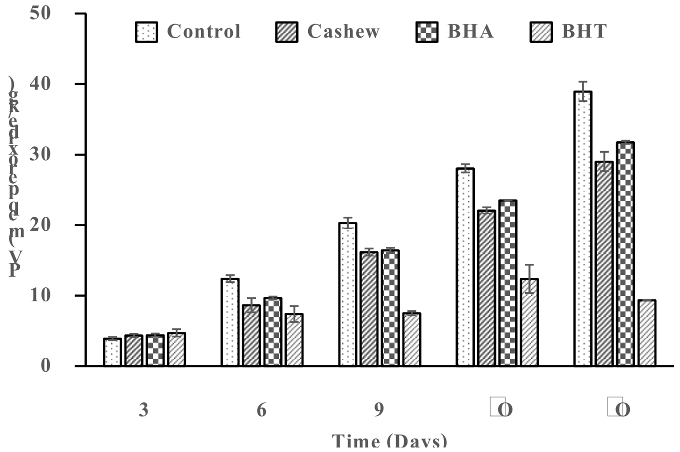


Figure 3 Peroxide values (PV) of refined palm oil supplemented with cashew leaves extract (0.1% w/v), BHA and BHT under accelerated storage at 60ºC for 15 days.

ผลการวิเคราะห์ค่า TBARS

จากศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ในน้ำมันปาล์มที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่า ค่า TBARS มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เก็บโดยมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บนานขึ้น โดยที่ผลการทดลองการเติมสารยับยั้งที่ระดับ 0.02% ดังแสดงใน Figure 4 และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารยับยั้งไปที่ระดับ 0.1% ดัง Figure 5 พบว่า ในวันที่ 3, 6, 9, 12 และ 15 ชุดการทดลองที่เติมสาร BHT จะมีค่า TBARS ที่ต่ำที่สุดและชุดการทดลองที่เติมสารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์จะมีค่า TBARS ใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่เติม BHA เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ค่า TBARS ของชุดการทดลองที่เติม ชุดควบคุม สารสกัดจากใบมะม่วงหิมพานต์ BHA และ BHT มีค่าเป็น 5.44±02, 4.49±0.83, 4.45±0.05 และ 2.16±0.43 mg MDA/kg ตามลำดับ การศึกษาของ Chong *et al.* (2015) พบว่า การใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุดในน้ำมันดอกทานตะวันในสภาวะเร่งมีค่าการยับยั้ง TBARS ของน้ำมันในวันที่ 24 ที่เติมสารสกัดเปลือกมังคุด (200 ppm) > BHA > α - tocopherol > สารสกัดเปลือกมังคุด (100 ppm) > ชุดควบคุม ในการเกิดออกซิเดชันของน้ำมัน

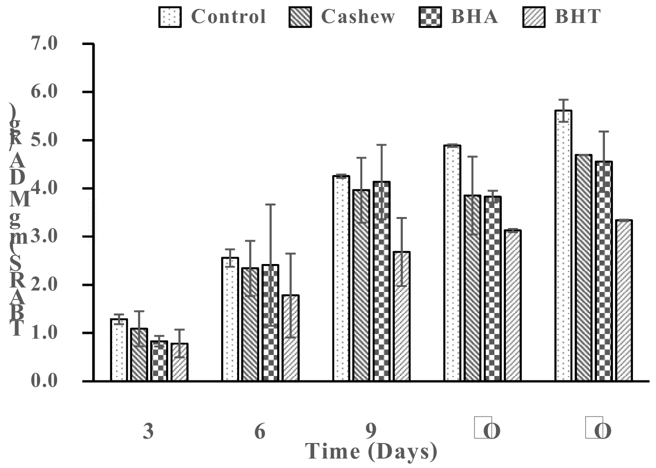


Figure 4 TBARs values of refined palm oil supplemented with cashew leaves extract (0.02% w/v), BHA and BHT under accelerated storage at 60ºC for 15 days.

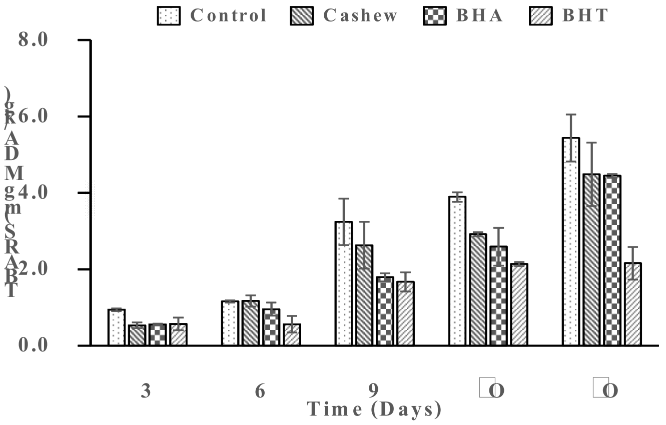


Figure 5 TBARs values of refined palm oil supplemented with cashew leaves extract (0.1% w/v), BHA and BHT under accelerated storage at 60ºC for 15 days.

สรุป

ใบมะม่วงหิมพานต์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 281.98 mg GAE/g DW และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 723.91 mg vitamin C/g DW สูงสุดเปรียบเทียบกับผักพื้นบ้านชนิดอื่นๆ โดยสภาวะที่ใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากใบมะม่วงหิมพานต์ด้วยอัลตร้าซาวด์เสริม คือ ความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 40 โดยปริมาตร เวลาสกัด 25 min และสัดส่วนของแข็งต่อตัวทำละลาย 1:50 และสารสกัดใบมะม่วงหิมพานต์มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (PV และ TBARs) ในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ได้ดีกว่าชุดควบคุม BHA แต่ด้อยกว่า BHT ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.02 และ 0.1% ในการเก็บรักษาที่สภาวะเร่งอุณหภูมิ 60ºC นาน 15 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช (ทุ่งใหญ่) ที่สนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือและทุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

เกศศิณี ตระกูลทิวากร และจันทร์เพ็ญ ศักดิ์สิทธิ์พิทักษ์. 2543. ศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทย. **วารสารอาหาร**, 30(3): 43.

พูลทรัพย์ อินทร์สังข์ และรัชนี คงคาฉุยฉาย. 2552. **ความหลากหลายของชนิด คุณค่าทางโภชนาการ และการใช้ประโยชน์ของผักพื้นบ้านบางชนิดซึ่งนิยมใช้ประกอบในอาหารแบบดั้งเดิมของคนในภาคใต้ของไทย**. รายงานการวิจัย คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

วิภาวดี ประสาททอง, กุสุมาลย์ น้อยผา และอานุไร จิตต์สุรงค์. 2543. **ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านของไทย**. รายงานฉบับสมบูรณ์ ภาควิชาชีวเวชศาสตร์และภาคพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Camel, V. 2000. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples, **Trends in Analysis Chemistry**, 19: 229-248.

Chemat, F., Tomao, V. and Virot, M. 2008. Ultrasound-assisted extraction in food analysis. **Handbook of food analysis instruments**, CRC press, USA, 85- 103.

Chong, Y. M., Chang, S. K., Winne Sia, C. M. and Yim, H. S. 2015. Antioxidant efficacy of mangosteen (Garcinia mangostana Linn.) peel extracts in sunflower oil during accelerated storage. **Food Bioscience**, 12: 18-25.

Chotimarkon, C., Benjakul, S. and Silalai, N. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. **Food Chemistry**, 111: 636-841.

Hamilton, R.J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F.B. and Pierce, H. 1997. Chemistry of free radicals in lipids. **Food Chemistry**, 60, 193-199.

Madhavi, D.L. and Salunkhe, D.K. 1997. Toxicological aspects of food antioxidant. Marcel Dekker, Inc., New York.

Rop, O., Sochor, J., Jurikova, T., Zitka, O., Skutkova, H. and Micek, J. 2011. Effect of five different stages of ripening on chemical compounds in Medlar (Mespilus germanica L.). **Moleciles**, 16: 74-91.

Rostagno, M.A., Palma, M. And Barroso, C.G. 2003. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. **Journal of Chromatography A**, 1012: 119-128.

Shen, Z., Palmer, M.V., Ting, S.T. and Faircloug, R.J. 1997. Pilot scale extraction and fractionation of rice bran oil using supercritical carbon dioxide. **Journal of agricultural and food chemistry**, 45: 4540-4544.

Tangkanakul, P., Trakoontivakorn, G., Auttaviboonkul, P., Niyomvit, B. and Wongkrajang, K. 2006. Antioxidant activity of northern and northeastern Thai foods containing indigenous vegetables. **Kasetsart Journal (Natural and Science)**, 40 (Suppl.): 47-58.

Wang, L., and Weller, C. L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, 17 (6):300-312.

Yingngam B, Supaka N, Rungseevijitprapa W. 2015. Optimization of process conditions for phenolics extraction from *Cratoxylum formosum* ssp.formosum leaves using response surface methodology. **Journal Food Science Technology**, 52: 129-140.

Zigoneanu, I.G., Williams, L., Xu, Z. and Sabliov, C.M. 2008. Determination of antioxidant component in rice bran oil extracted by microwave-assisted method. **Bioresource Technology**, 99: 4910-4918.

การทดสอบเพื่อการศึกษาคุณสมบัติทางกลของวัสดุประกอบแบบแผ่นที่มีแกนกลาง

Experimental Studies of Mechanical Properties of Sandwich Composite Panel

ปรียานันท์ บุญเปีย[1*] ปานฉัตร เปรมานุพันธ์[2] ไชยวัฒน์ กล่ำพล[2] และ พงศ์ธร พรหมบุตร[1]

Preeyanan Boonpia[1*], Parnchatr Preamanuphan[2], Chaiwat Klampol[2] and Pongtorn Prombut[1]

บทคัดย่อ

วัสดุประกอบแบบมีแกนกลาง (Sandwich Composite) เป็นที่นิยมมากขึ้นในอุตสาหกรรมการออกแบบและผลิตชิ้นส่วนอากาศยาน เนื่องจากเป็นรูปแบบของโครงสร้างที่มีความแข็งแรงต่อน้ำหนักมากกว่าเมื่อเทียบกับโครงสร้างที่มีผลิตโดยวัสดุแบบอื่น นอกเหนือจากที่ความแข็งแรงของวัสดุประกอบในลักษณะนี้ขึ้นกับคุณสมบัติทางกลของแผ่นผิว (Face) แกนกลาง (Core) และตัวประสาน (Adhesive) ในทางทฤษฎีแล้ว ในทางปฏิบัตินั้นในอุตสาหกรรมพบว่ากระบวนการผลิตที่แตกต่างกันนั้นส่งผลอย่างยิ่งต่อคุณสมบัติความแข็งแรงทางกลของโครงสร้างที่ทำจากวัสดุประกอบแบบที่มีแกนกลาง โครงงานวิจัยนี้ซึ่งมีวัตถุประสงค์ในการทำการทดลองเพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกลของวัสดุประกอบที่มีแกนกลางโดยผลิตจาก 2 วิธีคือ วัคคัมแบคกิ้ง (Vacuum Bagging) และ วัคคัมอินฟิวชั่น (Vacuum Infusion) เพื่อเป็นข้อมูลทางการทดสอบที่ได้มาตรฐานและใช้ในการพัฒนาการผลิตวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางให้เหมาะสมกับการใช้งาน

ABSTRACT

Sandwich Composite is used considerably in the aircraft design and manufacturing industry because it is light and has higher in strength when comparing with the other materials at the same weight. The strength of composite material does not only theoretically depend on the mechanical properties of face, core, and adhesive, but also practically relies on its manufacturing process. The different fabrications cause the differences in the strength of sandwich composite material. Therefore, the objective of this research is to do the experiments in order to study the mechanical properties of the sandwich composite material fabricated by two different processes --- Vacuum Bagging and Vacuum Infusion.For using as the benchmark experimental results and developing the manufacturing of the cored-composite material.

Key Word: sandwich composite, vacuum bagging, vacuum infusion

*Corresponding author; e-mail address: preeyananboonpia@gmail.com

[1]ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2]ภาควิชาวิศวกรรมการบินและอวกาศ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Department of Aerospace Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

วัสดุประกอบแบบมีแกนกลาง (Sandwich Composite) (Jack R.Vinson. 1999) เป็นวัสดุที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมการบิน รถยนต์ เรือ งานด้านโยธา รวมถึงอุปกรณ์กีฬาต่างๆ เนื่องจากมีอัตราส่วนระหว่างความแข็งแรงกับน้ำหนักสูงกว่าวัสดุอื่น มีหลักการคล้ายกับคานรูปตัวไอ (I-Beam) (Alexandre Miguel de Almeida Garcia, 2010)เนื่องจาวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางจะประกอบด้วยวัสดุแผ่นผิวบน ผิวล่าง และแกนกลางซึ่งแผ่นผิวบนและล่างจะประกบแกนกลางอยู่ ทำให้วัสดุแผ่นผิวจะทำหน้าที่คล้ายกับ flanges ส่วนแกนกลางจะทำหน้าที่คล้าย web คือวัสดุแผ่นผิวด้านบนจะรับแรงกด ด้านล่างจะรับแรงดึง และแกนกลางจะรับแรงเฉือน จึงถูกนำมาใช้กับงานที่ต้องการน้ำหนักที่เบาแต่ยังคงมีความแข็งแรงที่สูงอยู่

วัสดุประกอบแบบมีแกนกลางจะมีคุณสมบัติทางกลที่แตกต่างกันไปขึ้นกับวัสดุที่นำมาใช้ ซึ่งวัสดุที่ถูกนำมาใช้เป็นแกนกลางก็จะถูกเลือกตามการใช้งาน เนื่องจาก (A. Mostafa, 2013)แกนกลางของวัสดุประกอบจะรับแรงเฉือนดังนั้นการเลือกแกนกลางควรเลือกวัสดุที่มีน้ำหนักเบา และมีค่ามอดูลัสเฉือน (Shear Modulus) ที่สูง ในอุตสาหกรรมเรือ และอากาศยานขนาดเล็กได้นำโฟมโพลีเมตะไคลิไมด์ (Polymethacrylimide Foam) หรือมีตัวย่อว่าโฟม PMI มาใช้แพร่หลาย เนื่องจากเป็นแกนกลางที่มอดูลัสของเฉือนสูงแต่น้ำหนักเบาและยังมีอัตราการดูดซับน้ำที่น้อย ซึ่งเมื่อวัสดุทั้งแผ่นผิวและแกนกลางถูกประกบเข้าเป็นวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางทำให้เกิดเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติทางกลที่แตกต่างจากวัสดุเดิมของตัวมันเอง

แม้ว่านำวัสดุเดียวกันมากระกอบเป็นวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางก็อาจทำให้คุณสมบัติทางมีความแตกต่างกันได้หากมีวิธีการผลิตที่แตกต่างกัน การผลิตวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางมีวิธีที่ใช้ในการผลิตอยู่ 2 วิธี คือ วัคคัมแบคกิ้ง (Vacuum Bagging) และวัคคัมอินฟิวชั่น (Vacuum Infusion) ซึ่งทั้ง 2 วิธีการผลิตมีกระบวณการผลิตที่แตกต่างกันทำให้คุณสมบัติทางกลของการผลิตนั้นเปลี่ยนแปลงไปตามวิธีการใช้งาน จึงต้องมีการทดสอบว่าการผลิตทั้ง 2 วิธี มีคุณสมบัติทางกลที่แตกต่างกันอย่างไร ทั้งนี้เพื่อเป็นการพัฒนาวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางหรือเป็นแนวทางในการเลือกวิธีการผลิตวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางเพื่อความเหมาะสมกับการใช้งาน

ทฤษฎี

การทดสอบแรงดัดแบบ 3 จุด (Three-Points Bending) ของวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางตามมาตรฐาน ASTM C393 ซึ่งการที่ชิ้นงานถูกแรงดัดจะทำให้พบว่าบริเวณที่เป็นผิวจะรับแรงดึงหรือกดสูงสุด ทำให้บริเวณดังกล่าวเกิดความเค้น (Stress) สูงสุด ดังนั้นการหาความเค้นของวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางจะคิดที่แผ่นผิวโดยมีสมการดังสมการ (1) ซึ่งในมาตรฐาน ASTM C3930 จะเรียกว่า ความเค้นดัดของแผ่นผิว (Facing Bending Stress, σ)

$$\sigma = \frac{PL}{2t(d+c)b}$$ ---(1)

โดยที่ P คือแรงที่กระทำ , L คือ ระยะฐานวาง , t คือความหนาของแผ่นผิว, d คือความหนาทั้งหมด, c คือความหนาของแกนกลาง และ b คือ ความกว้างของชิ้นงาน

หากชิ้นงานมีน้ำหนักหรือขนาดไม่เท่ากันในการทดสอบจำเป็นต้องคำนวนความแข็งแรงจำเพาะ (Specific Strength,ss) ตามสมการ (2)

$$ss = \frac{\sigma}{\rho} \quad \text{---(2)}$$

โดยที่ ρ คือ ความหนาแน่นของวัสดุประกอบแบบมีแกนกลาง และการทดสอบนี้เมื่อทดสอบจะสามารถคำนวนระยะโก่งงอ (Displacement ,w)ของชิ้นงานได้ตามสมการ (3)

$$w = \frac{PL^3}{48D} + \frac{PL}{4N} \quad \text{---(3)}$$

ในส่วนเทอมแรกของสมการ (3) จะเป็นระยะโก่งงอที่เกิดจากโก่งงอ ซึ่งจะมีค่า เฟ็กเซลรอลสติฟเนต (Flexural Stiffness,D) เป็นตัวแรกหนึ่งที่มีความสัมพันธ์กับระยะนี้คำนวณได้จากสมการ (4)

$$D = \frac{E(d^3-c^3)b}{12} \quad \text{---(4)}$$

โดยที่ E คือ มอดูลัสยืดหยุ่น (Modulus of Elasticity) และอีกเทอมหนึ่งเป็นระยะที่เกิดจากการเฉือน จึงมีค่า สติฟเนตเฉือน (Shear Stiffness) เข้ามาเกี่ยวข้อง คำนวณได้จาก (5)

$$N = \frac{G_c(d+c)^2 b}{4c} \quad \text{---(5)}$$

ซึ่ง G_c คือ มอดูลัสเฉือน (Shear Modulus) ของแกนกลาง

อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตวัสดุประกอบแบบมีแกนกลาง

การทำชิ้นงานจะใช้ผ้าคาร์บอนไฟเบอร์ Twill 2x2 T300 1 ชั้น สำหรับวางด้านบนและ 1 ชั้นวางด้านล่างของวัสดุแกนกลางคือ โฟม PMI และใช้ตัวประสาน YD 535LV/TH7257

วิธีการทำชิ้นงานโดยใช้วิธีวัคคัมแบงกิ้ง

1.เริ่มโดยการเตรียมผ้าคาร์บอนไฟเบอร์และตัวประสาน ซึ่งในการผลิตวัสดุประกอบที่มีแกนกลางของการทดสอบนี้จะใช้ผ้าคาร์บอนไฟเบอร์ 1 ชั้นในแต่ละแผ่นผิวบนและล่าง และมีแกนกลางเป็นโฟม PMI หนา 2 มิลลิเมตร

2.ทาตัวประสานลงบนผ้าคาร์บอนไฟเบอร์โดยใช้แปรงทาหรือลูกกลิ้ง โดยที่อัตราส่วนระหว่างผ้าคาร์บอนไฟเบอร์กับตัวประสานคือ 60:40

3. ประกบผ้าคาร์บอนไฟเบอร์กับโฟม PMI จากนั้นนำชิ้นงานที่ประกบเป็นวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางแล้ว วางลงบนโมล (Mold) จึงนำผ้าไนล่อน (Peel ply) แผ่นรีลีสฟิล์ม (Release file) และผ้าบรีทเตอร์ (Breather) ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงทำการติดถุงสุญญากาศ แล้วทำการดูดอากาศออก

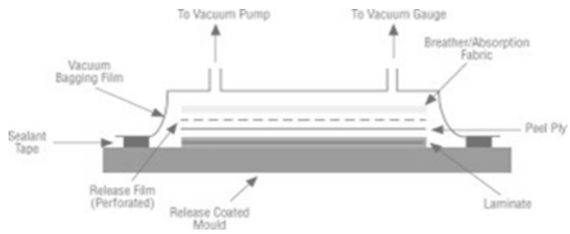


Figure 1 Vacuum Bagging Process

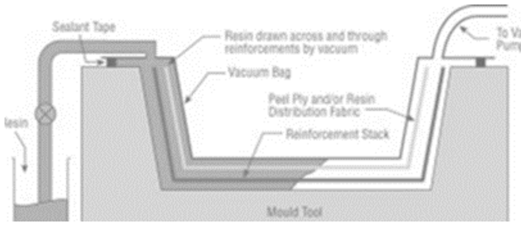


Figure 2 Vacuum Infusion Process

วิธีการทำชิ้นงานโดยใช้วิธีวัคคัมอินฟิวชัน

1.เริ่มโดยการเตรียมผ้าคาร์บอนไฟเบอร์ ซึ่งในการผลิตวัสดุประกอบที่มีแกนกลางของการทดสอบนี้จะใช้ผ้าคาร์บอนไฟเบอร์ 1 ชั้นในแต่ละแผ่นผิวบนและล่าง และมีแกนกลางเป็นโฟม PMI หนา 2 มิลลิเมตร โดยมีการเซาะร่องเพื่อให้เป็นทางไหลของตัวประสาน ทำให้มีตัวประสานอยู่ตามร่องที่เซาะไว้ ขนาดของร่องกว้าง 3 มิลลิเมตร และลึก 0.5 มิลลิเมตร (Figure 3)

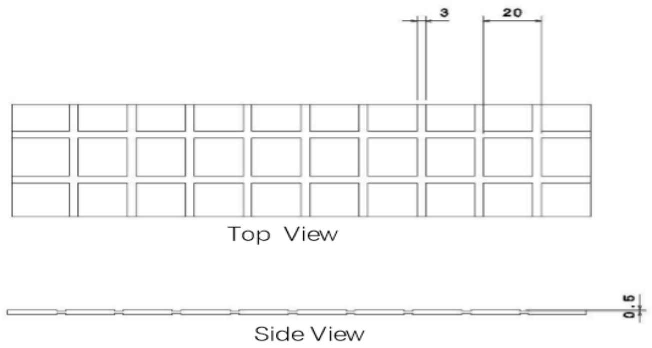


Figure 3 Size of Groove Core

2.ประกบผ้าคาร์บอนไฟเบอร์และแกนกลางโฟม PMI วางบนโมล จากนั้นวางผ้าไนล่อน (Peel ply) และตาข่าย(Net) เพื่อเป็นช่องอากาศให้ตัวประสานไหลไปตามชิ้นงานได้

3. ติดตั้งท่อเกลียว สายยางและวาล์ว เพื่อเป็นนำพาตัวประสานจากถังพักตัวประสานเข้าสู่ชิ้นงาน

4.เตรียมตัวประสานใส่ถังพักตัวประสาน จากนั้นดูดอากาศออก และเปิดวาล์วเพื่อให้ตัวประสานไหลไปตามชิ้นงาน

การทดสอบแรงดึง (Tensile Test)

การทดสอบแรงดึงจะทดสอบชิ้นงานวัสดุประกอบแบบลามิเนตที่เรียงด้วย [0º/90º] ตามมาตรฐาน ASTM D3039M-00e1 โดยการทดสอบจะดึงชิ้นงานด้วย ความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อนาที เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกลของส่วนที่เป็นแผ่นผิวของวัสดุประกอบแบบมีแกนกลาง โดยมีขนาดของชิ้นงานทดสอบ (Coupon)ในหน่วยมิลลิเมตร (Figure 4)

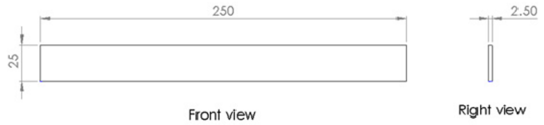


Figure 4 Size of specimen for tensile test (ASTM D3039)

การทดสอบแรงดัด (Bending Test)

การทดสอบแรงดัดในชิ้นงานวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางตามมาตรฐาน ASTM C393 โดยการทดสอบแรงดัด จะทดสอบแบบ Three point bending โดยใช้หัวกดโรลเลอร์ (Roller) ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 5

มิลลิเมตร มีความกว้าง 60 มิลลิเมตร โดยที่ระยะฐานวาง (Span length) 150 มิลลิเมตร ด้วยความเร็ว 6 มิลลิเมตรต่อนาทีกับชิ้นงานทดสอบที่มีขนาดในหน่วยมิลลิเมตร (Figure 5) ซึ่งมีความหนาจากแผ่นผิว (t) ความหนาจากโฟมแกนกลาง (c)

Figure 5 Size of specimen for Three point bendind test (ASTM C 393)

ผลและวิเคราะห์ผลการทดสอบ

การทดสอบแรงดึงชิ้นงานลามิเนต

การทดสอบแรงดึงในวัสดุที่ใช้เป็นแผ่นผิวชองวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางเพื่อนำคุณสมบัติทางกลที่ได้จากการทดสอบ ได้แก่ ค่ามอดูลัสยืดหยุ่น (E_f) ไปใช้ในการคำนวนทางทฤษฎีสมการ (4) เพื่อแทนในสมการ (3) จะได้ระยะโก่งงอที่ได้จากการคำนวนเพื่อเปรียบเทียบกับการทดสอบการโก่งงอแบบ 3 จุด ซึ่ง(Gibson,Ronald F, 2007) ค่ามอดูลัดยืดหยุ่นได้จากการการทดสอบแรงดึงชิ้นงานที่เรียงตัวกัน [0°/90°] ทำให้คุณสมบัติของแต่ละด้านของชิ้นงานลามิเนตเหมือนกัน ทำให้จะพบว่าแกนตามแนวยาว (Longitudinal) และแกนตามแนวข้าง (Transverse) มีค่ามอดูลัดยืดหยุ่นเท่ากัน

Table 1 Mechanical Properties of Composite (T300 with YD535/TH7257)

	Vacuum Bagging	Vacuum Infusion
E_f (GPa)	41.515	47.168

ซึ่งมีอีกค่าที่มีที่เป็นตัวแปรในสมการ (5) นั่นคือ ค่ามอดูลัสเฉือนของโฟม PMI (G_c) โดยในที่นี้จะนำค่ามอดูลัสเฉือนจากข้อมูลของผู้ผลิตโฟม PMI มาใช้ในการคำนวนโดยความหนาแน่น (Density) ของโฟมที่เลือกใช้คือ 32 kg/m^3 มีค่าของมอดูลัสเฉือนเท่ากับ 13 MPa

การทดสอบแรงดัดแบบ 3 จุด

ชิ้นงานจาก 2 วิธีการผลิตจะมีน้ำหนักของชิ้นงานที่แตกต่างกันจะพบว่าชิ้นงานของวัคคัมแบคกิ้งจะมีน้ำหนักที่เบากว่าชิ้นงานของวิธีวัคคัมอินฟิวชั่น 26.77 % เนื่องจากวิธีวัคคัมอินฟิวชั่นมีน้ำหนักที่เกินมาจากการเซาะร่องเพื่อเป็นทางเดินของอากาศซึ่งมีน้ำหนักดังตารางที่ 2

Table 2 Weight of Specimen

Process	Specimen	Weight (g)	Process	Specimen	Weight (g)
Vacuum Bagging	1	7.6	Vacuum Infusion	1	10.30
	2	7.6		2	10.23
	3	7.8		3	9.75
	4	7.7		4	9.86

	5	7.8		5	10.28

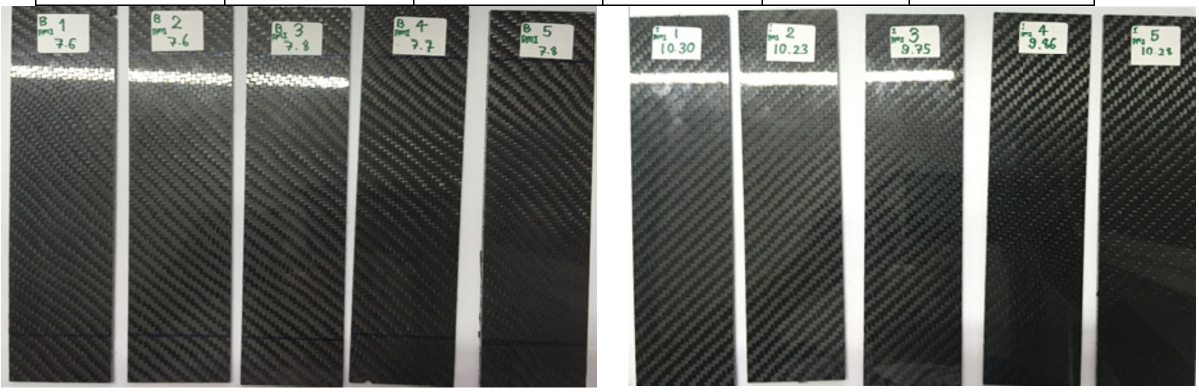


Figure 6 Specimen for Three points bending test (a) Vacuum Bagging Process and (b) Vacuum Infusion

Process

เมื่อการทดสอบชิ้นงานที่มีวิธีผลิตแบบวัคคัมแบคกิ้งและวัคคัมอินฟิวชั่น โดยการให้แรงกดกับชิ้นงานทำให้ชิ้นงานเกิดการโก่งงอขึ้นซึ่งแสดงตามกราฟ (Figure 7, Figure 8) ตามลำดับ เพื่อเปรียบเทียบแรงกด (Load) สูงสุด และความแข็งแรงจำเพาะ (Specific Strength) ระหว่างทั้ง 2 วิธี

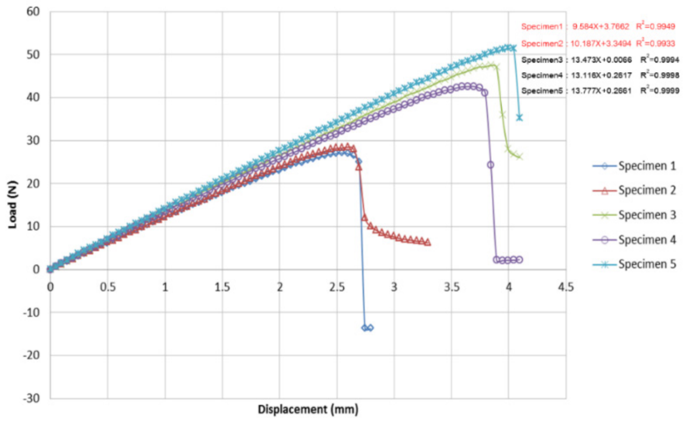


Figure 7 Graph Load vs Displacement of Vacuum Bagging process

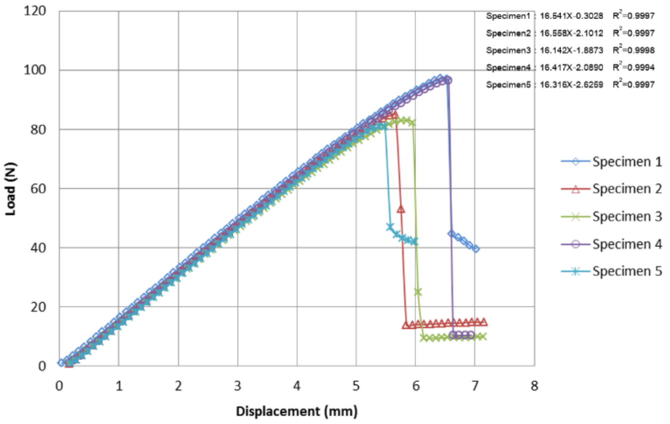


Figure 8 Graph Load vs Displacement of Vacuum Infusion process

Table 3 Three point bending test result of Vacuum Bagging process

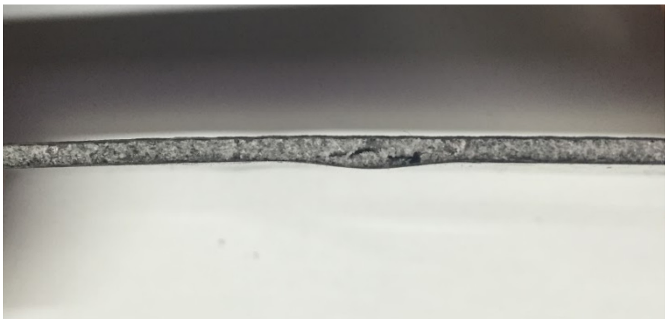
Specimen	Maximum Load (N)	Maximum Displacement (mm)		Maximum Stress (MPa)	Specific Strength Pa.m^3/kg	Failure type
		Experiment	Theory			
1**	27.13	-	-	-	-	Skin-core debond
2**	28.52	-	-	-	-	Skin-core debond
3	47.53	3.854	3.617	63.37	2.03×10^5	Core failure
4	42.76	3.769	3.262	57.01	1.85×10^5	Core failure
5	51.44	3.970	3.915	68.59	2.19×10^5	Core failure
Average	47.24	3.864	3.598	62.99	2.02×10^5	

Figure 9 Skin-core debond failure

** จากกราฟ (Figure 7) จะเห็นได้ว่าชิ้นงานที่ 1 และ 2 แรงที่กระทำสูงสุดน้อยกว่าชิ้นงานอื่นๆ เมื่อตรวจสอบการเสียหายพบว่าชิ้นงาน 2 ชั้นนี้มีการพังแบบ Skin-core debond คือแผ่นผิวกับแกนกลางหลุดออกจากกัน จึงตัด 2 ชิ้นนี้ไม่คิดในการคำนวณ

Table 4 Three point bending test result of Vacuum Infusion process

Specimen	Maximum Load (N)	Maximum Displacement(mm)		Maximum Stress (MPa)	Specific Strength Pa.m^3/kg	Failure type
		Experiment	Theory			
1	95.50	6.404	6.659	127.33	3.09×10^5	Core failure
2	83.31	5.638	5.922	111.08	2.71×10^5	Core failure
3	81.51	5.801	5.738	108.68	2.79×10^5	Core failure
4	94.74	6.535	6.735	126.32	3.20×10^5	Core failure
5	79.70	5.440	5.665	106.27	2.58×10^5	Core failure
Average	86.95	5.960	6.144	115.94	2.87×10^5	



ส่วนชิ้นงานอื่นๆที่ได้ทำการทดสอบจะพังแบบ core failure คือพังที่แกนกลางของวัสดุประกอบแบบมีแกนกลาง (Figure 10)

Figure 10 core failure

จากการทดสอบ (Table 3 , Table 4) จะพบว่าการผลิต 2 วิธีมีการรับแรงที่มากระทำที่ต่างกันจะพบว่าวิธีวัคคัมอินฟิวชั่นแรงกระทำสูงสุด ความแข็งแรงจำเพาะและมีความเค้นมากกว่าวิธีวัคคัมแบคกิ้ง เมื่อแทนแรงที่กระทำสูงสุดลงในสมการ(3) พบว่าระยะโก่งงอมีความใกล้เคียงกับการทดลอง

สรุป

วิธีการผลิตมีผลต่อคุณสมบัติทางกลจะเห็นว่าชิ้นงานแบบวัคคัมอินฟิวชั่นมีแรงกระทำสูงสุด และความเค้นมากกว่าประมาณ 59.18 % แต่วิธีวัคคัมอินฟิวชั่นก็มีน้ำหนักที่มากว่าเช่นกันอันเนื่องมาจากการเซาะร่องทำให้น้ำหนักเพิ่มมา 26.77 % จึงทำให้ต้องเปรียบเทียบความแข็งแรงจำเพาะเพื่อเปรียบเทียบในหน่วยน้ำหนักที่เท่ากัน พบว่าความแข็งแรงจำเพาะของชิ้นงานแบบวัคคัมอินฟิวชั่นมากกว่าวิธีวัคคัมแบคกิ้ง 34.76% ผลดังกล่าวสามารถเป็นข้อมูลในการเลือกวิธีการผลิตและเลือกวัสดุในการทำวัสดุประกอบแบบมีแกนกลางในเหมาะสมกับชิ้นงาน

การเปรียบเทียบระยะโก่งงอระหว่างการทดสอบกับทฤษฎีจะพบว่าผลจากการทดสอบมีความคาดเคลื่อนไปจากทฤษฎี 3-8% แสดงให้เห็นว่าการทดสอบนี้เป็นไปทฤษฎีของมาตราฐาน ASTM 393

เอกสารอ้างอิง

Alexandre Miguel de Almeida Garcia. 2010.**"Analysis of the displacement field of sandwich beams in 3 and 4 Point Bending".** Universidade de Lisboa, Portugal

A. Mostafa. 2013.**Insight into the shear behaviour of composite sandwich panels with foam core.** , University of New South Wales, Australia

Gibson,Ronald F. 2007.**Principles of composite material mechanics 2nd ed.** , New York.Taylor & FrancisGroup,New york.

Jack R.Vinson. 1999.**The Behavior of SANDWICH of ISOTROPIC and COMPOSITE MATERRIALS.**,Technomic Publishing Company,Pennsylvania.

การผลิตเอทานอลจากมันเทศคุณภาพต่ำด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339

The ethanol production from low grade sweet potato by *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339

ปาริฉัตร นิลอุปถัมภ์[1*] สุภาษิต ชูกลิ่น[2] และ ธณิกานต์ ธรสินธุ์[1]

Parichat Ninup-patham[1*], Supasit Chooklin[2] and Thanikan Thorasin[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยมันเทศคุณภาพต่ำด้วยกรดซัลฟิวริก ด้วยการแปรผันความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 1, 3 และ 5 % (v/v) ความเข้มข้นของมันเทศคุณภาพต่ำ 5, 15 และ 25 % (w/v) และทำการย่อยมันเทศคุณภาพต่ำด้วยความดันไอน้ำที่ความดัน 15 lb/in^2 อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30 min พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของมันเทศคุณภาพต่ำ โดยกรดซัลฟิวริก 1 % สามารถย่อยมันเทศคุณภาพต่ำ 25 % ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 390.99±5.35 g/L ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และเมื่อนำไปเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) 7.8 g/L เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของการหมักเอทานอลด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 10 % อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 48 hr พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้ 2.6 % ดังนั้นมันเทศคุณภาพต่ำสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล เพื่อเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่ได้

ABSTRACT

This study aimed to investigate optimally digestive condition of low-grade sweet potato by 1, 3 and 5 % (v/v) sulfuric acid with 5, 15 and 25 % (w/v) low grade sweet potato. Chemical digestion was carried out under 15 lb/in^2 saturated steam pressure, 121 °C for 30 min. It was found that reducing sugar concentration proportionally increased with sweet potato concentration. 1 % sulfuric acid could digest 25 % low grade sweet potatoes with a maximum concentration of 390.99±5.35 g/L reducing sugar yield and it was clearly statistically significant difference ($P<0.05$). After that, it was mixed into microbiological YPD medium (7.8 g/L) as sole carbon source for ethanol production by 10 % *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 at 30 °C for 48 hr and it was clearly demonstrated that 2.5 % ethanol was obtained; therefore, low grade sweet potato was a potential source as a substrate for alternative energy production.

Key Words: Sweet potato, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339, Hydrolysis, Ethanol

*Corresponding author; e-mail address: Parichatfern@gmail.com

[1]สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล. ศรีวิชัย จ.นครศรีธรรมราช 80240

[1]Division of Biotechnology, Faculty of Agroindustry, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat. 80240

[2]สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มทร.ศรีวิชัย จ.นครศรีธรรมราช 80240

[2]Division of Food Science and Technology, Faculty of Agroindustry, RMUTSV, Nakhon Si Thammarat. 80240

คำนำ

โลกของเรากำลังประสบปัญหาภาวการณ์ขาดแคลนน้ำมัน จากปัญหาเรื่องน้ำมันในตลาดโลกมีราคาแพง ก่อให้เกิดผลกระทบต่อเศรษฐกิจและวิถีชีวิตของประชาชนอย่างมีนัยสำคัญไปทั่วโลก เช่นเดียวกันความต้องการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงในประเทศไทยเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคขนส่ง (กรองแก้ว, 2555) ประกอบกับอัตราการใช้น้ำมันของประเทศไทย มีอัตราเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศมากกว่า 90 % คิดเป็นปริมาณโดยเฉลี่ยสูงถึง 6.16 แสนบาร์เรลต่อวัน ทำให้ต้องสูญเสียเงินตราต่างประเทศในการนำเข้าน้ำมันดิบมากกว่า 168,000 ล้านบาท ประเทศไทยมีวัตถุดิบที่ได้จากการเกษตรที่สามารถนำมาผลิตเป็นเอทานอลได้เป็นจำนวนมาก ได้แก่ ผลผลิตทางการเกษตรพวกธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และพวกพืชหัว เช่น มันสำปะหลัง มันเทศ เป็นต้น วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ อ้อย กากน้ำตาล ข้าวฟ่างหวาน เป็นต้น วัตถุดิบประเภทเส้นใย ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด รำข้าว เศษไม้ เศษกระดาษ ขี้เลื่อย วัชพืช รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานกระดาษ โรงงานปาล์มน้ำมัน เป็นต้น (ณีรนุช และสุจิตรา, 2550)

มันเทศ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวสามารถผลิตแป้งที่มีความสำคัญทั่วโลก ในภูมิภาคเอเชีย และแอฟริกาสามารถผลิตได้คิดเป็น 95 % ของโลก (Srichuwong *et al*., 2012) เนื่องจากมันเทศเป็นพืชที่ให้ผลผลิตสูง โดยทั่วไปมันเทศมีองค์ประกอบของแป้ง 20-30 % (วิภาภรณ์, 2546; Srichuwong *et al*., 2012; Zhang *et al*. 2013) อย่างไรก็ตามในการเพาะปลูก จะมีโรคและแมลงศัตรูพืชของมันเทศทำให้ผลผลิตเสียหาย 90 % ซึ่งจากการศึกษาของพิทักษ์พงศ์ (2552) พบว่า มันเทศที่เกิดความเสียหาย สามารถนำมาหมักเพื่อเข้าสู่กระบวนการการผลิตเอทานอลได้ โดยใช้เอนไซม์เพื่อปรับสภาพวัตถุดิบเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการย่อยแป้งให้เหลว และขั้นตอนที่ 2 เป็นการย่อยครั้งสุดท้ายหรือการทำให้หวานหรือเรียกว่า กระบวนการเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล (saccharification) เพื่อเข้าสู่การหมักโดยใช้เชื้อยีสต์สามารถผลิตเอทานอลได้ 3.4 % จะเห็นได้ว่าวิธีการปรับสภาพวัตถุดิบด้วยเอนไซม์มีขั้นตอนที่ซับซ้อน ปฏิกิริยาการย่อยสับสเตรทใช้เวลานาน นอกจากนี้เอนไซม์มีราคาแพง เมื่อเทียบกับผลผลิตที่ได้ของเอทานอล อาจไม่คุ้มต่อต้นทุนการผลิต

ดังนั้นโครงการวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และการปรับสภาพวัตถุดิบโดยใช้กรดซัลฟิวริก ซึ่งสามารถทำได้ง่าย นอกจากนี้การปรับสภาพวัตถุดิบด้วยกรดซัลฟิวริกใช้เวลาอันสั้น เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาล หลังจากนั้นเข้าสู่กระบวนการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 เพื่อให้ได้เอทานอลใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง รุ่น Libra S12 ยี่ห้อ bio-chrom บริษัท Scientific Promotion co., LTD

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ รุ่น SX-300/500/700 ยี่ห้อ SPEEDY AUTOCLAVE จากประเทศญี่ปุ่น

เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) รุ่น Z36HK ยี่ห้อ HERMLE LABORTECHNIK บริษัท K.S.P. OCTATECH COMPANY LIMITED

เครื่องวัดพีเอช รุ่น Seven Compact ยี่ห้อ METTLER TOLEDO

การเก็บตัวอย่างมันเทศคุณภาพต่ำที่เป็นโรคด้วงงวงมันเทศ

เก็บตัวอย่างมันเทศคุณภาพต่ำจากตลาดหัวอิฐ จ. นครศรีธรรมราช นำมาล้างดินออกให้สะอาด หั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ขนาดชิ้นละ 1-2 cm นำไปเรียงบนถาดสแตนเลส เพื่อให้น้ำระเหยออกได้ง่าย แล้วนำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 55 °C (ความชื้นน้อยกว่า 8 %) นำชิ้นมันเทศที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด จากนั้นนำมาร่อนผ่านการคัดขนาดด้วยเครื่องคัดขนาดแบบตะแกรง (มันเทศผงเส้นผ่านศูนย์กลาง < 0.5 mm) (Lareo *et al.*, 2013)

การศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นของมันเทศคุณภาพต่ำที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

นำมันเทศผงเส้นผ่านศูนย์กลาง < 0.5 mm มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณเถ้า เส้นใย โปรตีน ไขมัน ความชื้น (AOAC, 2000) และปริมาณแป้ง (ดัดแปลงจาก AOAC,1990)

การศึกษากระบวนการย่อยแป้งด้วยกรดซัลฟิวริกเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาล

การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยมันเทศผงด้วยกรดซัลฟิวริกโดยวิธีการนึ่งด้วยความดันไอน้ำ นำมันเทศผงจำนวน 5, 15 และ 25 g ย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกปริมาตร 100 ml เข้มข้น 1, 3 และ 5 % (v/v) ตามลำดับ วางแผนการทดลองแบบ 3×3 factorial in Completely Randomized Design; CRD 3 กรรมวิธี ๆ 3 ซ้ำ นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 lb/in^2 อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 30 min กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 4 (ปริญญพันธุ์ และคณะ, 2555) และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method (DNS) (Miller, 1959) เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และวิเคราะห์ปริมาณแป้งที่เหลือ (Pintado, *et al.*, 1999) นำข้อมูลจากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบหลายทาง โดยใช้โปรแกรม SPSS Statis tics 17.0 (SPSS, Inc., Chicaco, IL, USA)

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339

เตรียมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Yeast Malt Agar (YMA) ซึ่ง ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 3 g/L เพปโตน 5 g/L และน้ำตาลกลูโคส 10 g/L วุ้น 20 g/L บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 30°C เป็นเวลา 24-48 hr จากนั้นคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ปริมาตร 100 ml ในฟลาสก์ขนาด 250 ml เพาะเลี้ยงในเครื่องเขย่าควบคุม อุณหภูมิที่ 30 °C ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 18 hr และนำไปใช้ในเพาะเลี้ยง เพื่อศึกษาการผลิตเอทานอลต่อไป

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล

อาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ YPD ปริมาตร 300 ml ในฟลาสก์ขนาด 500 ml ซึ่ง ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 10 g/L เพปโตน 20 g/L และน้ำตาลรีดิวซ์ 7.8 g/L นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 min

การศึกษาการผลิตเอทานอล

การศึกษาผลของมันเทศที่ผ่านการไฮโดรไลซีส (สภาวะที่เหมาะสม) ต่อการเจริญและการผลิตเอทานอลด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5339 นำกล้าเชื้อถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ที่เตรียมไว้โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 10 % เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YPD ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นส่วนผสม 7.8 g/L ที่อุณหภูมิ 30 °C เก็บตัวอย่างทุก ๆ 6 hr เป็นเวลา 48 hr โดยนำน้ำหมัก 5 ml นำไปหมุนเหวี่ยงหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ด้วย drying method (Dermlim *et al.*, 1999) วัดค่าพีเอช โดยใช้ pH meter และนำส่วนใสจากการเหวี่ยงแยกน้ำหมักวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959) และวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วย vinometer

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของมันเทศคุณภาพต่ำ

จากการศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นมันเทศคุณภาพต่ำพันธุ์เนื้อสีส้มที่ได้จากตลาดหัวอิฐ จ. นครศรีธรรมราช พบว่า มันเทศผงประกอบไปด้วยความชื้น 7.35±1.61 % โปรตีน 3.89±0.16 % ไขมัน 1.34±0.21 % เถ้า 3.94±0.03 % เยื่อใย 10.29±2.16 % สตาร์ซ 55.25±5.37 % และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 81.57±0.00 % (Table 1) ซึ่งผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงมันเทศสีส้มคุณภาพต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธ์มันเทศชนิดต่าง ๆ รวมไปถึงสายพันธ์มันเทศสีส้มมีค่าองค์ประกอบทางเคมีที่ใกล้เคียงกันซึ่งไม่แตกต่างกันมากนัก (ดารินทร์, 2549; พิทักษ์พงศ์, 2552) และองค์ประกอบทางเคมีเหล่านี้จะมีผลต่อลักษณะและคุณสมบัติการพองตัวของแป้ง (กล้าณรงค์ และ เกื้อกูล, 2543) เมื่อผ่านกระบวนการปรับสภาพและกระบวนการย่อยแล้วจะทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น ซึ่งยีสต์ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเอทานอล ย่อมส่งผลให้ยีสต์ผลิตเอทานอลได้สูงเช่นเดียวกัน

Table 1 Proximate analysis of various types of low grade sweet potato.

Component (%)	Type of sweet potatoes			
	Sweet potato[2/] purple	Sweet potato[2/] yellow	Sweet potato[2/] orange	Sweet potato orange (low grade)[3/]
Moisture[4/]	6.57±0.88[1/]	6.86±0.99	7.34±0.77	7.35±1.61
protein	3.50±0.97	4.04±0.83	3.31±0.42	3.89±0.16
lipid	0.20±0.06	0.30±0.02	0.29±0.08	1.34±0.21
ash	-	-	-	3.94±0.03
fiber	-	-	-	10.29±2.16
starch	51.78±7.10	54.30±6.89	51.89±8.97	55.25±5.37
carbohydrate	-	-	-	81.57±0.00

[1/] Means (n=3)

[2/] Darin (2549)

[3/] This research

[4/] Dry weight

ผลการศึกษากระบวนการย่อยแป้งด้วยกรดซัลฟิวริกเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาล

จากการย่อยมันเทศผงความเข้มข้น 5, และ 15, 25 % (w/v) ด้วยการแปรผันความเข้มกรดซัลฟิวริก 1, 3 และ 5 % (v/v) นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 lb/in^2 เวลา 30 min ปริมาณของมันเทศผงจะมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยปริมาณมันเทศผงที่เพิ่มขึ้นจะแปรผันตรงต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และผลจากการทดลองพบว่าเมื่อใช้กรดซัลฟิวริกความเข้มข้นมากกว่า 1 % มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (Figure 1, Table 2) เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของกรดที่มากเกินไป จะไปทำลายโครงสร้างของน้ำตาลรีดิวซ์ และสารละลายที่ได้จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เนื่องจากเกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการในรายงานของ กำไล และคณะ (2559) พบว่า สีน้ำตาลเข้มที่เกิดขึ้นนั้นเป็นเพราะการย่อยด้วยกรดที่มีความเข้มข้นสูงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมี เนื่องจากพอลิแซคคาร์ไรด์ถูกย่อยด้วยกรดจะกลายเป็นมอโนแซคคาร์ไรด์ และเปลี่ยนเป็นน้ำตาล (สิริวรรณ, 2554; Scholz *et al*. 2013) และมีอุณหภูมิสูงขึ้นทำให้น้ำตาล เพนโทส เฮกโซส จะเกิดการสูญเสียน้ำ (dehydration) สามโมเลกุลทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีอื่น ๆ ก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นพิษพวกอนุพันธ์ของเฟอฟิวรัล (furfural) 5-ไฮดรอกซีเมทธิลเฟอร์ฟิวรอล และสารประกอบฟีโนลิก (Palmqvist and Hahn-Hagerdal, 2002; Guerra-Rodriguez *et al*., 2012) ดังนั้นความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมต่อการย่อยมันเทศผงคือ 1 % (v/v) และแป้ง 25 g (w/v) ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 390.99±5.35 g/L

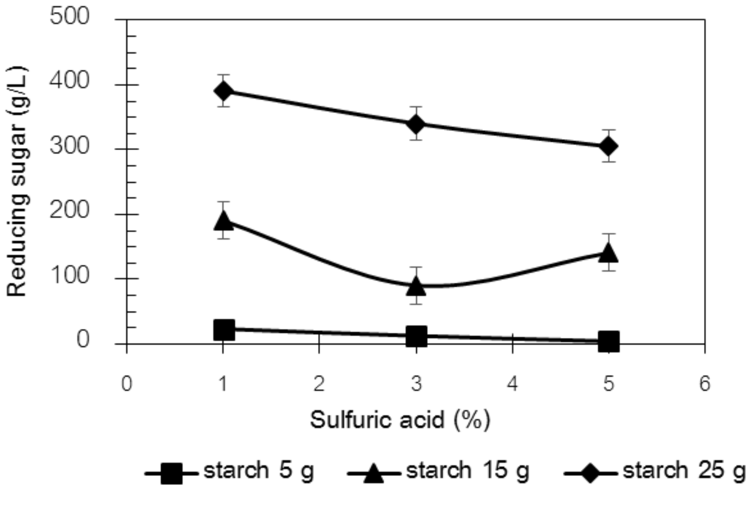


Figure 1 Effect of the starch content and the concentration of sulfuric acid on the amount of reducing sugar during digestion process.

Table 2 Effect of reducing sugar from 5, 15 and 25 g (w/v) low grade sweet potatoes hydrolyzed by various concentration of sulfuric acid at 121°C for 30 min.

Sweet potato starch (g)	Reducing sugar (g/L)		
	Sulfuric acid (%)		
	1	3	5
5	23.46±5.68[c1/]	12.78±4.89[c]	4.37±1.68[c]
15	190.40±4.37[b]	90.75±2.57[b]	140.90±4.37[b]
25	390.99±5.35[a]	340.52±4.04[a]	305.25±4.22[a]

[1/] Means (n=3) followed by the different column letter indicates statistically difference ($P < 0.05$)

ผลการศึกษาการผลิตเอทานอล

จากการใช้ความเข้มข้นของมันเทศผง 25 % (w/v) ย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก 1 % ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 390.99 g/L ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเหลว YPD แทนน้ำตาลกลูโคส 7.8 g/L หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5339 10 % อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 48 hr เก็บตัวอย่างทุก 6 hr พบว่า เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5339 มีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์อย่างรวดเร็วที่เวลา 6 hr ส่งผลให้น้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงก็เริ่มลดลงตั้งแต่ที่เวลา 6 hr เป็นต้นไปและเริ่มคงที่ตั้งแต่เวลา 6-12 hr เนื่องจากการใช้แหล่งน้ำตาลในการสร้างมวลเซลล์ และผลิตภัณฑ์ส่งผลให้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5339 มีการเจริญเติบโตตั้งแต่เวลาที่ 6 hr และเจริญเติบโตสูงสุดที่เวลา 24 hr ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้ 1.9 % หลังจากนั้นอัตราการเจริญเติบโตก็เริ่มลดลงเนื่องจากเริ่มเข้าสู่อัตราการตาย และมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ และความเป็นพิษของเอทานอล (Lin *et al.*, 2012) ที่ 1.9 % ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5339 ก็สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดที่เวลา 36 hr มีปริมาณเอทานอล 2.6 % เนื่องจากเชื้อยีสต์เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้ดี สามารถเจริญได้ในสภาวะเป็นกรด และทนเอทานอลได้ดี (Meenakashi and Kumaresan, 2014) ส่วนอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชก็เริ่มลดลงตั้งแต่ที่เวลา 6 hr หลังจากนั้นมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่เวลาที่ 24 hr เป็นต้นไป (Figure 2) จะเห็นว่าผลจากการทดลองการใช้มันเทศคุณภาพต่ำสามารถใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้ สามารถผลิตเอทานอลได้ถึง 2.6 % ซึ่งในรายงานของพิทักษ์พงศ์ (2552) ได้ทำการเปรียบเทียบระหว่างมันเทศเหลือทิ้งที่ได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของด้วงงวงมันเทศ และมันเทศคุณภาพดี นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเอทานอล เป็นเวลา 14 วัน พบว่าได้ปริมาณเอทานอลเป็นดังนี้ 3.4 และ 3.6 % ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับมันเทศคุณภาพดี ดังนั้นมันเทศคุณภาพต่ำมีศักยภาพที่จะใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนแหล่งใหม่ และเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มแก่ผลผลิตทางการเกษตร

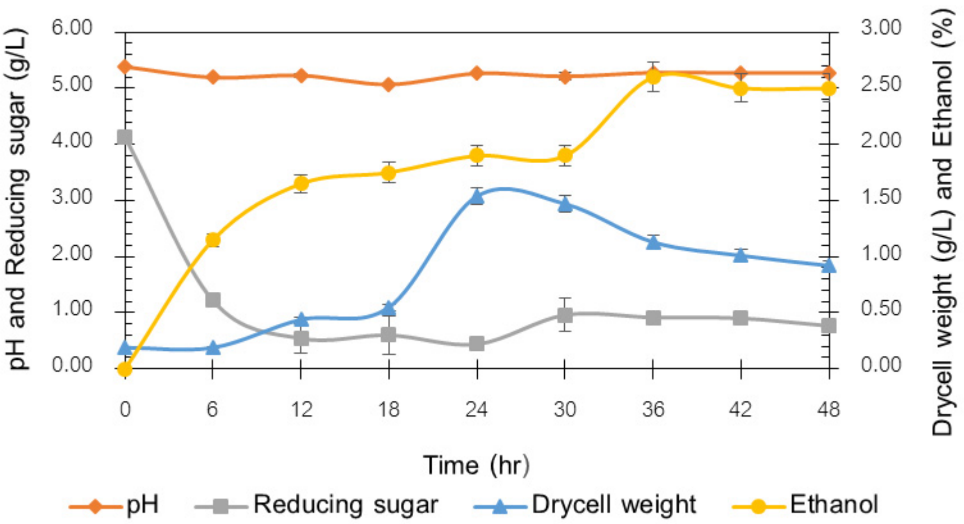


Figure 2 Fermentation kinetic parameters by *S. cerevisiae* TISTR 5339 in low grade sweet potatoes hydrolysate.

สรุป

สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยมันเทศผงด้วยกรดซัลฟิวริกเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เฉลี่ย 390.99 g/L คือ มันเทศผงร้อยละ 25 g (w/v) กรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 (v/v) และนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ย่อยได้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 2.6 % ที่เวลา 36 hr ด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5339 10 %

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยประจำปี พ.ศ. 2559

เอกสารอ้างอิง

กรองแก้ว เลาหลิดานนท์. 2555. น้ำมันดีเซลล์สังเคราะห์เชื้อเพลิงใหม่ทดแทนน้ำมันดีเซล หนึ่งในพลังงานทางเลือกของประเทศไทย. **วารสารพลังงานทางเลือก** 10 (27): 25 – 32.

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543. **เทคโนโลยีแป้ง**. สำนักพิมพ์แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

กำไล เลาหพัฒนาเลิศ, กฤติธี แจ่มจำรูญ และ ลักขณา โกบปุเลา. 2559. การผลิตเอทานอลจากกากมันสำปะหลังโดยการใช้กรดและด่างเจือจางในกระบวนการปรับสภาพ, น. 281 – 290. ใน **การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต วันที่ 29 เมษายน 2559**. มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี.

ดารินทร์ กุลมาโนชวงศ์. 2549. **การแยกโปรตีนและการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพบางประการของสตาร์ชมันเทศ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ณีรนุช ควรเชิดชู และสุจิตรา วงเกษมจิตต์. 2550. **การผลิตน้ำมันเชื้อเพลิงผสมเอทานอล**. วิทยาลัยปิโตรเลียมและปิโตรเคมี, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปริญญพันธุ์ เพชรจรัส เมทินี วสุนธราวัฒน์ และ อรรจนา ด้วงแพง. 2555. การศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยมันเส้นด้วยสารเคมี. **วารสารวิทย์ กษ** 43 (2): 37 – 40.

พิทักษ์พงศ์ ป้อมปราณี. 2552. การผลิตเอทานอลจากมันเทศเหลือทิ้ง. **วารสารวิชาการราชภัฏตะวันตก** 1 (4): 5 – 12.

วิภาภรณ์ วรรณธนาเลิศ. 2546. **ความสัมพันธ์ของปริมาณน้ำยาง ความลึกของการลงหัวในมันเทศ** (*Ipomoea batatas* Lamk.) **สายพันธุ์ต่าง ๆ กับการเข้าทำลายของด้วงงวงมันเทศ** (*Cylas formicarius F.*) วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สิริวรรณ แก้วชิงดวง. 2554. **การเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยการบำบัดขั้นต้น**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

A.O.A.C. 2000. Official methods of analysis. **Association of official analytical chemist**. 17th ed. Gaitherburg, Maryland, U.S.A.

——— 1990. Official methods of analysis. **The Association of Official Agricultural Chemist**. 15th ed. Arlington, Virginia, U.S.A.

Dermlim, W., Prasetsan, P., Doelle, HW. 1999. Screening and characterization of bioflocculant produced by isolated *Klebsiella sp*. **Applied Microbial and Biotechnology** 52: 698-703.

Guerra-Rodriguez, E., Portilla-Rivera, O.M., Ramıirez, J.A. and Vazquez, M. 2012. Modelling of the acid hydrolysis of potato (Solanum tuberosum) for fermentative purposes. **Biomass and Bioenergy** 42: 59 – 68.

Lareo, C., Ferrari, M.D., Guigou, M., Fajardo, L., Larnaudie, V., Ramirez, B. and Martinez-Garreiro, J. 2013. Evaluation of sweet potato for fuel bioethanol production: hydrolysis and fermentation. **SpringerPlus** 2: 1 – 11.

Lin,Y., Zhang, W., Li. Chunjie., Sakakibara. K., Tanaka. S. and Kong, H. 2012. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. **Biomass & Bioenergy** XXX: 1 – 7.

Meenakshi, A. and Kumaresan, R. 2014. Ethanol Production from Corn, Potato Peel Waste and its Process Development. **International Journal of ChemTech Research** 6: 2843-2853.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry** 31: 426 – 428.

Palmqvist, E. and Hahn-Hagerdal, B. 2002. Fermentation of Lignocel-lulosic Hydrolysates. I: Inhibition and Detoxification. **Bioresource Technology** 74: 17-24.

Pintado, J., Guyot J. P. and Raimbault, M. 1999. Lactic acid production from mussel processing wastes with an amylolytic bacterial strain. **Enzyme and Microbial Technology** 24: 590 – 598.

Scholz, M.J., Riley, M.R. and Cuello, J.L. 2013. Acid hydrolysis and fermentation of microalgal starches to ethanol by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Biomass and Technology** 48: 59 - 65.

Srichuwong, S., Orikasa, T., Matsuki, J., Shiina, T., Kobayashi, T. and Tokuyasu, K. 2012. Sweet potato having a low temperature-gelatinizing starch as a promising feedstock for bioethanol production. **Biomass and Technology** 39: 120 – 127.

Zhang, P., Chen, C., Shen, Y., Ding, T., Ma, D., Hua, Z. and Sun, D. 2013. Starch saccharification and fermentation of uncooked sweet potato roots for fuel ethanol production. **Bioresource Technology** 128: 835 – 838.

สถาปัตยกรรมที่ได้รับอิทธิพลตะวันตกในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

Western Influences on Architecture in Lao PDR

ธนูเพชร อ่อนมาวง[1*]

Thanouphet Onmavong[1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจสถาปัตยกรรมที่ได้รับอิทธิพลตะวันตก ได้แก่ สถาปัตยกรรมแบบอาณานิคม ลาวอาณานิคม และลาวประยุกต์ ในประเทศ สปป.ลาว ตั้งแต่ พ.ศ.2367 ซึ่งเป็นปีที่สถาปนารัฐอินโดจีนของฝรั่งเศส ถึง ช่วงสิ้นสงครามโลกครั้งที่ 2 พ.ศ.2488 เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการศึกษาค้นคว้าต่อไป จากการสำรวจพบว่ามีอาคารรวม 267 หลัง ใน 13 แขวง ประกอบด้วยอาคารแบบอาณานิคม 173 หลัง แบบลาวอาณานิคม 80 หลัง และแบบลาวประยุกต์ 14 หลัง สรุปได้ว่า อาคารส่วนใหญ่พบมากตามเมืองที่อยู่ริมแม่น้ำโขง ส่วนอาคารที่ตั้งอยู่ริมแม่น้ำสายเล็กและเมืองที่ไม่อยู่ริมน้ำจะพบน้อย เพราะโดนทำลายจากสงคราม อาคารอาณานิคมส่วนใหญ่เป็นอาคารสถาบันและธุรกิจการค้า ซึ่งได้รูปแบบสถาปัตยกรรมมาจากฝรั่งเศสที่นำมาสร้างในเวียดนาม และกัมพูชา อาคารลาวอาณานิคมส่วนใหญ่เป็นศาสนสถานและบ้านพักอาศัย ซึ่งได้นำรูปแบบมาจากการลอกแบบของสถาปัตยกรรมอาณานิคมมาประสมกับสถาปัตยกรรมลาว และใช้วัสดุพื้นถิ่นซึ่งสร้างโดยคนพื้นถิ่นและช่างญวน ส่วนอาคารลาวประยุกต์พบน้อยในทุกประเภทอาคารเนื่องจากวัสดุส่วนใหญ่เป็นไม้จึงชำรุดทรุดโทรมไปตามกาลเวลา

ABSTRACT

This research explored colonial buildings, Lao colonial buildings and Lao contemporary buildings to create a database of buildings with architectural style influenced by the Western in Lao PDR from 2367 BE, the establishment of French Indochina, to 2448 BE, the ending of World War II. A total of 267 buildings in 13 provinces were explored. There are 173 colonial buildings, 80 Lao colonial style buildings, and 14 Lao contemporary buildings. Western influenced architectures in Lao PDR are mostly found in the cities along Mekong riverside. Western influenced architectures were found less along smaller riversides or smaller cities because buildings were mostly destroyed during Indo-China war. Colonial style buildings are mostly commercial and institute buildings. This style was introduced by French when they came to Vietnam and Cambodia. Religious buildings and housing are mostly Lao colonial style inspired by colonial style integrated with Lao architecture creating by Lao and Vietnamese craftsmen. Lao contemporary are less found according to the material which is wood that decay with time.

Key words: colonial buildings, Lao contemporary, architecture in Laos PDR

*Corresponding author; e-mail address: **Thanouphet@gmail.com**

[1]ภาควิชาสถาปัตยกรรมศาสตร์ คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[1]Department of Architecture, Faculty of Architecture, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

คำนำ

ในต้นศตวรรษที่ 20 สาธารณรัฐฝรั่งเศส ได้ยึดเอาแค้วนต่าง ๆ ในเวียดนาม ตั้งแต่แคว้นตังเกี๋ย แค้วน อันนัม แค้วนโคชินไชนา แค้วนกัมพูชา และถือโอกาสยึดพื้นที่ริมฝั่งซ้ายของแม่น้ำโขง จากการทำสัญญาแบ่งดินแดนจากสยามใน พ.ศ. 2436 ทำให้ลาวกลายเป็นแคว้น ที่ 5 ในสหพันธ์อินโดจีนฝรั่งเศส หลังจากนั้น หัวเมืองต่าง ๆ ได้เริ่มมีการบูรณะโดยยังคงรักษาระบบการปกครองแบบเจ้าของลาวแต่ละเมืองเอาไว้ แต่อยู่ใต้การควบคุมของข้าหลวงฝรั่งเศส มีการวางผังเมืองใหม่ และสร้างอาคารสิ่งก่อสร้างต่าง ๆ เช่น ที่พักอาศัย ศาสนสถาน อนุสรณ์สถาน โรงเรียนระดับประถมศึกษา โรงพยาบาล ในเมืองต่าง ๆ ได้แก่ นครหลวงเวียงจันทน์ หลวงพระบาง เชียงขวาง คำม่วน สุวรรณเขต จำปาศักดิ์

ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้ประเทศลาวในปัจจุบัน มีอาคารและสิ่งก่อสร้างมากมาย ทั้งที่เป็นอาคารสาธารณะและอาคารส่วนบุคคล จากโครงการศึกษาการขึ้นทะเบียนมรดกสถาปัตยกรรมผังเมือง พ.ศ.2542 - 2543[1] ได้มีการจำแนก รูปแบบอาคารเป็น อาคารลาวเดิม (Lao ancient buildings) (Figure 1) อาคารลาวประยุกต์ (Lao Pa Gnuk buildings derived from Lao ancient buildings) (Figure 2) อาคารลาวอาณานิคม (Lao buildings of the colonial period) (Figure 3) อาคารอาณานิคม (colonial buildings) (Figure 4) อาคารทันสมัย (building was inspired by modern architecture) (Figure 5) อาคารประสม (unclassifiable buildings) (Figure 6) อาคารเรือนแถว (compartments subsets) (Figure 7) อาคารพักอาศัยรวม (apartment buildings) (Figure 8)

Figure 2 Lao ancient building

Figure 3 Lao Pa Gnuk building

Figure 3 Lao colonial building

Figure 4 Colonial building

Figure 5 Contemporary building

Figure 6 Unclassifiable building

Figure 7 Compartments subsets

Figure 8 Apartment buildings

---

[1] Atelier du patrimoine - l'Institut de recherche en urbanisme – l'Institut parisien de recherche architecture, urbanistique, société, Atelier du patrimoine IRU – IPRAUS, Projet d'Inventaire et d'étude du patrimoine Architectural, Urbain & Paysager de la ville de Vientiane, 1999-2002.

จากการทบทวนวรรณกรรม งานวิจัยส่วนใหญ่ที่ทำในพื้นที่ สปป.ลาว จะเกี่ยวกับสถาปัตยกรรมลาวเดิมและลาวประยุกต์ ที่ใช้คำว่าสถาปัตยกรรมพื้นถิ่น ส่วนอาคารลาวอาณานิคม และอาคารอาณานิคม มีการศึกษาอยู่บ้างในบางชุมชน แต่ยังไม่มีงานวิจัยใดที่ศึกษารวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับสถาปัตยกรรมที่ได้รับอิทธิพลตะวันตกทั่วประเทศลาว

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อสำรวจอาคารสถาปัตยกรรมที่ได้รับอิทธิพลตะวันตก ที่หมายรวมทั้ง อาคารอาณานิคม อาคารลาวอาณานิคม และอาคารลาวประยุกต์ แล้วจัดทำเป็นฐานข้อมูลสถาปัตยกรรมใน สปป.ลาว ที่จะทำให้รู้ที่มาของรูปแบบสถาปัตยกรรมลาวในปัจจุบัน จำนวนที่ยังหลงเหลืออยู่เพื่อการอนุรักษ์ และพัฒนาให้กลายเป็นแหล่งท่องเที่ยวในอนาคต ซึ่งมีขอบเขตของการศึกษา อาคารที่สร้างขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2367 ซึ่งเป็นปีที่สถาปนารัฐอินโดจีนของฝรั่งเศส (French Indochina) จนถึง ช่วงสิ้นสงครามโลกครั้งที่สอง ในปี พ.ศ. 2488 ซึ่งเป็นปีที่ สปป.ลาว ได้สถาปนาประเทศเป็นสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บข้อมูลภาคสนาม

ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นด้วยการสอบถามคนในพื้นที่ แล้วลงไปสำรวจพื้นที่จริง ด้วยการถ่ายรูปอาคาร และเก็บข้อมูลของอาคารแต่ละหลังที่ลงไปสำรวจ ด้วยการกรอกแบบฟอร์ม (form) ที่ได้กำหนดไว้ (Figure 10) จำแนกตามประเด็นสำคัญ 8 ประเด็น ได้แก่

1. ชนิดอาคาร ได้แก่ อาคารเดี่ยว อาคารแฝด อาคารแถว อาคารอื่น ๆ
2. ประเภทอาคาร ได้แก่ อาคารสถาบัน อาคารบ้านพักอาศัย อาคารธุรกิจการค้า อาคารศาสนสถาน
3. รูปแบบอาคารได้แก่ อาคารอาณานิคม อาคารลาวอาณานิคม อาคารลาวประยุกต์
4. ผู้ครอบครอง ได้แก่ ราชการ ส่วนบุคคล เอกชน องค์กรทางศาสนา
5. การใช้ประโยชน์อาคาร ได้แก่ บ้านพักอาศัย ธุรกิจการค้า สาธารณประโยชน์ ทิ้งร้าง
6. สภาพอาคาร ได้แก่ ดี ซ่อมแซม ทรุดโทรมมาก
7. สถานภาพอาคาร ได้แก่ ทั่วไป อนุรักษ์ โบราณสถาน
8. ข้อเสนอในการปรับปรุงได้แก่ คงสภาพและคงการใช้ คงสภาพและเปลี่ยนการใช้ เปลี่ยนสภาพและคงการใช้ เปลี่ยนสภาพและเปลี่ยนการใช้

ประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว (สปป.ลาว) ตั้งอยู่ใจกลางของคาบสมุทรอินโดจีน ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทิศเหนือติดกับประเทศจีน ทิศตะวันออกติดกับประเทศเวียดนาม ทิศใต้ติดกับประเทศกัมพูชา ทิศตะวันตกติดกับประเทศไทย และทิศตะวันตกเฉียงเหนือติดกับประเทศเมียนม่า มีพื้นที่ทั้งหมดสามแสนตารางกิโลเมตร ปัจจุบัน ระบบการปกครองใน สปป.ลาว แบ่งออกเป็น แขวง นครหลวง เมือง บ้าน แต่ละแขวงจะมีเจ้าแขวงเป็นผู้บริหารสูงสุด นครหลวงก็มีเจ้าครองนครหลวง ในแต่ละแขวงจะแบ่งออกเป็นหลาย ๆ เมือง มีเจ้าเมืองเป็นผู้บริหาร และแต่ละเมืองจะแบ่งออกเป็นหลาย ๆ บ้าน มีนายบ้านเป็นผู้บริหาร ปัจจุบัน สปป.ลาว มี 16 แขวง 1 นครหลวง แบ่งออกเป็น สามภาคคือ ภาคเหนือประกอบด้วย แขวงพงสาลี อุดมไชย บ่อแก้ว

ไชยะบุรี หลวงพระบาง เชียงขวาง หัวพัน ภาคกลางประกอบด้วย แขวงเวียงจันทน์ นครหลวงเวียงจันทน์ บริคำไชย คำม่วน สุวรรณเขต ภาคใต้ประกอบด้วย แขวงสาระวัน เซกอง อัตปือ และจำปาศักดิ์

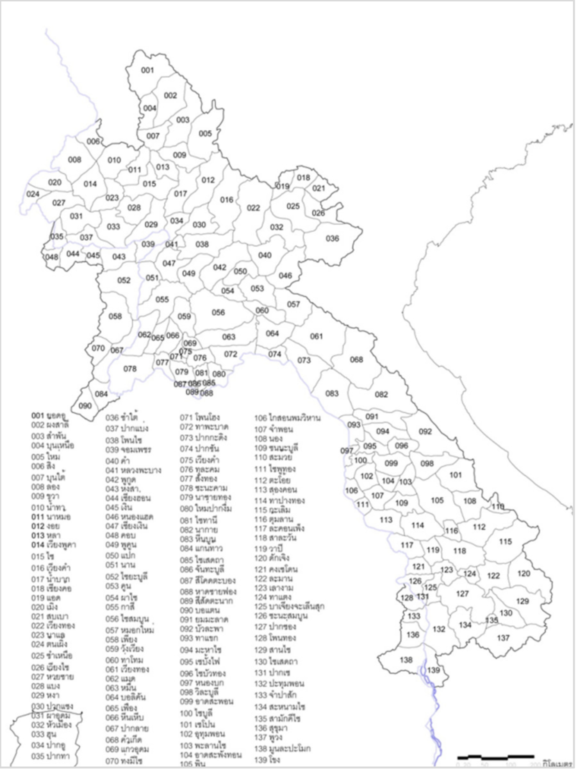


Figure 9 Code Cities in Lao,PDR.

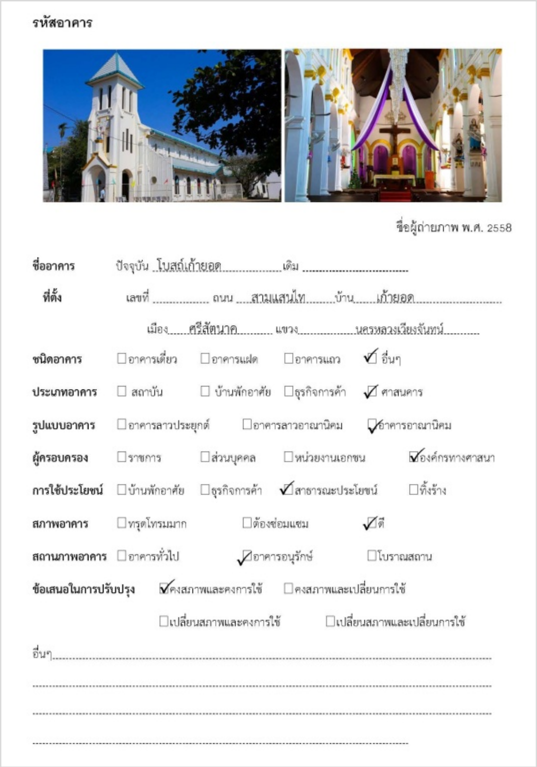


Figure 10 Sample form collecting data.

ผลการวิจัย

จากการสำรวจ (Table 1) พบสถาปัตยกรรมอิทธิพลตะวันตก ใน 13 แขวง (Figure 12) รวม 267 หลัง แบ่งเป็นรูปแบบอาคารได้แก่ อาคารลาวประยุกต์ 14 หลัง อาคารลาวอาณานิคม 80 หลัง อาคารอาณานิคม 173 หลัง ภายในแขวงหลวงพระบาง 81 หลัง นครหลวงเวียงจันทน์ 50 หลัง แขวงคำม่วน 10 หลัง แขวงสุวรรณเขต 29 หลัง แขวงจำปาศักดิ์ 63 หลัง แขวงบ่อแก้ว 6 หลัง แขวงไชยบุรี 9 หลัง แขวงเวียงจันทน์ 8 หลัง แขวงบอลิคำไซ 3 หลัง แขวงอัดตะปือ 4 หลัง แขวงหัวพัน 2 หลัง และแขวงเชียงขวาง 2 หลัง

รูปแบบอาคารอาณานิคม พบทั้งหมด 173 หลัง (Table 2 – 3) ใน 12 แขวง พบมากที่สุดคือ แขวงหลวงพระบาง 44 หลัง จำปาศักดิ์ 40 หลัง นครหลวงเวียงจันทน์ 36 หลัง และสุวรรณเขต 22 หลัง ซึ่งแบ่งเป็นประเภทอาคาร สถาบัน 59 หลัง บ้านพักอาศัย 29 หลัง ธุรกิจการค้า 78 หลัง และศาสนคาร 7 หลัง สภาพดี 91 หลัง ต้องซ่อมแซม 91 หลัง ทรุดโทรมมาก 12 หลัง

รูปแบบอาคารลาวอาณานิคมทั้งหมด 80 หลัง พบใน 8 แขวง พบมากที่สุดคือ หลวงพระบาง 31 หลัง จำปาศักดิ์ 22 หลัง นครหลวงเวียงจันทน์ 13 หลัง ซึ่งแบ่งประเภทอาคารเป็นสถาบัน 17 หลัง บ้านพักอาศัย 23 หลัง ธุรกิจการค้า 22 หลัง ศาสนสถาน 18 หลัง สภาพดี 46 หลัง ต้องซ่อมแซม 31 หลัง ทรุดโทรมมาก 3 หลัง

รูปแบบอาคารลาวประยุกต์ พบใน 5 แขวง ได้แก่ หลวงพระบาง 6 หลัง เวียงจันทน์ 3 หลัง นครหลวงเวียงจันทน์ 1 หลัง สุวรรณเขต 3 หลัง จำปาศักดิ์ 1 ซึ่งจะแบ่งเป็นสถาบัน มี 4 หลัง บ้านพักอาศัย 2 หลัง ธุรกิจการค้า 6 หลัง ศาสนคาร 2 หลัง สภาพดี 9 หลัง ต้องซ่อมแซม 5 หลัง

ส่วนผู้ครอบครองอาคารราชการ ทรุดโทรมมาก 4 หลัง ต้องซ่อมแซม 17 หลัง ดี 15 หลัง ผู้ครอบครองส่วนบุคคล ทรุดโทรมมาก 7 หลัง ต้องซ่อมแซม 61 หลัง ดี 91 หลัง ผู้ครอบครองหน่วยงานเอกชน ทรุดโทรมมาก 1 หลัง ต้องซ่อมแซม 22 หลัง ดี 21 หลัง ผู้ครอบครององค์กรทางศาสนา ทรุดโทรมมาก 3 หลัง ต้องซ่อมแซม 6 หลัง ดี 19 หลัง

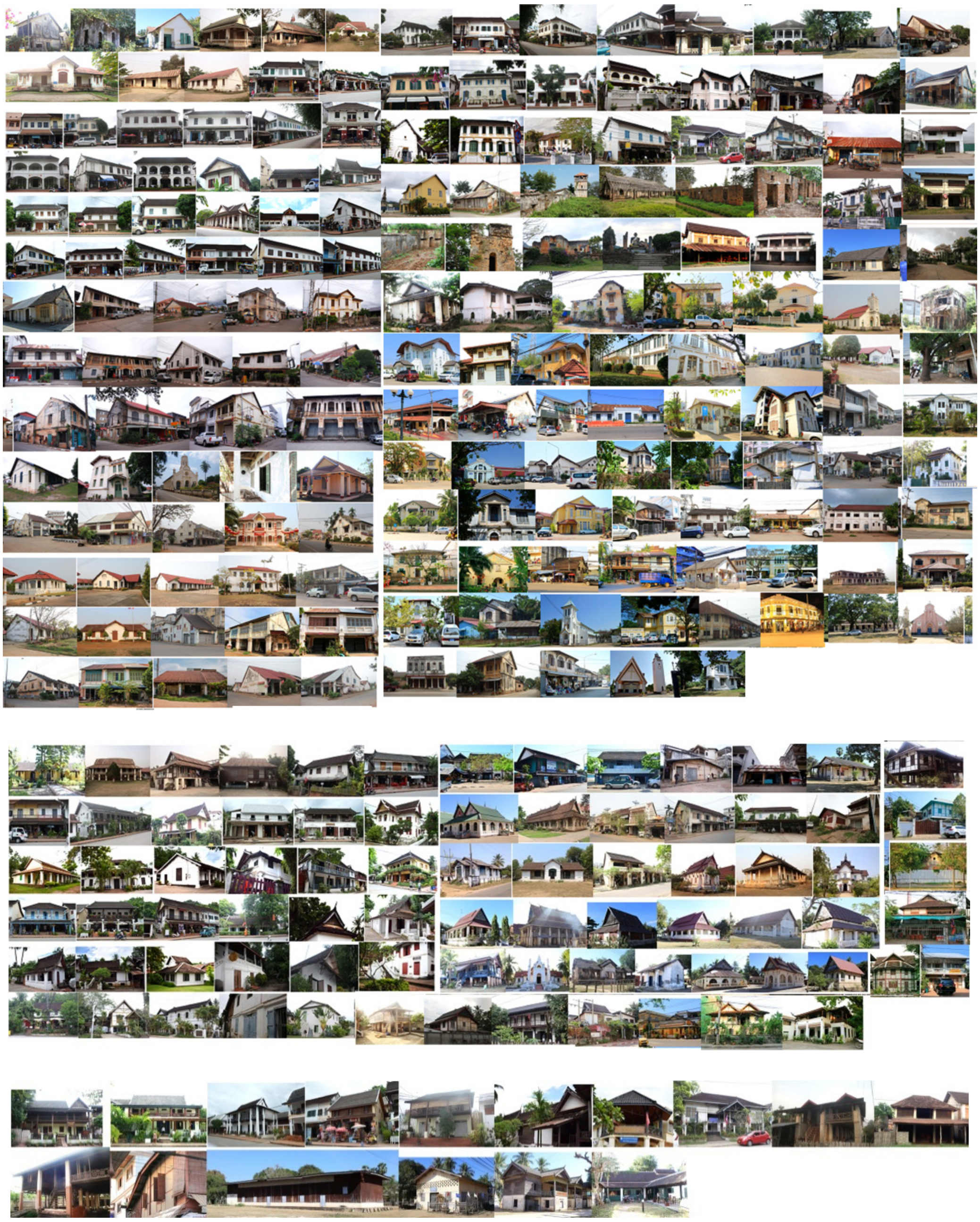


Figure 11 Pictures of colonial, Lao colonial, Lao contemporary buildings.

Table 1 Survey results.

Survey results															
Province	Building shape				Building type				Building style			Owner			
	Single	Twin	Row	Others	Institute	Residential	Commercial	Religious	Lao Pa Gnuk	Lao colonial	Colonial	Government	Individual	Agencies	Religious
Luangphabang	30	1		7	8	10	53	10	6	31	44	5	63	3	10
Houaphanh	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	1	1	0	0
Bokeo	1	0	0	5	6	0	0	0	0	0	6	0	0	6	0
XiangKhuang	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	2	1	0	0	1
Xaiyabuli	8	0	1	0	7	1	1	0	0	3	6	6	2	1	0
Vientiane	6	1	1	0	1	5	1	1	3	2	3	0	6	0	2
Bolikhamxai	3	0	0	0	0	3	0	0	0	2	1	0	2	1	0
VientianeCapital	45	1	2	2	23	14	12	1	1	13	36	6	30	13	1
Khammuan	2	0	5	3	2	4	3	1	0	0	10	0	6	4	0
Savannakhet	12	0	12	5	8	6	12	3	3	4	22	5	18	3	3
Champasak	20	0	23	20	23	9	24	7	1	22	40	11	31	13	8
Attapue	4	0	0	0	1	0	0	3	0	3	1	1	0	0	3

Province		Function				Condition			State			Suggestions			
		Residential	Commercial	Public	Abandoned	Dilapidated	Need to repair	Good	General	Conservation	Archaeological	Maintain Condition ,Maintain Function	Maintain Condition ,Change Function	Changes Condition ,Maintain Function	Changes Condition ,Changes Function
Luangphabang		6	56	19	0	0	2	79	0	80	1	78	0	3	0
Houaphanh		0	1	1	0	1	1	0	2	0	0	0	0	1	1
Bokeo		0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	6	0
XiangKhuang		0	0	0	2	2	0	0	1	0	1	0	0	1	1
Xaiyabuli		1	0	8	0	0	9	0	3	6	0	0	0	9	0
Vientiane		4	0	1	3	2	4	2	8	0	0	2	0	3	3
Bolikhamxai		2	0	0	1	1	1	1	3	0	0	1	0	1	1
VientianeCapital		15	12	23	0	3	22	25	35	15	0	26	2	13	9
Khammuan		4	3	3	0	0	7	3	3	7	0	3	0	3	4
Savannakhet		4	14	10	1	1	21	7	7	22	0	7	0	19	3
Champasak		9	21	30	3	4	32	27	20	42	1	30	0	30	3
Attapue		0	0	3	1	1	1	2	4	0	0	2	0	1	1

การใช้ประโยชน์อาคารบ้านพักอาศัย ที่มีสถานภาพ เป็นอาคารทั่วไป 25 หลัง อาคารอนุรักษ์ 20 หลัง โบราณสถาน 0 หลัง การใช้ประโยชน์อาคารธุรกิจการค้า ที่มีสถานภาพ เป็นอาคารทั่วไป 22 หลัง อาคารอนุรักษ์ 84 หลัง โบราณสถาน 1 หลัง การใช้ประโยชน์อาคารสาธารณประโยชน์ที่มีสถานภาพ เป็น อาคารทั่วไป 32 หลัง อาคารอนุรักษ์ 71 หลัง โบราณสถาน1 หลัง สำหรับทิ้งร้างที่มีสถานภาพ เป็น อาคารทั่วไป 7 หลัง อาคารอนุรักษ์ 3 หลัง โบราณสถาน 1 หลัง สถานภาพอาคารทั่วไปที่มีสภาพทรุดโทรมมาก 8 หลัง ต้องซ่อมแซม 39 หลัง ดี 39 หลังสถานภาพอาคารอนุรักษ์ที่มีสภาพทรุดโทรมมาก 6 หลัง ต้องซ่อมแซม 66 หลัง ดี 106 หลัง สถานภาพอาคารโบราณสถานที่สภาพทรุดโทรมมาก 1 หลัง ต้องซ่อมแซม 1 หลัง ดี 1 หลัง

สรุป

อาคารสถาปัตยกรรมตะวันตกส่วนใหญ่พบมากตามเมืองที่อยู่ริมแม่น้ำโขง (Figure 12) ได้แก่ เมืองห้วยทราย เมืองหลวงพระบาง เมืองปากลาย นครหลวงเวียงจันทน์ เมืองท่าแขก เมืองไกสอน พรหมวิหาร เมืองปากเซ และเมืองจำปาศักดิ์ ซึ่งเป็นเมืองหลวงเก่าของแต่ละแขวงที่ฝรั่งเศสปกครอง อาคารที่เหลือตั้งอยู่ตามริมแม่น้ำสายเล็ก แม่น้ำงึม แม่น้ำซัน แม่น้ำเซ และดอนโขง ได้แก่ เมืองเวียงจันทน์ เมืองทุละคม เมืองปากซัน เมืองสามัคคีไชย และเมืองโขง เพราะเมืองเหล่านี้เป็นจุดพักของผู้ที่จะเดินทางไปเมืองใหญ่ ส่วนเมืองต่าง ๆ ที่ไม่อยู่ริมน้ำได้แก่ เมืองซำเหนือ เชียงขวาง เป็นการสร้างหลังจากฝรั่งเศสขยายเส้นทางถนนออกไป และยังโดนทำลายจากสงครามในช่วงที่ประเทศอเมริกาเข้ามาปราบปรามคอมมิวนิสต์ทำให้พบอาคารน้อย

อาคารอาณานิคมส่วนใหญ่เป็นอาคารสถาบัน และธุรกิจการค้า ซึ่งได้รูปแบบมาจากฝรั่งเศสที่นำมาสร้างในเวียดนาม กัมพูชา ส่วนอาคารลาวอาณานิคมส่วนใหญ่เป็นศาสนสถาน และบ้านพักอาศัย ซึ่งมีการลอกแบบจากอาคารอาณานิคมมาประสมกับแบบลาว โดยใช้วัสดุพื้นถิ่น สร้างโดยช่างลาวและช่างญวน สำหรับอาคารลาวประยุกต์พบน้อย เนื่องจากวัสดุส่วนใหญ่เป็นไม้จึงชำรุดทรุดโทรมไปตามกาลเวลา (Figure 13)

อาคารบ้านพักอาศัย หรืออาคารร้างส่วนใหญ่เป็นอาคารที่ไม่ได้รับการอนุรักษ์ (Table 4) ส่วนอาคารธุรกิจการค้า และสาธารณะประโยชน์จะได้รับการอนุรักษ์ อาคารบ้านพักอาศัยยังไม่มีอาคารที่ได้ขึ้นทะเบียนเป็น โบราณสถาน (Table 5) ผู้ครอบครองเป็นองค์กรทางศาสนา และส่วนบุคคล อาคารจะมีสภาพอาคารดี ส่วนผู้ครอบครองเป็นราชการ และหน่วยงานเอกชนสภาพอาคารส่วนมากต้องได้รับการซ่อมแซม

Table 2 Building condition with buildings style

		Building Condition		
		dilapidated	needs repairs	good
Style building	Lao Pa Gnuk	0	5	9
	Lao Colonial	3	31	46
	Colonial	12	70	91

Table 3 Building type with building style

		Building type			
		institute	residential	trade	religious
Style building	Lao Pa Gnuk	4	2	6	2
	Lao Colonial	17	23	22	18
	Colonial	59	29	78	7

Table 4 State building with utilization.

		State building		
		general	conservation	archaeological
Utilization	Residential	25	20	0
	Commercial	22	84	1
	Public	32	71	1
	Abandoned	7	3	1

Table 5 State building with building condition.

		Building Condition		
		dilapidated	needs repairs	good
State building	General	8	39	39
	Conservation	6	66	106
	Archaeological	1	1	1

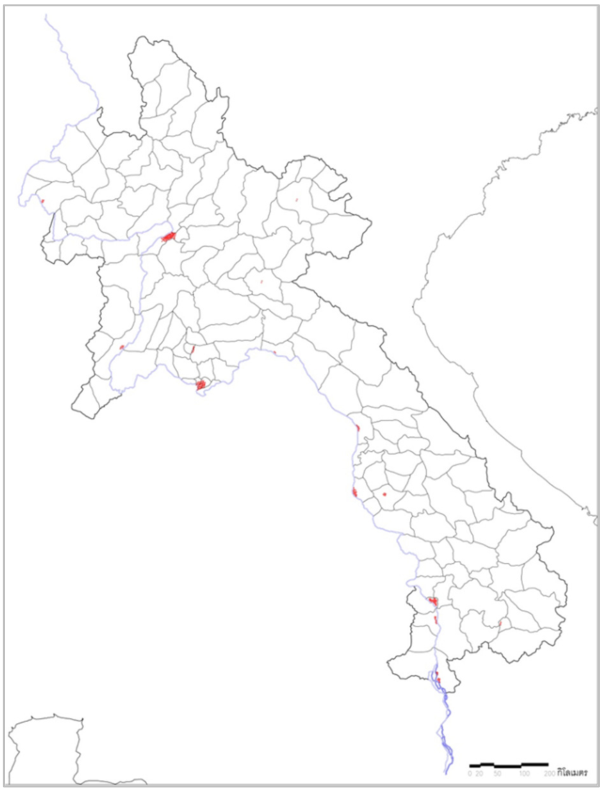


Figure 12 Red spots that location of Western Influences on Architecture buildings.

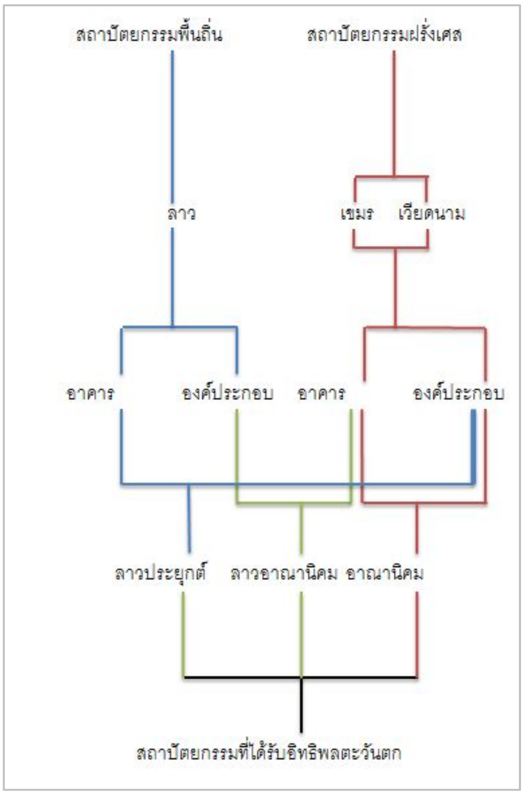


Figure 13 The origin of western Influences on Architecture.

เอกสารอ้างอิง

ตาวัน พมมะจัน. 2553. **แนวทางในการอนุรักษ์อาคารอาณานิคมสมัยฝรั่งเศส เขตมรดกโลกวัดพูจำปาสัก เรียบฝั่งแม่น้ำโขง แขวงจำปาศักดิ์**. วิทยานิพนธ์ คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยแห่งชาติลาว.

วันมะนี บัวแสงทอง. 2554. **แนวทางในการอนุรักษ์อาคารอาณานิคมสมัยฝรั่งเศสกำแพงเมืองเก่าชั้นในนครหลวงเวียงจันทน์.** วิทยานิพนธ์ คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์. มหาวิทะยาลัยแห่งชาติลาว.

Atelier du Patrimoine - l'Institut parisien de recherche Architecture, urbanistique, société, Atelier du Patrimoine IRU – IPRAUS. 1999-2002. **Project d'Inventaire et d'Etude du Patrimoine Architectural, Ubain & Paysager de la ville de Vientiane,**

มหาสิลา วีระวงส์. 2535, ผู้เรียบเรียง, สมหมาย เปรมจิตต์, ผู้แปล,**ประวัติศาสตร์ลาว** สถาบันวิจัยสังคม, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มาร์ติน สจ๊วต ฟอกซ์, มหาวิทยาลัยควีนส์แลนด์, มหาวิทยาลัยเคมบริดจ์, จิรากรณ์ วิญญูรัตน์, ผู้แปล. 2553. **ประวัติศาสตร์ลาว**.สำนักพิมพ์มูลนิธิโตโยต้าประเทศไทย, โครงการตำราสังคมศาสตร์และมนุษยศาสตร์.

Office of the Regional Advisor for Culture in Asia Pacific, 2547 "**Heritage Preservation and Development Plan: Luangprabang**. World Heritage City of UNESCO".

Somsanouk Mixay. 2547. **Luang Phabang an Architectural Journey.** Vientien Lao PDR: Atelisers de la Peninsule.

การประยุกต์ใช้ระบบสกาดากับการควบคุมพีแอลซีด้วยแบบจำลองในห้องปฏิบัติการพีแอลซี

Applying SCADA System Base on PLC Control with Simulation Kit in PLC Laboratory

ณัฐดนัย โกสุจริต[1*] และ สุพรรณ กุลพาณิชย์[1]

Natdanai Gosujarich[1*] and Suphan Gulpanich[1]

บทคัดย่อ

ระบบสกาดาเป็นระบบที่ใช้ในการควบคุมสู่ศูนย์กลางที่มีการกระจายเครื่องควบคุมไปยัง ณ ตำแหน่งต่างๆ ภายในบริเวณพื้นที่ที่ทำการควบคุมผ่านระบบเครือข่าย แลน เป็นการสื่อสารข้อมูลระหว่าง พีแอลซี ไคลเอนต์ กับ คอมพิวเตอร์ เซิร์ฟเวอร์ ระบบสกาดาถูกใช้ในหลายอุตสาหกรรมการผลิต เช่น กลั่นน้ำมัน ปิโตรเคมี และ อุตสาหกรรมประกอบรถยนต์ เป็นต้น สำหรับงานวิจัยฉบับนี้ขอนำเสนอ การประยุกต์ระบบสกาดากับการควบคุมชุดจำลองทางอุตสาหกรรมในห้องปฏิบัติการพีแอลซี โดยมีคอมพิวเตอร์ทำหน้าที่เป็นเซิร์ฟเวอร์ ทำงานบนโปรแกรม WinCC ซึ่งเป็นฐานข้อมูลหลัก สำหรับเฝ้ามองและแสดงผลหน่วยความจำของเครื่องควบคุมพีแอลซี S7-300 ในแต่ละสถานีที่กระจายอยู่ในห้องปฏิบัติการ โดยมีพีแอลซี ควบคุมชุดจำลองทางอุตสาหกรรมแบบหนึ่งต่อหนึ่ง ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงสถานะข้อมูลในหน่วยความจำ และ แผนภูมิเวลาในรูปแบบกราฟิก ตามการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรกระบวนการ เป็นแบบออนไลน์ บนเครื่องคอมพิวเตอร์หลักเพียงเครื่องเดียวที่ครอบคลุมเครื่องควบคุมพีแอลซีทั้งหมดในเครือข่าย

ABSTRACT

Supervisory control and data acquisition (SCADA) systems are centralizing control for integration the distributed controllers through local area network. The networks are data communication between PLC clients and computer server. SCADA systems are used in many manufacturing such as gas and oil plants, petrochemical plant, automotive assemblies etc. This paper presents the SCADA systems applying control process simulators model in PLC laboratory. The server computer was operated by WinCC software as the center database for monitoring data memory PLC S7-300 each station that distributed in the laboratory. Each PLC controlled process simulation model one by one. The experimental showed control the data and timing diagram on graphic monitor status following the process variables on-line mode on the single computer cover all PLC in networks.

Key Words: SCADA, PLC (Programmable logic control), Ethernet, Client-Server

*Corresponding author; e-mail address: oak.natdanai@gmail.com

[1]ภาควิชาการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Instrument, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

คำนำ

ระบบสกาดาเป็นระบบควบคุมแบบหนึ่งในอุตสาหรรม ซึ่งเป็นที่นิยมใช้เพื่อการควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์สำหรับเฝ้ามอง ติดตาม และ ควบคุมกระบวนการ ในการติดตามหรือการควบคุมอุปกรณ์กระทำได้ทั้งในพื้นที่ใกล้เคียงและพื้นที่ห่างไกลออกไปในรูปแบบควบคุมระยะไกล จึงทำให้การควบคุมมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยระบบสกาดาในปัจจุบันได้มีการพัฒนาทั้งฮาร์ทแวร์และซอฟแวร์ให้กับคอมพิวเตอร์สามารถสื่อสารกันเป็นแบบเครือข่ายที่มีความ เร็วในการส่งผ่านข้อมูลเป็นแบบออนไลน์ ทั้งนี้เพื่อให้ทันต่อการเปลี่ยนแปลงของข้อมูล ผู้ใช้งานจึงรับทราบข้อมูลเป็นแบบปัจจุบัน ในงานวิจัยและพัฒนานี้ได้มีการประยุกต์ใช้ระบบสกาดาเพื่อการเรียนการสอนในห้องปฏิบัติการ พีแอลซี ระบบจะมีคอมพิวเตอร์หลักทำหน้าที่เป็น OPC Server ซึ่งเป็นฐานข้อมูลกลางให้กับเครื่องควบคุมพีแอลซีไคลเอนต์ที่ติดตั้งในห้องปฏิบัติการ สามารถรับและส่งข้อมูลระหว่างกัน ข้อมูลจะถูกแปลผลเป็นรูปภาพกราฟิก เหมือนตัวแปลภาษาของอุปกรณ์ทำให้นักศึกษาหรือผู้ควบคุมสามารถเข้าใจและเข้าถึงบทเรียนได้ง่าย

องค์ประกอบของระบบสกาดาบนพื้นฐานของพีแอลซีซีเมนส์ S7-300

ในการที่จะทำให้อุปกรณ์ระบบสกาดาจากซีเมนส์สามารถใช้งานได้นั้น จะต้องมีแอปพลิเคชั่นสำหรับการพัฒนาระบบตัวหนึ่งคือโปรแกรม SIMATIC STEP 7 ซึ่งเป็นซอฟต์แวร์โปรแกรมพื้นฐานที่ใช้สำหรับการตั้งค่าและเขียนโปรแกรมพีแอลซี ถัดมาคือโปรแกรม WinCC ซึ่งโปรแกรมจะแยกออกเป็นส่วนๆ สามารถที่จะขยายและยืดหยุ่นได้หลากหลายทาง ทำให้เป็นไปได้ทั้งการใช้งานแบบผู้ใช้เดียวหรือหลายผู้ใช้ในระบบแบบกระจายส่วนรวมทั้งเซิร์ฟเวอร์และไคลเอนต์ สุดท้ายคือ OPC Server ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ใช้ซอฟต์แวร์ KEPWareEx5 เพื่อที่จะเป็นตัวกลางในการเชื่อมต่อระหว่างพีแอลซีและอุปกรณ์อื่นๆ

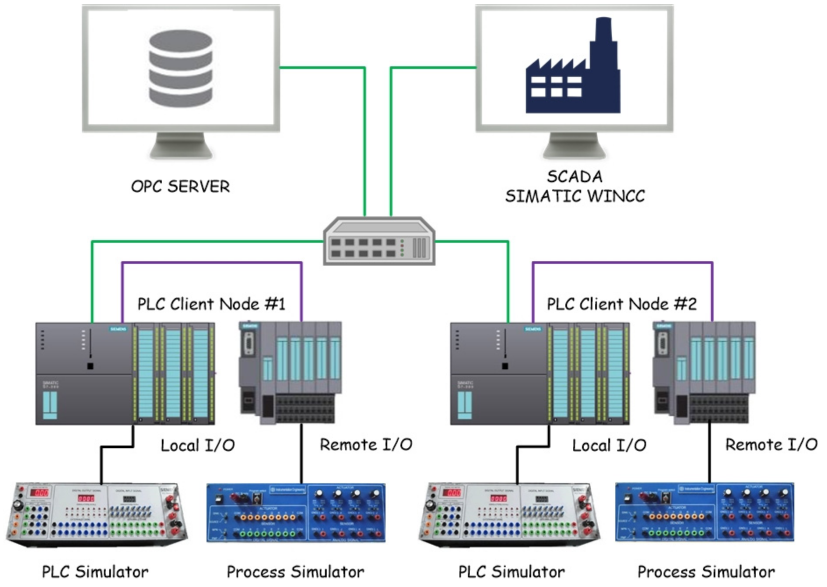


Figure 1 Component of SCADA System base on PLC Siemens S7-300

PLC Siemens S7-300 with ET200M

ในโครงสร้างและคุณลักษณะพื้นฐานของงานวิจัยนี้ได้เลือกพีแอลซีซีเมนส์ที่มีซีพียู 314C-2 PN/DP ซึ่งเป็นแบรนด์พื้นฐานที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งพีแอลซีซีเมนส์นี้มี I/O module ทั้งแบบ Local และแบบ Remote

ซึ่งเชื่อมต่อและสื่อสารกันผ่านโปรโตคอลที่เรียกว่า PROFIBUS DP โดยในความเป็นจริงแล้ว Remote I/O module นั้นสามารถอยู่ไกลจาก Local I/O module ในห้องควบคุมได้ถึง 1.2 กิโลเมตรด้วยสายสัญญาณ RS485

Process Simulator

แบบจำลองในห้องปฏิบัติการพีแอลซี เป็นชุดฝึกปฏิบัติการที่ได้จำลองกระบวนการที่มีอยู่ในโรงงานอุตสาหกรรม เป็นแบบเสมือนจริงที่มีหน่วยประมวลและแสดงในรูปแบบกราฟิกจำลองปรากฏอยู่บนจอแอลซีดี สามารถใช้ร่วมกับเครื่องควบคุมพีแอลซี เพื่อให้นักศึกษาได้ฝึกหัดเขียนโปรแกรมควบคุมกระบวนการให้เป็นไปตามเงื่อนไขที่ผู้ควบคุมกำหนดไว้

Figure 2 Process Simulator and Graphics Process Simulatior

ผลของการทดลองจากการเขียนโปรแกรมคือสามารถควบคุมหัวขับวาล์วที่เป็นวาล์วปิด-เปิด ซึ่งสามารถสังเกตเห็นผลตอบสนองของระดับของเหลวที่ส่งผลให้เกิดผลตอบสนองของอุปกรณ์เซนเซอร์ที่สัมพันธ์กัน โดยแสดงเป็นแผนภูมิเวลาที่ผู้ทดลองทำการควบคุมอยู่ได้อย่างสมจริงและเข้าถึงบทเรียนได้มากขึ้น

SCADA Graphics

การมอนิเตอร์ระบบในส่วนของ Siemens WinCC หรือส่วนหน้าต่างที่เป็นตัวควบคุม ซึ่งเป็นหนึ่งในชุดซอฟต์แวร์สกาดา ที่มีสมรรถภาพที่มีอยู่ในปัจจุบัน ในการใช้ WinCC ร่วมกับ Simatic controller WinCC เป็นซอฟต์แวร์ที่เข้าถึงการตั้งค่า Tag ข้อความ ร่วมไปถึงการเชื่อมต่อกับพารามิเตอร์เพื่อลดเวลาในการพัฒนาและเวลาในการกำหนดค่าฐานข้อมูล และยังเหมาะสมกับการใช้งานร่วมกับ OPC Servers

OPC Server

OPC ย่อมาจาก OLE for Process Control เป็นโปรแกรม Interface ที่เป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ไว้ใช้ในการติดต่อสื่อสารกับอุปกรณ์ทางด้านอุตสาหกรรม OPC ถูกจัดการบนเซิร์ฟเวอร์และไคลเอนต์โดยที่ OPC Server เป็นโปรแกรมที่แปลงโปรโตคอลการเชื่อมต่อของ Hardware PLC ไปเป็น OPC โปรโตคอล ซึ่ง OPC client software เป็นโปรแกรมที่จำเป็นจะต้องเชื่อมต่อกับฮาร์ดแวร์ต่างๆ เช่น HMI, Servo motor, Controller หรืออุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับพีแอลซีต่างๆ โดย OPC client จะใช้ OPC server เพื่อรับข้อมูลหรือส่งข้อมูลคำสั่งไปยัง Hardware

การเชื่อมต่อกับระหว่าง STEP7 WINCC และ OPC Server

ในการที่จะเริ่มออกแบบระบบสกาดาในห้องปฏิบัติจำเป็นจะต้องมีส่วนประกอบทั้งหมดนี้ ซึ่งแยกออกเป็น 2 ส่วน อย่างแรกคือการตั้งค่าพีแอลซีและแบบจำลองกระบวนการในห้องปฏิบัติการ อย่างที่สองคือการตั้งค่า

ซอฟต์แวร์และกราฟิก โดยฮาร์ดแวร์ที่ได้นำมาใช้จะประกอบไปด้วยพีแอลซี 2 เครื่อง ทำหน้าที่เป็น Client และมีคอมพิวเตอร์หนึ่งเครื่องทำหน้าที่เป็น Server เชื่อมต่อกับด้วยการสื่อสารแบบ Ethernet ซึ่งทั้งหมดเชื่อมกันโดยมีสวิตช์ฮับเป็นตัวกลาง และการออกแบบระบบสกาดานี้ได้ใช้ OPC เป็นหน้าต่างในการสื่อสารข้อมูลกันของระบบในงานวิจัยนี้

PLC hardware configuration and process simulator in laboratory

งานวิจัยนี้พีแอลซีมีทั้ง Local และ Remote I/O module เชื่อมต่อกันด้วย Profibus DP ซึ่งเป็นโปรโตคอลที่ถูกนำมาใช้ในการสื่อสารระหว่างหน่วยประมวลผลควบคุมกลางกับอุปกรณ์อินพุทเอาท์พุทที่ระดับฟิลด์

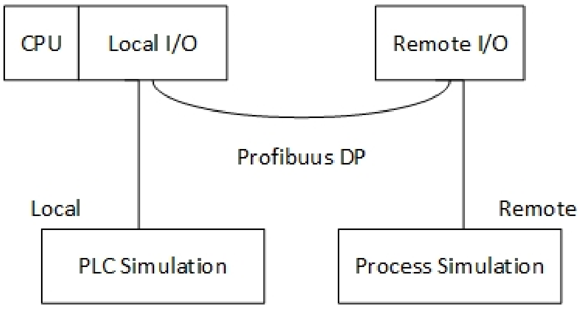


Figure 3 The connection of I/O module, PLC simulator and Process simulator

แบบจำลองพีแอลซีได้ลากสายเข้ากับ Local I/O module ในแต่ละ channel และแบบจำลองกระบวนการได้ลากสายเข้ากับ Remote I/O module ตาม I/O assignment ซึ่งดิจิตอลอินพุทและดิจิตอลเอาท์พุทโมดูลของพีแอลซีมีลักษณะเป็น Sink และ Source ตามลำดับ และการเชื่อมต่อกันระหว่างพีแอลซีกับคอมพิวเตอร์สื่อสารกันผ่านระบบ Ethernet ซึ่งเป็นโปรโตคอลของระบบ LAN และมีตัวกลางในการสื่อสารคือสวิตซ์ฮับ

The connection of software

ซอฟต์แวร์จะแยกออกเป็น 3 ส่วน อย่างแรกคือการตั้งค่าให้พีแอลซีเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ อย่างต่อมาคือการตั้งค่าซอฟต์แวร์สกาดาและสุดท้ายคือการตั้งค่าซอฟต์แวร์ที่ถูกนำมาใช้เชื่อมต่อกับ OPC ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

เพื่อที่จะตั้งค่าพีแอลซีให้เชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์จะใช้โปรแกรม SIMATIC STEP 7 โดยเมื่อจะเริ่มนั้นจำเป็นที่จะต้องรู้โครงสร้างของฮาร์ดแวร์ก่อน จากนั้นก่อนที่จะทำการดาวน์โหลดลงไปในพีแอลซีต้องทำการเสียบอแดปเตอร์ PC Adapter to PLC และตรวจสอบช่องสำหรับการสื่อสารใน STEP 7 หลังจากนั้นก็ทำการตั้งค่า IP Address ของคอมพิวเตอร์และพีแอลซีทั้งสองเครื่องให้อยู่ในวงเครือข่ายเดียวกัน สุดท้ายทำการบิดสวิตซ์ของพีแอลซีไปที่ตำแหน่ง Run-P จากนั้นก็ดาวน์โหลดฮาร์ดแวร์ลงไปในพีแอลซี

โปรแกรม WinCC (Window control center) เวอร์ชั่น 7 นำมาใช้สำหรับการวาดกราฟิกในงานวิจัยนี้ ซึ่งใช้สำหรับควบคุมการผลิตและกระบวนการอัตโนมัติผ่านหน้าจอคอมพิวเตอร์ ภายในซอฟต์แวร์ประกอบไปด้วยโมดูลสำหรับการจัดการกราฟิก ไฟล์ข้อมูล และการรายงาน ซึ่งเหมาะสมกับอุตสาหกรรมการผลิตทั่วๆไป ขั้นตอนการทดลองเริ่มจากการเลือกไดร์ฟเวอร์ให้ตรงกับอุปกรณ์ที่มี จากนั้นจึงทำการวาดกราฟิกและจัดการ Tag ในซอฟต์แวร์ ในงานวิจัยนี้ได้มีการวาดกราฟิกแบบจำลองของแบบจำลองพีแอลซีซึ่งแสดงได้ดังภาพได้ล่าง

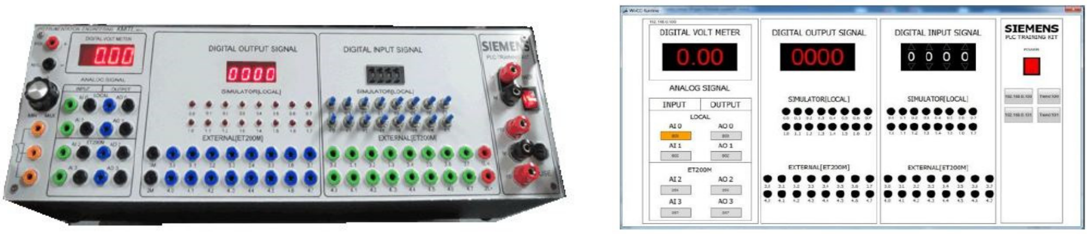


Figure 4 PLC Simulator and Graphic PLC Simulator

ตัวเลขทางด้านซ้ายของกราฟิกคือการเชื่อมต่อไปยังแอนาลอกเอาท์พุท ซึ่งทำหน้าที่เป็น Digital Voltmeter ซึ่งในการวาดกราฟิก Digital Voltmeter เพื่อที่จะให้แสดงค่าในรูปแบบแอนาลอกจะต้องการการเขียนโปรแกรม ประมวลผลและแสดงผลด้วยการเขียน VBScript (Visual Basic Script) และปุ่มทางด้านขวามือมีไว้สำหรับเลือกพีแอลซีตาม IP address ที่ต้องการให้แสดงกราฟิก เมื่อทั้งหมดดำเนินการเรียบร้อย ก็จะทำการเข้าสู่ Runtime mode สำหรับแสดงผลกราฟิกที่ได้วาดขึ้นมา

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ KEPServerEX V5 ซึ่งเป็น OPC Server ที่มีประโยชน์ในการเลือกเปลี่ยนข้อมูลกันระหว่างสกาดา พีแอลซีและคอมพิวเตอร์หรืออุปกรณ์อื่นๆที่ต้องการจะแลกเปลี่ยน ก่อนที่จะเริ่มใช้จะต้องทราบถึงโครงสร้างของฮาร์ดแวร์ที่เชื่อมต่ออยู่และสร้าง tag ใน address ที่ต้องการจะมอนิเตอร์

เมื่อรวบรวมองค์ประกอบต่างๆทั้งฮาร์ดแวร์และซอฟต์แวร์เข้าด้วยกันก็จะกลายเป็นระบบสกาดาในห้องปฏิบัติการพีแอลซีเพื่อที่จะควบคุมชุดจำลองและแบบจำลองกระบวนการในอุตสาหกรรม เพื่อที่จะได้ทำการทดลองด้วยการควบคุมเสมือนจริง โดยระหว่างควบคุมสามารถมอนิเตอร์และตามค่าตัวแปรในกระบวนการในขณะที่ออนไลน์ด้วย Host คอมพิวเตอร์ครอบคุมพีแอลซีทั้งระบบ

การทดลองของ PLC Simulator และ Process Simulator

ในการวิจัยการวางแผนการเรียนและการทดลองระบบสกาดาสามารถนำมาใช้งานได้ โดยกราฟิกสามารถแสดงได้ตรงกับอุปกรณ์ฮาร์ดแวร์และเทรนกราฟตามที่ต้องการ การทดลองสามารถแยกออกเป็นได้เป็น 2 แบบการทดลองคือ คือการทดสอบดิจิตอบและแอนาลอกเอาท์พุทซึ่งคือดิจิตอลโวลต์มิเตอร์บนแบบจำลองพีแอลซี และอีกหนึ่งการทดลองคือการทดสอบเขียนโปรแกรมควบคุมกระบวนการกับแบบจำลองกระบวนการในอุตสาหกรรม

Local devices test with digital voltmeter in PLC simulator

ในการทดสอบนี้คือการทดลองกับดิจิตอลโวลต์มิเตอร์ที่ติดตั้งอยู่บนแบบจำลองพีแอลซี โดยที่ค่าโวลต์ที่แสดงสามารถแสดงได้ที่กราฟิกของแบบจำลองนี้ ซึ่งต้องมีค่าที่ตรงกันระหว่างทั้งสอง ซึ่งเมื่อเขียนโปรแกรมและทำการทดลองจะได้ผลการทดลองดังด้านล่าง

Table 1 The result of digital voltmeter in PLC simulator

No.	Vin CH800	Vout CH800	Vout PLC Simulatior Graphic	PQW800
1	1.00 V.	0.99 V.	0.98 V.	00000ad0

2	2.50 V.	2.50 V.	2.41 V.	00001a78
3	5.00 V.	4.99 V.	4.83 V.	00003510
4	7.50 V.	7.51 V.	7.25 V.	00004fa8
5	9.00 V.	9.00 V	8.86 V.	00006160
6	7.50 V.	7.49 V.	7.39 V.	00005140
7	5.00 V.	4.99 V.	4.92 V.	00003610
8	2.50 V.	2.48 V.	2.47 V.	00001b20
9	1.00 V.	0.99 V.	1.01 V.	00000ad8

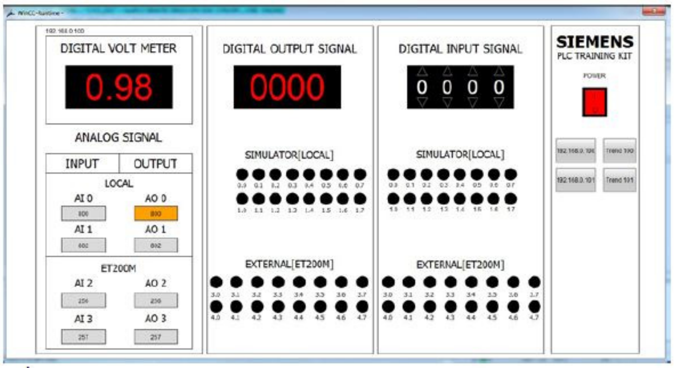


Figure 5 The result of digital voltmeter in Graphic PLC simulator

Remote devices test with Process simulator

ในการทดสอบนี้จะทดสอบกับแบบจำลองกระบวนการในอุตสาหกรรม ซึ่งแบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย แบบแรกคือแบบจำลองการควบคุมระดับของเหลว โดยแบบจำลองนี้เป็นแนวคิดแบบดิจิตอล นั่นคือประกอบไปด้วยถังใส่ของเหลว 3 ถัง แต่ละถังมีอุปกรณ์วัดระดับน้ำหรืออุปกรณ์ตรวจจับตำแหน่งที่ 10% และ 90% ขณะที่ทางออกจะมีวาล์วปล่อยออก จำนวน 2 ถังและถังผสมจำนวน 1 ถัง และแบบที่สองคือแบบจำลองการปล่อยของเหลว เป็นแบบจำลองที่มีแนวคิดเป็นแบบแอนาลอกที่ประกอบไปด้วยถังบรรจุจำนวน 2 ถัง ในแต่ละถังจะมีชุดวัดความดัน โดยวาล์วควบคุมอัตราไหลได้ 0-100% อย่างละ 1 ชุด ใช้ความรู้เกี่ยวกับการควบคุมแบบ Closed loop control ซึ่งใช้ตัวควบคุมแบบ PID Tuning และแสดงให้เห็นในสัญญาณกราฟแบบเวลาให้เห็นชัดเจน

Table 2 I/P Assignment

อินพุทบิท	รายการอุปกรณ์	Label	อินพุทบิท	รายการอุปกรณ์	Label
I136.0	สวิทช์ สตาร์ท	Start SW.	I0.0	Level low Sensor “B”	B (Ll)
I136.1	สวิทช์สต็อป	Stop SW.	I0.1	Level high Sensor “A”	A (Lh)
I137.0	MAN. VALVE “M”.	Man. VM	I0.2	Level low Sensor “D”	D (Ll)
I137.1	MAN. VALVE “N”.	Man. VN	I0.3	Level high Sensor “C”	C (Lh)
I137.2	MAN. VALVE “O”.	Man. VO	I0.4	Level low Sensor “F”	F (Ll)
I137.3	MAN. VALVE “P”.	Man. VP	I0.5	Level high Sensor “E”	E (Lh)
I137.4	MAN. VALVE “Q”.	Man. VQ			

Table 3 O/P Assignment

เอาท์พุทบิท	รายการอุปกรณ์	Label	เอาท์พุทบิท	รายการอุปกรณ์	Label
O136.0	LAMP VALVE “M.”	LAMP. VM	Q0.0	VALVE “M”	M (VQI)
O136.1	LAMP VALVE “N.”	LAMP. VN	Q0.1	VALVE “N”	N (VQO)
O136.2	LAMP VALVE “O.”	LAMP. VO	Q0.2	VALVE “O”	O (VQO)
O136.3	LAMP VALVE “P.”	LAMP. VP	Q0.3	VALVE “P”	P (VQI)
O136.4	LAMP VALVE “Q.”	LAMP. VQ	Q0.4	VALVE “Q”	Q (VQO)
O136.5	LAMP OPERATED	LAMP. OP			

Figure 6 Graphics for programming on-off valve and close-loop control

การอภิปรายผล

จากการทดลองทั้งหมดที่ผ่านมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าแบบกราฟิกแบบจำลองพีแอลซีสามารถใช้ได้จริงตามที่ต้องการ แต่พบปัญหาในเรื่องของเอาท์พุทกราฟิกของดิจิตอลโวลต์มิเตอร์ที่ไม่สามารถแสดงได้ตรงตามแผงควบคุมต้นแบบ มีความคลาดเคลื่อนเล็กน้อย ซึ่งเกิดจาก Hysteresis ของฮาร์ดแวร์ ที่ทำให้การเขียนโปรแกรมกราฟิกแสดงค่าที่เที่ยงตรงได้ยาก ต้องอาศัยการเขียนโปรแกรมที่ซับซ้อน และในการทดลองเขียนโปรแกรมควบคุมเปิด-ปิดวาล์วหรือที่เรียกกันว่า “Interlocking” มีผลลัพท์แสดงได้ตามดังแผนภูมิเวลาด้านล่าง

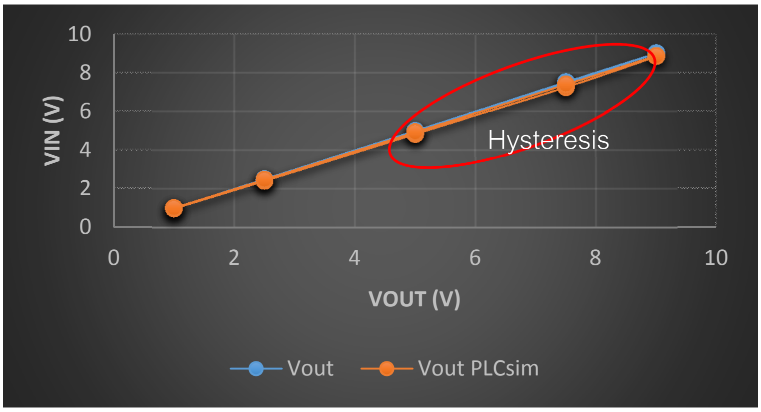


Figure 7 Hysteresis of graphic digital voltmeter

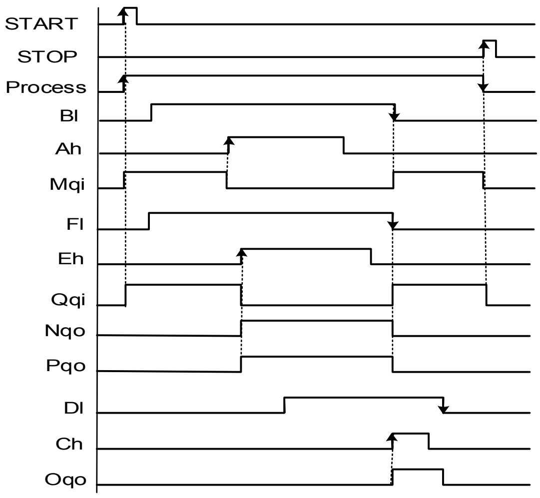


Figure 8 Chart of step in programming of on-off valve

สรุปผล

โครงการงานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับแนวคิดทฤษฎีและปฏิบัติเพื่อการศึกษาของนักศึกษาในระบบสกาดา โดยซอฟต์แวร์ได้แบ่งออกเป็นสามส่วน คือกิจกรรมที่เป็นแบบเฉพาะ การพัฒนาที่มีตัวอย่างทีดีของปัญหาในระบบอัตโนมัติ ซึ่งประกอบไปด้วยการตั้งค่าฮาร์ดแวร์ ภาษาในการเขียนโปรแกรม และกราฟิกสำหรับแบบจำลองระบบสกาดา โดยผลลัพท์ของแบบจำลองพีแอลซีที่แสดงนั้นสามารถนำมาใช้ได้จริงในการทำงานกับโรงงานอุตสาหกรรมในปัจจุบัน ซึ่งที่กล่าวมาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าสกาดานั้นสามารถเป็นศูนย์กลางของระบบควบคุมทั้งหมดขององค์กร และมีส่วนช่วยในการตรวจสอบการทำงานของระบบให้เป็นไปตามปกติได้อย่างมีประสิทธิภาพและทั่วถึง ภายในเวลาอันรวดเร็ว มีส่วนช่วยในการตัดสินใจในการดำเนินงานจากข้อมูลต่างๆ ที่ได้รับจากระบบสกาดา นอกจานี้ยังสามารถเชื่อมโยงข้อมูลที่ได้จากสกาดานำมาเข้ากับข้อมูลทางธุรกิจอื่นๆ เพื่อประมวลผลร่วมกัน เช่น ข้อมูลจำนวนของเสียเป็นกิโลกรัมที่ตรวจสอบได้จากระบบสกาดา ถูกนำมาคำนวนร่วมกับค่าใช้จ่ายอื่นๆแบบเรียลไทม์เพื่อสรุปเป็นรายงานค่าใช้จ่ายประจำวันได้อย่างรวดเร็วเป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ จากท่านรองศาสตราจารย์สุพรรณ กุลพานิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่ได้ให้คำแนะนำมาโดยตลอดอีกทั้งเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆในการทำงานวิจัยนี้ รวมถึงขอขอบพระคุณภาควิชาวิศวกรรมการวัดคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบ พระคุณเป็นอย่างสูง ณ ที่นี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ ที่ให้การสนับสนุน และเป็นแรงบันดาลใจในการทำวิจัยเสมอมา คุณความดีที่พึงมีจากการทำวิจัย ผู้วิจัยขอมอบแด่ คุณพ่อ คุณแม่ รวมทั้งคณาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

Stuart Boyer. 1999. **SCADA Supervisory Control and Data Acquisition.** 2nd Edition. ISA. USA.

L. A. and E. A. Bryan. 1997. **Programmable Controllers Theory and Implementation**. 2nd Edition. USA.

KEPWARE Technologies. 2009. **OPC Server Help**. Available Source: https://www.kepware.com/products/kepserverex/documents/pserverex-v4-manual.pdf October 3, 2014.

KEPWARE. 2010. **Configuring Kepware KEPServerEx 5.0 for Communications with Acromag Buswork Modbus I/O Modules**. ACROMAG INCORPORATED. USA.

SIEMENS AG Automation and Drives. 2006. **SIMATIC Configuring Hardware and Communication Connections with STEP 7**. Siemens AG. Edition 03/2006. Germany.

SIEMENS WinCC. 1999. **Configuration Manual, Manual Volume 1**. Siemens AG. Edition February/1999. Germany.

SIMATIC HMI WinCC. 2000. **Getting started Manual**, Siemens AG. Edition March/2000. Germany.

Stouffer, Falco, Scarfone. 2011**. NIST SP 800-82, Guide to Industrial Control System (ICS) Security**. Available Source: http://csrc.nist.gov/publications/nistpubs/800-82/SP800-82-final.pdf June 10, 2014.

การพัฒนาอุปกรณ์เสริมสำหรับรถเข็นคนพิการโดยใช้เทคโนโลยีการเชื่อมต่อของสรรพสิ่ง

Implementation of Accessories for Wheelchair by Using Internet of Things Technology

ณัฐกิตติ์ วัชรเธียรสกุล[1*] สิทธิกร เจริญทรัพย์[1] และ ปานวิทย์ ธุวะนุติ[1]

Nuttakit Vatcharatiansakul[1*], Sitthikorn Charoensub[1] and Panwit Tuwanut[1]

บทคัดย่อ

เนื่องจากในปัจจุบันประเทศไทยได้ก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ ทำให้ผู้สูงอายุเป็นจำนวนมากมีความต้องการใช้รถเข็นในการเคลื่อนที่ไปตามที่ต่างๆ และในปัจจุบันรถเข็นที่มีฟังก์ชั่นการทำงานแบบพิเศษต่างๆ ได้ ก็มีราคาแพง และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเป็นการนำเสนอการประดิษฐ์อุปกรณ์เสริมสำหรับรถเข็นให้มีความอัจฉริยะ มีความทันสมัย สะดวกต่อการใช้งาน มีความปลอดภัยต่อผู้สูงอายุ และราคาย่อมเยาว์ โดยอุปกรณ์เสริมที่นำเสนอนี้จะมี ฟังก์ชั่นการทำงานหลักๆ ประกอบด้วย ส่วนของการเฝ้าระวังสุขภาพ (Health Monitoring) ส่งข้อมูลสัญญาณชีพไปยังโรงพยาบาลหรือสถานพยาบาลที่ได้กำหนดไว้ ส่วนตรวจจับการเคลื่อนที่ของรถเข็นให้เคลื่อนที่ด้วยความปลอดภัย ส่วนระบุตำแหน่งของรถเข็น และส่วนควบคุมเบาะไม่ให้เกิดแผลกดทับเมื่อนั่งบนรถเข็นเป็นระยะเวลานาน การทำงานทั้งหมดของรถเข็นนี้ทำงานอยู่บนหลักการใหม่ ที่ใช้แนวคิดของ Internet of Things สามารถสั่งการ ควบคุม และเฝ้าระวังผ่าน Mobile web application และ Web application ได้อย่าง Real Time

ABSTRACT

Nowadays, Thailand has been entering into aging society leading to lots of elderly people using wheelchairs for moving. Moreover, wheelchairs with special functions are expensive and also imported from other countries. Therefore, this research presented the invention of smart wheelchair which are modern, easy to use, safe for elderly people and affordable prices. The smart wheelchair has offered main functions including Health Monitoring to enumerate vital sign sent to a hospital or clinic as defined, controlling the movement of wheelchair safely, defining the GPS coordinates of the wheelchair and controlling the seat to prevent the pressure sores when using the wheelchair for a long time. All of these are based on a new concept by using Internet of Things which can be controlled and monitored via mobile web application and web application in real time.

Key Words: Health Monitoring, IoT, MQTT

*Corresponding author; e-mail address: **ggguuyy@gmail.com**

---

[1]คณะเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ลาดกระบัง กทม 10520

[1]Faculty of Information Technology, King Mongkhut Institutes of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

คำนำ

เนื่องจากในปัจจุบันประเทศไทยได้ก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ มีจำนวนผู้สูงอายุเป็นจำนวนมาก จนกลายเป็นประเด็นยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติด้านผู้สูงอายุและสังคมสูงอายุ และปัญหาหนึ่งที่พบคือ ผู้สูงอายุที่มีอายุมากๆ หรือ ผู้ป่วยแบบพักรักษาอยู่ที่บ้าน จำเป็นจะต้องนั่งรถเข็นไปตามที่ต่างๆ และในปัจจุบันพบว่า รถเข็นที่มีอยู่ตามท้องตลาดก็เป็นรถเข็นแบบปกติ ไม่มีฟังก์ชั่นพิเศษใดๆ ในขณะที่รถเข็นที่มีฟังก์ชั่นพิเศษต่างๆ ก็จะมีราคาสูงขึ้นไปตามลำดับ และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ผู้สูงอายุส่วนใหญ่ไม่มีโอกาสได้ใช้งาน

ดังนั้นจึงเกิดแนวคิดในการพัฒนาอุปกรณ์เสริมสำหรับรถเข็นให้มีความอัจฉริยะ มีความทันสมัย มีความสะดวกสบายต่อผู้สูงอายุ และมีราคาย่อมเยาว์ โดยอุปกรณ์เสริมที่นำเสนอในงานวิจัยนี้ จะประกอบด้วย อุปกรณ์ตรวจเฝ้าระวังสุขภาพแบบพกพา (Portable health monitoring) โดยสามารถวัดสัญญาณชีพที่จำเป็น

ได้แก่ ความดันโลหิต สัญญาณคลื่นไฟฟ้าหัวใจ อุณหภูมิร่างกาย สัญญาณลมหายใจ เมื่อมีความผิดปกติเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ ก็จะส่งสัญญาณดังกล่าวไปยังโรงพยาบาล เพื่อให้แพทย์หรือพยาบาลได้สังเกตความผิดปกติ ทำให้แพทย์สามารถวินิจฉัยในเบื้องต้นได้ สามารถให้คำแนะนำการรักษาในขั้นต้นแก่ผู้สูงอายุได้ และรถเข็นดังกล่าวยังคำนึงถึงการเกิดแผลกดทับเมื่อนั่งรถเข็นเป็นเวลานาน จึงมีระบบปั้มลมอัตโนมัติเพื่อเป่าเข้ามายังเบาะแบบพิเศษที่ช่วยลดการเกิดแผลกดทับเมื่อนั่งเป็นเวลานาน นอกจากนี้แล้ว อีกฟังก์ชั่นหนึ่งของรถเข็นที่นำเสนอคือ มีระบบตรวจจับการล้ม หรือ การเคลื่อนที่ที่ผิดปกติ เช่น เคลื่อนที่ไวเกินไป ซึ่งอาจจะเกิดจากการเลื่อนลงพื้นที่ลาดชันเป็นต้น ช่วยลดอุบัติเหตุที่อาจเกิดขึ้นกับผู้สูงอายุได้

อุปกรณ์เสริมสำหรับรถเข็นที่นำเสนอนี้ มีราคาย่อมเยาว์ ทำงานบนเทคโนโลยี Internet of Things และส่งข้อมูลสัญญาณชีพที่มีความถูกต้องเป็นไปตามมาตรฐานสากลได้แบบ Real Time ทำให้ผู้รับข้อมูลเช่น ญาติพี่น้อง หมอ สามารถตอบสนองต่อความผิดปกติได้ทันที และผู้ป่วยมีความสะดวกสบายในการนั่งไม่เป็นแผลกดทับ

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการสืบค้นงานวิจัยที่ผ่านมา ที่เกี่ยวข้องกับรถเข็น (Wheel Chair) ในฐานข้อมูลของ IEEE พบว่างานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่การควบคุมทิศทางการเคลื่อนที่ของรถเข็นโดยใช้อวัยวะต่างๆ อาทิเช่น การควบคุมด้วยดวงตา เช่นงานวิจัยของ Umar Mohammad และคณะ [1] ได้นำเสนอการควบคุมทิศทางการเคลื่อนที่ของรถเข็นด้วยการเคลื่อนที่ของดวงตา หรือในงานวิจัยของ Manoj Challagundla และคณะ [2] ได้นำเสนอการควบคุมด้วยการกระพริบตา ต่อมางานวิจัยของ Shamim Kaiser และคณะ [3] ได้นำเสนอการควบคุมโดยการใช้กล้ามเนื้อแขน โดยติดเซ็นเซอร์เพื่อวัดสัญญาณ EMG ที่บริเวณแขน ต่อมาในงานวิจัยของ Angelo Zerbetto Neto และคณะ [4] ได้นำเสนอต้นแบบการควบคุมโดยใช้การเอียงของลำคอเช่น ก้ม เงย เอียงซ้าย ขวา เพื่อควบคุมทิศทางของรถเข็น นอกจากนี้แล้วก็ยังมีการนำเสนอการควบคุมโดยใช้คลื่นสมอง อาทิเช่นงานวิจัยของ R. S. Naveen [5] และ S-. Y. Cho [6] สรุปเป็นตารางดังนี้

Table 1 Research summary

Organ	Research
Eyes	[1],[2]
Bicep and Tricep	[3]
Neck mussle	[4]
Brain wave	[5],[6]

ต่อมา Shraddha Uddhav Khadilkar [7] ได้นำเสนอการใช้ Smart Phone มาช่วยในการควบคุม โดยการควบคุมผ่าน mobile application หรือการใช้ gyroscope sensor ในการเอียงโทรศัพท์ไปในทิศต่างๆ จากนั้นก็จะส่งข้อมูลผ่าน Bluetooth ไปควบคุมล้อให้เคลื่อนที่ตามที่ต้องการ ต่อมางานวิจัยของ S A Akash และคณะ [8] ได้นำเสนอ การใช้แนวคิดของ Internet of Things มาใช้ร่วมกับรถเข็น โดยมีฟังก์ชั่นหลักๆ ได้แก่ Control Module โดยใช้ joy stick หรือเสียงพูด หรือ Accelerometer ในการควบคุม หรือควบคุมผ่าน Web ฟังก์ชั่นต่อมาคือ Perception module ได้แก่ ส่วนตรวจจับสิ่งกีดขวาง ส่วนตรวจจับความลาดเอียง และฟังก์ชั่นสุดท้ายคือ Utility ได้แก่ ส่วนตรวจจับการเปลี่ยนถุงปัสสวะ การเตือนว่าแบตเตอรี่ใกล้หมด เป็นต้น

จากงานวิจัย [8] ทำให้คณะวิจัยมีความสนใจที่มุ่งเน้นไปที่การพัฒนาอุปกรณ์เสริมสำหรับรถเข็น Wheel Chair สำหรับผู้สูงอายุ ที่มีความทันสมัย สะดวกต่อการใช้งาน มีความปลอดภัยต่อผู้สูงอายุ และราคาย่อมเยาว์ โดยมีฟังก์ชั่นการทำงานหลักประกอบด้วย ส่วนของการเฝ้าระวังสุขภาพ)Health Monitoring) ส่งข้อมูลสัญญาณชีพไปยังโรงพยาบาลหรือสถานพยาบาลที่ได้กำหนดไว้ ส่วนของการควบคุมการเคลื่อนที่ของรถเข็นให้เคลื่อนที่ด้วยความปลอดภัย ส่วนระบุตำแหน่งของรถเข็น และส่วนควบคุมเบาะไม่ให้เกิดแผลกดทับเมื่อนั่งบนรถเข็นเป็นระยะเวลานาน การทำงานทั้งหมดของรถเข็นนี้ทำงานอยู่บนแนวคิดของ Internet of Things สามารถสั่งการ ควบคุม และเฝ้าระวังผ่าน Mobile application

แนวคิด ทฤษฎี ที่เกี่ยวข้อง

3.1 **เทคโนโลยีการเชื่อมต่อของสรรพสิ่ง** (internet of things)

คำว่า Internet of Things มีการให้คำจำกัดความของหลายความหมาย จนกระทั่งล่าสุด สถาบันวิศวกรรมไฟฟ้าและวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์นานาชาติ)IEEE ได้ออกนิยามของคำว่า (Internet of Things (IoT) [9] เมื่อวันที่ “ ใจความว่า 2558 พฤษภาคม 27An IoT is a network that connects uniquely identifiable “Things ”to the Internet .The “Things ”have sensing/actuation and potential programmability capabilities . Through the exploitation of unique identification and sensing, information about the “Thing ”can be collected and the state of the ‘Thing ’can be changed from anywhere, anytime, by anything ”.แปลเป็นไทยในมุมมองของผู้วิจัย “Internet of Things” คือ โครงข่ายที่เชื่อมต่อสรรพสิ่งใดๆ ซึ่งมีลักษณะที่ระบุเอกลักษณ์ได้ เข้ากับเครือข่ายอินเตอร์เน็ตผ่านโพรโทคอลการสื่อสารทั้งแบบใช้สายและไร้สาย โดยที่ สรรพสิ่งใดๆ จะมีความสามารถในการรับรู้ ตอบสนอง และมีศักยภาพในการโปรแกรมหรือสั่งการการทำงานได้ จากประโยชน์ของความสามารถในการระบุเอกลักษณ์ และความสามารถในการรับรู้นี้สารสนเทศบนสรรพสิ่งใดๆ จะสามารถถูกรวบรวมจัดเก็บ และสถานภาพของสรรพสิ่งใดๆ ก็สามารถที่จะเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลาจากสถานที่ใดๆ เวลาใดๆ โดยสิ่งใดๆ” จากนิยามดังกล่าว ทำให้สรุปได้ว่า Internet of Things จะมีลักษณะดังนี้

- เป็นการเชื่อมต่อกันระหว่างสรรพสิ่งใดๆ (Interconnection of Things)
- เชื่อมต่อสรรพสิ่งใดๆ เข้ากับโครงข่ายอินเตอร์เน็ต (Connection of Things to the Internet)
- สรรพสิ่งใดๆ มีลักษณะที่ระบุเอกลักษณ์ได้ (Uniquely Identifiable)
- สามารถพบได้ทั่วไป (Ubiquity)
- มีความสามารถในการ รับรู้ และตอบสนอง ได้ (Sensing/Actuation capability)
- เป็นระบบฝังตัวแบบอัจฉริยะ (Embedded intelligence)
- มีความสามารถในการสื่อสารทำงานร่วมกันได้ (Interoperable Communication Capability)

- สามารถตั้งค่าด้วยตนเองได้ (Self-configurability)
- สามารถโปรแกรมหรือสั่งการการทำงานได้ (Programmability)

โดยเทคโนโลยีที่ทำให้ IoT เกิดขึ้นได้จริงและสร้างผลกระทบในวงกว้างได้ แบ่งออกเป็นสามกลุ่มได้แก่ เทคโนโลยีที่ช่วยให้สรรพสิ่งรับรู้ข้อมูลในบริบทที่เกี่ยวข้อง เช่น เซ็นเซอร์ เทคโนโลยีที่ช่วยให้สรรพสิ่งมีความสามารถในการสื่อสาร เช่น ระบบสมองกลฝังตัว รวมถึงการสื่อสารแบบไร้สายที่ใช้พลังงานต่ำ อาทิ Zigbee, 6LowPAN, Low-power Bluetooth และเทคโนโลยที่ช่วยให้สรรพสิ่งประมวลผลข้อมูล ในบริบทของตน เช่น เทคโนโลยีการประมวลผลแบบคลาวด์ และเทคโนโลยีการวิเคราะห์ข้อมูลขนาดใหญ่ หรอ Big Data Analytics

3.2 MQTT Protocol

ในการสื่อสารข้อมูลระหว่างอุปกรณ์ใดๆนั้น จำเป็นจะต้องใช้โปรโตคอลในการสื่อสาร โดยเฉพาะใน IoT นั้น ปัจจุบันมีโปรโตคอลที่ได้รับความนิยมอยู่สองชนิดคือ CoAP Protocol และ MQTT Protocol โดยในงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นการประยุกต์ใช้ MQTT Protocol [10] MQTT Protocol เริ่มต้นคิดค้นโดย Andy Stanford Clark จากบริษัท IBM และ Arlen Nipper จากบริษัท Eurotech ในปี คศ 1999.เป็นการคิดค้นเพื่อแก้ปัญหาในการสื่อสารสารสนเทศในท่อส่งน้ำมัน ข้อมูลในการสื่อสาร เช่น อุณหภูมิ ความดัน และสัญญาณควบคุมวาวล์ท่อน้ำมัน การสื่อสารข้อมูลนั้นเป็นข้อมูลตลอดแนวท่อน้ำมันยาว กิโลเมตร ซึ่งข้อมูลทั้งหมดต้องส่งผ่านดาวเทียม ซึ่งมีการคิด 17 ค่าใช้จ่ายตามแบนด์วิดท์ที่เช่าใช้งาน ปัญหาที่เกิดขึ้นนั้นทำให้มีค่าใช้จ่ายใช้ในการสื่อสารข้อมูลสูง ดังนั้น เพื่อลดค่าใช้จ่ายดังกล่าวจึงได้พัฒนาโปรโตคอลแบบ Message Queuing Telemetry Transport (MQTT) เพื่อลดค่าใช้จ่ายดังกล่าว โดยที่โปรโตคอล MQTT นี้ มีลักษณะคือ

1. Open เป็นมาตรฐานเปิดสามารถนำไปพัฒนาได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
2. Lightweight เป็นโปรโตคอลขนาดเล็ก มีขนาด Header แค่ 2 bytes
3. Reliable เป็นโปรโตคอลที่มีความน่าเชื่อถือ สามารถทำ Quality of Services (QoS) ได้
4. Simple เป็นโปรโตคอลที่ง่ายต่อการใช้งาน ใช้รูปแบบการทำงานแบบ Publish/Subscribe

การทำงานของโปรโตคอล MQTT ประกอบไปด้วยตัวกลางที่เรียกว่า Broker อธิบายขั้นตอนการทำงานคร่าวๆ คือ
1. เมื่อ Sensor ทำการอ่านค่าที่วัดได้ จะทำการ Publish ข้อมูลดังกล่าว ไปยัง Topic ที่กำหนด บน MQTT Broker
2. MQTT Broker จะทำการ Push ข้อมูลที่ได้ ไปยัง Client หรือ อุปกรณ์ใดๆ ที่ทำการ Subscribe Topic นั้นๆ แสดงดังรูปที่ 1

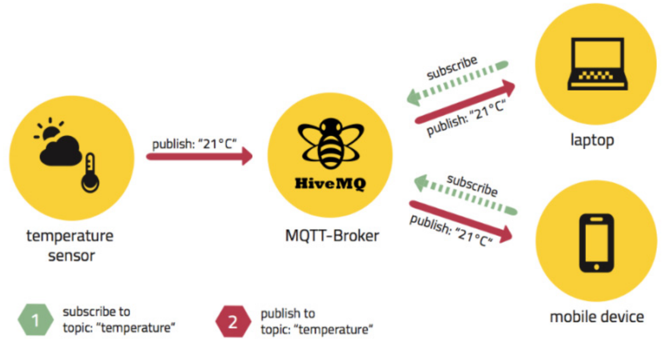


Figure 1 Figure Publish and Subscribe method for MQTT Protocol

นอกจากนี้คุณสมบัติเด่นอีกประการของ MQTT Protocol คือ ความสามารถในการทำ QoS โดยแบ่งได้ ระดับคื 3

QoS 0 มีคุณสมบัติคือ At most once คือ ส่งไปแน่ๆ 1 ครั้ง

QoS 1 มีคุณสมบัติคือ At least once คือ ได้รับแน่ๆ 1 ครั้ง

QoS 2 มีคุณสมบัติคือ exactly once คือ ได้รับอย่างถูกต้องแน่ๆ 1 ครั้ง

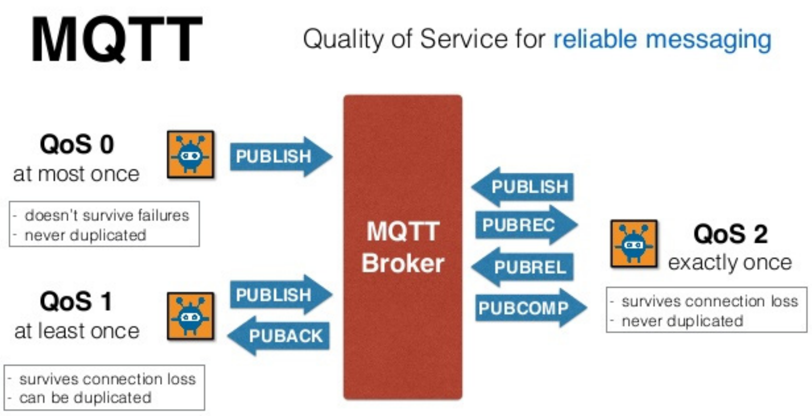


Figure 2 QoS of MQTT

3.3 แนวคิดของงานวิจัย

เป็นการพัฒนาอุปกรณ์เสริมสำหรับรถเข็นที่นำเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้กับอุปกรณ์ที่นำมาติดกับรถเข็น โดยใช้แนวคิดของของ Internet Of Thing (IoT) ที่อุปกรณ์แต่ละตัวสามารถติดต่อสื่อสารกันได้ (Sensing) ผ่านอินเตอร์เน็ตซึ่งมีข้อดีคือ สามารถรับส่งข้อมูลได้แบบ Real Time และสามารถ Push ข้อมูลไปยังบุคคลต่างๆที่เกี่ยวข้องได้ทันที หรือการทำ Notification ได้ทันที ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวพัฒนาโดยใช้อุปกรณ์ Raspberry pi ซึ่งเปรียบเสมือนเครื่องคอมพิวเตอร์ขนาดเล็กมาต่อเข้ากับอุปกรณ์รับค่าต่างๆ (Sensor) ซึ่งในการเชื่อมต่อเซ็นเซอร์ต่างๆ เข้ากับ Raspberry Pi ใช้การเชื่อมต่อผ่าน Linux Driver โดยเซ็นเซอร์จะมี Library รองรับระบบปฏิบัติการ Linux นอกจากนี้ตัวRaspberry Pi ยังสามารถเชื่อมต่อกับ Internet โดยใช้ Aircard ผ่านทางพอร์ต USB ทำให้สามารถเชื่อมต่อกับอินเตอร์เน็ตได้ ในทุกที่ที่มีสัญญาณคลื่นมือถือ และใช้ MQTT Protocol เป็นโปรโตคอลสำหรับการรับส่งข้อมูลได้แบบ Real Time ทำให้ตอบสนองความต้องการของผู้สูงอายุ สามารถเฝ้าระวังและส่งข้อมูลสัญญาณชีพต่างๆได้ สามารถควบคุมการเคลื่อนที่ของรถ สามารถควบคุมเบาะเพื่อลดแผลกดทับ และส่งตำแหน่งที่อยู่ผ่านระบบ GPS ส่งไปยังเว็บแอพพลิเคชั่นแบบ Real-Time ในส่วนของ Web Application และฐานข้อมูลนั้นจะมีการทำการพัฒนาด้วย Node.js ร่วมกับ HTML5 CSS3 และ JavaScript ซึ่งจะทำการเชื่อมต่อกับฐานข้อมูลแบบ NoSQL ด้วย MongoDB ในส่วนของ Platform ที่สามารถใช้งานได้บนหน้า Web Browser และMobile Web Browser เช่น Internet Explorer, Google Chrome, Mozilla Firefox, Safari(iOS)

นอกจากนี้แล้ว จากการสืบค้นจากงานวิจัยหลายๆ พบว่างานวิจัยได้ระบุถึงสัญญาณชีพที่จำเป็นทั้งหมดประกอบด้วย 4 ค่า ได้แก่ค่า blood pressure, body temperature, respiratory rate, และ heart rate ดังนั้นในแนวคิดของงานวิจัยนี้จึงทำการเก็บสัญญาณชีพดังกล่าวที่จำเป็นส่งต่อไปยังแพทย์หรือผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป เพื่อให้แพทย์ทำการวิเคราะห์วินิจฉัยเบื้องต้นต่อไป

การออกแบบระบบ

4.1 Block Diagram ของระบบ

ในส่วนของอุปกรณ์เสริมที่นำเสนอมี Block Diagram แสดงดังรูปที่ 3 ประกอบด้วย 3 ส่วนหลักๆ คือ Health Monitoring , ส่วนของ Seat Control และส่วนของ Motion Control

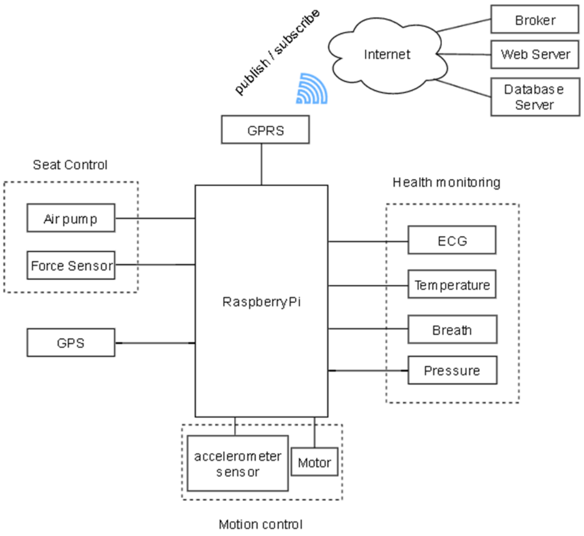


Figure 3 Block diagram

4.2 **การวิเคราะห์ความต้องการของระบบ**) System requirement analysis)

จากการศึกษา รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ความต้องการ หรือ ประสิทธิภาพของอุปกรณ์ต่างๆที่มีอยู่ในปัจจุบัน สามารถนำมาสรุปความต้องการของระบบที่ต้องการจะออกแบบได้ดังนี้

ความต้องการที่เป็นหน้าที่หลักของระบบ)Function Requirement)

- ผู้ดูแลและแพทย์สามารถตรวจสอบค่าสัญญาณ ECG, Temperature, Breath rate, Status แบบ Real-Time ได้
- สามารถวัดค่า ECG, Temperature, Breath rate ได้แบบ Real-Time
- สามารถช่วยป้องกันแผลกดทับได้โดยมีเบาะเป่าลมสำหรับผู้ป่วย
- แพทย์สามารถแจ้งเตือนมายังผู้ดูแลเมื่อเกิดความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับผู้สูงอายุ และผู้พิการ
- ผู้ดูแลสามารถตรวจสอบตำแหน่งของผู้สูงอายุ และผู้พิการที่นั่งอยู่บนรถเข็นได้
- ผู้ดูแลสามารถตรวจสอบความเร็วของอุปกรณ์ที่ติดตั้งบนรถเข็นได้
- แพทย์สามารถตรวจสอบค่าย้อนหลังในลักษณะของ Log ได้
- มีหน้าเว็บเพจสำหรับแสดงค่าต่างๆของผู้สูงอายุ และผู้พิการได้
- สามารถหยุดรถเข็นได้อัตโนมัติเมื่อไม่มีผู้เข็น

การทดลองและการประเมินผล

5.1 ผลการทดลองส่วนของ Health Monitoring

ทำการติดเซ็นเซอร์ต่างๆ และทำการวัดผลที่ได้จากเซ็นเซอร์ต่างๆ แสดงดังรูปที่

Figure 4. Breath Sensor

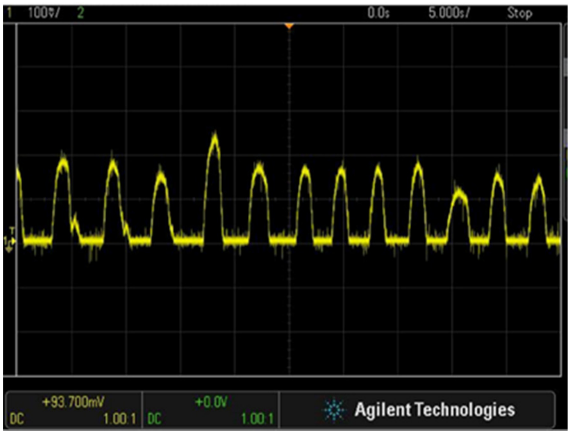


Figure 5. Breath Signal

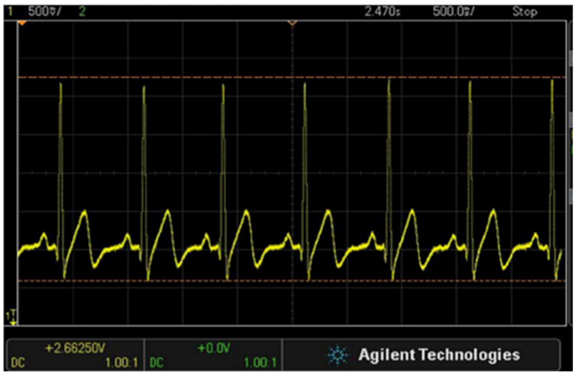


Figure 7. ECG Signal

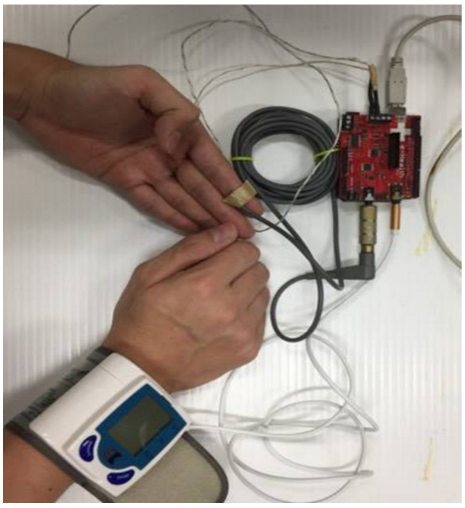


Figure 6. sphygmomanometer and Temperature sensor

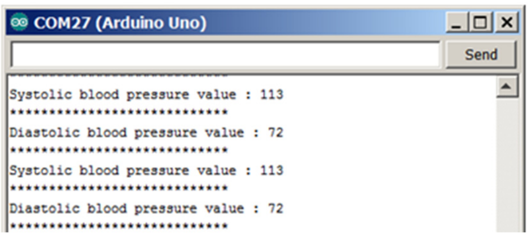


Figure 8. Values from sphygmomanometer

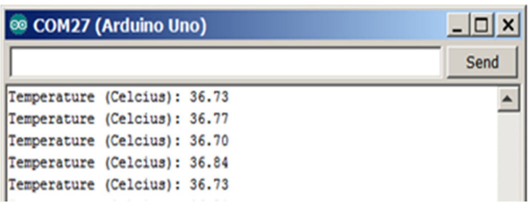


Figure 9. Values from Temperature sensor

5.2 ผลการทดลองส่วนของ Website ที่แสดงตำแหน่งของรถเข็น

ใช้ GPS module ส่งค่าตำแหน่งปัจจุบันไปแสดงผลบน Website แสดงผลตำแหน่งดังรูปที่ 10

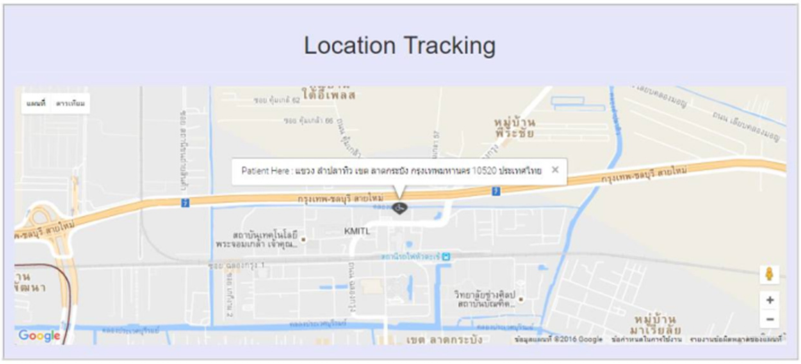


Figure 10. Location by GPS display on Web Application via Web socket

5.3 ผลการทดลองส่วนของการตรวจจับสิ่งกีดขวาง

ใช้ Ultrasonic Sensor ในการตรวจจับสิ่งกีดขวางที่อยู่ข้างหน้ารถเข็น แสดงระยะที่วัดได้นำมาใช้ในการหยุดรถเข็นแบบอัตโนมัติ แสดงผลดังรูปที่ 11

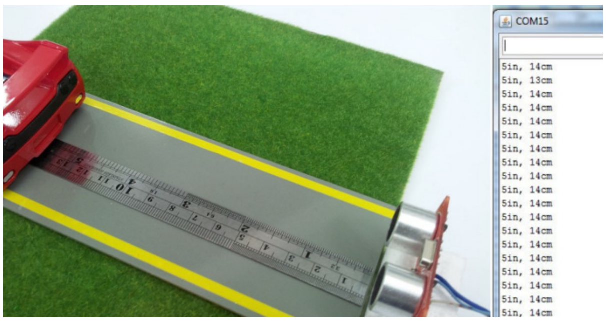


Figure 11. Obstacle detection by ultrasonic sensor

and show a distance between obstacle and ultrasonic sensor

5.4 ผลการทดลองส่วนของการควบคุมเบาะ

ใช้ Force Sensor ในการวัดแรงกดของผู้ใช้รถเข็น และจับเวลาที่นั่ง เพื่อไปควบคุมการปรับลมของเบาะป้องกันแผลกดทับ แสดงผลดังรูปที่ 12

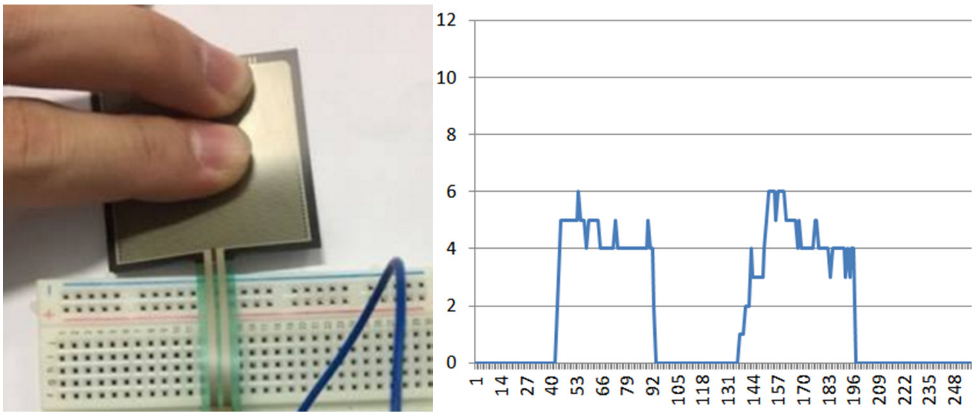


Figure 12. A result of Force sensor to control air-cushion

5.5 ผลการทดลองส่วนของ Website ที่แสดงผลข้อมูลสัญญาณชีพ

ระบบสารสนเทศที่พัฒนาบน Web Application เพื่อแจ้งข้อมูลผู้ป่วยให้แพทย์ หรือ ผู้ดูแลทราบถึงข้อมูลสุขภาพผู้ป่วยผ่านทาง Web socket ของ MQTT Broker แสดงผลดังรูปที่ 13

Figure 13. Real-Time System of Healthcare monitoring on Web Application by Web socket using MQTT Protocol

สรุปผล

ในบทความวิจัยนี้เป็นการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการเชื่อมต่อของสรรพสิ่ง ในการพัฒนาอุปกรณ์เสริมเพื่อเชื่อมต่อกับรถเข็น Wheel Chair ให้รถเข็น Wheel Chair ที่มีอยู่ใช้งานทั่วไป ให้มีความอัจฉริยะ ทันสมัย สะดวกต่อการใช้งาน มีความปลอดภัยต่อผู้สูงอายุ และราคาย่อมเยาว์ โดยมี ฟังก์ชั่นการทำงานประกอบด้วย ส่วนของการเฝ้าระวังสุขภาพ (Health Monitoring) ส่วนตรวจจับการเคลื่อนที่ของรถเข็น ส่วนระบุตำแหน่งของรถเข็น และส่วนควบคุมเบาะ และส่งค่าต่างๆ ไปแสดงผลบน Web Application แบบ Real Time ผ่าน Web Socket ทำให้บุคคลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องสามารถดูค่าต่างๆ ได้พร้อมๆ กัน สามารถตอบสนองต่อความผิดปกติของผู้ใช้งานรถเข็นได้ทันที

เอกสารอ้างอิง

Umar Mohammad; Mohammad Anas , “**Design of a low cost DIY moving wheel chair using ATmega1284P based on retina movement for the persons disabled with quadriplegia**”, 2015 Annual IEEE India Conference (INDICON)

Manoj Challagundla; K. Yogeshwar Reddy; N. Harsha Vardhan,“**Automatic motion control of powered wheel chair by the movements of eye blink**”, Advanced Communication Control and Computing Technologies (ICACCCT), 2014 International Conference on

Shamim Kaiser; Zamshed I. Chowdhury; Shamim Mamun; Amir Hussain; Mufti Mahmud,“**Solar Powered Wheel Chair for Physically Challenged People Using Surface EMG Signal**”, Computational Intelligence, 2015 IEEE Symposium Series on

Angelo Zerbetto Neto; Alexandre Mesquita; Marilda Machado Spindola; Marcos Magnani,"**Prototype of a Wheelchair Controlled by Cervical Movements**", Bioinformatics and Bioengineering (BIBE), 2014 IEEE International Conference on

R. S. Naveen; Anitha Julian,"**Brain computing interface for wheel chair control**", Computing, Communications and Networking Technologies (ICCCNT),2013 Fourth International Conference on

S-. Y. Cho; A. P. Winod; K. W. E. Cheng,"**Towards a Brain-Computer Interface based control for next generation electric wheelchairs**", Power Electronics Systems and Applications, 2009. PESA 2009. 3rd International Conference on

Shraddha Uddhav Khadilkar; Narendra Wagdarikar ,"**Android phone controlled voice, gesture and touch screen operated smart wheelchair**",Pervasive Computing (ICPC), 2015 Int Conference on

S A Akash; Akshay Menon; Arpit Gupta; Md Waheeb Wakeel; M N Praveen; P. Meena, "**A novel strategy for controlling the movement of a smart wheelchair using internet of things**",Global Humanitarian Technology Conference - South Asia Satellite (GHTC-SAS), 2014IEEE

Roberto Minerva,Abyi Biru, Domenico Rotondi, "**Towards a definition of the Internet of Things (IoT)**", IEEE, 2015.

Dave Locke. **MQ telemetry transport (mqtt) v3.1 protocol specification**. IBM developerWorks Technical Library, available at http://www.ibm.com/developerworks/library/ws-mqtt/, 2016

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร

Subject: Agro-Industry

ภาคบรรยาย

Oral Presentation

การศึกษาพฤติกรรมและปัจจัยทางการตลาดบริการที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้ออาหารจากช่องทางฟูดทรัค

The Study of Consumption Behavior and Service Marketing Factor Affecting Purchase Decision from Food Truck Channel

กรกฎ นิ่มโชคชัยรัตน์[1*] และ อัจฉรา เกษสุวรรณ[1]

Korakoj Nimchokchairat[1*] and Ajchara Kessuvan[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาลักษณะประชากรศาสตร์ พฤติกรรมการบริโภค วิถีการดำเนินชีวิต และปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7Ps) ที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้ออาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค โดยใช้แบบสอบถามผู้เคยบริโภคอาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค ที่อาศัยในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงที่มีสถานภาพโสด อายุช่วง 20-50 ปี อาชีพพนักงานเอกชน รับราชการและนักศึกษาที่มีการศึกษาระดับปริญญาตรี นิยมซื้อที่ตลาดนัด และ Community mall น้อยกว่าสัปดาห์ละ 1 ครั้ง โดยมูลค่าการใช้จ่ายเฉลี่ยต่อครั้งอยู่ในช่วง 67-132 บาท ผู้บริโภคให้ความสำคัญกับรสชาติ ความสะดวกในการเดินทาง และ การตกแต่งร้านเป็นลำดับแรก อาหารไทยที่นิยมบริโภคคือ อาหารทานเล่นจากเนื้อสัตว์ ผลการวิเคราะห์พบว่า ช่วงอายุ (Generation) ของผู้บริโภคส่งผลให้มีความแตกต่างทางพฤติกรรมการบริโภคและวิถีการดำเนินชีวิต เมื่อพิจารณาการให้ความสำคัญของปัจจัยทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อโดยวิเคราะห์ด้วย ANOVA พบว่า Generation X และ Generation Y แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ปัจจัยด้านการส่งเสริมการตลาด ผลจากการวิจัยทำให้ผู้ประกอบการสามารถกำหนดกลุ่มลูกค้าเป้าหมายได้ชัดเจนตามลักษณะพฤติกรรมและวิถีชีวิตที่แตกต่างกัน และเป็นแนวทางพัฒนากลยุทธ์การตลาดในการสร้างความแตกต่าง (Differentiated strategy) เพื่อสนองตอบลูกค้าเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิผล

ABSTRACT

This research explores the demographics, consumption behaviors, lifestyles and marketing mix factors affecting purchase decision for Thai foods from food truck channel. Questionnaire survey was conducted with experienced consumers in Bangkok metropolitan. In general, respondents are single female, 20-50 years old who are employed and university student with bachelor degree. Flea market and community mall are the most favorable channels. Consumers normally purchase less than once a week with average expenses of THB 67-132. They focus on product taste, easy to commute and food truck decoration as major purchase decision criteria. The most popular food is meat appetizer. The analysis indicated that age or generation show the difference in consumption behavior and lifestyles. Regarding the important level marketing factors affecting purchasing decision, ANOVA revealed that the difference in generation X and generation Y had significant effects on promotion strategy. The research provides benefit to entrepreneur in order to identify the consumer segment according to behavior and lifestyle, and become a guideline to formulate the effective differentiated marketing strategy for the target consumers.

Key Words: Food Truck, Purchase Decision, Consumer Behavior, Lifestyle, Marketing Factor

* Corresponding author; e-mail address: koj_kub@hotmail.com

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Agro-Industrial Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ประเทศไทยมีการขยายตัวของสังคมเมืองและเกิดการเปลี่ยนแปลงของวิถีการดำเนินชีวิต เนื่องจากขนาดครอบครัวที่เล็กลงและการใช้ชีวิตประจำวันที่เร่งรีบ ทำให้ผู้บริโภคเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการบริโภคโดยหันมาเลือกรับประทานอาหารนอกบ้าน หรืออาหารสำเร็จรูปมากขึ้น โดยเฉพาะร้านอาหารที่ตั้งอยู่บริเวณริมทางจะเป็นที่นิยมเนื่องจากสะดวกและมีอาหารหลากหลายให้เลือกตามรสนิยม จากผลการสำรวจของ Euromonitor International ในปี 2016 ได้รายงานว่า คนไทยนิยมรับประทานอาหารนอกบ้าน ส่งผลให้ธุรกิจบริการเกี่ยวกับอาหาร (Consumer Foodservices) มีมูลค่าตลาดอยู่ในระดับสูงมาก ธุรกิจร้านอาหารทั่วไปมีมูลค่าตลาดอยู่ประมาณ 375,000-385,000 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2558) และจากข้อมูลในปี 2558 พบว่าธุรกิจภัตตาคารและร้านอาหารมีอัตราการเติบโตสูงขึ้นประมาณร้อยละ 16 (กรมการท่องเที่ยว, 2558) รูปแบบของธุรกิจบริการอาหารแบบใหม่ที่น่าสนใจและเป็นที่นิยมในกรุงเทพฯ และเมืองใหญ่คือ Hip Styled Food Truck ซึ่งเป็นแนวคิดมาจากต่างประเทศ ในระยะแรกจึงเป็นลักษณะอาหารตะวันตก เช่น แฮมเบอร์เกอร์ แต่เมื่อแพร่หลายจึงมีผู้ประกอบการนำมาดัดแปลงเป็น ฟูดทรัค อาหารไทย โดยผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายมีหลากหลายชนิดทั้งอาหาร เครื่องดื่ม และขนมหวาน แบ่งเป็นประเภทที่ตั้งจำหน่ายในสถานที่ประจำ และประเภทที่เคลื่อนย้ายไปตามสถานที่ต่างๆ โดยเฉพาะงาน Event ซึ่งนับเป็นธุรกิจบริการอาหารไทยบนช่องทางการจำหน่ายแบบใหม่ที่เป็นธุรกิจขนาดเล็กแต่เริ่มมีจำนวนแพร่หลายมากขึ้น

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ ฟูดทรัค และการตัดสินใจใช้บริการร้านอาหารที่ผ่านมา พบว่าในปี 2558 วิทยาลัยการจัดการ มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ทำการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการตลาดธุรกิจ ฟูดทรัค โดยการสัมภาษณ์เชิงลึกเกี่ยวกับพฤติกรรมผู้บริโภคตามทฤษฎี 6Ws พบว่า วิถีชีวิตของผู้บริโภคที่ซื้ออาหารจาก ฟูดทรัค เป็นผู้ชอบทดลองสิ่งของแปลกใหม่และตามกระแสอยากเป็นผู้นำเทรนด์ สิ่งดึงดูดให้มารับประทาน ฟูดทรัค คือความมีเอกลักษณ์ของตัวรถและเมนูอาหารที่แปลกใหม่ นิยมมารับประทาน ฟูดทรัค ที่งานเทศกาลและบริเวณใกล้ที่ทำงาน นอกจากนี้ กนกพรรณ (2557) ได้ศึกษาส่วนประสมการตลาดบริการ (7Ps) และพฤติกรรมการใช้บริการร้านอาหารญี่ปุ่นย่าน community mall ของผู้บริโภคในเขตกรุงเทพมหานคร ผลการวิจัยพบว่า ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงวัย 25-34 ปี ทำงานบริษัทเอกชน โดยให้ความสำคัญกับด้านกระบวนการให้บริการของร้านอาหารมากที่สุด และด้านผลิตภัณฑ์ ด้านการส่งเสริมการขาย ด้านพนักงาน ด้านลักษณะทางกายภาพอยู่ในระดับมาก ขณะที่งานวิจัยของ Bootudom and Kessuvan (2015) ศึกษาปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7Ps) และมิติคุณภาพการให้บริการที่มีผลต่อการตัดสินใจเลือกใช้บริการร้านอาหารเดี่ยวและร้านอาหารเครือข่ายในกรุงเทพมหานคร พบว่า ผู้บริโภคส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงในช่วงอายุ 30-40 ปีทำงานบริษัทเอกชน ด้วยรายได้ประมาณ 20,000 บาทขึ้นไป ปัจจัยด้านผลิตภัณฑ์และราคาสำคัญที่สุดในการเลือกบริโภคที่ร้านอาหารเดี่ยว ขณะที่ปัจจัยด้านผลิตภัณฑ์ ช่องทางการจัดจำหน่าย และการส่งเสริมการตลาด เป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดสำหรับร้านอาหารเครือข่าย ในขณะที่งานวิจัยหลายงานพบว่า ความแตกต่างของช่วงอายุ (Generation) โดยเฉพาะ Generation X และ Generation Y มีผลให้ผู้บริโภคมีความแตกต่างกันในด้านการบริโภคสื่อออนไลน์ (ชานนท์, 2554) และการใช้เวลาในวิถีชีวิตประจำวัน (สราวุธ, 2555) นอกจากนี้ในด้านการบริโภคอาหารมีงานวิจัยของ สำนักงานสงเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครลอสแอนเจลิส (2559) พบว่า Generation X เป็นช่วงอายุที่เริ่มใช่จ่ายหลายช่องทาง และเริ่มมีการสืบค้นข้อมูลบางส่วน ในขณะที่ Generation Y มีการทำข้อมูลหรือสืบค้นข้อมูลก่อนการซื้อสินค้าเป็นอย่างดี และชอบทดลองสิ่งแปลกใหม่

ดังนั้น การศึกษาลักษณะและพฤติกรรมการบริโภค วิถีการดำเนินชีวิต และปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7Ps) ที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้ออาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค ในเขตกรุงเทพ จึงสามารถนำมาเป็นข้อมูลหรือแนวทางในการปรับปรุงพัฒนาธุรกิจร้านอาหารไทยบนช่องทางฟูดทรัค ให้ตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบันและยังสอดคล้องกับนโยบายของรัฐบาลในการสนับสนุนผู้ประกอบการรายเล็กที่ดำเนินธุรกิจ ฟูดทรัค โดยกรมการค้าภายใน กระทรวงพาณิชย์ (2559) ได้ริเริ่มจัดทำ ธุรกิจ ฟูดทรัค ที่ชื่อว่าหนูณิชย์เคลื่อนที่ โดยเสนอให้ไปจอดขายตามสถานที่สาธารณะเพื่อความสะดวกสบายของผู้บริโภค อีกทั้งยังมีการคุมราคาขาย ทั้งนี้เพื่อช่วยลดค่าครองชีพของผู้บริโภคอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

1.แบบสอบถาม

งานวิจัยนี้เป็นการสำรวจโดยใช้แบบสอบถามเป็นเครื่องมือในการเก็บข้อมูล ซึ่งผู้วิจัยได้เก็บรวบรวมข้อมูลจากการสังเกตการณ์ การสัมภาษณ์เชิงลึก (Depth Interview) โดยสังเกตพฤติกรรมของผู้ขาย และผู้ซื้ออาหารจาก ฟูดทรัค และทำการสัมภาษณ์เชิงลึกกับผู้ประกอบการอาหารฟูดทรัค ร้านเก๋จัง ซึ่งจำหน่ายอาหารทานเล่นจาก ผักผลไม้ เช่น มะม่วงน้ำปลาหวาน ยำผลไม้ ผลไม้ เป็นต้น ได้ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะผู้บริโภค และพฤติกรรมการบริโภค อีกทั้งยังอ้างอิงทฤษฎีทางการตลาดและงานวิจัยที่ผ่านมาเพื่อนำมาสร้างแบบสอบถาม โดยแบบสอบถามจะประกอบด้วย

ส่วนที่ 1 : แบบสอบถามที่เกี่ยวกับข้อมูลประชากรศาสตร์

ส่วนที่ 2 : แบบสอบถามที่เกี่ยวกับพฤติกรรมการซื้อและใช้บริการ

ส่วนที่ 3 : แบบสอบถามที่เกี่ยวกับวิถีการดำเนินชีวิต

ส่วนที่ 4 : แบบสอบถามที่เกี่ยวกับปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7 Ps)

2. วิธีการเก็บข้อมูล

งานวิจัยนี้เก็บข้อมูลโดยการสัมภาษณ์แบบตัวต่อตัว (Face-to-Face Interview) โดยสุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) กับกลุ่มเป้าหมายคือ ผู้บริโภคที่พักอาศัยอยู่ในเขตกรุงเทพมหานคร ซึ่งเคยซื้อและบริโภคอาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค จำนวน 400 คน

3. การวิเคราะห์ข้อมูลและแปลความหมายของข้อมูล

1. การวิเคราะห์ความเชื่อถือได้ของแบบสอบถามในรูปแบบสเกล คือส่วนที่ 3 และ 4 หลังจากดำเนินการทำ Pretest จำนวน 30 คน ซึ่งใช้วิธีการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์อัลฟ่าของครอนบัค (Cronbach’s alpha coefficient) โดยแบบสอบถามทั้งสองส่วนมีค่าสัมประสิทธิ์ มากกว่า 0.7 จึงถือว่าแบบสอบถามมีความเชื่อถือได้ (Malhotra and Peterson, 2006)

2. การวิเคราะห์ข้อมูลด้านประชากรศาสตร์ และพฤติกรรมการซื้อและใช้บริการร้านอาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค ได้แก่ ความถี่ในการใช้บริการต่อสัปดาห์ ช่วงเวลาในการใช้บริการ เป็นต้น โดยใช้การวิเคราะห์สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ

3. การวิเคราะห์ข้อมูลวิถีการดำเนินชีวิต สำหรับวิถีการดำเนินชีวิตของผู้บริโภคนั้นได้ใช้หลักการของ AIO (Activity Interest Opinion) (Schiffman and Kanuk, 2010) ในการตั้งคำถามเพื่อให้ผู้ตอบให้คะแนนสเกล 5 ระดับ (5-point likert scale) ที่ตรงกับวิถีการดำเนินชีวิตของผู้บริโภคมากที่สุด และหาค่าเฉลี่ยโดยเรียงลำดับจากคะแนนเฉลี่ยวิถีการดำเนินชีวิต 5 อันดับแรก

4. การวิเคราะห์ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7 Ps) ได้แก่ ด้านผลิตภัณฑ์ (Product) ด้านราคา (Price) ด้านช่องทางการจัดจำหน่าย (Place) ด้านส่งเสริมการตลาด (Promotion) ด้านบุคคล (People) ด้านการสร้างและนำเสนอลักษณะทางกายภาพ (Physical Evidence and Presentation) และด้านกระบวนการ (Process) ที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อและใช้บริการร้านอาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลทางประชากรศาสตร์ พฤติกรรมศาสตร์ โดยใช้ค่าสถิติ Chi–square test และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางประชากรศาสตร์กับปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7 Ps) ที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้ออาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัคของผู้บริโภค โดยใช้ค่าสถิติ Analysis of Variance (ANOVA)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้านประชากรศาสตร์และพฤติกรรมการซื้ออาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค

จากการสำรวจโดยสอบถามผู้ที่เคยบริโภคอาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค ที่อาศัยอยู่ในกรุงเทพมหานคร จำนวน 400 คน พบว่า ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่เป็น เพศหญิง (61%) อายุช่วง 20-35 ปี 212 คน (53%) และ 36-50 ปี 84 คน (21%) สถานภาพโสด การศึกษาระดับปริญญาตรี (70%) ประกอบอาชีพพนักงานบริษัทเอกชน (45%) ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ (21%) และนักศึกษา (20%) มีรายได้ประมาณ 10,000-20,000 บาท (28%) และ 20,001-30,000 บาท (24%) มีสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 2 คน

จากการวิเคราะห์พฤติกรรมการบริโภคและการเลือกซื้อของผู้บริโภคโดยรวมพบว่า ส่วนใหญ่นิยมรับประทานอาหารทานเล่นจากเนื้อสัตว์ เช่น หมูสะเต๊ะ ไส้กรอก เป็นต้น (36%) รองลงมาคืออาหารประเภทเส้น (17%) ซึ่งผู้บริโภครู้จัก ฟูดทรัค มาจากสื่ออินเตอร์เน็ทมากที่สุด (41%) ส่วนใหญ่บริโภคน้อยกว่าสัปดาห์ละ 1 ครั้ง (64%) และนิยมบริโภคช่วงเวลาหลัง 18.00 น. (51%) โดยการใช้จ่ายเฉลี่ยต่อครั้งอยู่ที่ 67-132 บาท (38%) ผู้บริโภคมักไปรับประทานกับเพื่อน (39%) เหตุผลในการเลือกบริโภคจะตัดสินใจจากรสชาติของอาหาร (33%) มากที่สุด รองลงมาคือ ความสะดวกในการเดินทาง (24%)

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ของปัจจัยด้านประชากรศาสตร์และพฤติกรรมการบริโภคอาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค

ผลจากการดำเนินการวิเคราะห์ปัจจัยด้านประชากรศาสตร์และพฤติกรรมการบริโภค โดยใช้ตารางการเปรียบเทียบ (Cross tab) และทดสอบความเป็นอิสระด้วยค่าสถิติไคสแควร์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า เพศ ช่วงอายุ รายได้ สถานภาพของผู้บริโภคส่งผลให้ผู้บริโภคมีความแตกต่างทางพฤติกรรมการซื้อและบริโภคจากฟูดทรัค จากรายงานเรื่อง Food Truck Marketing ของวิทยาลัยการจัดการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2558) พบว่า กลุ่มลูกค้าเป้าหมายของ ฟูดทรัค เป็นกลุ่มที่ชอบลองสินค้าแปลกใหม่ ตามกระแส ชอบใช้ชีวิตนอกบ้านและชอบปาร์ตี้ ซึ่งตรงกับลักษณะของผู้บริโภคที่เป็นช่วงอายุ Generation Y และบางส่วนของ Generation X ดังนั้น ผู้วิจัยจึงใช้ตัวแปรช่วงอายุของผู้บริโภคมาวิเคราะห์ โดยการแบ่งเป็น 4 กลุ่มอายุ ตาม Generation ได้แก่ Baby Boomer อายุ 51-60 ปี , Generation X อายุ 36-50 ปี , Generation Y อายุ 20-35 ปี, Generation Z อายุ<19 ปี (อินเตอร์สเปซ, 2559) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ ณฤดี (2556) ได้ทำการศึกษาพฤติกรรมการรับประทานอาหารริมทางในย่านถนนเยาวราชของผู้บริโภควัยทำงานในกรุงเทพมหานคร พบว่า เพศ อายุ รายได้เฉลี่ยต่อเดือน และจำนวนสมาชิกในครอบครัวมีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภค

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้านพฤติกรรมการบริโภคและวิถีการดำเนินชีวิตจำแนกตามช่วงอายุ

การวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคของผู้บริโภคแต่ละช่วงอายุ (Baby Boomer, Generation X, Generation Y, Generation Z) (Table 1) แสดงให้เห็นความแตกต่างของพฤติกรรมผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายนั่นคือ Generation X กับ Generation Y เกี่ยวกับเหตุผลในการบริโภคอาหารไทยจากฟูดทรัค โดยที่ Generation X จะให้ความสำคัญกับเรื่องความสะดวกในการเดินทางไปบริโภค ขณะที่ผู้บริโภค Generation Y จะให้ความสำคัญกับความพอใจในรสชาติอาหารเป็นอันดับแรก สำหรับพฤติกรรมเรื่องผู้ที่ไปร่วมรับประทานอาหารจาก ฟูดทรัค นั้นพบว่า Generation X ไปพร้อมกับครอบครัวเป็นอันดับหนึ่ง ขณะที่ Generation Y ไปกับเพื่อนเป็นหลัก

Table1 Consumption behavior among four generations

Consumption behavior	Baby Boomer	Generation X	Generation Y	Generation Z
Types of Foods	Noodle-based Thai dessert	Meat appetizer	Meat appetizer	Meat appetizer
Frequency	< once a week Once a week	< once a week	< once a week	< once a week Once a week
Time	12.01 - 13.00 pm. After18.00 pm.	After18.00 pm.	After18.00 pm.	13.01-16.00 pm.
Expenses	>THB 264	THB 67-132	THB 67-132	THB 0-66
Reason to buy	Convenience for travel	Convenience for travel	Good taste	Convenience for travel
No. of accompany	1 or 2	2	2	2
Accompany person	Family member	Family member	Friend	Friend

การวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับวิถีการดำเนินชีวิตของผู้บริโภคแต่ละช่วงอายุ (Baby Boomer, Generation X, Generation Y, Generation Z) โดยเรียงลำดับจากคะแนนเฉลี่ยวิถีการดำเนินชีวิต 5 อันดับแรก (5 Top Box) ที่ผู้บริโภคให้ความคิดเห็นว่าแสดงถึงตัวตนของผู้บริโภคมากที่สุด (Table 2) ซึ่งพบว่าผู้บริโภคที่เป็น Baby Boomer เป็นผู้ที่สนใจในตัวอาหารมากกว่าการตกแต่งร้านอย่างชัดเจน สำหรับกลุ่มเป้าหมายคือ Generation X และ Generation Y นั้น ผู้บริโภคมีลักษณะคล้ายคลึงกันในด้านความเชื่อมั่นในการตัดสินใจของตนเอง และชอบความสะดวกสบายแต่แตกต่างกันที่ Generation Xจะดำเนินชีวิตอย่างประหยัด ขณะที่ Generation Y จะชอบเดินทางและท่องเที่ยว ชอบทดลองสิ่งใหม่ตามเทรนด์ และสุดท้ายคือ Generation Z จะชอบความสะดวกสบายเท่าๆ กับชอบทดลองสิ่งใหม่และชอบเดินทางและท่องเที่ยว

Table 2 Lifestyles among four generations

Baby Boomer	Generation X	Generation Y	Generation Z
1. Interested in foods more than shop decoration 2. Prefer to have trial or tasting foods 3. Like travelling 4.Interested shop decoration 5.Expensive foods have high quality	1. Self-confidence 2. Prefer convenience 3. Saving or sufficiency lifestyle 4. Interested in foods more than shop decoration 5. Prefer to have trial or tasting foods	1. Self-confidence 2. Like travelling 3. Prefer convenience 4. Innovative 5. Prefer to have trial or tasting foods	1. Prefer convenience 2. Innovative 3. Like travelling 4. Prefer to have trial or tasting foods 5.Often eating out

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ของปัจจัยด้านช่วงอายุต่อปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7Ps)

ผู้วิจัยนำตัวแปรด้านประชากรศาสตร์ได้แก่ เพศ ช่วงอายุ รายได้ และสถานภาพ มาดำเนินการทดสอบความสัมพันธ์กับปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7Ps) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%ผลการวิเคราะห์พบว่าช่วงอายุ มีความแตกต่างของการให้คะแนนความสำคัญของปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7Ps) จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ระหว่างช่วงอายุและปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ (7Ps) (Table 3) เพื่อทดสอบความแตกต่างของการให้คะแนนความสำคัญของปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดของผู้บริโภคแต่ละช่วงอายุ (Baby Boomer, Generation X, Generation Y, Generation Z) พบว่า ผู้บริโภคที่มีความแตกต่างกันในช่วงอายุ Generation X และ Generation Y ให้คะแนนความสำคัญของปัจจัยด้านการส่งเสริมการตลาด (Promotion) โดยรวม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Table3 Comparison of marketing mix factors importance (7 Ps) among four generations

Marketing Factors	Important score (Mean ± SD)			
	Baby Boomer	Generation X	Generation Y	Generation Z
Product	3.73 ± 0.78	3.75 ± 0.56	3.81 ± 0.60	4.06 ± 0.54
Price	4.16 ± 0.63	4.16 ± 0.60	4.27 ± 0.56	4.50 ± 0.64
Place	4.00 ± 1.04	4.12 ± 0.61	4.12 ± 0.58	4.05 ± 0.74
Promotion	3.68 ± 1.29	3.43 ± 0.77*	3.76 ± 0.66*	3.63 ± 1.09
People	4.35 ± 0.54	4.41 ± 0.58	4.39 ± 0.56	4.64 ± 0.38
Process	4.03 ± 0.99	4.51 ± 1.62	4.40 ± 0.95	4.65 ± 0.52
Physical	4.00 ± 0.89	4.21 ± 0.59	4.28 ± 0.53	4.24 ± 0.62

* The mean difference is significant at the 0.05 level

เมื่อวิเคราะห์คะแนนเฉลี่ยของปัจจัยย่อยแต่ละด้าน พบว่าปัจจัยด้านผลิตภัณฑ์ Generation X และ Generation Y ให้ความสำคัญกับรสชาติอาหารและคุณภาพวัตถุดิบมากที่สุด รองลงมา Generation X สนใจความหลากหลายของเมนู ขณะที่ Generation Y สนใจกลิ่นของอาหาร ปัจจัยด้านราคา Generation X สนใจราคาที่เหมาะสมกับคุณภาพ ขณะที่ Generation Y ต้องการป้ายแสดงราคาอาหาร ปัจจัยด้านสถานที่ Generation X ต้องการให้มีสถานที่จอดรถ ขณะที่ Generation Y ต้องการให้ ฟูดทรัค ตั้งอยู่ในแหล่งชุมชนและสถานที่ท่องเที่ยว ปัจจัยด้านบุคลากร Generation X ต้องการพนักงานพูดจาสุภาพเรียบร้อย ขณะที่ Generation Y ต้องการพนักงานที่ยิ้มแย้มแจ่มใส ปัจจัยด้านกระบวนการ Generation X และ Generation Y ต้องการบริการที่รวดเร็วและถูกต้องเช่นเดียวกัน สำหรับปัจจัยลักษณะทางกายภาพ Generation X และ Generation Y ให้ความสำคัญกับความสะอาดของร้านและอุปกรณ์ภายในร้าน แต่ Generation X ต้องการให้มีเก้าอี้สำหรับนั่งรับประทาน ขณะที่ Generation Y ต้องการป้ายชื่อร้านที่มองเห็นได้ง่าย

สำหรับปัจจัยด้านการส่งเสริมการตลาดนั้น มีการจำแนกย่อยออกเป็น 7 ข้อ คือ บัตรสมาชิกสะสมแต้ม บัตรส่วนลด เมนูแนะนำ มีการโฆษณาใน Social Media มีการออกงาน Event มีแนะนำใน Web-site หรือ Blog และมี Brochureแนะนำร้าน/เมนูใหม่ จึงได้วิเคราะห์ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของคะแนนความสำคัญของปัจจัยย่อยด้านการส่งเสริมการตลาดจำแนกตามช่วงอายุ (Table 4) พบว่าถึงแม้ Generation Y จะให้คะแนนความสำคัญของปัจจัยด้านการส่งเสริมการตลาดโดยรวมสูงกว่า Generation X แต่ทั้งสองช่วงอายุให้ความสำคัญกับเมนูแนะนำอาหารมากที่สุด โดย Generation X ให้ความสำคัญกับบัตรส่วนลด และมีแนะนำใน Web-site หรือ Blog เป็นลำดับรองลงมา ส่วน Generation Y จะให้ความสำคัญกับการโฆษณาใน Social media และบัตรส่วนลด รองลงมาตามลำดับ

Table4 Comparison of promotion sub-factors importance among four generations

Promotion	Important score (Mean ± SD)			
	Generation B	Generation X	Generation Y	Generation Z
Membership card	3.75 ± 1.49	3.23 ± 1.09	3.46 ± 0.98	3.00 ± 1.41
Discount card	3.88 ± 1.55	3.47 ± 1.14	3.90 ± 0.96	4.00 ± 1.00
Recommended menu	3.75 ± 1.39	3.77 ± 0.81	4.02 ± 0.80	4.20 ± 0.84
Ads on social media	3.63 ± 1.30	3.40 ± 0.90	3.91 ± 0.85	3.60 ± 1.14
Trade event	3.50 ± 1.31	3.29 ± 0.93	3.68 ± 0.93	3.60 ± 0.89
Recommended on Website/Blog	3.63 ± 1.30	3.43 ± 0.93	3.71 ± 0.93	3.40 ± 1.82
Brochure	3.63 ± 1.30	3.40 ± 0.94	3.63 ± 0.90	3.60 ± 1.52

สรุป

การศึกษาข้อมูลด้านประชากรศาสตร์ พฤติกรรม วิถีการดำเนินชีวิตและปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์อาหารไทยจากช่องทางฟูดทรัค ของผู้บริโภคในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ผลการวิเคราะห์พบว่า ผู้บริโภคที่มีความแตกต่างกันในด้านช่วงอายุ จะส่งผลให้มีความแตกต่างทางพฤติกรรมการบริโภคและปัจจัยการตลาดที่ส่งผลต่อการตัดสินใจซื้อ โดยผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายหลักคือ Generation X และ Generation Y ให้ความสำคัญกับปัจจัยด้านการส่งเสริมการตลาดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผลจากการ

วิจัยทำให้ผู้ประกอบการสามารถกำหนดกลุ่มลูกค้าเป้าหมายได้ชัดเจนตามลักษณะพฤติกรรมและวิถีชีวิตที่แตกต่างกัน และเป็นแนวทางพัฒนากลยุทธ์การตลาดในการสร้างความแตกต่าง (Differentiated strategy) ตามกลุ่มเป้าหมาย โดย Generation X อาหารหลักควรเป็นอาหารทานเล่นประเภทเนื้อสัตว์ เน้นที่รสชาติดี คุณภาพของวัตถุดิบ แต่ควรสร้างความหลากหลายของเมนูเพื่อตอบสนอง ตั้งราคาที่เหมาะสมกับคุณภาพและปริมาณ (Perceived value) อำนวยความสะดวกเรื่องที่จอดรถสำหรับ Generation X ต้องมีเมนูแนะนำอาหาร และเพิ่มการให้บัตรส่วนลด และมีแนะนำใน Web-site หรือ Blog มีการอบรมพนักงานให้พูดจาสุภาพและแต่งกายสะอาดเรียบร้อย ให้บริการอย่างรวดเร็วและถูกต้องโดยใช้ระบบคิว ต้องมีการจัดเก้าอี้นั่งบริเวณร้านให้เพียงพอเนื่องจากผู้บริโภค Generation X นิยมไปรับประทานเป็นครอบครัว และถ้าหากต้องการกลุ่มลุกค้า Generation Y อาหารหลักควรเป็นอาหารทานเล่นประเภทเนื้อสัตว์ เน้นที่รสชาติดี คุณภาพของวัตถุดิบ และควรใช้เรื่องรูปรสและกลิ่นของอาหารเป็นสิ่งดึงดูดผู้บริโภค ตั้งราคาที่เหมาะสมกับคุณภาพและปริมาณ (Perceived value) แต่ต้องมีป้ายระบุราคาชัดเจนและตั้งราคาที่หลากหลายให้ผู้บริโภค เนื่องจากวิถีชีวิตผู้บริโภคต้องการความสะดวก จึงควรมีสถานที่ตั้งรถ ฟูดทรัค ในแหล่งชุมชน ต้องใช้วิธีการส่งเสริมการตลาดผ่านช่องทาง Social media และออกงานแสดงสินค้า (Event) มีการอบรมพนักงานให้พูดจาสุภาพและแต่งกายสะอาดเรียบร้อย ให้บริการอย่างรวดเร็วและถูกต้องโดยใช้ระบบคิว ร้านและอุปกรณ์ภายในร้าน ต้องสะอาด ต้องการมีป้ายชื่อร้านที่มองเห็นได้ง่าย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. อัจฉรา เกษสุวรรณ สำหรับคำปรึกษาและการช่วยเหลือทุกอย่างในงานวิจัยนี้ตลอดมา ขอขอบคุณร้านเก๋จัง มะม่วงน้ำปลาหวาน ในการให้ข้อมูลเชิงลึก ขอขอบคุณผู้ตอบแบบสอบถามทุกท่านในการให้ข้อมูลเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มประชาสัมพันธ์และเผยแพร่ สำนักโฆษก. 2559. **ผู้ช่วยโฆษกรัฐบาลเผย นายกฯ แนะให้นำรถขายอาหาร Food Truck ไปให้บริการตามสถานที่สาธารณะ ให้ประชาชนสามารถเข้าถึงบริการได้บริโภคอาหารที่มีดีมีคุณภาพและช่วยลดค่าครองชีพอีกทางหนึ่ง.** Source: http://www.thaigov.go.th/index.php /th/government-th1/item/106618-106618, Dec 7, 2016.

กนกพรรณ สุขฤทธิ์. 2557. **ส่วนประสมการตลาดบริการและพฤติกรรมการใช้บริการร้านอาหารญี่ปุ่นย่าน comminity mall ใน กทม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

กองข้อมูลธุรกิจ กรมพัฒนาธุรกิจการค้า กระทรวงพาณิชย์. 2558. **ธุรกิจเด่นประจำเดือนมิถุนายน ปี 2558.** Source: http://www.dbd.go.th/ewt_news.php?nid=15433, Nov 12, 2016.

ชานนท์ ศิริธร. 2554. **การเปิดรับสื่อและการยอมรับนวัตกรรมของผู้บริโภคเจเนอเรชั่นเอ็กซ์และเจเนอเรชั่นวาย.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สราวุธ ชัยวิชิต. 2555. **รูปแบบการเข้าร่วมการใช้เวลาว่างของเจเนอเรชั่นต่าง ๆ ในเขตกรุงเทพมหานคร.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครลอสแอนเจลิส. 2559. **พฤติกรรมการบริโภคและช่องทางการตลาดสำหรับ Generation ต่าง ๆ.** Source: http://www.thaitradeusa.com/home/wpcontent/uploads/ 2016/07/ TTCLA _MarketReport_Generation_Jun2016.pdf, Dec 7, 2016.

บริษัท อินเตอร์สเปซ (ประเทศไทย) จำกัด. 2559. **Money Hub.** Source: https://moneyhub.in.th/article/ generation -people/, Nov 2, 2016.

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2559. **แนวโน้มและบทวิเคราะห์ธุรกิจ.** Source: http://www.kasikornbank.com /TH/SME/KSMEKnowledge/KSMEAnalysis/Pages/SME_Local_Restauran, Nov 13, 2016.

วิทยาลัยการจัดการ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2558. **ล้วงเรื่องลับ "Food Truck Marketing" ชิม ชิค ใช่ ได้ใจนักกิน.** Source: http://www.brandbuffet.in.th/2015/11/food-truck-marketing-trending-business/, Nov 13, 2016.

Bootudom, K and Kessuvan, A. (2015). **The Comparative Study of Factors Affecting Consumers' Decisions to Select Independent and Chain Restaurants in Bangkok.** Journal of Food Science and Agricultural Technology. 1(1): 40-46

Malhotra, N. K., M. Peterson. 2006. **Basic Marketing Research: A Decision-making Approach.** 2nd Edition. New Jersey: Prentice Hall.

Euromonitor. 2016. **Consumer Foodservice in Thailand.** http://www.euromonitor.com/consumer-foodservice-in-thailand/report, Nov 13, 2016.

Leon G Schiffman, Leslie Lazar Kanuk, Joseph Wisenblit. 2010. **Consumer Behavior.** 10th Edition. London. Pearson Prentice Hall.

Effects of Washing and Extraction with Salt on Characteristics of Salmon (*Salmo salar*) Bone Extract

Ahsanatun Syahidawati[1] and Kanokrat Limpisophon[1*]

ABSTRACT

In filleting production, a significant amount of salmon bone as a byproduct was either discarded or used as a feed. The salmon bone containing meat can be consumed because of its high protein and lipid; however, the high lipid portion may cause rancidity in the salmon bone. The objectives were to reduce lipid of salmon bone-meat by several washing solutions, and to investigate the characteristics of protein extract by using various salt concentrations. Various washing solutions including cold water, 1% (w/v) salt solution, 1% (w/v) $NaHCO_3$ and hot water were used for washing process. Salmon bone was washed with each washing solution with the ratio bone to solution 1:3 (w:v) and then washed with cold water. The treatment resulting in decreasing lipid content without removing protein content would be used in extraction study. The initial lipid content of salmon bone-meat was 18.40% (w/w). After washing with cold water, it significantly decreased 15.35% (w/w) ($p<0.05$). Salmon bone extract was extracted at 85ºC for 2 h in 0.5-3.5% (w/v) of salt solution. Increasing total solid ($p<0.05$) of the protein extract was resulted from an increase in salt content to extract protein; however, protein content did not significantly change ($p\geq0.05$). Addition of salt reduced the lightness (L*) and light transmission. Additionally, the extraction by different salt concentration exhibited different protein patterns. Myosin heavy chain was observed during extraction with high salt solution (2-3.5% salt) as compared with that with low salt solution (0.5% salt). Proteins having low molecular weight such as tropomyosin/troponin in salmon bone extract was also found; however, tropomyosin/troponin disappeared when the salt concentration increased. It was found that washing process with cold water was the most simple and efficient to remove lipid from salmon bone-meat before extraction. Therefore, extraction with salt at high temperature was a convenient method to obtain protein extract from salmon bone-meat.

Key Words: extraction, washing treatment, salmon bone extract, salt, protein

* Corresponding author; e-mail address: fagikrl@ku.ac.th

[1]Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

INTRODUCTION

Salmon is widely consumed in Thailand because of its nutrition and special flavor quality. Salmon consumption could encourage the development of salmon filleting industry. Salmon filleting industry in Thailand in 2010-2014 attained 5,156 tons per year (Fisheries Foreign Affairs Division, 2014). Consequently, 3.1-8.6% of salmon byproducts were resulted by filleting activity. However, salmon bone was composed of 64.3% moisture, 14.1% protein, 15.2% lipid and 6.4% ash (Ramírez, 2007). The problem of salmon bone extract is fishy and rancid odor since salmon bone has a high lipid content 15.2% (wet basis) (Ramírez, 2007). Reducing lipid content in salmon bone should be concerned because lipid can interfere the further analysis. Furthermore, consumers are more interest in low lipid product. Several washing solutions can be used to reduce lipid in salmon bone-meat. The previous studies reported that using cold water, sodium chloride (NaCl), hot water, and sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) was used to reduce lipid content in fish mince and mechanically deboned chicken meat before advanced processing, resulting in a decrease in significant portion of lipid content (Eymard *et al.,* 2009; Medina and Pazos, 2010).

Salt is usually used in food industry as a flavor enhancer. Additionally, salt can be used to extract protein from meat. Meat proteins can be categorized as: myofibrillar proteins (salt-soluble proteins), sarcoplasmic proteins (water-soluble proteins) and stroma proteins (water-insoluble proteins). The study reported that myosin (myofibrillar protein) as a high molecular weight could solubilize at high ionic strength (2-3%) (Damodaran, 1997). The salt concentration 2-3 % could alter the major structure of myofibrillar protein due to the presence of electrostatic interactions between proteins and ions (Na^+ and Cl^-) (Damodaran, 1997). Using low salt solution less than 2% could extract other myofibrillar proteins like actin and tropomyosin which have low molecular weight (Xiong *et al.*, 2000). Therefore, using several salt concentrations for extracting protein from salmon bone affects its protein characteristics and need to be investigated.

We hypothesized that washing treatment might reduce the lipid content in salmon bone and several salt concentrations had possibility to alter characteristics of salmon bone protein extract. Therefore, the objectives were to reduce lipid of salmon bone-meat by several washing solutions, and to investigate the characteristics of protein extract by using various salt concentrations

MATERIAL AND METHODS

1. Material

Atlantic salmon (*Salmo salar*) bone as a byproduct from salmon fillet production was obtained from Thai Union Frozen Co., Thailand. Figure 1 shows the appearance of salmon bone

containing meat. The bone was stored at -18±1°C until used. Table salt (Prung Thip, Thailand) was purchased at local market.

Figure 1 The appearance of salmon bone containing meat.

2. Effect of washing on chemical composition of salmon bone

Salmon bone was thawed at 10°C overnight, and cut into 1-2 cm length. The salmon bone was washed two times. The first washing step, the salmon bone was washed with various solutions: cold water (2±2°C), 1% (w/v) salt solution (2±2°C), 1% (w/v) $NaHCO_3$ (2±2°C), and hot water (85°C) with the ratio of the salmon bone to the solution 1: 3 (w:v) for 10 min with occasional stirring. The salmon bone was dewatered and washed again by using cold water (2±2°C). After washing process, samples were determined the proximate analysis including moisture, protein using Kjeldahl method, and ash according to AOAC (AOAC, 2000) and lipid (Bligh and Dyer, 1989).

3. Effect of salt concentration on characteristics of salmon bone extract

After salmon bone washed with cold water two times as selected washing method, the salmon bone was mixed with several salt solutions including 0.5, 2, and 3.5%, (w/v) with a ratio of salmon bone to salt solution 1 to 6 (w/v). The salmon bone with salt solution was heated at 85°C for 2 h using a water bath (Memmert, GmbH+Co. KG, D-91126, Schwabach, Germany). The salmon bone with water was also heated at the same condition to use as a control. Salmon bone with solution was filtered by using cheesecloth and then centrifuged at 4°C, 3500 *g* for 15 min. The supernatant was defined as a salmon bone extract.

4. Determination of characteristics of salmon bone extract

The characteristics of salmon bone extract were determined. Total solid was analyzed by AOAC method (AOAC, 2000). Protein content was determined by Lowry's method (Lowry, 1951) using a spectrophotometer (G10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA) at 750 nm. The protein pattern was employed using SDS-PAGE (Laemmli, 1970) with 10% separating gel at 10 μg protein content in each sample. The salt content was determined by Mohr's titration with 0.1 N $AgNO_3$ and K_2CrO_4 were used as indicator solution (Nielsen, 2010). Color and light transmission were analyzed by using a colorimeter (Ultrascan Pro, Hunter Lab Co, USA). Viscosity was performed using viscometer

(Brookfield Rotational Digital Rheometer Model LV/DV-III, USA) with (Ultra low) UL Adapter spindle at 5, 10, 20, 50, and 100 rpm, for 30 min at 25 and 60°C.

5. Statistical analysis

The washing treatments were carried out in three batches with three determinations. The extraction processes were employed in two batches with three determinations. Data were analyzed by using analysis of variance (ANOVA) at 95% significance level. The Duncan's multiple range test was used to analyze the differences among the mean values from ANOVA. Statistical analysis was performed using SPSS version 20 (SPSS Inc., USA).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Effect of washing on chemical composition of salmon bone containing meat

Moisture content of salmon bone changed after washing from 48-52% as shown in Table 1. Washing with 1% $NaHCO_3$ significantly increased moisture content because ion from $NaHCO_3$ increased the hydrophilic part of salmon bone protein. Consequently, water binding capacity of salmon bone protein increased and affected to increase moisture content in the sample. This finding is similar with increasing moisture of minced horse mackerel during washing process drawn by Eymard *et al*., (2009).

All washing processes did not result in protein content of salmon bone ($p \geq 0.05$). It was caused by the pH of washing solutions were 7-9 (data not shown). The study reported that the protein could soluble in water at low pH ≤3 or at pH ≥10.5 (Undeland *et al*., 2002).

Washing with cold water, 1% (w/v) salt solution, and hot water at 85°C significantly reduced lipid of the sample ($p<0.05$) from 18.40 to 15.21%. However, washing with 1% of $NaHCO_3$ did not reduce lipid content ($p \geq 0.05$) as compared with that without washing. The melting point temperatures of oleic acid, elaidic acid and palmitic acid which were the main lipids of salmon bone were 16.3, 46.3, and 62.8°C, respectively (Toppe *et* al., 2007; Sikorski and Kolakowska, 2002). Cold water (2±2°C) changed liquid form of these fatty acids to solid form due to below those melting points and these fatty acids migrated to the surface during washing with cold water. The ability of cold water to reduce lipid has been applied in mackerel mince (Eymard *et al*., 2009). Reduction of lipid content by salt solution occurred because Na^+ from salt solution could interact with the polar head of phospholipid which was the main type of lipid in fish meat. The Interaction of these components formed a sodium-phospholipid complex and removed from the meat (Tiwtha and Usawakesmanee, 2012). Alkaline solution such as 0.5% $NaHCO_3$ solution reduced 42% lipid content of sardine mince

(Barrero and Bello, 2000) since alkaline solution changed the emulsifying capacity of protein. It increased the size of formation floating lipid. Therefore, the lipid was removed easily from the sample (Nolsoe and Undeland, 2009). However, in this study 1% (w/v) $NaHCO_3$ could not reduce the lipid content of salmon bone.

Mineral composition of salmon bone reduced during washing with 1% $NaHCO_3$. Washing with 1% $NaHCO_3$ could elute the mineral content in salmon bone. This finding was similar to report of Eymard *et al.,* (2009). The mineral was reduced in washed fish mince when compared to unwashed mince.

Washing process also altered the carbohydrate content from 4-7%. Washing with hot water resulted higher carbohydrate content than the other washing solutions.

Table 1 Effect of washing on chemical compositions of salmon bone containing meat.

Washing treatments	Chemical composition (%, w/w)				
	Moisture	Protein	Lipid	Ash	Carbohydrate
Control (without washing)	$49.39±0.36^{bc}$	$16.75±0.87^{ab}$	$18.40±0.47^{a}$	$10.53±0.39^{ab}$	$4.93±0.88^{b}$
Cold water (2±2°C)	$50.06±0.95^{ab}$	$16.65±0.38^{ab}$	$15.36±0.56^{b}$	$11.42±0.93^{a}$	$6.51±1.17^{bc}$
1% (w/v) salt	$49.96±0.92^{ab}$	$16.83±0.44^{a}$	$15.33±0.53^{b}$	$11.31±0.32^{a}$	$6.58±0.52^{b}$
Hot water (85°C)	$48.30±0.42^{c}$	$16.14±0.63^{ab}$	$15.21±0.45^{b}$	$11.62±0.68^{a}$	$8.70±0.76^{a}$
1% (w/v) $NaHCO_3$	$51.05±0.57^{a}$	$15.75±0.38^{b}$	$17.62±0.64^{a}$	$9.82±0.32^{b}$	$5.76±1.24^{b}$

Values are expressed as mean ± standard deviation. Mean values in the same column followed by different superscript are significantly different (p<0.05); n=3.

It was found that washing with cold water, 1% salt solution, and hot water could decrease lipid content. However, these washing solutions were not significant effect on the protein content of salmon bone.

2. Effect of salt concentration on characteristics of salmon bone extract

According to the result, washing with cold water was selected for further step because it reduces the denaturation of protein in salmon bone during washing. Moreover, washing with cold water was simple method and efficient. The effect of several salt solutions on physicochemical properties of salmon bone extract is shown in Table 2. Addition of salt in extraction significantly increased total solid (p<0.05) from 0.38 to 3.86% (w/v) as well as increased protein content from 1.42

to 2.29% (w/v) as compared to the control. However, increasing salt concentration was not yielded significant effect ($p \geq 0.05$) on the increasing protein content in salmon bone extract. In Figure 3, increasing salt to 2-3.5% could extract myosin heavy chain (225 kDa) as compared with extraction with low salt as 0.5%. Salt content in salmon bone extracts was higher than initial concentration of salt solution because the salt from the extract might release from the salmon bone.

Adding salt concentration decreased the lightness (L*) and light transmission of salmon bone extract ($p<0.05$). It was because salt extracted components from salmon bone and dispersed in the extract. The other study reported that the color had correlation with the amount of extracted component from crucian carp soup (Zhang *et al.,* 2013). Addition of salt in extraction increased redness (a*) and yellowness (b*) appearance of the protein extract as compared with that extracted without salt.

Table 2 Physicochemical properties of salmon bone extract after extraction at 85ºC for 2 h with several salt concentrations.

Salt concentration (%)	Total solid (%, w/v)	Protein (%, w/v)	Salt content (%, w/v)	L*	a*	b*	Light transmission (%)
0	0.38±0.02[d]	1.42±0.09[b]	0.03±0.02[d]	98.57±0.58[a]	-0.61±0.03[b]	3.77±0.75[b]	96.35±1.47[a]
0.5	0.90±0.02[c]	2.10±0.41[a]	0.65±0.08[c]	94.17±1.54[b]	-0.06±0.05[b]	6.64±1.55[a]	85.69±3.58[b]
2	2.33±0.20[b]	2.29±0.50[a]	2.00±0.26[b]	93.62±1.79[b]	-0.04±0.08[ab]	7.40±1.65[a]	84.43±4.14[b]
3.5	3.86±0.49[a]	2.10±0.15[a]	3.74±0.46[a]	93.56±0.02[b]	0.03±0.08[a]	7.24±0.33[a]	84.27±0.02[b]

Values are expressed as mean ± standard deviation. Mean values in the same column followed by different superscript are significantly different ($p<0.05$); n=2.

Based on Figure 2, the viscosity data were in the range from 0 to 1.3 mPa s. The increasing salt concentration did not affect viscosity ($p \geq 0.05$). The viscosity trend of salmon bone extract with several salt concentrations from 0.5-3.5% were similar with the extract without salt. The viscosity of salmon bone extract with 0.5-3.5% salt at room temperature (25°C) gradually increased at shear rate from 6.12 to 24.5 s^{-1} and slightly increased at shear rate from 61.2 to 122 s^{-1}. The viscosity at 60°C was similar trend with the viscosity at 25°C but the values were lower. According to viscosity results, the protein extract rheology could be defined as shear thinning behavior. Salmon bone extract had a

low viscosity which was similar with the viscosity of water (1.00 mPa s) at room temperature (Korson *et al.*, 1968). Due to the low viscosity, salmon bone extract could be applied as a ready to drink soup.

Salmon bone extract had low viscosity which indicated low protein content (1-2%). Using various salt concentrations did not affect to the viscosity. The selection of salt concentration could be done after the determination of protein pattern. The protein pattern of salmon bone extract with various salt concentrations is shown in Figure 3. Myosin and tropomyosin were observed in protein extract from various salt solutions. The molecular weight around 45 kDa, indicating an actin, did not observe in salmon bone extract. It might be those of molecular weight oxidized during storage and heating process (Eymard *et al.*, 2009). When protein was extracted with high salt (2-3.5%), intensity of the heavy molecular weight bands (>225 kDa) was thicker as compared with that with low salt (0-0.5% salt). Extraction with high salt as 2-3.5% could extract myosin heavy chain (MHC) from the salmon bone-meat. The MHC was also found in the extract of chicken myofibrillar protein with 0.5 M NaCl (about 3% salt) (Xiong *et al.*, 2000). However, increasing salt content resulted in a decrease in low molecular weight since tropomyosin/troponin, protein band at 38 kDa, disappeared indicating that protein degradation occurred (Zhang *et al.*, 2013). The high molecular weight around 102 kDa indicating an α-actin was found in salmon bone extract with 0.5% salt concentration. This result was similar with the study from Zhang *et al* (2013) which found that using low salt concentration 0.5% could extract high molecular weight protein around 116-200 kDa in crucian carp soup which extract at 85°C for 2 h. This verified that low salt concentration had possibility to extract high molecular weight of myofibrillar protein in combination with high temperature. The protein band in the range of 76-100 kDa disappeared in the extract with-β-mercaptoethanol as compared with that without β-mercaptoethanol indicating that disulfide bonds in protein extract were disrupted (Damodaran, 1997).

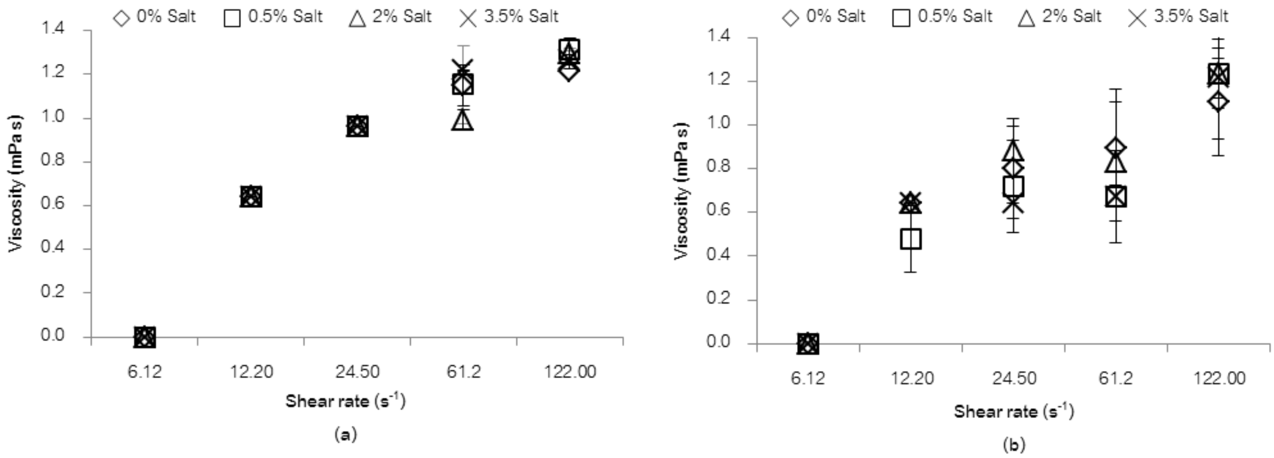


Figure 2 The viscosity of salmon bone extract at 25°C (a) and 60°C (b) after extraction with various salt concentrations at 85°C for 2 h. The data were expressed as mPa s; (n=2).

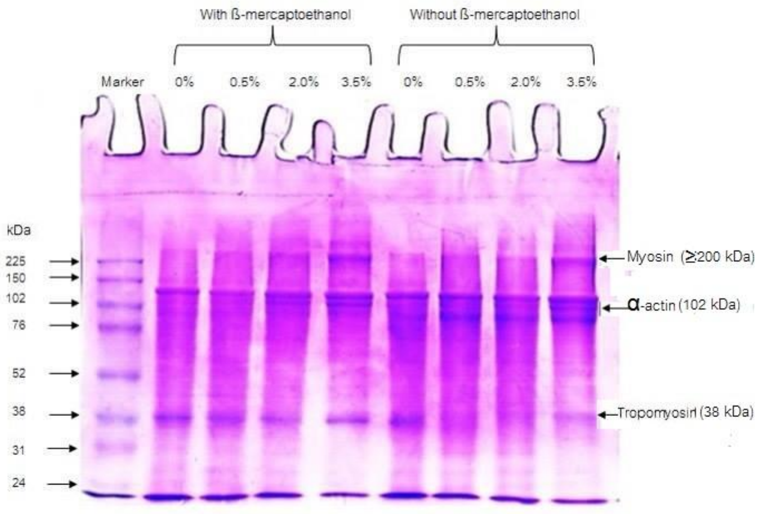


Figure 3 Protein pattern of salmon bone extract after extraction at 85 °C for 2 h with various salt concentrations from 0 to 3.5%.

CONCLUSIONS

Washing with cold water was a convenient method to reduce lipid content in salmon bone prior to extraction. Moreover, washing with cold water had ability to reduce lipid but it did not change protein content in salmon bone extract ($p \geq 0.05$). Increasing salt solution significantly increased ($p<0.05$) the total solid but it did not result in protein content, lightness (L*) as well as low light transmission ($p \geq 0.05$). The presence of myosin heavy chain around 225 kDa was observed when salmon bone-meat was extracted by high salt content (2-3.5% salt). Tropomyosin/troponin (38 kDa) and α-actin (102 kDa) were found in the protein extract with low salt (0.5%). This study was found that the combination between addition of salt and high temperature was a promising method to obtain protein extract from salmon bone-meat.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors would like to express our gratitude to Thai Union frozen (TUF) company for providing salmon bone for this study. Authors are kindly thankful to Kanokwan Kaewmungkun for her assistance.

REFERENCES

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis.** Association of Official Analytical Chemist, New York.

Barrero, M and R.A. Bello. 2000. Characterization of sardine minced flesh (*Sardinella aurita*) washed with different solutions. **Journal of Aquatic in Food Product Technology**. 9(3):105-114.

Bligh, E. G and W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Physiology and Biochemistry**. 37(8): 911-917.

Damodaran, S. 1997. **Food Proteins and Their Applications**. CRC press, New York.

Eymard, S., C. Baron and C. Jacobsen. 2009. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. **Food Chemistry**. 114(1):57-65.

Fisheries Foreign Affairs Division. 2014. **Fish Import Data of United States**. Available Sources: http://www.fisheries.go.th/foreign /images/pdf/ USA Import 2014.pdf, February 15, 2016.

Korson, L., W.D. Hansen.and F. J. Millero. 1968. Viscosity of water at various temperature. **The Journal of Physical Chemistry**. 73(1): 34-39.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage and structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**. 227:680–685.

Lowry, O. H.; N.J. Rosenbrough., A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal Biological Chemistry**. 193: 265-275.

Medina, I and M. Pazos. 2010. **Oxidation and Protection of Fish.** CRC Press, New York.

Nielsen, S. S. 2010. **Food Analysis Laboratory Manual.** Springer, New York.

Nolsoe, H. and I. Undeland. 2009. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: state of the art. **Journal Bioprocess Technol**. 2: 1-27.

Ramirez, A. 2007. **Salmon Byproduct Protein.** Food and Agriculture Organization of United Nation, Rome.

Sikorski, Z. Z. E and A. Kolakowska. 2010. **Chemical, Biological, and Functional Aspects of Food Lipids, Second Edition.** CRC Press, New York.

Toppe, J., S. Albrektsen, B. Hope and A. Aksnes. 2007. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. **Biochemistry and Molecular Biology of Comparative Biochemistry and Physiology**. 146(3):395-401.

Tiwtha, O and W. Usawakesmanee. 2012. The reduction of fishy odor in salmon skin by washing with salt solutions. Available sources: http://mfuic2012.mfu.ac.th/ electronic_proceeding/ Documents /00_PDF/P-SC-B/P-SC-B-1.pdf. April 15, 2016.

Undeland, I., S. D. Kelleher., H.O. Hultin. 2002. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. **Journal of Agricultural Food Chemistry**.50: 7371-7379.

Xiong, Y. L., X. Lou., C. Wang., W.G. Moody and R.J. Harmon. 2000. Protein extraction from chicken myofibrils irrigated with various polyphosphate and NaCl solutions. **Journal of Food Science**. 65: 96-100.

Zhang, J., Y. Yao, X. Ye, Z. Fang, J. Chen, D. Wu, D. Liu and Y. Hu. 2013. Effect of cooking temperatures on protein hydrolysates and sensory quality in crucian carp (*Carassius auratus*) soup. **Journal of Food Science and Technology**. 50(3):542-548.

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร

Subject: Agro-Industry

ภาคโปสเตอร์

Poster Presentation

ผลของการลวกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ต่อปริมาณฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไข่น้ำ (*Wolffia globosa*)

Effect of Blanching in Sodium Chloride Solution on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Water Meal (*Wolffia globosa*)

วันเพ็ญ แสงทองพินิจ[1*] บาจารีย์ ศรีเจริญ[1] และ มัทรี กร่างปรีชา[1]

Wanpen Saengthongpinit[1*], Bajaree Sricharoen[1] and Matree Krangpreecha[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการลวกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1 ที่ 100 องศาเซลเซียส 2 นาที ต่อคุณภาพของไข่น้ำ (*Wolffia globosa*) พบว่าไข่น้ำสดมีความชื้นร้อยละ 94 ไขมันร้อยละ 0.09 โปรตีนร้อยละ 1.33 เถ้าร้อยละ 1.48 และเส้นใยร้อยละ 0.66 (น้ำหนักเปียก) การลวกมีผลทำให้ปริมาณเถ้าและปริมาณโปรตีนลดลงร้อยละ 75.7 และร้อยละ 19.5 ไข่น้ำสดมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 49.59 mg GAE/g (น้ำหนักแห้ง) ปริมาณบีตา-แคโรทีนในไข่น้ำสดเท่ากับ 422.44 ไมโครกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ไข่น้ำลวกมีสารฟีนอลิกทั้งหมดลดลงร้อยละ 18.56 บีตา-แคโรทีนลดลง ร้อยละ 29 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.83 และ 0.73 ค่า IC_{50} ด้วยวิธี DPPH ของไข่น้ำสดและไข่น้ำลวก เท่ากับ 16.5 mg/ml และ 33.4 mg/ml ค่า IC_{50} ด้วยวิธี ABTS ไข่น้ำสดและไข่น้ำลวกมีค่า 20.5 mg/ml และ 24.1 mg/ml แสดงว่าไข่น้ำสดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า

ABSTRACT

Effects of blanching in 1% NaCl solution at 100 ^{o}C for 2 min on qualities of water meal (*Wolffia globosa*) were analyzed. The fresh water meal consist of 94% moisture, 0.09% fat, 1.33% protein,1.48% ash and 0.66% crude fiber (w.b.). The ash and protein content of blanched water meal decreased by 75.7 % and 19.5 %, respectively. The fresh water meal also contained TPC (49.59 mg GAE/g d.b.) and beta-carotene 422.44 μg/g (dry matter), when blanched then were decreased by 18.56 and 29. The correlation between antioxidant activities and TPC was positive with correlation coefficient 0.83 (DPPH assay) and 0.73 (ABTS assay). The antioxidant activities of fresh and blanched water meal calculated in IC_{50} were 1.65 mg/ml and 33.4 mg/ml (DPPH assay), 20.5 mg/ml and 24.1 mg/ml (ABTS assay), respectively. The fresh water meal showed higher antioxidant activity.

Key Words: Water meal , Wolffia, Antioxidant activity, Phenolics

* Corresponding author; e-mail address: wpetchson@yahoo.com

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม นครปฐม 73000

[1]Division of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University, Nakhon Pathom 73000

คำนำ

ไข่น้ำ (*Wolffia globosa*) หรือ ผำ ไข่ผำ และ ไข่แหน เป็นพืชสีเขียวลอยน้ำขนาดเล็ก เป็นพืชดอกที่มีขนาดเล็กที่สุดในโลก มีรูปร่างกลมหรือเกือบกลม สีเขียว และไม่มีราก เป็นพืชชนิดเดียวในวงศ์ Lemnaceae ที่ใช้เป็นอาหารมนุษย์ นิยมรับประทานกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของไทย เพาะเลี้ยงได้ทั้งปี เจริญได้ดีในช่วงเดือนตุลาคมถึงมกราคม แต่อาจมีปัญหาบ้างในช่วงหน้าแล้งเพราะขาดแคลนน้ำในการเพาะเลี้ยง ไข่น้ำจัดเป็นผักพื้นบ้านที่มีความปลอดภัย เพราะจะขึ้นได้เฉพาะในน้ำสะอาด นิยมนำมาแกง เรียกว่าแกงไข่น้ำ หรือแกงผำ อาหารที่เป็นเอกลักษณ์เด่นของชาวลาวครั่ง ต.ห้วยด้วน อ.ดอนตูม จ.นครปฐม มีสมาชิกในชุมชนห้วยด้วน เลี้ยงไข่น้ำจำหน่ายในชุมชนและส่งตลาดภายนอกชุมชน จากข้อมูลของกองโภชนาการ (2544) ไข่น้ำเป็นผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะโปรตีน แคลเซียม ฟอสฟอรัส บีตา-แคโรทีน วิตามินบีหนึ่ง ใยอาหาร และมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง สุขุม และสุทิน (2551) พบว่าโปรตีนในไข่น้ำอบแห้งมีค่าร้อยละ 35 นอกจากนี้ยังพบปริมาณบีตา-แคโรทีน และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่าง ๆ สูง กันย์สินี (2552) ทดลองเลี้ยงไข่น้ำในห้องปฏิบัติการ พบว่าไข่น้ำมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด เมื่อทดลองเลี้ยงไข่น้ำเป็นระยะเวลา 30 วัน มีปริมาณบีตา-แคโรทีนในไข่น้ำสูงสุดที่อายุการเลี้ยง 24 วัน พบเฉลี่ยประมาณ 6000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง

การใช้ประโยชน์จากไข่น้ำมีข้อจำกัดเนื่องจากไข่น้ำเป็นผักสดจึงมีปัญหาในการเก็บรักษา อุมาพร และรัชฎา (2553) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ไข่น้ำมีสารฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใยอาหารที่ละลายน้ำ ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำและเส้นใยทั้งหมดสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ขณะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไข่น้ำมีลักษณะปรากฏด้านสีและเนื้อสัมผัสที่ดีกว่าที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ไข่น้ำมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 6 วัน และการเก็บที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 2 วัน ไข่น้ำจะมีลักษณะแฉะ มีสีคล้ำขึ้น และมีกลิ่นโคลน การยืดอายุการเก็บรักษาไข่น้ำโดยการทำแห้งและการแช่แข็ง พบว่าการทำแห้ง และการแช่เยือกแข็งหลังการละลายน้ำแข็ง มีผลต่อการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้ไข่น้ำแช่เยือกแข็งหลังการละลายมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเหลือสูงกว่าการทำแห้ง

อาหารที่ใช้ไข่น้ำมาประกอบอาหารมีเพียงไม่กี่ชนิด และยังบริโภคในกลุ่มคนจำกัด ข้อจำกัดของการเก็บรักษา และกลิ่นเฉพาะของไข่น้ำ อีกทั้งอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ มีขนาดเล็กทำความสะอาดได้ยาก เพื่อประโยชน์ในการแปรรูป การลดกลิ่นของไข่น้ำ และความปลอดภัยในการบริโภค เมื่อจะนำไปประกอบอาหาร หรือแปรรูปควรนำไปลวกก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการลวกต่อคุณภาพของไข่น้ำ ซึ่งผลการวิจัยนี้สามารถนำไปสู่การส่งเสริมการบริโภคและรักษาผักพื้นบ้าน เพิ่มความมั่นคงทางอาหารได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

ไข่น้ำที่ใช้ในการวิจัยนี้ได้จากบ่อของคุณพเยาว์ ศรีสงคราม จาก ต.ห้วยด้วน อ.ดอนตูม จ. นครปฐม เพาะเลี้ยงในบ่อดินตามธรรมชาติ เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน 2558

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางกายภาพของไข่น้ำสดและแบบลวก นำไข่น้ำมาล้างด้วยน้ำสะอาด โดยใช้อัตราส่วนไข่น้ำ 2 กิโลกรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ใช้การล้างแบบน้ำไหล ใช้เวลาล้างนานประมาณ 20-30

นาที ตัวอย่างไข่น้ำที่เก็บเกี่ยวจะนำมาวิเคราะห์ภายในหนึ่งวัน นำไข่น้ำที่ล้างสะอาดแล้วไปลวกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์โพลิฟีนอลออกซิเดส (วิลาสินี, 2555) โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

นำตัวอย่างไข่น้ำสด และไข่น้ำลวก มาวิเคราะห์ปริมาณไขมัน โปรตีน เถ้าความชื้น และเส้นใย ด้วยวิธี AOAC (2002) วิเคราะห์วอเตอร์แอคติวิตี (a_w) ด้วยเครื่อง Aqua Lab วัดค่าสี โดยใช้เครื่อง Hunter lab รุ่น Color Quest XE/SAV-2 โดยวัดค่า L*, a*, b* วัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยวัดค่าความแน่นของไข่น้ำ ใช้หัววัดแบบ back extrusion ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร (A/BE ; 40 mm) ตามวิธีของอุมาพร และรัชฎา (2553)

3. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิก และบีตา-แคโรทีนในไข่น้ำ

3.1 การเตรียมสารสกัดจากไข่น้ำ เพื่อทดสอบฤทธิ์สารต้านออกซิเดชันวิธี DPPH, วิธี ABTS และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยสกัดตัวอย่างไข่น้ำด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ตามวิธีของ อุมาพร และรัชฎา (2553)

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) (ดัดแปลงวิธีจาก Phoungchandang and Saentaweesuk, 2011) ใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และสารละลาย Folin-Ciocalteau reagent วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร หาปริมาณฟีนอลิกโดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้เปรียบเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก มีหน่วยเป็น mg GAE/g sample dry basis

3.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-pieryl hydrazyl free radical scavenging assay) (ดัดแปลงจาก Brand-Williams and Cuvelier, 1995) โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515nm โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็น (blank) แล้วนำมาคำนวณค่าร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) และทำกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งและความเข้มข้นของสารสกัดไข่น้ำ เพื่อหาค่า IC_{50} ของสารสกัดไข่น้ำ

3.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันวิธี ABTS (2,2-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-sulphonic acid) free radical decolonization assay) (ดัดแปลงจาก อุมาพร และรัชฎา, 2553) โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร และทำกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งและความเข้มข้นของสารสกัดไข่น้ำเพื่อหาค่า IC_{50} ของสารสกัดไข่น้ำ

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีน ตามวิธีของ Speek *et al*, (1986) ด้วย HPLC วิเคราะห์ 2 ซ้ำ (ส่งวิเคราะห์ที่สถาบันโภชนาการมหิดล)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพทางกายภาพของไข่น้ำสดและไข่น้ำลวก

องค์ประกอบทางเคมีของไข่น้ำสดและไข่น้ำลวก (ตารางที่ 1) พบว่าไข่น้ำสดและไข่น้ำลวกมีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ไข่น้ำสดมีปริมาณเถ้า โปรตีน มากกว่าไข่น้ำลวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ไข่น้ำลวกมีปริมาณเถ้าลดลงร้อยละ 75.7 ปริมาณโปรตีนลดลงร้อยละ 19.5 เนื่องจากการลวกทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลาย ทำให้เกลือแร่ และโปรตีนสูญเสียไปกับน้ำที่ใช้ลวก ไข่น้ำลวกมี

ปริมาณไขมัน และเส้นใยมากกว่าไข่น้ำสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) อาจเป็นเพราะการลดลงของอัตราส่วนของเถ้า โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ทำให้อัตราส่วนของไขมันและเส้นใยเพิ่มขึ้น

Table 1 Proximate composition of fresh and blanched water meal

		Moisture (%)	Ash (%)	Protein (%)	Fat (%)	Crude fiber (%)
Fresh	w.b.	94.81 ± 3.35	1.48 ± 0.01	1.33 ± 1.19	0.09 ± 0.00	0.66 ± 0.02
	d.b.		28.5 ± 0.25	25.63 ± 3.67	1.80 ± 0.00	12.70 ± 0.39
Blanched	w.b.	93.91 ± 0.14	0.36 ± 0.03	1.07 ± 0.02	0.34 ± 0.29	1.70 ± 0.46
	d.b.		5.91 ± 0.49	17.60 ± 0.32	5.58 ± 4.76	27.90 ± 7.55

จากตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย กระทรวงสาธารณสุข (กองโภชนาการ, 2544) ไข่น้ำประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 97.1 โปรตีนร้อยละ 0.6 เส้นใยร้อยละ 0.3 เถ้าร้อยละ 0.3 และไขมันร้อยละ 0.1 (น้ำหนักเปียก) อุมาพร และรัชฎา (2553) พบว่าไข่น้ำมีความชื้นร้อยละ 95.01 มีโปรตีนร้อยละ 24.31 ไขมันร้อยละ 3.04 เส้นใยร้อยละ 12.68 (น้ำหนักแห้ง) จะเห็นได้ว่าองค์ประกอบของไข่น้ำจากงานวิจัยนี้และจากงานวิจัยอื่นอาจมีความแตกต่างกันบ้าง ซึ่งมีผลจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น แหล่งที่เก็บตัวอย่าง สถานที่เพาะเลี้ยง วิธีการเพาะเลี้ยง อุณหภูมิ แสงแดด และแหล่งน้ำ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและองค์ประกอบของไข่น้ำ โดยกันย์สินี (2552) ได้ทดลองเลี้ยงไข่น้ำในบ่อปูนโดยควบคุมปริมาณแสงพบว่ามีผลต่อปริมาณผลผลิตและได้ทดลองเพิ่มธาตุแคลเซียมในน้ำที่เลี้ยงไข่น้ำ โดยการเติมเกลือแคลเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต พบว่าไข่น้ำมีแคล เซียมเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 40

ลักษณะเนื้อสัมผัสของไข่น้ำ โดยการวัดใช้หัววัดแบบ back extrusion ดังตารางที่ 2 พบว่า ไข่น้ำสดมีค่าความแน่นเนื้อ 5346.36 ± 727.06 กรัม การลวกทำให้ความแน่นเนื้อของไข่น้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) มีความแน่นเนื้อเหลือเพียง 741.09 ± 203.57 กรัม เนื่องจากการลวกทำให้ผนังเซลล์ของไข่น้ำถูกทำลาย และสีของไข่น้ำลวกเปลี่ยนแปลงไปโดยเฉพาะ ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) มีค่าลดลง แสดงค่าความเป็นสีน้ำเงินเพิ่มขึ้น ทำให้ไข่น้ำลวกมีสีเข้มขึ้น

Table 2 Texture and color of fresh and blanched water meal

sample	firmness (g)	L*	a*	b*
Fresh	5346.36 ± 727.06	39.72 ± 0.06	-7.11 ± 0.05	17.72 ± 0.11
Blanched	741.09 ± 203.57	38.56 ± 1.66	-6.71 ± 0.85	9.80 ± 1.62

2. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และบีตา-แคโรทีนในไข่น้ำ

จากตารางที่ 3 ปริมาณบีตา-แคโรทีนในไข่น้ำสดเท่ากับ 422.44 ไมโครกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีปริมาณบีตา-แคโรทีนในไข่น้ำใกล้เคียงกับงานวิจัยของ อุมาพร และรัชฎา (2553) ที่พบ 343 ไมโครกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) เมื่อนำไปลวกแล้วพบว่าปริมาณบีตา-แคโรทีนลดลงร้อยละ 29.8 เหลือเพียง 296.4 ไมโครกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ Saencom *et al.* (2011) ที่ศึกษาการลวกใบตำลึงในน้ำเปล่า และ

น้ำเกลือ ซึ่งพบว่าการลวกใบตำลึงในน้ำเปล่านาน 1 นาที ทำให้บีตา-แคโรทีนลดลงถึงร้อยละ 50 และการลวกในน้ำเกลือร้อยละ 1 ทำให้บีตา-แคโรทีนลดลงร้อยละ 15

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในไข่น้ำสดมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 49.59 (mg GAE/g d.b.) ส่วนไข่น้ำลวกมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 40.39 (mg GAE/g d.b.) ลดลงร้อยละ 18.56 เนื่องจากการลวกมีการใช้ความร้อน และทำให้ผนังเซลล์ของไข่น้ำถูกทำลาย สารฟีนอลิกที่อยู่ในเซลล์จึงมีโอกาสที่สัมผัสความร้อน และออกซิเจนได้มากกว่า จึงถูกทำลายหรือสูญเสียได้มากกว่าไข่น้ำสด

Table 3 % inhibition with DPPH, ABTS method, total phenolic content and beta-carotene of water meal extracts

sample	beta-carotene (μg/ g d.b.)	Total phenolic content	% DPPH inhibition	% ABTS inhibition
Fresh	422.44	49.59	98.43	99.33
Blanched	296.40	40.39	85.41	99.19

ค่า % inhibition ของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดไข่น้ำสด ไข่น้ำลวก มี % inhibition เท่ากับ 98.43 และ 85.41 ตามลำดับ (ลดลงร้อยละ 13.22) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดไข่น้ำสด ไข่น้ำลวก มี % inhibition เท่ากับ 99.33 และ 99.19 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการลวกทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ด้วยวิธี DPPH พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพิจารณาจากค่า correlation coefficient R = 0.83 ($P \leq 0.05$) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่ามีความสัมพันธ์กัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพิจารณาจากค่า correlation coefficient R = 0.73 ($P \leq 0.05$) จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตัวอย่างไข่น้ำทั้งวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่า ค่า % inhibition ใกล้เคียงกัน ซึ่ง % DPPH inhibition มีค่าน้อยกว่า % ABTS inhibition เล็กน้อยโดยเฉพาะไข่น้ำลวก ทั้งนี้เนื่องจากเทคนิคที่ใช้การทดสอบ และตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิดมีทั้งชนิดที่มีขั้วและชนิดที่ไม่มีขั้ว ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกและบีตา-แคโรทีนก็เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทั้งคู่ ซึ่งมีปริมาณลดลงเมื่อผ่านการลวก Juntip *et al*, (2013) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสาหร่ายเตา โดยใช้สารสกัด 2 ชนิด คือน้ำและเมทานอล พบว่าสาหร่ายเตาที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิก (589.77 ± 1.65 (mg GAE/g d.b.) มากกว่าสาหร่ายเตาที่สกัดด้วยน้ำ (346.58 ± 1.61 (mg GAE/g d.b.) เนื่องจากสารพอลีฟีนอล ในพืชส่วนใหญ่เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำโดยที่เมทานอลช่วยละลายสารประกอบที่มีขั้วเล็กน้อยและสารประกอบที่ไม่มีขั้ว และยังพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายเตาที่สกัดด้วยเมทานอลที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสาหร่ายเตาที่สกัดด้วยน้ำ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายเตาที่สกัดด้วยน้ำที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS มีฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระมากกว่าสาหร่ายเตาที่สกัดด้วยเมทานอล แสดงว่าตัวทำละลาย และวิธีการวิเคราะห์มีผลต่อค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Table 4 DPPH and ABTS scavenging activity (IC_{50}) of water meal extracts

sample	DPPH assay (mg/ml)	ABTS assay (mg/ml)
Ascorbic acid	0.58	0.89
Fresh	16.5	20.5
Blanched	33.4	24.1

จากตารางที่ 4 แสดงค่า IC_{50} ของกรดแอสคอร์บิคและสารสกัดไขน้ำ ซึ่งค่า IC_{50} หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ซึ่งถ้ามีค่า IC_{50} ต่ำแสดงว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดี พบว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มี IC_{50} เท่ากับ 0.58 mg/ml และสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มี IC_{50} เท่ากับ 0.89 mg/ml แสดงว่าวิธีการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิก โดยวิธี DPPH มีค่าความไวต่อการทดสอบมากกว่าวิธี ABTS ซึ่งสอดคล้องกับ วิภาดา และยิ่งยง (2554) ที่ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสกุลขิงโดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน ด้วยวิธี DPPH และ ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.024 mg/ml และ 0.071 mg/ml ตามลำดับ

การทดสอบวิธี DPPH สารสกัดไข่น้ำสดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าไข่น้ำลวก โดยไข่น้ำสดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 16.5 mg/ml และไข่น้ำลวกมีค่า IC_{50}เท่ากับ 33.4 mg/ml การทดสอบด้วยวิธี ABTS ไข่น้ำสดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.5 mg/ml และไข่น้ำลวกมีค่า IC_{50} เท่ากับ 24.1 mg/ml ค่า IC_{50} ของสารสกัดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่าการทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH นั้น ไข่น้ำสดสามารถต้านสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าไข่น้ำลวก

สรุป

การลวกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1 ที่ 100 องศาเซลเซียส 2 นาที มีผลต่อคุณภาพของไข่น้ำ ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และ บีตา-แคโรทีนลดลง การลวกยังทำให้ความแน่นเนื้อของไข่น้ำลดลง และทำให้สีเข้มขึ้น การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตัวอย่างในไข่น้ำ % DPPH inhibition มีค่าน้อยกว่า % ABTS inhibition เล็กน้อย โดยเฉพาะไข่น้ำลวก การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิก โดยวิธี DPPH มีค่าความไวต่อการทดสอบมากกว่าวิธี ABTS ค่า IC_{50} ของไข่น้ำที่ประเมินด้วยวิธี DPPH ต่ำกว่าวิธี ABTS ซึ่งค่า IC_{50} ของไข่น้ำสดต่ำกว่าไข่น้ำลวกแสดงว่าไข่น้ำสดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและพัฒนา โครงการวิจัยท้องถิ่นภายใต้โครงการนครปฐม: นครแห่งความผาสุกทุกชุมชนท้องถิ่น 30 ตำบล (Recap) มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ประจำปีงบประมาณ 2558 ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กองโภชนาการ กรมอนามัย. 2544. **ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก,กรุงเทพฯ.

กันย์สินี พันธ์วนิชดำรง. 2552. **การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไข่น้ำ** [*Wolffia arrhiza [L.] Wimm.*]. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุขุม เร้าใจ และสุทิน สมบูรณ์. 2551. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไข่น้ำ (*Wolffia arrhiza* (L.) Wimm.). **วารสารการประมง** 60 (5):405-413.

วิลาสินี ดีปัญญา. 2555. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไข่น้ำแผ่น.** รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

วิภาดา กันทยศ, ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา. 2554. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณเคอร์คูมินอยด์รวมในพืชสกุลขิงที่พบในประเทศไทย, *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 (สาขาพืช).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ:.

อุมาพร นิยะนุช และรัชฎา ตั้งวงศ์ไชย. 2553. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของไข่น้ำ. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 41(1) พิเศษ : 247-250.

AOAC. 2002. **Official Method of Analysis of AOAC International.** 17th ed. Horwitz, Willium: Association of Offcial Analytical Chemistrs. Inc.

Brand-Williams N. and M.E. Cuvelier. 1995. **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity.** Academic Press Limited.

Junthip.R., D. Amornlerdpison and T. Chimsook. 2013. Phytochemical Screening, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Spirogyra spp. **Advanced Materials Research** 699: 693-697.

Phoungchandang S. and S. Saentaweesuk. 2011. Effect of two stage, tray and heat pump assisted-dehumidified drying on drying characteristics and qualities of dried ginger. **Food and Bioproducts Processing** 89: 429–437.

Saencom, S., N. Chiewchan and S. Devahastin. 2011. Production of dried ivy gourd sheet as a health snack. **Food and Bioproducts Processing** 8(9): 414-421.

Speek, A.J., C.R.Temalilwa and J. Schrijver. 1986. Determination of β-carotene content and vitamin A activity of vegetables by high-performance liquid chromatography and spectrophotometry. **Food Chemistry** 19(1): 65-74.

ผลของสารสกัดรำข้าวต่อเซลล์มะเร็งผิวหนัง (A375) ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสี UVA

Effect of Rice Bran Extracts on Skin Cancer Cells (A375) Induced by UVA

ณิชนันทน์ จันทนู[1] กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์[1*] นวลอนงค์ จิระกาญจนากิจ[2] และมาลิน อังสุรังษี[3]

Nitchanan Jantanu[1], Kalyanee Jirasripongpun[1*], Nuananong Jirakanjanakit[2] and Malyn Ungsurungsie[3]

บทคัดย่อ

การรับรังสี UVA สามารถทำลายเซลล์ผิวหนังให้เสียหาย และมีความเสี่ยงเกิดเป็นมะเร็ง การศึกษากับเซลล์มะเร็งผิวหนัง (A375) ที่เป็นเซลล์แบบจำลองพบว่าปริมาณรังสีที่มากขึ้นมีผลให้เซลล์หลังได้รับ UVA เกิดการตายมากขึ้นทั้งในระยะเวลา 6 ชม. และ 24 ชม. จากการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay และ Neutral red uptake assay เมื่อพิจารณาค่าระดับความเข้มรังสี UVA ที่มีผลให้เซลล์ตาย 50% (IC_{50}) หลังระยะเวลาบ่ม 6 ชม. และ 24 ชม. พบว่า วิธี Neutral red uptake assay มีความไวในการตรวจติดตามผลกระทบของ UVA ต่อเซลล์ได้ดีกว่าวิธี MTT assay โดยตรวจพบได้ตั้งแต่ระยะเวลาบ่ม 6 ชม. ขึ้นไป การศึกษาผลของสารสกัดรำข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด และหอมแดง ต่อความมีชีวิตของเซลล์ที่ได้รับ UVA ที่ระดับความเข้ม 12 J/cm^2 ทั้งในสภาวะก่อนและหลังการรับสารสกัดรำข้าวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (2.5-10 mg/ml) พบว่า สารสกัดรำข้าวทั้ง 2 ชนิด สามารถช่วยเพิ่มระดับความมีชีวิตของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสี UVA ได้อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม มีความจำเป็นในการตรวจสอบพิษของ UVA ต่อสารพันธุกรรมเพื่อประเมินผลของสารสกัดรำข้าวต่อสารพันธุกรรมของเซลล์ที่ได้รับ UVA ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์กันแดดต่อไป

ABSTRACT

UVA exposure leads to skin cell damage and risk of skin cancer. Study on skin cancer cells (A375) as cell model reviewed that UVA caused cell death at dose dependent manner within 6h and 24h of UVA exposure, by the measurements of MTT assay and Neutral red uptake assay. Considering on UVA dose that reduce cell viability to 50% (IC_{50}) after a 6h and 24h periods revealed that Neutral red uptake assay was more sensitive to trace the UVA impact on cells better than MTT assay, by detecting at the 6h of post incubation onwards . The effect of rice bran extracts (Kam Doi Saked and Hom Dang strains) on cell viability after low UVA dose at 12 J/cm^2, under pre and post-treatment of rice bran extract at different concentrations (2.5 – 10 mg/ml), demonstrated that both extracts significantly increased viability of UVA irradiated cells. However, there is a need to study genotoxicity of UVA to evaluate the rice bran extract effect on genetic material of UVA treated cells for the development of sun screen product.

Key Words: rice bran extract, skin cancer cells, UVA radiation, Cell viability, Cytotoxicity

* Corresponding author; e-mail address: Jirasripongpun_K@su.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม 73000

[1]Department of Biotechnology, Faculty of Engineering and Industrial technology, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาวัคซีน สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม 73170

[2]Center for Vaccine Development, Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University, Nakhon Pathom 73170

[3]แผนกวิจัยและพัฒนา บริษัท เอส แอนด์ เจ อินเตอร์เนชั่นแนล เอนเตอร์ไพรส์ จำกัด (มหาชน) สาธร กรุงเทพ 10120

[3]Research & Development Division, S&J, Sathorn, Bangkok 10120

คำนำ

ประเทศไทยนิยมบริโภคข้าวขัดสี ซึ่งทำให้เกิดรำข้าวที่เป็นของเสีย ที่สามารถนำมาแปรรูปใช้ประโยชน์เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้นได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดรำข้าวต่อความมีชีวิตของเซลล์สำหรับใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพิจารณาเพื่อนำสารสกัดไปใช้เป็นองค์ประกอบของเครื่องสำอางป้องกันแดดที่สามารถลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งผิวหนังได้ เนื่องจากมะเร็งผิวหนังมีความเสี่ยงเกิดขึ้นได้ทั้งจาก UVA และ UVB แต่ UVA ก่อความรุนแรงทำลายผิวหนังในเชิงลึกมากกว่า เพราะ UVA (95%) มีปริมาณมากกว่า UVB (5%) มีความเข้มรังสีไม่แตกต่างกันตลอดวันทั้งปี สามารถแทรกผ่านเมฆและกระจกได้ อีกทั้งมีความยาวคลื่นที่สั้นกว่าแสง (visible light) จึงเป็นภัยลุกลามที่มองไม่เห็น รวมทั้งผลิตภัณฑ์กันแดดทั่วไปมักเน้นการป้องกัน UVB ซึ่งทำให้เพิ่มโอกาสรับปริมาณ UVA ลงผ่านชั้นผิวหนังได้มากขึ้น และลงลึกไปมีผลต่อเซลล์ทุกระดับชั้นของผิวหนังมากกว่า UVB (Gasparro, 2000) ซึ่งเซลล์ในร่างกายเราสามารถป้องกันอันตรายจาก UV ได้ด้วยการสร้างเมลานิน และร่วมกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอของเซลล์ที่เสียหายให้กลับคืนเป็นปกติ อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการซ่อมแซมดีเอ็นเอของเซลล์มักมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อมีอายุมากขึ้น ดังนั้นหากมีผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีประสิทธิภาพก็จะช่วยลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งผิวหนังได้ดีในสภาวะที่มีแดดแรงมากขึ้นอย่างเช่นทุกวันนี้

การศึกษาผลของสารสกัดรำข้าวต่อการป้องกันเซลล์จาก UVA จำเป็นต้องประเมินความมีชีวิตของเซลล์หลังได้รับ UVA ที่ความเข้มต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลระดับของ UVA และเทคนิควิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการศึกษาผลของสารสกัดรำข้าวต่อไป ในที่นี้จะศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมของผลกระทบ UVA ต่อเซลล์ที่ระยะเวลาบ่ม 6 และ 24 ชั่วโมง และเลือกวิธีวิเคราะห์ความมีชีวิตที่เหมาะสมจาก MTT assay และ Neutral red uptake assay เพื่อประเมินผลของสารสกัดรำข้าวต่อเซลล์ที่ได้รับ UVA ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สารสกัดรำข้าว

สารสกัดรำข้าวก่ำดอยสะเก็ดและหอมแดงได้รับมาจากบริษัท เอส แอนด์ เจ อินเตอร์เนชั่นแนล เอนเตอร์ไพรส์ จำกัด (มหาชน) และจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การเพาะเลี้ยงเซลล์

A375 เป็นเซลล์มะเร็งผิวหนังของมนุษย์ ซึ่งเลี้ยงในอาหาร DMEM ที่เสริมด้วย 10% FBS และบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37° C ที่มี 5% CO_2

การให้สารทดสอบกับเซลล์

ให้เซลล์ได้รับสารสกัดรำข้าว 2 ชั่วโมง (2.5-10 mg/ml ที่อุณหภูมิ 37 °C) ทั้งในสภาวะก่อนและหลังฉายรังสี UVA และประเมินผลหลังจากบ่มเซลล์ในอาหารปกติเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง

การฉายรังสี UVA

เพาะเลี้ยงเซลล์ A375 (1.5 x 10^5 cell/ml) ใน 24 well plate 24 ชั่วโมง ก่อนฉายรังสี UVA (5-40 J/cm^2) ในสภาวะที่เซลล์แช่อยู่ในสารละลาย PBS

ความมีชีวิตของเซลล์

ตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay และ Neutral red uptake (NR) assay ซึ่ง MTT assay เป็นการวัดความมีชีวิตของเซลล์โดยอาศัยการทำให้ MTT (4]-3,-5dimethylthiazol--2yl]-2,5 diphenyltetrazolium bromide) ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองเปลี่ยนไปเป็นผลึก formazan สีม่วงเข้มด้วยการรีดิวซ์ของเอนไซม์ mitochondrial dehydrogenase ในเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งผลึก formazan นี้สามารถถูกละลายโดยสารละลาย DMSO แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 570 nm (Senthilraja and Kathiresan, 2015) ส่วน Neutral red uptake (NR) assay เป็นการวัดความมีชีวิตของเซลล์ด้วยการแตกเซลล์เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm จากสีแดงชมพูของ Neutral red ซึ่งซึมผ่านเข้าไปใน lysosome โดย lysosome ของเซลล์มีชีวิตมีสภาวะเป็นกรด ทำให้เกิด pH gradient ที่ให้ Neutral red ซึมผ่านเข้าไป และสะสมอยู่ใน lysosome ขณะที่เซลล์ตายจะไม่เกิดกิจกรรมนี้ (Ehara *et al.*, 1996)

วิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในแต่ละการทดลองทำ 6-8 ซ้ำ และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วย One-Way ANOVA และ post-hoc test ด้วย Least Significant different (LSD) หรือ Dunnett,s T3 ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ระดับความเข้มของรังสี UVA ามมีชีวิตของเซลล์ต่อคว

การตรวจสอบระดับความเข้มของรังสี UVA ต่อความมีชีวิตของเซลล์ ทำได้โดยการฉายรังสี UVA ที่มีความเข้มแสง 5 – 40 J/cm^2 ให้กับเซลล์ที่แช่อยู่ในสารละลาย PBS ใน 24 well plate เทียบกับสภาวะควบคุมที่เซลล์ไม่ได้รับรังสี แต่แช่อยู่ในสารละลาย PBS ในที่มืด แล้วตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี MTT และ NR assay หลังสิ้นสุดการฉายรังสีเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง

MTT assay วัดความมีชีวิตของเซลล์ได้โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenase ของเซลล์ที่มีชีวิต ที่เปลี่ยนสารละลาย MTT สีเหลืองให้เป็นผลึก formazan สีม่วง แล้วจึงละลายผลึก formazan และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ส่วนวิธี NR assay วัดความมีชีวิตของเซลล์ได้โดยอาศัย lysosome ของเซลล์ที่มีชีวิต ที่ทำให้เกิด pH gradient ให้ Neutral red ซึมผ่านเข้าไป และสะสมอยู่ใน lysosome ขณะที่เซลล์ตายจะไม่เกิดกิจกรรมนี้ จากนั้นจึงทำการแตกเซลล์ด้วยสารละลายกรด และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จากผลดัง Figure 1 พบว่าทั้ง 2 วิธี ให้ผลเหมือนกัน คือ เมื่อความเข้มแสงของรังสี UVA เพิ่มขึ้นมีผลให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลง โดย UVA ไปกระตุ้น sensitizer ภายในเซลล์ทำให้เกิดการส่งถ่ายอิเล็คตรอนและส่งถ่ายพลังงานไปยังโมเลกุลของออกซิเจน แล้วก่อให้เกิดอนุมูลอิสระชนิด reactive oxygen species (ROS) เพิ่มขึ้น โดยปริมาณ ROS ที่เกิดขึ้นในระดับต่ำๆ จะมีส่วนช่วยในกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ แต่ปริมาณ ROS ที่มากเกินไปสามารถก่อความเสียหายแก่โมเลกุลขนาดใหญ่ภายใน

เซลล์ เช่น โปรตีน ไขมัน และกรดนิวคลีอิก เป็นต้น (Stadtman, 1993) โดยความเสียหายต่อเซลล์ที่ได้รับการฉายรังสี UVA ที่ระดับต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (กำลังขยาย 20X) จะเห็นลักษณะของเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงไป

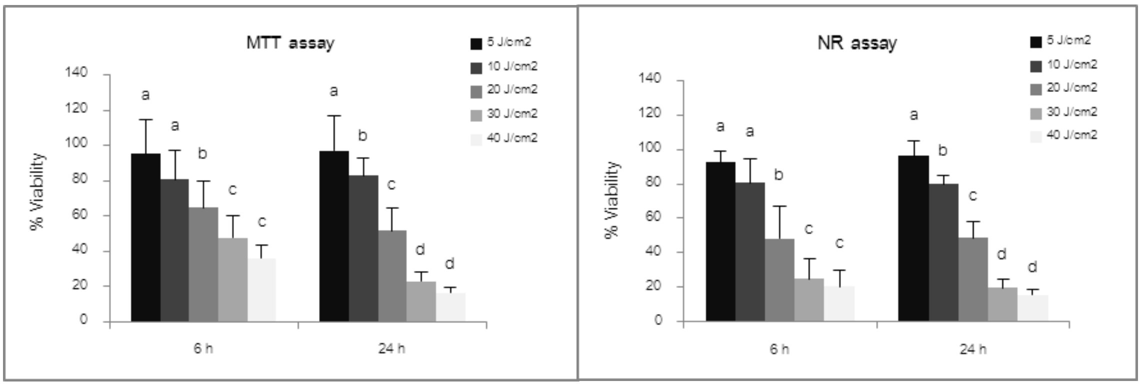


Figure 1 Cell viability by MTT and Neutral red uptake assay of UVA irradiated cells at various doses after 6 hours and 24 hours of post irradiation. Values are means ± SD (n = 8)

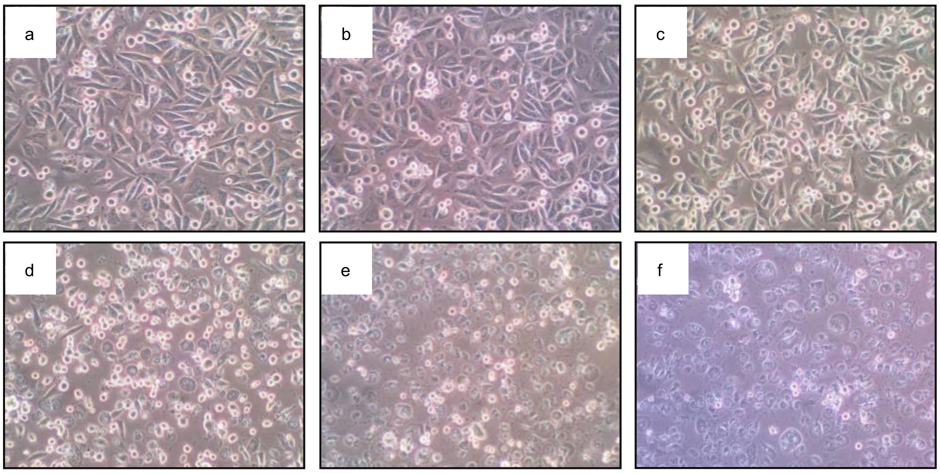


Figure 2 Morphology of cells under the Inverted Microscope (20X) after 6 hours of different UVA doses of irradiation. (a) Control, (b c d e and f) UVA radiated cells at 5, 10, 20, 30 and 40 J/cm^2, respectively.

Figure 2a เป็นลักษณะเซลล์กลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับการฉายรังสี UVA จึงเห็นเซลล์ในลักษณะเกาะแผ่เป็นกระสวย และเซลล์บางส่วนที่เพิ่งแบ่งตัวจะมีลักษณะกลมวาวใส ส่วน Figure 2b ถึง 2f เป็นเซลล์ที่ได้รับรังสี UVA ที่ระดับ 5, 10, 20, 30 และ 40 J/cm^2 ตามลำดับ สังเกตเห็นเซลล์สูญเสียการเกาะแผ่ทำให้เซลล์มีลักษณะโค้งมนแทนที่จะเป็นกระสวยที่ระดับความเข้มแสงต่ำๆ (2b และ 2c) ส่วนที่ระดับความเข้มแสงเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำลายเซลล์อย่างเห็นได้ชัด โดยที่ความเข้มแสง 20 J/cm^2 (2d) สามารถทำให้เซลล์สูญเสียการแผ่ได้เกือบร้อยเปอร์เซนต์ แต่ก็ยังมีเซลล์กลมวาวใส ซึ่งบางเซลล์จะหดกลมเล็กลง บางเซลล์อ้วนกลมเป็น giant cells และมี

ลักษณะ ghost cell ปรากฏให้เห็น ส่วนที่ระดับความเข้มแสง 30 และ 40 J/cm^2 (2e และ 2f) นั้นมีความรุนแรงต่อเซลล์มาก โดยเห็นเซลล์ลักษณะกลมวาวใสน้อยมาก รวมทั้งพบเซลล์หดกลมเล็กและเป็น giant cells

เมื่อคำนวณค่า IC_{50} ของความเข้มแสงที่มีผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay และ NR assay หลังสิ้นสุดการฉายรังสีเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง พบว่า วิธี MTT assay ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 27.30 ± 6.36 และ 20.11 ± 3.09 J/cm^2 ที่ 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนวิธี NR assay ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 20.18 ± 6.94 และ 18.95 ± 2.98 J/cm^2 ที่ 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังแสดงใน Figure 3 สังเกตเห็นว่าวิธี NR assay จะมีความไวในการตรวจสอบมากกว่า เนื่องจากให้ค่า IC_{50} ต่ำกว่าเมื่อเวลาผ่านไปที่ 6 ชั่วโมง ขณะที่พบค่า IC_{50} ใกล้เคียงกันกับผลจาก MTT assay ที่ 24 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่า NR assay สามารถตรวจความมีชีวิตของเซลล์จากการทำลายของ UVA ได้ตั้งแต่เนิ่นๆ ใน 6 ชั่วโมงที่ศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chiba *et al*. (1998) ที่รายงานว่าวิธี NR assay ซึ่งให้ค่า IC_{50} ระดับต่ำมีความไวในการตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ได้ดีกว่าวิธี MTT assay ดังนั้น จึงเลือกใช้ระยะเวลาหลังบ่ม 6 ชั่วโมงและใช้วิธี NR assay ตรวจประเมินศักยภาพของสารสกัดรำข้าวต่อไป

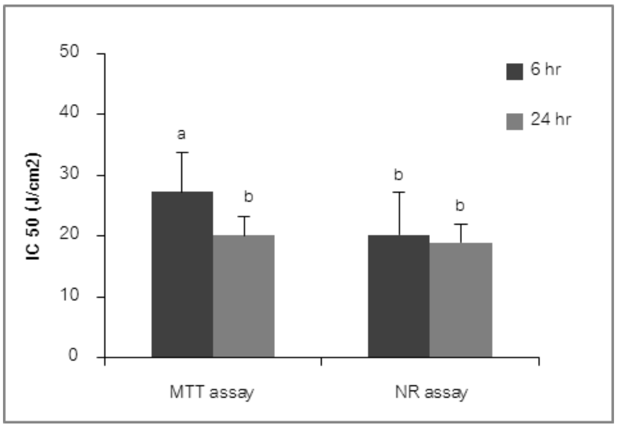


Figure 3 The UVA intensity that inhibited cell viability at 50% of the initial cells (IC_{50}) measured by MTT assay and Neutral red uptake assay after 6 hours and 24 hours irradiation. Values are means ± SD (n = 8)

ปริมาณความมีชีวิตของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสี UVA ที่ระดับ IC_{30} (12 J/cm^2) ทั้งก่อนและหลังรับสารสกัดรำข้าวที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

การทดสอบระดับความเข้มของรังสี UVA ต่อความมีชีวิตของเซลล์ พบว่าที่ความเข้ม 12 J/cm^2 หรือ IC_{30} น่าเป็นระดับที่เหมาะสมในการศึกษาผลของสารสกัดรำข้าวต่อความมีชีวิตของเซลล์ที่ได้รับรังสี UVA เนื่องจากเป็นระดับที่ให้เปอร์เซนต์ความมีชีวิตสูงและเซลล์ไม่ได้ถูกทำลายจาก UVA มาก และอาจเป็นระดับที่น่าตรวจพบการทำลายดีเอนเอของเซลล์จาก UVA ที่จะศึกษาหาความสัมพันธ์กับสารสกัดรำข้าวต่อไปได้ ตามการศึกษาของ Hseu *et al*. (2012) ที่ได้เลือกใช้ความเข้ม UVA ที่ระดับน้อยกว่า IC_{50} ในการทดสอบการป้องกันผลของรังสี UVA ที่ชักนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันและอะพอบโตซิสใน human keratinocyte cellsโดยจะทำการบ่มเซลล์กับสารสกัดรำข้าวนาน 2 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบผลของสารสกัดรำข้าวทั้งก่อนและหลังการฉาย

รังสี UVA ที่ความเข้ม 12 J/cm^2 ด้วยวิธี NR assay เพื่อประเมินความสามารถของสารสกัดรำข้าวในการป้องกันการตายของเซลล์ หรือการฟื้นตัวของเซลล์ภายหลังจากการได้รับรังสี UVA เทียบกับสภาวะที่เซลล์ไม่ได้รับสารสกัด พบว่าให้ผลดังแสดงใน Figure 4 ซึ่งมีการเปรียบเทียบระหว่างการให้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แก่เซลล์ทั้งก่อนและหลังการฉายรังสี UVA ที่ประเมินผลด้วยวิธีเดียวกัน จากผลพบว่าสารสกัดรำข้าวทั้ง 2 ชนิดสามารถช่วยเพิ่มระดับความมีชีวิตของเซลล์ทั้งก่อนและหลังการได้รับรังสี UVA แสดงถึงสารสกัดรำข้าวช่วยป้องกันการตายของเซลล์จาก UVA ได้ ไม่ว่าจะให้ก่อนหรือให้หลังการรับ UVA อย่างไรก็ตาม สารสกัดรำข้าวพันธุ์หอมแดงให้ความมีชีวิตของเซลล์ที่ได้รับ UVA ได้สูงกว่าก่ำดอยสะเก็ด อาจเป็นผลมาจากประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรำข้าวพันธุ์หอมแดงที่ดีกว่า (กิตติมา และคณะ, 2557) และอาจเป็นผลจากความสามารถกระตุ้นการเจริญของสารสกัดรำข้าวพันธุ์หอมแดงที่มีมากกว่าก่ำดอยสะเก็ด (Butchan *et al.*, 2014; Butchan *et al.*, 2015) ร่วมเสริมให้ความมีชีวิตของเซลล์สูงกว่าก่ำดอยสะเก็ด โดยจะเห็นผลความมีชีวิตของเซลล์สูงขึ้นเล็กน้อยแปรตามปริมาณสารสกัดรำข้าวพันธุ์หอมแดง ขณะที่ไม่เห็นผลแปรตามกันเมื่อทดสอบกับก่ำดอยสะเก็ด แสดงถึงการรอดชีวิตของเซลล์ที่ได้รับ UVA จากสารสกัดรำข้าว น่าจะเป็นผลจากความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรำข้าว ซึ่งงานวิจัยของ กิตติมา (2557) พบว่าสารสกัดรำข้าวพันธุ์หอมแดงซึ่งมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากกว่าพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่า โดยมีความสามารถทั้งให้ไฮโดรเจนอะตอม และให้อิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ ส่งผลให้ลดปริมาณอนุมูลอิสระได้มากกว่าสารสกัดรำข้าวก่ำดอยสะเก็ด

อย่างไรก็ตาม เซลล์ที่รอดชีวิตอาจเป็นเซลล์ที่ดีเอ็นเอเสียหาย หรือเซลล์ที่ได้รับการซ่อมแซมดีเอ็นเอให้กลับคืนเป็นปกติ จึงมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาต่อไปถึงผลของ UVA ต่อการทำลายดีเอ็นเอ และผลของสารสกัดรำข้าวต่อดีเอ็นเอของเซลล์ที่ได้รับ UVA เพื่อประเมินศักยภาพของสารสกัดรำข้าวในการป้องกันความเสี่ยงการเกิดมะเร็งจากรังสี UVA ต่อไป

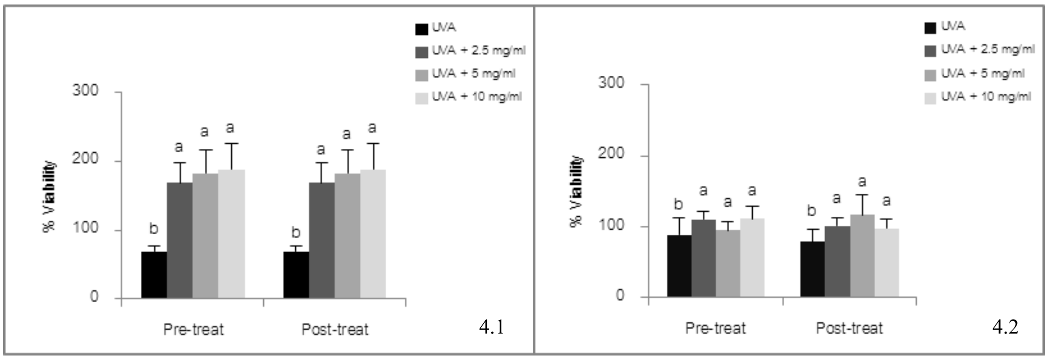


Figure 4 The percentage of cell viability by Neutral red uptake assay of Pre-treatment and Post-treatment of rice bran extracts; (4.1) Hom Dang strains, (4.2) Kam Doi Saked strains. Values are means ± SD (n = 6), a and b represent statistical different at P<0.05 within each rice extract.

สรุป

UVA มีผลให้เกิดการทำลายเซลล์มากขึ้นตามความเข้มแสง โดย Neutral red uptake assay มีความไวมากกว่าวิธี MTT assay การได้รับสารสกัดรำข้าวทั้ง 2 ชนิด ที่ระดับความเข้ม UVA น้อยกว่า IC_{50} (IC_{30}) สามารถช่วยเพิ่มระดับความมีชีวิตของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยรังสี UVA ทั้งในสภาวะก่อนและหลังการรับสารสกัดได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดรำข้าวพันธุ์หอมแดงมีประสิทธิภาพดีกว่าพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องศึกษาประเมินผลของ UVA ต่อสารพันธุกรรมของเซลล์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัท เอส แอนด์ เจ อินเตอร์เนชั่นแนล เอนเตอร์ไพรส์ จำกัด (มหาชน) สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยและสารสกัด ขอบคุณโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่อนอุตสาหกรรม สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่ให้โอกาสและเป็นผู้สนับสนุนทุนหลักสำหรับงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กิตติมา บุตรจันทร์. 2557. **การศึกษาผลของสารสกัดข้าวดำและข้าวแดงต่อดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งผิวหนังที่ถูกทำลายด้วยรังสี UVA**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

กิตติมา บุตรจันทร์, นวลอนงค์ จิระกาญจนากิจ และ กัลยาณี จิรศรีพงศ์พันธ์. 2557. **ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวดำและข้าวแดง**. การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยและสร้างสรรค์ระดับชาติและนานาชาติ “ศิลปากรวิจัยและสร้างสรรค์ ครั้งที่ 7: บูรณาการศาสตร์และศิลป์” 24-26 มีนาคม พ.ศ. 2557 ณ มหาวิทยาลัยศิลปากร วังท่าพระ กรุงเทพมหานคร.

Butchan, K., N. Jirakanjanakit, M. Chulasiri and K. Jirasripongpun. 2014. Anti-oxidative stress of red and black rice bran extracts against H2O2, t-BHP and UVA radiation. (poster presentation and proceeding) **The 26th Annual Meeting of the Thai Society for biotechnology and International Conference** 26-29 November 2014. Mae Fah Luang university, Chiang Rai, Thailand.

Butchan, K., N. Jirakanjanakit, M. Chulasiri and K. Jirasripongpun. 2015. Antioxidant Activity of Rice Bran Extracts against Cellular Stress. **The 2nd International Conference on Bioresource towards World Class Products**, 23 - 24 July 2015, Miracle Grand Convention Hotel, Bangkok, Thailand.

Chiba, K., K. Kawakami and K. Tohyama. 1998. Simultaneous evaluation of cell viability by neutral red, MTT and crystal violet staining assays of the same cells. **Toxicology in Vitro** 12: 251-258.

Ehara, M., T. Noguchi and K. Ueda. 1996. Uptake of Neutral Red by the Vacuoles of a Green Alga, Micrasterias pinnatifida. **Plant Cell Physiol** 37(6): 734-741.

Gasparro, F.P. 2000. Sunscreens, skin photobiology, and skin cancer: the need for UVA protection and evaluation of efficacy. **Environmental Health Perspectives** 108:71-78.

Hseu, Y.Ch., Ch.W. Chou, K.J.S. Kumar, K.T. Fu, H.M. Wang, L.S. Hsu, Y.H. Kuo, C.R. Wud, S.C. Chen, and H.L. Yang. (2012). Ellagic acid protects human keratinocyte (HaCaT) cells against UVA-induced oxidative stress and apoptosis through the upregulation of the HO-1 and Nrf-antioxidant genes. **Food and Chemical Toxicology** 50: 1245–1255.

Senthilraja, P. and K. Kathiresan. 2015. In vitro cytotoxicity MTT assay in Vero, HepG2 and MCF -7 cell lines study of Marine Yeast. **Journal of Applied Pharmaceutical Science** 5(03): 080-084.

Stadtman, E. R. 1993. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. **Annual Review of Biochemistry** 62: 797–821.

ผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขก

The Effect of Heat Condition on Quality of Salad Dressing (Khaek Salad)

กมลทิพย์ กรรไพเราะ[1*] ภารดี พละไชย[1] นัสรินทร์ สุหลงกูด[1]และ แวนาซีเราะห์ แวมามุ[1]

Kamontip Kanpairo[1*], Pharadee Phalachai[1], Nasrin Sulongkood[1] and Weanaseeroh Waemamu[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพน้ำสลัดแขก โดยศึกษาการฆ่าเชื้อใน 2 สภาวะคือ อุณหภูมิต่ำเวลานาน (LTLT) ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที และอุณหภูมิสูงเวลาสั้น (HTST) ใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 15 วินาที ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิสูงเวลาสั้น (HTST) ได้รับคะแนนทางประสาทสัมผัสทุกคุณลักษณะสูงสุด โดยตัวอย่างมีค่า L* a* b* ค่า a_w และความหนืดเท่ากับ 54.07, 10.96, 25.41, 0.98 และ1,122 เซนติพอยส์ ตามลำดับ ส่วนคุณลักษณะทางเคมี ได้แก่ ค่าพีเอชเท่ากับ 6.72 ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน และปริมาณกรดทั้งหมด (ทาร์ทาริก) เท่ากับ ร้อยละ 63.45, 25.29, 4.25, และ 0.93 ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาอย่างน้อย 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส โดยที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และรา เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมที่กำหนด

ABSTRACT

The main purpose of this research study was to investigate the heat condition of High Temperature Short Time (HTST: 90^{o}C, 15 sec) and Low Temperature Long Time (LTLT: 70^{o}C, 10 min) to determine the effect on quality of salad dressing (khaek Salad). The results showed that the High Temperature Short Time (HTST: 90^{o}C, 15 sec) gains the highest sensory scores of all characteristic. L* a* b* values a_w and viscosity were 54.07, 10.96, 25.41, 0.98 and 1,122 cps, respectively. pH was 6.72. This product consisted of 63.45% moisture, 25.29% lipid, 4.25% protein and 0.93% total acid (tartaric acid). The HTST salad dressing can be stored at least 9 days at 4 – 6^{o}C according to total bacteria, *Staphylococcus aureus* and Mold which is based on the standard qualities of Thai industrial product standard.

Key Words: salad dressing, heat condition, quality

* Corresponding author; e-mail address: koikamontip.k@gmail.com

[1]สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ยะลา 95000

[1]Major of Food Science and Technology, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala 95000

คำนำ

คนไทยส่วนใหญ่นิยมบริโภคอาหารที่มีรสชาติจัดจ้าน รวมทั้งอาหารที่มีกะทิเป็นส่วนประกอบ นอกจากประเทศไทยแล้วประเทศอื่นๆ ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ก็นิยมนำกะทิมาประกอบอาหาร แต่จากงานวิจัยหลายๆ งานพบว่า กะทิมีส่วนประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณสูง ก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกายหากบริโภคในปริมาณที่เกินพอดี (น้ำทิพย์, 2555) นอกจากนี้ยังส่งผลในการเก็บรักษา โดยพบว่า อาหารที่มีกะทิเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่มักจะมีอายุการเก็บรักษาสั้น เนื่องจากจัดเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (Low acid food) มีค่าพีเอชประมาณ 6 อจึงมีการนำอาหารที่มีกะทิเป็นส่วนประกบมาผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น การฆ่าเชื้อแบบพาสเจอไรซ์ และการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลส์ (สุดารัตน์ และคณะ, 2551) แต่สภาวะในการฆ่าเชื้ออาหารที่มีส่วนผสมของกะทิที่ไม่เหมาะสมนั้น จะส่งผลต่อคุณลักษณะทางกายภาพ เคมี และการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยพบว่า หากฆ่าเชื้อโดยใช้อุณหภูมิสูงเกินไปส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (Non-enzymatic browning) ในผลิตภัณฑ์ (Rattanathanalerk *et al.*, 2005) จึงมีการเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อ เช่น การศึกษาการผลิตและอายุการเก็บรักษาน้ำกะทิดัดแปลงไขมันพาสเจอไรซ์โดยพบว่า น้ำกะทิดัดแปลงไขมันพาสเจอไรซ์ที่ใช้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที มีอายุการเก็บรักษาที่สั้นกว่าสภาวะการให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เวลา 15 วินาที (ทศพรพรรณ, 2546) การศึกษาผลของการพาสเจอไรซ์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมข้าวโพด โดยพบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที ซึ่งปริมาณวิตามินซีและเบต้าแคโรทีนในสภาวะดังกล่าว หลงเหลือมากกว่าสภาวะการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส (วิภาพร, 2550) ในผลิตภัณฑ์กะทิน้ำนมข้าวร่วมกับธัญพืชพาสเจอไรซ์ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (สุนัน และ จตุรงค์, 2555) สำหรับกระบวนการแปรรูปนมพาสเจอไรซ์นั้นพบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 70 – 80 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที (Aguiar and Gut, 2014; Gandy *et al.*, 2008) ซึ่งสภาวะช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและลดการสูญเสียสารอาหารในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ ภาค (2556) รายงานว่า การพาสเจอไรส์โดยใช้อุณหภูมิต่ำ ช่วยลดเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและปริมาณวิตามินบี 1 คงเหลือมากกว่าการใช้อุณหภูมิสูง

สลัดแขกจัดเป็นอาหารอีกชนิดหนึ่ง มีลักษณะคล้ายน้ำสะเต๊ะ มีรสชาติหวานนำ เป็นอาหารที่บ่งบอกถึงอัตลักษณ์ของท้องถิ่น นิยมรับประทานใน 3 จังหวัดชายแดนใต้ โดยนิยมรับประทานในเทศกาลต่างๆ เช่น รอมฎอน ถือศีลอด (รัศมี, ม.ป.ป.) มีวิธีการเตรียมและการปรุงที่ยุ่งยาก ต้องใช้ระยะเวลานาน รวมทั้งอาหารชนิดนี้มีส่วนผสมของกะทิและถั่วเป็นส่วนประกอบ จึงส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำน้ำสลัดแขก ซึ่งเป็นอาหารเชิงอัตลักษณ์ท้องถิ่นมาเผยแพร่ให้เป็นที่รู้จัก จึงนำเทคนิคการพาสเจอไรซ์มาใช้ในงานวิจัยในครั้งนี้ ดังนั้น “น้ำสลัดแขกพาสเจอร์ไรซ์พร้อมบริโภค” จึงถูกผลิตเพื่อเพิ่มความสะดวก และรวดเร็วต่อผู้บริโภค สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน เป็นการเพิ่มมูลค่าอาหารในท้องถิ่นให้เป็นที่รู้จัก และเพิ่มศักยภาพในการผลิตเพื่อส่งออกในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขก

เตรียมน้ำสลัดแขกสูตรพื้นฐาน โดยสูตรที่ใช้สำหรับวิจัยในครั้งนี้ ได้จากการสอบถามจากปราชญ์ชาวบ้านของ จ.ยะลา คือ นางวันทิวา โต๊ะตาหยง ในสูตรน้ำสลัดแขกประกอบด้วยกะทิ น้ำพริกแกงมัสมั่น ไข่แดง

ต้มสุก น้ำมะขามเปียก น้ำตาลปี๊บ ขมิ้นผง ถั่วลิสงคั่วบดละเอียดและน้ำปลา ร้อยละ 64.50, 5.10, 8.70, 7.65, 5.35, 0.30, 5.55 และ 2.85 ตามลำดับ วิธีการทำคือ นำส่วนผสมทั้งหมดมาปั่นรวมกันด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้ากำลังไฟ 400 วัตต์ที่ความเร็วระดับ 2 เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำมาศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขกคือ อุณหภูมิสูงเวลาสั้น (90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที) และอุณหภูมิต่ำเวลานาน (70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที) (สุนัน และ จตุรงค์, 2555) นำผลิตภัณฑ์มาบรรจุขณะร้อนในขวดแก้วขนาด 200 มิลลิลิตร ที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อในน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีในน้ำที่อุณหภูมิ 10 -15 องศาเซลเซียส นำมาตรวจสอบคุณภาพในด้านต่างๆ ดังนี้ 1) ค่าสี L* a* b* โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter lab รุ่น colorflex@EZ ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ โดยใช้เครื่องวอเตอร์แอคติวิตี้ Aqualab รุ่น Ss 36090 และความหนืดโดยใช้เครื่องวัดความหนืด Brookfield รุ่น DV-T+ เตรียมตัวอย่าง โดยนำน้ำสลัดแขกที่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้ง 2 สภาวะ มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อละลายส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำมาวัดความหนืดโดยใช้เข็มเบอร์ 1 และความเร็วรอบ 4.0 RPM 2) ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2000) 3) การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ทดสอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติและความชอบรวม ใช้วิธีการทดสอบแบบ 9-point hedonic scale 4) วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และรา (BAM, 2001)

2. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขก

นำน้ำสลัดแขกสูตรที่ได้รับการยอมรับจากข้อ 1 มาศึกษาอายุการเก็บรักษา โดยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี การเปลี่ยนแปลงทางเคมี ได้แก่ ค่าพีเอช และการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และรา ทุกๆ 3 วัน จนกระทั่งน้ำสลัดแขกเสีย

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD ในการวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) ในการวิเคราะห์คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ข้อมูลทั้งหมดจะนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Window Version 17

ผลการทดลอง

ผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขก

จากการศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขกแบบใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้น (90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที) และอุณหภูมิต่ำเวลานาน (70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที) ได้ผลการทดลองดังนี้คือ คุณลักษณะทางกายภาพได้แก่ ค่าสี L* a* b* ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ และความหนืด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (Table 1) คุณลักษณะทางเคมีได้แก่ ความชื้น แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่าพีเอช ปริมาณกรดทั้งหมด ไขมันและโปรตีน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (Table 2) คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสพบว่า คะแนนด้านลักษณะปรากฏ สี และความชอบรวม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คะแนนด้านอื่นได้แก่ กลิ่นและรสชาติ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (Table 3)

Table 1 Physical qualities of salad dressing with different heat conditions

parameter	conditions	
	LTLT	HTST
L*	53.03±0.05[b]	54.07±0.61[a]
a*	13.19±0.01[a]	10.96±0.00[b]
b*	25.84±0.02[a]	25.41±0.01[b]
a_w	0.97±0.00[b]	0.98±0.00[a]
Viscosity (cPs)	1,404±1.14[a]	1,122±0.58[b]

[a-b]Mean within a row with different letters significantly differ($p \leq 0.05$)

LTLT means low temperature long time

HTST means high temperature short time

Table 2 Chemical qualities of salad dressing with different heat conditions

parameter	conditions	
	LTLT	HTST
pH [ns]	6.79±0.01	6.72 ± 0.06
Total acid (Tartaric acid) [ns](%)	0.83±0.08	0.93 ± 0.04
Moisture (%)	64.94±0.30[a]	63.45 ± 0.05[b]
Lipid (%)[ns]	24.54±0.45	25.29±0.38
Protein[ns](%)	4.78±0.12	4.25±0.05

[a-b] Mean within a row with different letters significantly differ ($p \leq 0.05$)

[ns] non significantly different ($p > 0.05$)

LTLT means low temperature long time

HTST means high temperature short time

Table 3 Sensory analysis of salad dressing with different heat conditions

conditions	Preference tests				
	appearance	color	odor [ns]	taste [ns]	overall liking
LTLT	6.35±1.25[b]	6.74±1.06[b]	5.87±1.38	6.81±1.14	6.81±0.81[b]
HTST	7.13±1.09[a]	7.06±0.99[a]	6.39±1.54	7.06±1.21	7.52±0.89[a]

[a-b] Mean within a column with different letters significantly different($p \leq 0.05$)

[ns] non significantly different ($p > 0.05$)

LTLT means low temperature long time

HTST means high temperature short time

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพในด้านต่างๆ พบว่า ผลของการให้ความร้อนที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขกคือ การใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้น จึงนำผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขกที่ผ่านการฆ่าเชื้อในสภาวะดังกล่าวไปศึกษาอายุการเก็บรักษาในข้อต่อไป

ผลศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขก

จากการศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขก พบว่า ค่า L* a* b* และค่าพีเอชมีค่าเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาที่เก็บรักษา ส่วนปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ พบว่า ในระยะเวลา 9 วัน เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และรา ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด แต่ในวันที่ 12 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด มากกว่า 10^5 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ซึ่งเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ (Table 4)

Table 4 Changes of pH, L* a* b* value, and microbiological of salad dressing during storage

day	parameter						
	pH	L*	a*	b*	TVC (cfu/ml)	mold (cfu/ml)	S.aureus (cfu/ml)
0	5.68 ± 0.08^{a}	53.33 ± 0.05^{a}	13.19 ± 0.01^{e}	25.84 ± 0.02^{e}	<30	ND	ND
3	5.55 ± 0.01^{b}	53.27 ± 0.04^{a}	13.29 ± 0.02^{d}	25.91 ± 0.01^{d}	1.16x10	ND	ND
6	5.50 ± 0.02^{bc}	51.68 ± 0.03^{b}	13.58 ± 0.01^{c}	25.98 ± 0.01^{c}	2.5x10	ND	ND
9	5.47 ± 0.01^{c}	51.56 ± 0.03^{b}	14.50 ± 0.01^{b}	27.30 ± 0.02^{b}	1.9×10^{2}	ND	ND
12	5.24 ± 0.04^{d}	50.73 ± 0.02^{c}	14.58 ± 0.01^{a}	27.58 ± 0.02^{a}	11.45×10^{5}	ND	ND

$^{a-e}$ Mean within a column with different letters significantly different($p\leq0.05$)

ND Means Not detectable

TVC means total viable count

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขก พบว่า ค่าสี (L*, a* และ b*) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) (Table 1) ซึ่งสภาวะการฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ระยะเวลา และประเภทของอาหาร น้ำกะทิจัดเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (พีเอชประมาณ 6) สามารถเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่ใช้เอนไซม์ได้ (ภาค, 2556; Aguiar and Gut, 2014; Gandy *et al*., 2008) จากผลการทดลองพบว่า น้ำสลัดแขกที่ใช้อุณหภูมิต่ำเวลานาน มีค่า L* ลดลง ส่วนค่า a* และค่า b* มีค่าสูงขึ้นกว่าน้ำสลัดแขกที่ใช้สภาวะอุณหภูมิสูงเวลาสั้น ถึงแม้ว่าการใช้อุณหภูมิต่ำจะช่วยป้องกันการเปลี่ยนสีในผลิตภัณฑ์ แต่ด้วยระยะเวลาที่นานเกิดการสะสมความร้อน ส่งผลทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ (non-enzymatic browning reaction) (Chiewchan *et al*., 2006) คือปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) และคาราเมล (caramelization) ได้มากกว่า จึงทำให้ค่า L* a* และ b* มีการเปลี่ยนแปลง ส่วนค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 0.97-0.98 ซึ่งค่าที่ได้เสี่ยงต่อการเจริญของจุลินทรีย์ หากเก็บรักษาในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ด้านความหนืดพบว่าน้ำสลัดแขกทั้ง 2 สภาวะ มีค่าความหนืดอยู่ในช่วง 1,122-1,404 เซนติพอยด์ (Table 1) ซึ่งความหนืดจะมีค่ามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ การให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ตั้งแต่ 70 องศาเซลเซียสขึ้นไป ส่งผลต่อความหนืดของอาหารที่มีกะทิเป็นส่วนประกอบ โดยทำให้เกิดการเสียสภาพตามธรรมชาติ (Peamprasart and Chiewchan, 2006) นอกจากนี้อาจมีสาเหตุมาจากการพองตัวของเครื่องแกง

โดยพบว่า ระยะเวลาของการให้ความร้อนจะส่งผลทำให้เกิดการพองตัวของส่วนประกอบต่างๆ ในเครื่องแกงมัสมั่น สอดคล้องกับพธิญดา (2552) ที่ศึกษาผลของความคงตัวของน้ำแกงกะทิ โดยพบว่า ระยะเวลามีผลต่อความคงตัวของน้ำแกงกะทิ ซึ่งการให้ความร้อนแก่น้ำแกงกะทิที่นานเกินไป ทำให้เกิดความร้อนสะสมในผลิตภัณฑ์ โดยความร้อนจะส่งผลทำให้เกิดการพองตัวขององค์ประกอบต่างๆ ในเครื่องแกงกะทิเพิ่มมากขึ้น ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น ดังนั้นการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสนาน 10 นาที น้ำสลัดแขกมีความหนืดเพิ่มสูงกว่าที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส 15 วินาที จากการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีได้แก่ ค่าพีเอช ปริมาณกรดทั้งหมด (ทาร์ทาริก) ความชื้น ไขมัน และโปรตีน (Table 2) ผลการตรวจสอบค่าพีเอช พบว่า อยู่ในช่วง 6.72-6.79 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ของกะทิสำเร็จรูปที่กำหนดว่า ต้องมีค่าพีเอช 5.5-6.5 (มอก. 582-2528) ซึ่งพีเอชของน้ำสลัดแขกมีค่ามากกว่ากะทิ อาจเนื่องมาจากมีส่วนผสมอื่นๆ รวมอยู่ด้วย ซึ่งพธิญดา (2552) กล่าวว่า อาหารที่มีพีเอชมากกว่า 4.5 มักจะเน่าเสียได้ง่าย การใช้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรซ์ (70-90 องศาเซลเซียส) จะทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ ปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 63.45-64.94 สอดคล้องกับค่า a_w ที่พบว่ามีค่าค่อนข้างสูง ทำให้อาหารเน่าเสียได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีส่วนผสมของกะทิซึ่งจัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดต่ำ จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้หากเก็บรักษาที่ไม่ถูกวิธี สอดคล้องกับ ศันสนีย์ (2555) ที่กล่าวว่า อาหารที่มีปริมาณความชื้นมากกว่าร้อยละ 60 และมีค่า a_w มากกว่า 0.85 เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร หากไม่ผ่านกระบวนการถนอมอาหารที่ถูกวิธี ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดต่ำ จึงจำเป็นต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเพื่อให้อายุของผลิตภัณฑ์นานขึ้น ส่วนผลการประเมินทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นและรสชาติของน้ำสลัดแขกที่ให้ความร้อนในสภาวะที่แตกต่างกันนั้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนคะแนนด้านลักษณะปรากฏ สี และความชอบรวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) (Table3) เมื่อพิจารณาสภาวะการให้ความร้อนพบว่า ผลของความร้อนส่งผลต่อคะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏและสี โดยสีของผลิตภัณฑ์จะเข้มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (Chiewchan *et al.*, 2006; Gandy *et al.*, 2008) ซึ่งสภาวะการใช้อุณหภูมิต่ำและระยะเวลานานทำให้สีของผลิตภัณฑ์เข้มเกินไป ส่งผลต่อคะแนนด้านลักษณะปรากฏและความชอบรวมของผลิตภัณฑ์ ส่วนการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขกทั้ง 2 สภาวะ ไม่พบทั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด *Staphylococcus aureus* และเชื้อรา ซึ่งค่าที่ได้สอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของกะทิสำเร็จรูปที่กำหนดไว้ว่า ที่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน $1x10^5$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ต้องไม่พบ *Staphylococcus aureus* และเชื้อราในผลิตภัณฑ์ (มอก. 582-2528) จากผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า การให้ความร้อนที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขกคือ สภาวะการใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้น จึงนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไปศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อไป

จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขก ที่ผ่านการให้ความร้อนโดยใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้น ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส และนำมาตรวจค่าพีเอช ค่าสี จุลินทรีย์ทั้งหมด รา และ *Staphylococcus aureus* (Table 4) พบว่า ค่าพีเอชมีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บที่เพิ่มขึ้น อาจมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ที่สร้างกรดเจริญเติบโต (ทศพรพรรณ, 2546; วิภาพร, 2550) จึงผลิตกรดขึ้นมาส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช และเกิดการเปลี่ยนแปลงด้านอื่นๆ เช่น เริ่มมีกลิ่นและรส

เปรี้ยว ส่วนค่า L* a* และ b* พบว่า เมื่อเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จะทำให้ค่า L* ลดลง ส่วนค่า a* และ b* เพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดในระหว่างการเก็บรักษา ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด รา และ *Staphylococcus aureus* พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 12 พบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงสุดและเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดคือ มากกว่า $1x10^5$ โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ส่วนเชื้อราและ *Staphylococcus aureus* พบว่า ตลอดระยะเวลา 12 วัน ไม่พบเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ ซึ่งตรงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมของกะทิสำเร็จรูปที่กำหนดว่า ต้องไม่พบเชื้อราและ *Staphylococcus aureus* (มอก. 582-2528) จากผลการทดลองดังกล่าวอธิบายได้ว่า กระบวนการพาสเจอไรซ์เป็นกระบวนการให้ความร้อนในระดับที่ไม่รุนแรง โดยทั่วไปจะใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส มีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ไวต่อความร้อน เช่น แบคทีเรียชนิดที่ไม่สร้างสปอร์ ยีสต์และรา โดยมีผลเพื่อต้องการคงคุณค่าทางสารอาหาร สี กลิ่นและรส (Aguiar and Gut., 2014) ซึ่งช่วงแรกของการพาสเจอไรซ์พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยมาก เนื่องจากเซลล์ได้รับบาดเจ็บจากการได้รับความร้อนจน ไม่สามารถคืนสภาพได้ จึงลดลงในช่วงต้นของการเก็บรักษา ส่วนเซลล์ที่ยังคืนสภาพได้ก็จะนำเอาสารอาหารที่มีอยู่อย่างสมบูรณ์ในน้ำสลัดแขกมาใช้ในการซ่อมแซมส่วนที่บาดเจ็บ จนกลับมาสมบูรณ์อีกครั้งและสามารถเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วเนื่องจากมีการแบ่งตัวแบบทวีคูณ (Ray, 1979) ในผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า ยังมีจุลินทรีย์ ที่หลงเหลืออยู่เมื่อใช้อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา สรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์น้ำสลัดแขกพาสเจอร์ไรซ์ที่ใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้นในการฆ่าเชื้อ สามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส

สรุป

จากการศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขกพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที โดยการให้ความร้อนในอุณหภูมิดังกล่าว ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของน้ำสลัดแขกในด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และทางประสาทสัมผัส สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้อย่างน้อย 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส โดยที่ผลิตภัณฑ์ยังปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณบำรุงการศึกษาปี 2558 คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

เอกสารอ้างอิง

ทศพรพรรณ รัตนภักดี. 2546. **การผลิตและอายุการเก็บรักษาน้ำกะทิดัดแปลงไขมันพาสเจอไรส์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

น้ำทิพย์ ตาทิพย์. 2555. **การดัดแปรลักษณะของนมถั่วเหลืองเพื่อใช้ทดแทนกะทิ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พธิญดา แก้วสวี. 2552. **การใช้สารทดแทนไขมันในน้ำแกงกะทิไขมันต่ำ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ภาค มาลัยกฤษณะชลี. 2556. **ผลของสภาวะกระบวนการพาสเจอไรซ์ต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์นม**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

รัศมี สุไลมาน . ม.ป.ป. **อาหารพื้นเมืองอิสลาม.** แหล่งที่มา: http://www.gotoknow.org/posts/172476, 18 กันยายน 2559.

วิภาพร สร้อยสม. 2550. **ผลของการพาสเจอไรซ์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำนมข้าวโพด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศันสนีย์ อุตมอ่าง. 2555. **การผลิตซอสหลนเพื่อเป็นต้นแบบการผลิตเชิงอุตสาหกรรม.** รายงานวิจัย, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ เพชรบูรณ์. 35 น.

สุดารัตน์ พุทธฤกษ์มงคล, สุจิตรา เหมคช, จันทิมา ภูงามเงิน และเกตุนันท์ กิตติพงศ์พิทยา. 2551. ผลของปริมาณไขมันและความร้อนระดับสเตอลิไลส์ต่อคุณภาพสีของน้ำกะทิ. **ว. วิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.** 18 (1): 80-88.

สุนัน ปานสาคร และ จตุรงค์ ลังกาพินธุ์. 2555. **ศึกษากระบวนการการผลิตกะทิน้ำนมข้าวร่วมกับธัญพืชพาสเจอไรส์เพื่อทดแทนกะทิจากมะพร้าว.** รายงานวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี. 72 น.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2528. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กะทิสำเร็จรูป** มอก. 582-2528.

Aguiar, H.F. and Gut, A.W. 2014. Continuous HTST pasteurization of liquid foods with plate heat exchangers: validation using a time temperature integrator. **Journal of Food Engineering** 123: 78-86.

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis.** 17th Ed, The Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

BAM. 2001**. Bacteriological Analytical Manual.** 8th Ed, The Association of Official Analytical Chemists, FDA, USA.

Chiewchan, N., Phungamngoen, C.and Siriwattanayothin, S. 2005. Effect of Homogenizing Pressure and Sterilizing Condition on Quality of Caned High Fat Coconut Milk. **Journal of Food Engineering** 73: 38-44.

Gandy, A.L., Schilling, M.W., Coggins, P.C., White, C.H., Yoon, Y. and Kamadia, V.V. 2008. The effect of pasteurization temperature on consumer acceptability, sensory characteristics, volatile compound composition and shelf-life of fluid milk. **Journal of Dairy Science** 91(5): 1769 – 1777.

Peamprasart, T and Chiewchan, N. 2006. Effect of fat content and preheat treatment on the apparent viscosity of coconut milk after homogenization. **Journal of Food Engineering** 77: 653-658.

Rattanathanalerk, M., Chiewchan, N. and Srichumpoung, W. 2005. Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. **Journal of Food Engineering** 66: 259-265.

Ray, B. 1979. Method to detect stressed microorganisms. **Journal of Food Protection** 42: 346-355.

การศึกษาผลของการเติมเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR1331, *Lactobacillus fermentum* TISTR937 และเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนม

Study Effect of Addition *Lactobacillus plantarum* TISTR1331, *Lactobacillus fermentum* TISTR937 and Commercial Starter on Quality of Thai Fermented Sausage (Nham) Product

พงศ์ประสิทธิ์ สุวรรณศักดิ์สิน[1] และ วลัยรัตน์ จันทรปานนท์[1*]

Phongprasit Suwannasaksin[1] and Walairut Chantarapanont[1*]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของการเติมเชื้อบริสุทธิ์ที่มีต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยาและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ในผลิตภัณฑ์แหนม โดยในงานวิจัยนี้ศึกษาการใช้เชื้อบริสุทธิ์ *Lactobacillus plantarum* TISTR 1331 ที่คัดแยกได้จากแหนม และ *Lactobacillus fermentum* TISTR 937 ที่คัดแยกได้จากส้มฟัก และเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า มาใช้ในการผลิตแหนม โดยทำการทดลองทั้งหมด 4 สิ่งทดลอง คือ (1) แหนมที่ผลิตโดยไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ (2) แหนมที่ผลิตโดยเติม *L. plantarum* (3) แหนมที่ผลิตโดยเติมเชื้อบริสุทธิ์ผสมระหว่าง *L. plantarum* + *L. fermentum* และ (4) แหนมที่ผลิตโดยเติมเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณกรดแลคติคของแหนมในระหว่างการผลิตเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าหลังจากการหมักเป็นเวลา 30 ชั่วโมง โดยใช้เวลาในการหมักที่เท่ากัน แหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทุกสิ่งทดลองมีค่า pH ที่ต่ำและปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าแหนมที่ผลิตโดยไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการศึกษาคุณภาพของแหนมหลังจากสิ้นสุดการผลิตพบว่า แหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทุกสิ่งทดลอง มีค่าความเป็นสีแดง (a*) ค่าความแข็ง ค่าความสามารถในการคืนตัว ค่าความเหนียวคล้ายยาง และค่าความยากในการเคี้ยว เพิ่มขึ้น ส่วนค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ลดลง เมื่อเทียบกับแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการทดสอบความชอบ พบว่าแหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทุกสิ่งทดลองมีคะแนนความชอบด้านสีแดงของแหนม (หลังนึ่ง) ความแน่นเนื้อ รสเปรี้ยว รสเค็ม กลิ่นรสกระเทียม และความชอบโดยรวม ไม่แตกต่างจากแหนมที่ไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์ ($p>0.05$) เมื่อพิจารณาผลของการทดสอบความพอดีโดยการวิเคราะห์ penalty พบว่าแหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทุกสิ่งทดลองควรปรับปรุงคุณลักษณะของสีแดงของแหนม รสเปรี้ยว และกลิ่นรสกระเทียมเพิ่มขึ้น แต่ควรปรับปรุงคุณลักษณะความแน่นเนื้อให้ลดน้อยลง

ABSTRACT

The objective of this research was to study effects of addition pure cultures on physical, chemical, microbiological and sensory qualities of Thai fermented sausage (Nham). The pure cultures used in this research were *Lactobacillus plantarum* TISTR 1331 isolated from Nham and *Lactobacillus fermentum* TISTR 937 isolated from Som-fug and commercial starter. There were 4 treatments including (1) Nham produced without pure cultures, (2) Nham produced by inoculating with *L. plantarum*, (3) Nham produced by inoculating with mixed pure cultures (*L. plantarum* + *L. fermentum*) and (4) Nham produced by inoculating with commercial starter. Lactic acid and pH changing of Nham during 48 hours indicated that after fermentation for 30 hours, all treatments inoculated with pure cultures had lower pH and higher acidity (%lactic acid) compared to Nham without pure starter cultures ($p \leq 0.05$). The qualities of Nham after the end of fermentation indicated that all treatments inoculated with pure cultures showed an increase in redness (a*), Hardness, Springiness, Gumminess and Chewiness but decrease in yellowness (b*) compared with Nham without pure cultures ($p \leq 0.05$). From liking test, results showed that there were not significantly different in liking score in red color of Nham (after steaming), flexibility, sourness, saltiness, garlic flavor and overall liking from Nham with pure cultures and without pure cultures ($p>0.05$). The Just about right test with penalty analysis showed that all treatments inoculated with pure cultures should improve by increasing red color of Nham, sourness and garlic flavor but should improve by decreasing flexibility.

Key Words: Thai fermented sausage, Nham, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, commercial starter

* Corresponding author; e-mail address: fagiwlc@ku.ac.th

[1]ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok

คำนำ

แหนมเป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้านของไทย มีรสชาติเปรี้ยว เนื่องจากเกิดการหมักของน้ำตาล ข้าว และโปรตีนในส่วนผสมของเนื้อโดยจุลินทรีย์ประเภทแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติ การหมักแหนมในช่วงแรกจะพบ *P. cerevisiae* และ heterofermentative lactobacilli เจริญและสร้างกรดขึ้นอย่างรวดเร็วและในช่วงหลังพบ *L. plantarum* และ *L. brevis* เจริญต่อจากแบคทีเรียกลุ่มแรก (ไพโรจน์, 2537) ปัจจุบันการผลิตแหนมยังคงเป็นการผลิตโดยพึ่งพาอาศัยเชื้อจุลินทรีย์แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ปนมากับวัตถุดิบตามธรรมชาติ ซึ่งโอกาสที่จะทราบชนิดและปริมาณของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียดังกล่าวไม่สามารถคาดคะเนได้ ทำให้ประสบปัญหาต่างๆ มากมาย เช่นความเสี่ยงในการเสื่อมเสียค่อนข้างสูง การผลิตแต่ละครั้งมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ คุณภาพด้านกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีความแปรผันค่อนข้างมาก และไม่สามารถควบคุมเวลาที่ใช้ในการผลิต ซึ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาลที่ผลิต รวมถึงเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่ปนเปื้อนกับวัตถุดิบ ทำให้เกิดการแข่งขันการเจริญเติบโตส่งผลให้เชื้อที่จำเป็นในการหมักมีการเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร อีกทั้งมีความเสี่ยงต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค เนื่องจากมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโทษ (Paukatong and Kunawasen, 2001) ปัจจุบันเทคโนโลยีการเติมเชื้อบริสุทธิ์ได้เข้ามามีบทบาทในการผลิตอาหารหมักดอง โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์แหนม เริ่มจากการใช้เชื้อบริสุทธิ์แลคติกแอซิดสายพันธุ์เดี่ยวในกลุ่มของ homofermentative คือ *Lactobacillus sp.* หรือ *Pediococcus sp.* ซึ่งสามารถหมักน้ำตาลกลูโคสแล้วเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้ (ร้อยละ 85) (Adams and Moss, 1995) ต่อมามีการพัฒนาใช้เชื้อบริสุทธิ์ผสมเริ่มต้นได้แก่ เชื้อ *L. plantarum*, *S. carnosus* และ *Micrococcus Varians* (Liu, 2010) ซึ่งพบว่าสามารถปรับปรุงคุณภาพของแหนมได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอและปลอดภัยต่อ ลดระยะเวลาในการผลิต ทำให้มีลักษณะปรากฏ สี และลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี มีอายุการเก็บที่นานขึ้น รวมถึงทำให้มีมาตรฐานในกระบวนการผลิต และช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโทษได้ (H-kittikun *et al.*, 1988) ในส่วนของงานวิจัยนี้จะศึกษาเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative เพิ่มเติม ได้แก่ *L. fermentum* โดยมีสมมติฐานที่ว่าเชื้อสามารถหมักน้ำตาลกลูโคสแล้วเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่นกรดแลคติก (ร้อยละ 50) กรดฟอร์มิก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ (Adams and Moss, 1995) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้เชื้อบริสุทธิ์ *L. plantarum* TISTR 1331 ที่คัดแยกได้จากแหนม และ *L. fermentum* TISTR 937 ที่คัดแยกได้จากส้มฟัก และเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า มาใช้ในการผลิตแหนม ซึ่งวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของการเติมเชื้อบริสุทธิ์ต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยาและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ในผลิตภัณฑ์แหนมเปรียบเทียบกับแหนมที่ไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เตรียมและเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์สำหรับใช้ในการทดลอง

ทำการกระตุ้นเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR 1331 ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างแหนม และ *Lactobacillus fermentum* TISTR 937 ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างส้มฟัก (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (TISTR)) โดยคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวมา 1 โคโลนี ถ่ายลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิเปตเชื้อที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กระตุ้น 2 ครั้ง) แล้วนำไปถ่ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ด้วยวิธี Streak plate technique นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวเพื่อเก็บรักษาโดยถ่ายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS slant แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบโคโลนีด้วยวิธีการย้อมแกรม (gram stain) เพื่อดูลักษณะและการจัดเรียงตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การทดสอบคะตะเลส (Catalase test) และการทดสอบการสร้างแก๊ส (Garbutt, 1997) แล้วทำการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 1331 และ *L. fermentum* TISTR 937

นำเชื้อบริสุทธิ์จาก stock cultures แต่ละชนิดที่เตรียมได้จากข้อที่ 1 จำนวน 1 โคโลนี มาถ่ายลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิเปตเชื้อที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (กระตุ้น 2 ครั้ง) แล้วถ่ายเชื้อที่ได้จำนวน 1 loop ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทุกๆ 4 ชั่วโมงจะทำการสุ่มตัวอย่างเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยนำเชื้อที่ได้มาทำให้เจือจางด้วยวิธี serial dilution แล้วนำสารละลายเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ดัดแปลงจากสุวรรณี, 2550) วิเคราะห์ปริมาณเชื้อที่เกิดขึ้น แล้วนำไป plot graph ระหว่างปริมาณเชื้อ (log cfu/ml) กับเวลา (ชั่วโมง) เพื่อพิจารณาอัตราการเจริญของเชื้อที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เพื่อผลิตแหนม

3. ศึกษาผลของการเติมเชื้อบริสุทธิ์ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนม

3.1 เตรียมเชื้อบริสุทธิ์

นำเชื้อบริสุทธิ์จาก stock cultures แต่ละชนิดที่เตรียมได้จากข้อที่ 1 จำนวน 1 โคโลนี มาถ่ายลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาที่ได้จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อที่เหมาะสมจากข้อที่ 2 (20 ชั่วโมง) จากนั้นปิเปตเชื้อที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง (กระตุ้นจำนวน 2 ครั้ง) จากนั้นนำเชื้อที่ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วเทส่วนใสออก ล้างตะกอนของเชื้อด้วยน้ำ Deionize Water ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงซ้ำ (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) ที่ความเร็วรอบ 6,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยนำตะกอนเชื้อที่ได้มาละลายด้วยน้ำ Deionize Water ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน ส่วนสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทวิคกี้ เอนเตอร์ไพรซ์ จำกัด) จากนั้นนำไปคำนวณหาปริมาตรของสารละลายเชื้อบริสุทธิ์ที่ต้องใช้เติมลงไปในแหนม โดยให้มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 10^6 cfu/g (ดัดแปลงจาก Visessanguan *et al*., 2006)

3.2 ศึกษาผลของการเติมเชื้อบริสุทธิ์ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนม

ส่วนประกอบและกรรมวิธีในการผลิตแหนมดัดแปลงจาก (Visessanguan *et al*., 2006) ประกอบด้วยเนื้อหมูร้อยละ 53 หนังหมูร้อยละ 36 ข้าวสุกร้อยละ 4.3 กระเทียมร้อยละ 4.3 เกลือแกงร้อยละ 1.9 น้ำตาลทรายร้อยละ 0.4 และผงเพรกร้อยละ 0.1 โดยทำการผลิตแหนมจำนวน 500 กรัมต่อสิ่งทดลอง โดยทำการทดลองทั้งหมด 4 สิ่งทดลอง คือ (1) แหนมที่ผลิตโดยไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ (2) แหนมที่ผลิตโดยเติม *L. plantarum* (3) แหนมที่ผลิตโดยเติมเชื้อบริสุทธิ์ผสมระหว่าง *L. plantarum* + *L. fermentum* (เตรียมจากการนำเชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 2 ชนิด มาผสมให้เข้ากันในอัตราส่วน 1:1 (เชื้อผสมในหลอดเดียวกัน) แล้วจึงเติมลงไปในแหนม) และ (4) แหนมที่ผลิตโดยเติมเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า ซึ่งจะนำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละชนิดที่เตรียมตามวิธีการในข้อ 3.1 มาเติมลงไปในแหนม แล้วบรรจุแหนมลงในถุงพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว จำนวน 60 กรัมต่อแท่ง หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทำการวัดค่าคุณภาพดังต่อไปนี้

- คุณภาพทางกายภาพ วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis) ด้วยเครื่อง Texture Analyzer (TA.XT plus, Surry UK) โดยใช้หัววัดชนิด Cylindrical aluminum probe 50 มิลลิเมตร (P/50) (ดัดแปลงจาก Visessanguan *et al*., 2006)(5 ซ้ำ) วิเคราะห์ค่าสีในระบบ L*a*b* โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer (CM-3500d Minolta, Japan) (5 ซ้ำ) และปริมาณน้ำอิสระ (Aw) ด้วยเครื่อง Aqualab CX2 (Decagon Devices Pullman, WA) (3 ซ้ำ) โดยจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก

- คุณภาพทางเคมี วิเคราะห์ค่าปริมาณกรดแลคติก ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตามวิธีของ (A.O.A.C., 2000) (3 ซ้ำ) โดยจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง และหลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก

- คุณภาพทางจุลชีววิทยา โดยทุกๆ 6 ชั่วโมง จะทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียแลคติก และหลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักจะทำการสุ่มตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียแลคติก และ ยีสต์และเชื้อรา ตามวิธีของ (A.O.A.C., 2000)

- คุณภาพทางประสาทสัมผัส ให้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน ทดสอบความชอบด้วยวิธี 9-point hedonic scaling ร่วมกับการทดสอบความพอดี (Just about right) แบบ 5 สเกล ซึ่งจะทำการทดสอบหลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก

4. สถิติที่ใช้ในการวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผล

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) สำหรับการวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา และวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) สำหรับการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows Ver.12.0 (SPSS Inc., Thailand)

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 1331 และ *L. fermentum* TISTR 937

จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์ *L. plantarum* TISTR 1331 ที่คัดแยกได้จากแหนม และ *L. fermentum* TISTR 937 ที่คัดแยกได้จากส้มฟัก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *L. plantarum* มีการเจริญอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 16 โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 6.41-9.38 log cfu/ml ตามลำดับ และปริมาณเชื้อจะเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 20 เป็นต้นไป ส่วนเชื้อ *L. fermentum* มีการเจริญอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 16 โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 6.32-9.38 log cfu/ml ตามลำดับ และปริมาณเชื้อจะเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 20 เป็นต้นไป เช่นเดียวกัน ดังแสดงใน Figure 1

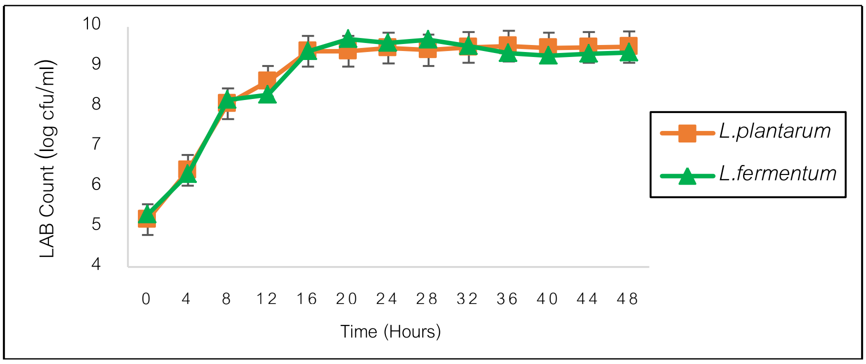


Figure 1. Growth of *L. plantarum* (■) and *L. fermentum* (▲) during 48 hours at 35°C

ในระยะการเจริญอย่างรวดเร็ว (log phase) เป็นระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมทางชีวเคมีต่างๆ อยู่ในระดับที่สมบูรณ์แต่แบคทีเรียจะถูกทำลายจากปัจจัยภายนอกได้ กล่าวคือ รังสี และความร้อน ซึ่งต่างจากระยะที่เชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญแบบคงที่ ซึ่งเป็นระยะที่มีการต่อต้านการถูกทำลายและอยู่ในสภาพที่แข็งแรงมากที่สุด (สุวรรณี, 2550) จากเหตุผลดังกล่าวทำให้เลือกช่วงการเจริญแบบคงที่ในระหว่างชั่วโมงที่ 20 ไปใช้ในการเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการผลิตแหนมต่อไป เนื่องจากระยะเวลาในการบ่มดังกล่าวมีปริมาณเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียสูงที่สุด

2. ศึกษาผลของการเติมเชื้อบริสุทธิ์ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนม

หลังจากนำแหนมไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก (48 ชั่วโมง) แล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาวัดค่าคุณภาพทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ดังต่อไปนี้ จากการศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมี ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Physical and chemical quality of Thai fermented sausage (Nham) with and without pure cultures

Quality	Treatments			
	Control	*L. plantarum*	*L. plantarum*+ *L. fermentum*	Commercial starter
Physical quality				
Color				
L*	52.25±1.16^{b}	54.46±0.71^{a}	54.47±0.92^{a}	53.36±0.94^{ab}
a*	4.46±0.67^{b}	6.19±1.21^{a}	6.40±0.54^{a}	6.65±0.84^{a}
b*	11.08±1.19^{a}	8.80±1.04^{b}	8.80±0.97^{b}	9.28±1.00^{b}
Texture Profile Analysis (TPA)				
Hardness (N)	53.35±2.69^{c}	60.58±1.20^{b}	73.36±2.39^{a}	71.43±0.78^{a}
Adhesiveness^{ns}	-1.43±0.15	-1.36±0.39	-2.16±1.02	-1.37±0.24
Cohesiveness	0.53±0.02^{b}	0.52±0.01^{b}	0.54±0.01^{b}	0.58±0.01^{a}
Springiness	0.89±0.02^{b}	0.91±0.01^{a}	0.92±0.01^{a}	0.91±0.01^{a}
Gumminess	34.48±2.64^{c}	41.01±0.96^{b}	52.85±1.17^{a}	53.55±1.56^{a}
Chewiness	33.10±1.68^{d}	35.68±0.70^{c}	47.67±1.57^{a}	43.43±1.06^{b}
Water activity (A_w)^{ns}	0.97±0.01	0.97±0.01	0.97±0.02	0.97±0.03
Chemical quality				
pH	4.48±0.00^{d}	4.41±0.01^{a}	4.42±0.00^{c}	4.38±0.01^{b}
%lactic acid	0.52±0.00^{c}	0.67±0.01^{a}	0.59±0.01^{b}	0.56±0.03^{bc}

Note ^{ns}means within the same row were not significantly different (p>0.05).

$^{a-c}$means within the same row with different letters were significantly different ($p \leq 0.05$).

จากการทดลองพบว่าแหนมที่เติมเชื้อ *L. plantarum* และเชื้อผสมระหว่าง *L. plantarum* + *L. fermentum* มีค่าความสว่าง (L*) เพิ่มขึ้น ส่วนแหนมที่มีการเติมเชื้อบริสุทธิ์ทุกสิ่งทดลองมีค่าความเป็นสีแดง (a*) เพิ่มขึ้น และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ลดลง เมื่อเทียบกับแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ (control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไปในแหนมส่งผลให้ค่า pH ลดต่ำลง และจะไปเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์และอนุมูลของไฮโดรเจนเกิดเป็นกรดไนตรัส (HNO_2) จากนั้นกรดไนตรัสจะสลายตัวได้ไนตริกออกไซด์ (NO) และรวมกับไมโอโกลบิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรงควัตถุ (pigment) ในเนื้อเกิดเป็นสารสีแดงที่เรียกว่า ไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin, NOMb) (Visessanguan *et al.*, 2005) หรืออาจจะเป็นผลมาจาก enzymatic activity ของเชื้อจุลินทรีย์ที่ช่วยในการผลิตไนตริกออกไซด์ (Kramlich *et al.*, 1973) อีกทั้งเมื่อไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์สัมผัสกับออกซิเจนจะเปลี่ยนรูปเป็น ออกซีไมโอโกลบินทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีแดงขึ้น รวมถึงผลิตภัณฑ์อาจจะมีการสูญเสียความชื้นทำให้ค่าความเป็นสีแดงเพิ่มขึ้น และเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของการเกิด light-scattering โดยปริมาณกรดที่เกิดขึ้นจะส่งผลทำให้เพิ่มการกระจายแสง ทั้งนี้ขึ้นกับโครงสร้างและการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Mcloughlin and Goldspink, 1963) จากการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส

(Texture profile analysis) หลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักพบว่าแหนมที่เติมเชื้อ *L. plantarum* แหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ผสมระหว่าง *L. plantarum* + *L. fermentum* และแหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า มีผลทำให้ค่าความแข็ง (Hardness) ความสามารถในการคืนตัว (Springiness) ความเหนียวคล้ายยาง (Gumminess) และความยากในการเคี้ยว (Chewiness) เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่าการยึดติดของตัวอย่างกับวัตถุอื่น (Adhesiveness) ของทุกสิ่งทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งแหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทุกสิ่งทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าแหนมที่ไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนแหนมที่เติมเชื้อ *L. plantarum* และเชื้อบริสุทธิ์ผสมมีปริมาณกรดแลคติก (%) สูงกว่าแหนมที่ไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จึงไปส่งผลให้เชื้อมีการเจริญและสร้างกรดได้ดีกว่าแหนมที่ไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์ ทำให้ไปยับยั้งการเจริญแบบแข่งขันของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสียบางชนิด ทำให้โปรตีนในเนื้อสัตว์เกิดการเสียสภาพ (denaturation) และเกิดเจล (gelation) ขึ้น อีกทั้งยังเกิดการสูญเสียน้ำในผลิตภัณฑ์ โดยการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสที่เกิดขึ้นยังสันนิษฐานว่าปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธะ non-covalent intermolecular ซึ่งจะส่งผลต่อโครงสร้างของ collagen fibril ในเนื้อสัตว์ (Visessanguan *et al.*, 2006)

จากการศึกษาคุณภาพทางเคมี แล้วทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ค่าปริมาณกรดแลคติก ค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดังแสดงใน Figure 2

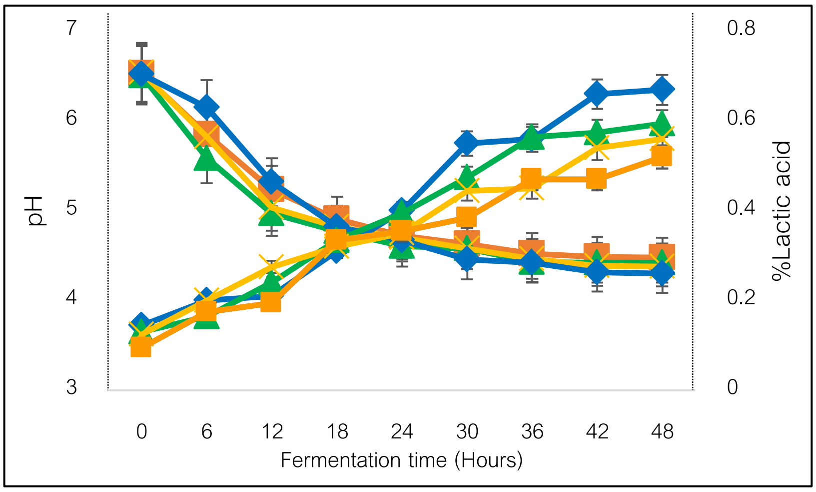


Figure 2. Change in pH and %lactic acid of Thai fermented pork sausage (Nham) with and without pure cultures during 48 hours at 30°C : *L. plantarum* (◆) , *L.plantarum+L. fermentum* (▲) , Commercial starter (✕) and Control (■)

หลังจากการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้เวลาในการหมักที่เท่ากัน แหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทุกสิ่งทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ต่ำและปริมาณกรดแลคติก (%) สูงกว่าแหนมที่ผลิตโดยไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยทุกสิ่งทดลองที่มีการเติมเชื้อบริสุทธิ์ พบว่าค่า pH จะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงหลัง 6-24 ชั่วโมง ซึ่งจะมีค่า pH ต่ำกว่า 4.6 ภายใน 30 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามในสิ่งทดลองที่มีการเติมเชื้อ *L. plantarum* มีแนวโน้มของการลดลงของค่า pH และการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแลคติก (%) มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.31 และ 0.67 ตามลำดับ ไพโรจน์และคณะ (2537) ทำการผลิตแหนมโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์เริ่มต้นผสมได้แก่ *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus cerevisiae* และ *Micrococcus varians* พบว่าผลิตภัณฑ์มีการผลิตกรดได้อย่างดียิ่ง เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นประเภท *L. plantarum* จะมีผลต่อการลดลงของค่า pH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงแรกของการหมักแหนม โดยการเปลี่ยนแหล่งคาร์โบไฮเดรตให้เกิดเป็นกรดแลคติก และยังพบว่าค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ยังขึ้นกับแหล่งคาร์โบไฮเดรต

จากการศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยา ได้แก่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการหมักแหนม เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากการหมักเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง และมีปริมาณเชื้อค่อนข้างคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักที่ทำการเก็บตัวอย่าง (48 ชั่วโมง) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับแหนมที่ไม่ได้เติมเชื้อบริสุทธิ์ โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 8 log cfu/g โดยประมาณ ดังแสดงใน Figure 3 และคุณภาพทางจุลชีววิทยาหลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก แสดงใน Table 2

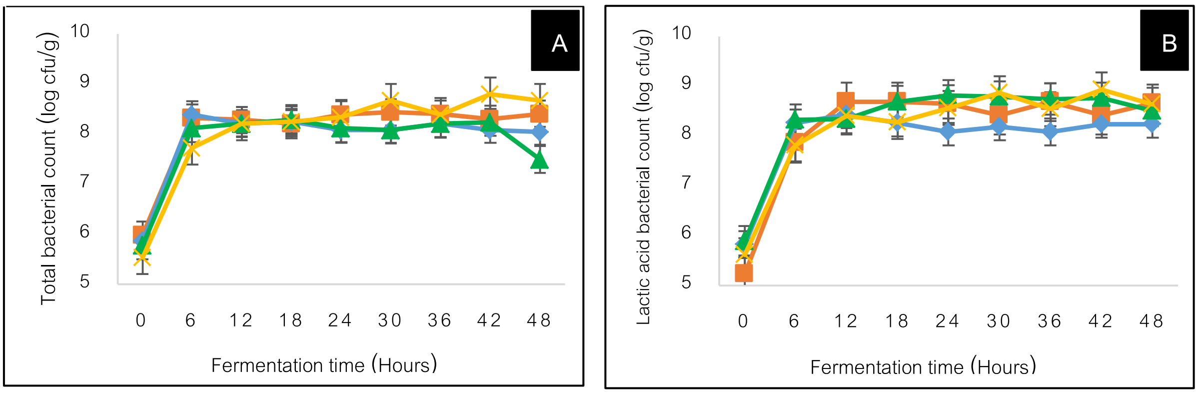


Figure 3. Change in total bacterial count (A) and Lactic acid bacterial count (B) of Thai fermented pork sausage (Nham) with and without pure cultures during 48 hours at 30°C : *L. plantarum* (◆) , *L.plantarum* + *L. fermentum* (▲) , Commercial starter (✕) and Control (■)

Table 2 Microbiological quality of Thai fermented sausage (Nham) with and without pure cultures

Quality	Treatments			
	Control	*L. plantarum*	*L. plantarum*+ *L. fermentum*	Commercial starter
Total count (log cfu/g)	8.97±0.01^{b}	8.73±0.06^{c}	9.17±0.08^{a}	8.99±0.02^{b}
LAB count (log cfu/g)	8.80±0.05^{bc}	8.72±0.04^{c}	8.99±0.01^{a}	8.92±0.08^{ab}
Yeast&Mold count (log cfu/g)	2.58±0.13^{a}	2.09±0.12^{b}	2.67±0.04^{a}	2.63±0.03^{a}

Note $^{a-c}$means within the same row with different letters were significantly different (p≤0.05).

Table 3 Sensory evaluation of Thai fermented sausage (Nham) with and without pure cultures by using 9-point hedonic scaling test

Attributes	Treatments			
	Control	*L. plantarum*	*L. plantarum*+ *L. fermentum*	Commercial starter
Color (before steaming)	6.56±1.24^{a}	6.40±1.24^{a}	5.76±1.61^{b}	6.46±1.31^{a}
Color (After steaming)^{ns}	6.50±1.34	6.62±1.02	6.28±1.16	6.42±1.59
Flexibility ^{ns}	6.20±1.51	6.04±1.57	5.92±1.54	6.32±1.50
Sourness^{ns}	6.14±1.69	6.30±1.51	5.90±1.58	6.20±1.51
saltiness^{ns}	6.32±1.30	6.38±1.38	6.30±1.29	6.40±1.38
Garlic flavor^{ns}	5.94±1.23	6.02±1.46	6.08±1.49	6.08±1.44
Overall liking^{ns}	6.26±1.29	6.28±1.32	6.24±1.47	6.06±1.40

Note ^{ns}means within the same row were not significantly different (p>0.05).

$^{a-c}$means within the same row with different letters were significantly different (p≤0.05).

จากการทดสอบความชอบโดยใช้วิธี 9-point hedonic scaling แสดงใน Table 3 พบว่าแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ แหนมเติมเชื้อ *L. plantarum* และแหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้ามีคะแนนความชอบด้านสีของแหนม (ก่อนนึ่ง) สูงกว่าแหนมที่เติมเชื้อผสมระหว่าง *L. plantarum* + *L. fermentum* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนคะแนนความชอบในคุณลักษณะอื่นๆ กล่าวคือ สีของแหนม (หลังนึ่ง) ความแน่นเนื้อ รสเปรี้ยว รสเค็ม กลิ่นรสกระเทียม และความชอบโดยรวม ของทุกสิ่งทดลองมีคะแนนความชอบที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากการวิเคราะห์ความพอดีร่วมกับการวิเคราะห์แบบ Penalty Analysis ดังแสดงใน Table 4 และ Figure 4 พบว่าแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ควรปรับปรุงคุณลักษณะด้านสีแดงของแหนม รสเปรี้ยว รสเค็ม และกลิ่นรสกระเทียมเพิ่มขึ้น ซึ่งในทุกสิ่งทดลองของแหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ ควรปรับปรุงคุณลักษณะของสีแดงของแหนม รสเปรี้ยว และกลิ่นรสกระเทียมเพิ่มขึ้น แต่ควรปรับปรุงคุณลักษณะความแน่นเนื้อให้ลดน้อยลง โดยแสดงให้เห็นได้ว่าคุณลักษณะของสีแดงของแหนม ความแน่นเนื้อ รสเปรี้ยว รสเค็ม และกลิ่นรสกระเทียม มีความสำคัญต่อระดับความชอบของผู้ทดสอบ เนื่องจากมีจำนวนคำตอบของสเกลไม่พอดีสูง มีค่า penalty (mean drop) ต่ำ และมี %non JAR สูง ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่มีอิทธิพลต่อผลิตภัณฑ์อย่างมาก จะเห็นได้ว่าแหนมที่เติมเชื้อ *L. plantarum* ให้ผลทางด้านประสาทสัมผัสค่อนข้างดีที่สุด โดยพิจารณาจากคะแนนความชอบที่มากที่สุดของแต่ละคุณลักษณะคือสีแดงของแหนม (หลังนึ่ง) รสเปรี้ยว และคะแนนความชอบโดยรวม

Table 4 Sensory evaluation (%Just about right) of Thai fermented sausage (Nham) with and without pure cultures

Attributes	Just about right analysis (%)											
	control			*L. plantarum*			*L.plantarum*+ *L.fermentum*			Commercial starter		
	NE	JAR	TM	NE	JAR	TM	NE	JAR	TM	NE	JAR	TM
Color (After steaming)	26	68	6	46	48	6	50	46	4	28	66	6
Flexibility	20	48	32	10	52	38	10	56	34	10	66	24
Sourness	38	56	6	38	54	8	48	46	6	48	50	2
saltiness	30	66	4	14	72	14	20	74	6	20	74	6
Garlic flavor	48	48	4	38	56	6	42	56	2	42	56	2

<u>Note</u> JAR = Just About Right, NE = Not enough, TM = Too much

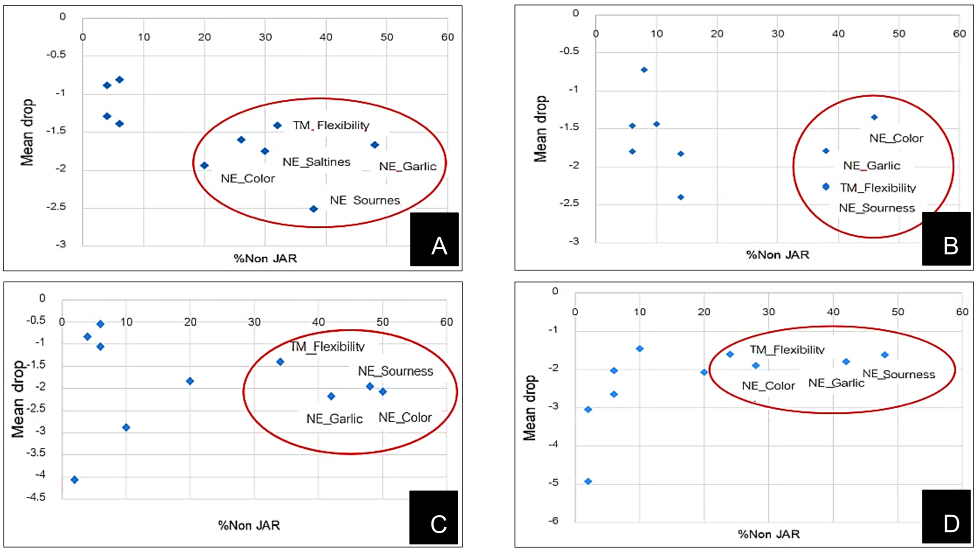


Figure 4 Sensory Penalty analysis of Thai fermented sausage (Nham) with and without pure cultures at 30°C (A = control, B = *L. plantarum* , C = *L. plantarum*+*L. fermentum* and D = Commercial starter)

สรุป

การเติมเชื้อบริสุทธิ์สายพันธุ์เดี่ยวคือ *L. plantarum* TISTR 1331 เชื้อบริสุทธิ์ผสมระหว่าง *L. plantarum* TISTR 1331 + *L.fermentum* TISTR 937 และเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า ลงไปในผลิตภัณฑ์แหนมส่งผลให้มีค่า pH ต่ำ และปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ ที่ระยะเวลาในการผลิตเท่ากัน ซึ่งจะมีส่วนช่วยในการลดระยะเวลาในการผลิต ทำให้ pH ต่ำกว่า 4.6 ภายในระยะเวลา 30 ชั่วโมง การเติมเชื้อบริสุทธิ์ลงไปในแหนมส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพต่างๆ เช่น ค่าความสว่าง (L*) ค่าความเป็นสีแดง (a*) ค่าความแข็ง ค่าความเหนียวคล้ายยาง และค่าความยากในการเคี้ยวเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ ส่วนคะแนนความชอบพบว่าแหนมที่เติมเชื้อ *L. plantarum* มีคะแนนความชอบด้านสีแดงของแหนม รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวมมากที่สุดเมื่อเทียบกับแหนมที่ไม่เติมเชื้อบริสุทธิ์ แหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ผสม และแหนมที่เติมเชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า แต่อาจจะต้องปรับปรุงคุณลักษณะด้านสีแดงของแหนม รสเปรี้ยว และกลิ่นรสกระเทียม เพิ่มขึ้น ตามลำดับ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำเชื้อ *L. plantarum* มาใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์แหนมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ไพโรจน์ วิริยจารี, ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และอรอนงค์ สำอางค์. 2537. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์แหนมโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม**.หน่วยวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารพื้นบ้าน, สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุวรรณี ชัยชนะ. 2550. **การปรับปรุงคุณภาพของกิมจิโดยการใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นและความดันสูงยิ่ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.

A.O.A.C. 2000. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Verginia.

Adams, M.R. and M.O. Moss. 1995. **Food Microbiology**. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. pp. 232-248.

Garbutt, J. 1997. **Essentials of Food Microbiology**. Arnold, London, England.

H-kittikun, A., A. Wiriyacharee and L. Rujanakraikarn. 1988. Nham (Thai fermented pork) making with starter cultures. P.427-429.*In* **Proccedings 34th International Congress of Meat Science and Technology**. Brisbane, Australia.

Kramlich, W.E., A.M. Pearson and F.W. Tauber. 1973. **Processed meat**. AVI Publ, Westport

Leroy, F., J. Verluyten and L. De Vuyst. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. **International Journal Food Microbiol**. 106: 270 - 285.

Liu, Y. X. 2010. The screening of fermentation strains for semi-dry fermented pork sausage. **Journal of Jilin Agricultural Science and Technology College**. 19: 7-10.

Mcloughlin, J and G. Goldspink. 1963. Postmortem changes in the color of pig Logissimus dorsi muscle. **Nature**. 19: 584–585.

Paukatong, K.V and S. Kunawasen. 2001. The hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP)generic model for the production of Thai pork sausage (Nham). **Berl Munch Tierarztl Wochenschr**. 114: 1-4.

Visessanguan, W., S. Benjakul, A. Panya, C. Kittikun and A. Assavanig. 2005. Influence of minced pork and rind ratios on physico-chemical and sensory quality of Nham – a Thai fermented pork sausage. **Meat Science**. 69: 355-362.

Visessanguan, W., S. Benjakul, T. Smitinont, C. Kittikun, P. Thepkasikul and A. Panya. 2006. Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus curvatus*. **Food Science and Technology**. 39: 814-826.

ผลของการพรีทรีตเม้นต์ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงต่ออายุการเก็บรักษาและคุณภาพของถั่วงอก

The Effect of Ultrasound Pretreatment on Shelf Life and Quality of Bean Sprout

อารียา ปอเจริญ[1] และ เสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล[1*]

Areeya Porcharoen[1] and Saowanee Lertworasirikul[1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของการพรีทรีตเม้นต์ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงอายุต่อการเก็บรักษาและคุณภาพของถั่วงอก โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ศึกษาปัจจัยด้านเวลาที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงได้แก่ 0, 3, 6 และ 9 นาที และเวลาในการเก็บรักษาเป็นระยะเวลาที่ 0, 3, 6, 9 และ 12 วัน โดยเก็บรักษาถั่วงอกในถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนเป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่าการใช้พรีทรีตเม้นต์ถั่วงอกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงที่ใช้เวลา 6 นาที สามารถช่วยรักษาคุณภาพทางกายภาพทางด้านความแน่นเนื้อได้ดีที่สุดในขณะที่การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงนาน 9 นาที ทำให้เนื้อเยื่อเกิดการฉีกขาดส่งผลให้คุณภาพทางด้านความแน่นเนื้อลดน้อยลง พิจารณาจากค่าแรงตัด (Cutting force) ของการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง 6 และ 9 นาทีคือ 29.94 และ 27.82 นิวตัน ตามลำดับอย่างไรก็ตามการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงทุกสภาวะ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเมื่อเก็บถั่วงอกเป็นระยะเวลา 12 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จากถั่วงอกที่เวลา 0 นาที ตัวอย่างที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงนาน 6 นาที พบว่าเป็นสภาวะที่สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้เมื่อพิจารณาจากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างวันแรกถึงวันที่ 12 คือ 7.16 และ 7.64 log CFU/g ตามลำดับ

ABSTRACT

This research studied the effect of ultrasound treatment to extend shelf life and maintain the quality of bean sprout. The experimental design was completely randomized design (CRD). The studied factors were the ultrasound treatment time at 0, 3, 6 and 9 minutes and changing in properties during storage in 0, 3, 6, 9 and 12 days in polypropylene bags for 12 days. The result showed that 6 minutes of ultrasound treatment was the best practice to maintain the quality of firmness, while the ultrasound treatment for 9 minutes resulted in the damage of tissue, which reduced the firmness of bean sprout. The cutting force when using ultrasound treatment time for 6 and 9 minutes were 27.82 and 29.94 N, respectively. However, all conditions of ultrasound treatments could not significantly inhibit the growth of microorganisms (P>0.05). The total microbial count when the storage time was 12 days were not statistically different from day 0 (P> 0.05) Treat the samples with the ultrasound for 6 minutes was found to be an appropriated treatment time for retarding microbial growth due to 0 - 12 days at 7.16 at 7.64 log CFU/g, respectively.

Key Words: bean sprout, ultrasound treatments, shelf life, food processing, quality

[*] Corresponding author; e-mail address: **aapsal@ku.ac.th**

[1]ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

คำนำ

ถั่วงอก (Bean sprout) เป็นผักที่คนไทยนิยมรับประทาน โดยเฉพาะในกรุงเทพฯ จังหวัดเดียวมีการบริโภคถั่วงอกถึงวันละ 200,000 กิโลกรัม เนื่องจากถั่วงอกสามารถรับประทานได้ทั้งแบบสด และดิบ มีวิธีการบริโภคได้หลากหลายรูปแบบ เช่น ผัดเคียงในก๋วยเตี๋ยว ขนมจีน ก๋วยเตี๋ยวผัดไทย กินกับน้ำพริก หรือทำเป็นกับข้าว ถั่วงอกผัดเต้าหู้ เป็นต้น (กำพล, 2555) ถึงแม้ว่าถั่วงอกจะเป็นผักพื้นฐานที่คนไทยนิยมบริโภคแต่ก็ยังไม่ถูกจัดว่าเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในระดับประเทศไทย อาจเป็นเพราะถั่วงอกนั้นเป็นพืชที่มีการหายใจอยู่ตลอดเวลา ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่รวดเร็ว และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีอื่นๆ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทางเอนไซม์ (Enzyme) ในกลุ่มฟีนอเลส (Phenolase) เช่น polyphenol oxidase (PPO) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสีน้ำตาล (Browning) และการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีผลทำให้เกิดการเสื่อมเสียคุณภาพ หากต้องการเก็บรักษาคุณภาพของถั่วงอกให้ยาวนานขึ้น อาจเก็บรักษาถั่วงอกไว้ที่อุณหภูมิต่ำ แต่การเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำมากๆ อาจส่งผลให้ผนังเซลล์ของถั่วงอกเกิดการฉีกขาด เชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนสู่ภายในอย่างรวดเร็วทำให้อายุการเก็บสั้นลงจะเห็นได้จากงานวิจัยของ สุปราณี และคณะ (2555) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะแก่การเก็บรักษาได้ดีที่สุด คือ 10 องศาเซลเซียส เนื่องจากยังคงรักษาความกรอบ การเกิดสีน้ำตาล และอาการสะท้านหนาว เมื่อเก็บรักษานาน 6 วัน นภัสวรรณ และคณะ (2554) รายงานว่าการเก็บรักษาถั่วงอกในถุงโพลีโพรพิลีน (polypropylene หรือ PP) เจาะรูที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส พบอาการสีน้ำตาลของถั่วงอกมากกว่าร้อยละ 75 ในขณะที่ถั่วงอกที่บรรจุในถุงโพลีโพรพิลีนไม่เจาะรูมีคะแนนการเกิดสีน้ำตาลน้อยกว่า และมีคะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุดเมื่อเก็บรักษานาน 5 วัน จากงานวิจัยที่ผ่านมาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาถั่วงอก พบว่าการเก็บที่นานที่สุดไม่เกิน 7 วัน

คลื่นเสียงความถี่สูงเป็นหนึ่งในวิธีการแปรรูปอาหารที่ไม่ใช้ความร้อน เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลไม้สดระหว่างการเก็บรักษา ประสิทธิผลของการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงขึ้นอยู่กับความถี่ของคลื่น พลังงานและเวลาในการใช้คลื่น จากงานวิจัยพบว่า เมื่อประยุกต์ใช้กับสตรอเบอร์รี่ที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ 37 kHzและการใช้พลังงานในช่วง 30-60 W/L เป็นเวลา 45 นาที สามารถลดปริมาณของเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis และ *Listeria innocua* เท่ากับ 3.04, 2.41, 5.52 และ 6.12 log CFU/g ตามลำดับ (Aday *et al*., 2013) แสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงสามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียได้ โดยในการใช้กับสตรอเบอร์รี่ ควรใช้ความถี่ที่ 20 – 40 kHz เวลา 45 นาที ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhou *et al*., (2009) พบว่าสามารถลดปริมาณของเชื้อ *Escherichia coli* ในผักโขมได้ถึง 0.7 – 1.1 log CFU/g เมื่อใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ 21.2 kHz และการใช้พลังงานที่ 200 W/L เป็นเวลา 2 นาที รวมทั้งงานวิจัยของ Sagong *et al*., (2011) ที่นำมาประยุกต์ใช้กรดอินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้น 2 % (กรดแลคติกและกรดซิตริก) ร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ 40 kHz และการใช้พลังงานที่ 30 W/L เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อก่อโรค *E. coli* O157:H7, *S.* Typhimurium, และ *L. monocytogenes* ได้ถึง 2.75, 3.18, และ 2.87 log CFU/g ตามลำดับ โดยไม่ส่งผลต่อคุณภาพกายภาพและทางประสาทสัมผัสของผักกาดหอมเมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน

จากงานวิจัยข้างต้น พบว่าการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงกับผักและผลไม้ในแต่ละชนิดนั้นๆ จะมีช่วงสภาวะของคลื่นเสียงความถี่สูงที่แตกต่างกัน เนื่องจากผักและผลไม้มีความต่างกันด้านโครงสร้างและเนื้อสัมผัส ดังนั้นหากเลือกใช้สภาวะที่ไม่เหมาะสม อาจมีความรุนแรงที่สูงเกินกว่าผักและผลไม้สามารถรับได้ โดยเฉพาะถั่วงอกที่มีคุณลักษณะเนื้อนุ่มทำให้ไวต่อการเสื่อมสภาพทางด้านกายภาพ ซึ่งหากใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ไม่เหมาะสม อาจส่งผลเสียต่อคุณภาพทั้งด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และคงคุณภาพของถั่วงอกที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมวัตถุดิบ

ถั่วเขียวพันธุ์ผิวมัน (Mung bean หรือ Green bean) ตราไร่ทิพย์ นำมาเพาะปลูกถั่วเขียวให้เจริญเติบโต (48 ชั่วโมง) จนกลายเป็นถั่วงอก โดยดัดแปลงจากการศึกษาของ กำพล และคณะ (2555) และคัดเลือกถั่วงอกให้มีขนาดความยาวของราก 0.5 - 1 เซนติเมตร ความยาวโดยรวม 4 - 5 เซนติเมตรและเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3 - 0.5 เซนติเมตร โดยมีน้ำหนักประมาณ 0.3 - 0.5 กรัม โดยการทดลอง 1 ครั้ง ใช้ถั่วงอก 1000 กรัม นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด 18 ลิตร ทั้งหมด 2 รอบ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (35 °C) (ทำการทดลองในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ – มิถุนายน) โดยไม่ควรเก็บไว้เกิน 1 ชั่วโมงก่อนการทดลอง เพื่อควบคุมคุณภาพของถั่วงอก

การพรีทรีตเม้นต์ด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง

การศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยคือเวลาในการใช้ของคลื่นเสียงความถี่สูงโดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยนำถั่วงอกมาแบ่งใส่ถุงพลาสติกชนิด polypropylene (PP) ถุงละ 50 กรัม พร้อมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงจากเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง Ultrasonic VGT-1730 QTD (GT International , Ltd., HK) ความถี่ 40 kHz เป็นเวลา 3, 6, และ 9 นาที ให้สิ่งทดลองควบคุมคือ ถั่วงอกที่ไม่ได้ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง (0 นาที) โดยเก็บรักษาไว้ในถุงพลาสติกชนิด polypropylene (PP) ไม่เจาะรูเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 10 °C ศึกษาเวลาการเก็บที่ 0, 3, 6, 9 และ12 วัน แล้วศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสและทางกายภาพ โดยสังเกตลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความแน่นเนื้อ ด้วยการหักลำต้นถั่วงอกเพื่อประเมินระดับแรงในการหักและสุ่มตัวอย่างมาตรวจคุณภาพทางกายภาพด้วยเครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA.XT plus (Stable Micro system Ltd., Surry UK) โดยใช้หัววัด Blade set with Warner Bratzler กดลงบนกลางลำตัวของตัวอย่างด้วยอัตราเร็ว 1 มิลลิเมตร/วินาที เป็นระยะทาง 12 มิลลิเมตร (Sagong *et al*, 2011) บันทึกผลเป็น แรงตัด (cutting force) นิวตัน โดยทำการวัดทั้งหมดตัวอย่างละ 10 ซ้ำ และวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic Plate Count: APC) ทุกๆ 3 วัน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การพรีทรีตเม้นต์ด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงที่ส่งผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของถั่วงอก

จากการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยด้านเวลาที่ส่งผลต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของถั่วงอกดังแสดงใน Figure 1 พบว่าเมื่อเก็บรักษาถั่วงอกเป็นเวลา 12 วัน ตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง 3 นาที มีการเสื่อมเสียคุณลักษณะทางด้านกลิ่นอย่างเห็นได้ชัด (ในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา) รวมถึงการลดลงของความแน่นเนื้อของทั้ง 3 ตัวอย่าง (ตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0, 3 และ 9 นาที) โดยทำการทดสอบด้วยการหักของลำต้น พบว่าตัวอย่างมีการงอตัวก่อนการหัก และไม่สามารถหักให้ขาดได้ในทันทีที่ต้องออกแรงหักเนื้อเยื่อให้ขาดออกจากกัน แต่ตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 9 นาที ที่บริเวณลำต้นมีรอยช้ำมากกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ตัวอย่างที่ผ่านการพรีทรีตเม้นต์ด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 6 นาที ยังสามารถคงคุณภาพทางด้าน สี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสได้ใกล้เคียงกับวันเริ่มต้นการทดลองมากที่สุด ในขณะที่ถั่วงอกควบคุม มีการเสื่อมภาพมากที่สุดทั้งทางด้านสี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส

Figure 1 The effect of ultrasound pretreatment time at 0, 3, 6 and 9 minutes and storage 12 days. From left to right Day 0 (A), Day 3 (B), Day 6 (C), Day 9 (D) and Day 12 (E).

การพรีทรีตเม้นต์ด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงที่ส่งผลต่อคุณภาพทางกายภาพและจุลินทรีย์ของถั่วงอก

จากการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีอิทธิพลของคลื่นเสียงความถี่สูงต่อถั่วงอกดังแสดงใน Table1 พบว่าถั่วงอกที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงทั้ง 3 ตัวอย่าง (3,6 และ 9 นาที) และตัวอย่างควบคุม เมื่อถูกเก็บเป็นระยะเวลา 12 วัน ผลในวันที่ 0, 6 และ 12 มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงว่าการเก็บรักษาถั่วงอกในถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน (polypropylene หรือ PP) ไม่เจาะรูที่อุณหภูมิ 10 ^{o}C เป็นเวลา 12 วัน สามารถช่วยชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่ผลในวันที่ 3 และ 9 ตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงนาทีที่ 9 มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุดอาจเป็นไปได้ว่าการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงนานถึง 9 นาทีมีความรุนแรงมากทำให้ผนังเซลล์ของถั่วงอกเกิดการฉีกขาด โครงสร้างของเนื้อเยื่อได้รับบาดเจ็บ (Hernandez *et al.*, 2008) เมื่อถั่วงอกมีบาดแผลทำให้เชื้อโรคสามารถปนเปื้อน และสามารถเจริญเติบโตได้

แสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงนานที่ 9 นาทีอาจเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมแก่ถั่วงอก จากผลใน Table1 ถั่วงอกที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงทั้ง 3 ตัวอย่าง (3, 6 และ 9 นาที) ณ วันที่ 0 มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 7.29, 7.16 และ 7.23 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากตัวอย่างควบคุม (P>0.05) จะเห็นได้ว่าถั่วงอกที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง และตัวอย่างควบคุม มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่สูงกว่าข้อกำหนดจากเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร ตามประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กำหนดให้ถั่วงอกต้องมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 1×10^{6} CFU/g อาจเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำประปาที่ใช้ในการทดลอง และเมื่อนำน้ำประปามาตรวจพบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 2.2×10^{2} CFU/ml ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ทุกตัวอย่างของการทดลองมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในวันเริ่มต้น (Day 0) ที่สูงก่อนการเก็บรักษาซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลจากรายงานของ ฉันทวรรณ และคณะ (2545) ตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ถั่วงอกที่ผ่านการล้างด้วยน้ำโอโซนและน้ำประปา พบว่าการล้างด้วยน้ำโอโซนไหลผ่านที่ความเข้มข้น 0.03 ppm ให้ผลดีกว่าการล้างด้วยน้ำประปา ตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 6.21 log CFU/g ขณะที่การล้างด้วยน้ำประปามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 6.45 log CFU/g ตามลำดับ

Table 1 Total microorganisms of bean sprouts with ultrasound treatment at 0, 3, 6 and 9 minutes during storage in polypropylene bags for 12 days

	Day 0^{ns} (log CFU/g)	Day 3 (log CFU/g)	Day 6^{ns} (log CFU/g)	Day 9 (log CFU/g)	Day 12^{ns} (log CFU/g)
Control^{ns}	7.21 ± 0.03	7.29± 0.25^{B}	7.51 ± 0.64	7.27± 0.08^{B}	7.96 ± 0.04
US3^{ns}	7.29 ± 0.22	7.47± 0.23^{AB}	7.55 ± 0.62	7.59± 0.18^{AB}	8.07 ± 0.74
US6^{ns}	7.16± 0.20	7.64± 0.06^{AB}	7.93 ± 0.28	7.65± 0.04^{AB}	7.64 ± 0.56
US9^{ns}	7.23± 0.33	7.97± 0.14^{A}	8.01 ± 0.06	7.99± 0.19^{A}	8.13 ± 0.68

Different letters (A, B) within the same column indicated significantly different ($P \leq 0.05$)

Letters (ns) within the same column and row indicated not significantly different ($P > 0.05$)

Ultrasound treatment at 0 minutes (control), 3 minutes (US3), 6 minutes (US6) and 9 minutes (US9)

ผลการทดลองด้านความแน่นเนื้อของถั่วงอกเมื่อผ่านพรีทรีตเม้นต์ด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงเมื่อเก็บรักษาไว้นาน 12 วันแสดงดัง Table 2 พบว่าถั่วงอกทุกตัวอย่างมีแนวโน้มค่าแรงตัด (Cutting force) ที่สูงเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ซึ่งขัดแย้งกับ Shifeng*at et al.* (2010) ที่ทำการพรีทรีตเม้นต์สตรอว์เบอร์รีด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 40 กิโลเฮิรตซ์เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษามากขึ้น (8 วัน) แนวโน้มของค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) จะลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 3.06 เหลือ 2.35 kg cm^{-2} ตามลำดับ อาจเป็นเพราะเก็บถั่วงอกในถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน (polypropylene หรือ PP) ทำให้ถั่วงอกมีการสูญเสียน้ำน้อย และมีอัตราการหายใจที่สูงรวมทั้งถั่วงอกยังอยู่ในระยะการเจริญเติบโตส่งผลให้มีการสะสมลิกนินและการสร้างเส้นใยมากขึ้น (ฉันทวรรณ และคณะ, 2545) และเส้นใยที่ถูกสร้างขึ้นส่งผลให้ต้องใช้แรงตัดเพิ่มมาก

ขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่พบว่าเมื่อเก็บในวันที่ 6 และ 9 เมื่อใช้แรงในการหักลำต้นถั่วงอก ถั่วงอกที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงใช้แรงในการหักมากกว่าตัวอย่างควบคุม และสามารถสังเกตได้จากเสียงในขณะหักถั่วงอก แต่ตัวอย่างมักจะหักไม่ขาดในทีเดียวต้องใช้แรงในการดึงเยื่อผนังเซลล์ถึงจะสามารถขาดออกจากกันได้ อีกทั้งผลการทดลองยังสอดคล้องกับรายงานของ พรทิพา และคณะ (2558) ที่พบว่าบรรจุภัณฑ์ถุงแบบ polyethylene (PE) และ PP ปิดผนึกสามารถคงความแน่นเนื้อของถั่วงอกได้ดีกว่าถาดโฟมพลาสติกที่หุ้มด้วยฟิล์ม PVC เนื่องจากถุง PP และPE มีความหนามากกว่าฟิล์ม PVC ทำให้ไอน้ำไม่สามารถซึมผ่านมาออกมาได้น้อยกว่าและสอดคล้องกับงานวิจัยของ นภัสวรรณ และคณะ (2555) ที่ระบุว่าถุง PP และPE ที่เจาะรูจะทำให้สูญเสียน้ำได้ง่าย ทำให้น้ำหนัก และความกรอบลดน้อยลงโดยที่ถั่วงอกที่ผ่านเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นเวลา 3 นาที มีค่าแรงตัดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดัง Table 2 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ 3 นาที อาจเป็นสภาวะที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของถั่วงอก ทำให้สร้างเส้นใยมากขึ้น ส่งผลให้ใช้แรงในการตัดมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 6 และ 9 นาทีในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง 6 นาทีมีค่าแรงตัดน้อยที่สุด ซึ่งอาจเป็นสภาวะที่ช่วยหยุดการเจริญเติบโตของถั่วงอก และสอดคล้องกับผลทางประสาทสัมผัสว่า ตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง 6 นาที มีคุณลักษณะทางด้านสี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูง 0,3 และ 9 นาที

Table 2 The cutting force (N) of bean sprouts with ultrasound treatment at 0, 3, 6 and 9 minutes during storage in polypropylene bags for 12 days

	day0	day3^{ns}	day6	day9^{ns}	day12
control	26.17 ± 4.45^{cB}	33.49 ± 5.35^{b}	43.14± 4.32^{aA}	40.90 ± 6.24^{a}	39.99± 8.84^{aAB}
US3	33.78 ± 3.46^{bA}	35.18 ± 4.25^{b}	43.11± 9.48^{aA}	41.84± 5.97^{a}	44.58± 5.45^{aA}
US6	29.94 ± 4.58^{bAB}	34.49 ± 9.4^{ab}	37.14± 9.19^{aAB}	40.57± 9.96^{a}	36.45± 5.97^{abB}
US9	27.82 ± 8.67^{bB}	33.05 ± 7.78^{b}	34.71 ± 5.72^{bB}	45.51± 6.90^{a}	42.04±10.17^{aAB}

Different letters (a, b) within the same row indicated significantly different ($P \leq 0.05$)

Different letters (A, B) within the same column indicated significantly different ($P \leq 0.05$)

Letters (ns) within the same column indicated not significantly different ($P > 0.05$)

Ultrasound treatment at 0 minutes (control), 3 minutes (US3), 6 minutes (US6) and 9 minutes (US9)

สรุป

การพรีทรีตเม้นต์ด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง เพื่อหาเวลาที่มีอิทธิพลของคลื่นเสียงความถี่สูงต่อถั่วงอก โดยตรวจวัดผลคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส ด้านปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และความแน่นเนื้อของถั่วงอกพบว่าการใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงไม่สามารถทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในถั่วงอกได้และไม่ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดมาตรฐานแต่กลับทำให้เชื้อจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นดังจะเห็นได้ในตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงนาทีที่ 9 ที่มีเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด แต่เมื่อดูผลของค่าแรงตัดของถั่วงอกกลับพบว่าถั่วงอกที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงค่าของแรงตัดมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บไว้ 12 วัน โดยถั่วงอกที่ผ่านคลื่นเสียง

ความถี่สูงที่ 3 นาที มีค่าของแรงตัดมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม แต่ตัวอย่างที่ผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 6 นาทีมีค่าแรงตัดน้อยที่สุดเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 12 วัน ประกอบกับผลการทดลองทางด้านประสาทสัมผัสยังคงคุณภาพทางด้าน สี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสได้ใกล้เคียงกับวันเริ่มต้นการทดลองมากที่สุดแสดงให้เห็นว่าการพรีทรีตเม้นต์ถั่วงอกด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงนาน 6 นาที สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของถั่วงอกโดยยังคงคุณภาพไว้ได้เมื่อทำการเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะอุตสาหกรรมเกษตรที่สนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2553. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร**. ฉบับที่ 2. กระทรวงสาธารณสุข.

กำพล กาหลง, คมสัน หุตะแพทย์ และนันทนิตย์ อนุศาสนะนันทน์. 2555. **คู่มือพึ่งตนเอง สารพัดวิธีเพาะถั่วงอกปลอดสารเคมี**. กองบรรณาธิการวรสารเกษตรกรรมธรรมชาติ,กรุงเทพฯ. 68 น.

ฉันทวรรณ ต้นประสงค์, สุรางค์ สุธิราวุธ และวารุณี ธนะแพสย์. 2545. **การยืดอายุการเก็บรักษาถั่วงอกภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปลง**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 33: 200-203

นภัสวรรณ เลี่ยมนิมิต, อภิรดี อุทัยรัตนกิจ, เฉลิมชัย วงษ์อารี และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2554. **การศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์พลาสติกต่ออายุการเก็บรักษาและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของถั่วงอกถั่วเขียว**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42: 637-640.

นภัสวรรณ เลี่ยมนิมิต, มินตรา พจนมณี และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2555. **ผลของความหนาแน่นของรูบนถุงพลาสติกต่ออายุการวางจำหน่ายของถั่วงอก**. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43: 385-388.

พรทิพา เจือกโว้น, บัณฑูร ชุนสิทธิ์,ธเนศ ชมพูพงษ์ และณัฐฐา เจริญชาศรี. 2558. ผลของชนิดของบรรจุภัณฑ์พลาสติกต่ออายุการเก็บรักษา และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของถั่วเขียวงอกเสริมสารสกัดชีวภาพจากฝาง. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 46: 279-282.

สุปราณี แก้ววิหาร, นภสร มงคลสวัสดิ์ และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2555. ผลของอุณหภูมิต่ำต่อลักษณะปรากฏของถั่วงอก. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 42: 405-408.

Aday, M.S., R. Temizkan, M.B. Büyükcan and C. Caner. 2013. An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound. Food Science and Technology 52: 93-101

Hernandez, M.P., E. Almenar, V. V. Del, D. Velez and R. Gavara. 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (Fragaria × ananassa) quality during refrigerated storage. Food Chemistry 110: 428-435.

Kader, A. A., D. Zagory and E.L. Kerbel. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 28(1): 1-29.

Rennie, T., J. Vigneault, C. and J.R DeEll. 2003. Cooling and Storage, In G.S. Vijaya Raghavan (Ed.), Handbook of Postharvest Technology, **Marcel Dekker**, Inc. New York, pp. 505-538.

Sagong, H. G., S.Y. Lee, P. S. Chang, S. Heu, S. Ryu, and Y. J. Choi. 2011. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce Escherichia coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, and Listeria monocytogenes on organic fresh lettuce. **International Journal of Food Microbiology.** 145(1): 287-292.

Shifeng, C., H. Zhichao, P. Bin, W. Haiou, X. Huanxiong and W. Feng. 2010. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenancein strawberry after harvest. **Food control.** 21: 529-532.

Zhou, B., H. Feng and Y. Luo. 2009. Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of Escherichia coli O157:H7 population on spinach leaves. **Journal of Food Science**. 74(6): 308-313.

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบำรุงสายตา

Development of the Eye-nourished Functional Drink

ผาณิตา ชัยดิเรก[1] และ เสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล[1*]

Phanita Chaidirek[1] and Saowanee Lertworasirikul[1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเครื่องดื่มบำรุงสายตาจากผักหรือผลไม้ที่นิยมบริโภคและมีในประเทศไทย ผักหรือผลไม้ที่มีสารที่เป็นประโยชน์สำหรับบำรุงสายตาเป็นวัตถุดิบทางเลือกในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นี้ งานวิจัยก่อนหน้ารายงานว่าสารสำคัญสำหรับบำรุงสายตา ได้แก่ วิตามินเอ เบต้าแคโรทีน (โปรวิตามินเอ) และลูทีน เมื่อใช้วิธีการจัดอภิปรายกลุ่ม พบว่าวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คือ แครอทและส้ม โดยมีการผสมเม็ดบุกและลูทีนไปด้วยเพื่อให้ผลิตภัณฑ์น่าสนใจมากขึ้น ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบำรุงสายตาที่พัฒนาได้ประกอบด้วย น้ำผลไม้ 100 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยน้ำส้มร้อยละ 70 น้ำแครอทร้อยละ 15 และน้ำเชื่อมร้อยละ 15 ซึ่งมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 17.50 องศาบริกซ์ และมีการเติมเม็ดบุกเพิ่ม 15 กรัม และลูทีนผง 0.02 กรัม ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาแล้วมีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ เท่ากับ 15 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.23 ปริมาณเบต้าแคโรทีน (โปรวิตามินเอ) เท่ากับ 8.36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคด้วย 9-point Hedonic score พบว่า ผลิตภัณฑ์มีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบ ปานกลาง–ชอบมาก (7.4 คะแนน) และผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์คิดเป็นร้อยละ 82

ABSTRACT

This research was to develop a functional drink for eyesight nourishment from fruits or vegetables commonly consumed and available in Thailand. Fruits or vegetables containing substantial nourishing eyesight substances were alternative raw materials for the development. The previous researches reported that nourishing eyesight substances were vitamin A, beta-carotene and lutein. The focus group discussion showed that appropriate raw materials for the product development were carrot and orange mixed with konjac beads and lutein powder with the purpose to produce a more attractive functional drink. The developed functional drink was composed of 100 ml fruit juices (containing 70% orange juice, 15% carrot juice and 15% syrup with total soluble solid of 17.50 ^{o}Brix), 0.40 g citric acid, 15 g konjac beads and 0.02 g lutein powder. The developed product had a total soluble solid of 14 ^{o}Brix, pH of 4.23 and beta-carotene content of 8.36 µg/ml. The consumer test by 9-point Hedonic score revealed that overall liking score of the developed product was “like moderately” to “like very much” (7.40) and consumer acceptance was 82%.

Key Words: fruit juice, beta-carotene, lutein, functional drink, eyesight

* Corresponding author; e-mail address: **aapsal@ku.ac.th**

[1]ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

สังคมในปัจจุบันถือเป็นสังคมที่สมาร์ทโฟนเป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญต่อการดำเนินชีวิต ผู้คนส่วนใหญ่ไม่ว่าจะเป็นวัยรุ่น วัยทำงาน หรือผู้สูงอายุบางท่านก็จะต้องมีสมาร์ทโฟนไว้ใช้งาน ซึ่งการใช้สายตาจ้องมองตัวหนังสือผ่านสมาร์ทโฟนที่มีขนาดเล็กนั้นอาจทำให้สายตาเสื่อมสภาพเร็วกว่าปกติได้ นอกจากการใช้สายตากับขนาดตัวหนังสือที่ไม่เหมาะสมจะทำให้สายตาเสียแล้ว แสงสีน้ำเงินที่มาจากหน้าจอของสมาร์ทโฟนนั้นยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้ดวงตาเสื่อมสภาพลงได้อีกด้วย เนื่องจากแสงสีน้ำเงินเป็นสีที่ให้ความสว่างมากที่สุด แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้ดวงตาเป็นอันตรายได้มากที่สุดด้วย (วิมล, 2557) ซึ่งอาจทำให้เป็นโรคจอประสาทตาเสื่อมได้ และเมื่อเป็นโรคจอประสาทตาเสื่อมแล้ว ในท้ายที่สุดโรคนี้อาจจะทำให้ตาบอดได้ด้วย (ยุทธนา, 2551) นอกจากสมาร์ทโฟนจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ดวงตาเสื่อมได้แล้ว ยังพบว่าหน้าจอคอมพิวเตอร์ก็ปล่อย แสงสีน้ำเงินที่สามารถทำให้จอประสาทตาเสื่อมได้เช่นกัน

วิตามินเอและลูทีนเป็นสารที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเองได้ ต้องได้รับจากพืชหรือสัตว์เท่านั้น (Loughrill *et al*., 2016) ซึ่งสาร 2 ชนิดนี้มีคุณสมบัติในการช่วยบำรุงสายตา โดยวิตามินเอจะพบได้ในสัตว์เท่านั้น (นิธิยา, 2545) อาหารที่มีวิตามินเอมากที่สุดคือ น้ำมันตับปลา ส่วนลูทีนจะพบมากในผักใบเขียวเข้ม และอีกแหล่งของลูทีนคือ ดอกดาวเรือง (Pratheesh *et al*., 2009) และบิลเบอร์รี่ โดยลูทีนสามารถป้องกันแสงสีน้ำเงินและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ (Estévez-Santiago *et al*., 2016) ซึ่งเครื่องดื่มที่มีลูทีนที่วางจำหน่ายในประเทศไทยยังมีน้อยและมีลูทีนในปริมาณต่ำ โดยปริมาณลูทีนที่แนะนำให้บริโภคต่อวันคือ 2.4-30 มิลลิกรัมต่อวัน (วิมล, 2557) ผู้วิจัยจึงพัฒนาเครื่องดื่มที่มีสารบำรุงสายตา เพื่อให้เป็นเครื่องดื่มทางเลือกที่ให้ความสดชื่นและช่วยบำรุงสายตาสำหรับผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาข้อมูลทางการตลาดของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ (Functional drink) ในประเทศ และพฤติกรรมผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำผลไม้

สืบค้นข้อมูลจำนวนผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ที่จำหน่ายในประเทศไทยจากเว็บไซต์ HTTP://WWW.GNPD.COM โดยใช้คำสืบค้นคือ น้ำผลไม้ที่จำหน่ายในปี พ.ศ. 2555-2559 โดยที่มีวิตามินเอหรือลูทีนเป็นส่วนผสมและวิเคราะห์แบบสอบถามเกี่ยวกับพฤติกรรมผู้บริโภคจำนวน 300 ชุด จากนั้นจึงวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีของน้ำผลไม้ที่วางจำหน่ายในประเทศ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble soid หรือ TSS) โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

การศึกษาทัศนคติ ความต้องการของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบำรุงสายตาพร้อมทั้งสร้างแนวคิดผลิตภัณฑ์

จัดทำการอภิปรายกลุ่ม (Focus group discussion) เพื่อหาแนวทางเบื้องต้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และประเมินแนวคิดในการคัดเลือกวัตถุดิบตามเกณฑ์ที่กำหนดขึ้น ซึ่งมีผู้เข้าร่วมการอภิปรายจำนวน 8 คน อายุ 19 ปีขึ้นไป ทำการอภิปราย 1 กลุ่ม โดยวัตถุดิบเบื้องต้นจะคัดเลือกวัตถุดิบที่มีปริมาณวิตามินเอ หรือปริมาณลูทีนสูงจากในงานวิจัยต่างๆ แล้วใช้วิธี Pass/Fail screening และ วิธี Scoring screening เพื่อนำมาสร้างแนวความคิดผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้แนวคิดผลิตภัณฑ์ดังนี้ เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบำรุงสายตา ที่มีการเติมเม็ดบุก และลูทีนผง มีค่า pH อยู่ในช่วง 3.47-4.43 และมีค่า TSS อยู่ในช่วง 11.10-14.20 มีปริมาตร 200-300 มิลลิลิตร

การพัฒนาสูตรพื้นฐานของเครื่องดื่มบำรุงสายตา

ศึกษาอัตราส่วนของน้ำส้ม น้ำแครอท และน้ำเชื่อมที่เหมาะสม โดยการวางแผนการทดลองแบบผสม (Mixture design) ซึ่งได้สูตรทดลองมา 5 สูตร (Table 1) แล้วนำน้ำผลไม้ทั้ง 5 สูตรมาประเมินความชอบด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ 9-point Hedonic Scale ในคุณลักษณะด้านสี กลิ่นโดยรวม กลิ่นรสส้ม กลิ่นรสแครอท รสหวาน รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวม โดยดำเนินการทดสอบกับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนที่ชื่นชอบการดื่มน้ำผลไม้ และมีอายุ 19 ปีขึ้นไป จำนวน 30 คน และปรับสูตรโดยใช้ข้อมูลจากวิธี Just-About-Right Scale (JAR)

Table 1 Five formula of the fruit juice from mixture design

Formula	Orange juice (%)	Carrot juice (%)	Syrup (total soluble solid of 17.50 °Brix) (%)
1	45	30	25
2	60	30	10
3	70	5	25
4	85	5	10
5 (center)	70	15	15

คัดเลือกสูตรน้ำผลไม้ที่ผู้บริโภคชอบมากที่สุด มาเป็นสูตรพื้นฐาน และนำสูตรพื้นฐานมาปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 3.47-4.43 จากนั้นศึกษาปริมาณเม็ดบุกที่ผู้ทดสอบชอบมากที่สุด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) แล้วทดสอบความชอบของผู้บริโภค ด้วย 9-point Hedonic score ซึ่งศึกษาปริมาณเม็ดบุก 3 ระดับ คือ 10 15 และ 20 กรัม ต่ออัตราส่วนของน้ำผลไม้ (น้ำส้ม,น้ำแครอท และน้ำเชื่อม (ที่มีค่า TSS เท่ากับ 17.50 องศาบริกซ์) 100 มิลลิลิตรและปริมาณกรดซิตริกที่เติมเพื่อปรับค่า pH แล้วนำเครื่องดื่มที่พัฒนาและเติมเม็ดบุกที่ระดับต่างๆ ไปทำการประเมินความชอบด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ 9-point Hedonic Scale กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน ที่ชื่นชอบการดื่มน้ำผลไม้ และมีอายุ 19 ปีขึ้นไป จำนวน 30 คน

เมื่อได้น้ำผลไม้และปริมาณเม็ดบุกที่ผู้ทดสอบชอบมากที่สุด แล้วทำการศึกษาปริมาณลูทีนผงที่ผู้บริโภคยอมรับ เนื่องจาก ลูทีนมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เล็กน้อยจึงต้องทำการหาปริมาณลูทีนผงที่เหมาะสมที่ผู้บริโภคสามารถยอมรับได้และยังอยู่ในปริมาณที่กำหนดให้รับประทานได้ต่อวัน ซึ่งได้ศึกษาปริมาณลูทีนผง 4 ระดับคือ 0 0.02 0.04 และ 0.06 มิลลิกรัม ต่ออัตราส่วนของน้ำผลไม้ (น้ำส้ม,น้ำแครอท และน้ำเชื่อม (ที่มีค่า TSS เท่ากับ 17.50 องศาบริกซ์) 100 มิลลิลิตร กรดซิตริกที่ใช้ปรับ pH และเม็ดบุกที่ใส่ลงไปโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) เนื่องจากในลูทีนผง 100 กรัม มีลูทีนบริสุทธิ์ 5 กรัม โดยปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวันคือ 2.4-30 มิลลิกรัม แล้วนำเครื่องดื่มที่เติมเม็ดบุกและลูทีนผงที่ระดับต่างๆ ไปทำการประเมินความชอบด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ 9-point Hedonic Scale กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน ที่ชื่นชอบการดื่มน้ำผลไม้ และมีอายุ 19 ปีขึ้นไปจำนวน 30 คน

การทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์และการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภค

หลังจากที่ได้สูตรพื้นฐานที่ทำการปริมาณเม็ดบุกและปริมาณลูทีนผงที่ผู้บริโภคยอมรับแล้ว จึงทำการทดสอบการยอมรับของผลิตภัณฑ์ โดยทำการประเมินความชอบด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ 9-point Hedonic Scale ในด้านสี กลิ่นโดยรวม รสหวาน รสเปรี้ยว ปริมาณเม็ดบุก และความชอบโดยรวมโดยทดสอบกับบุคคลทั่วไปชอบดื่มน้ำผลไม้ที่มีอายุ 19 ปีขึ้นไป ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 100 คน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาข้อมูลทางการตลาดของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ (Functional drink) ในประเทศ และพฤติกรรมผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำผลไม้

จากการสืบค้นจำนวนผลิตภัณฑ์ของน้ำผลไม้ ด้วยเว็บไซด์ HTTP://WWW.GNPD.COM ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555-2559 พบว่าในประเทศไทยมีเครื่องดื่มที่มีสารบำรุงสายตาจำหน่ายมากถึง 664 ผลิตภัณฑ์ และจัดเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำผลไม้ 324 ผลิตภัณฑ์และน้ำผลไม้ที่มีส้มเป็นส่วนผสมมีการจำหน่ายมากที่สุดเป็นอันดับ 2 คิดเป็นผลิตภัณฑ์จำนวน 50 ผลิตภัณฑ์ (Figure1)

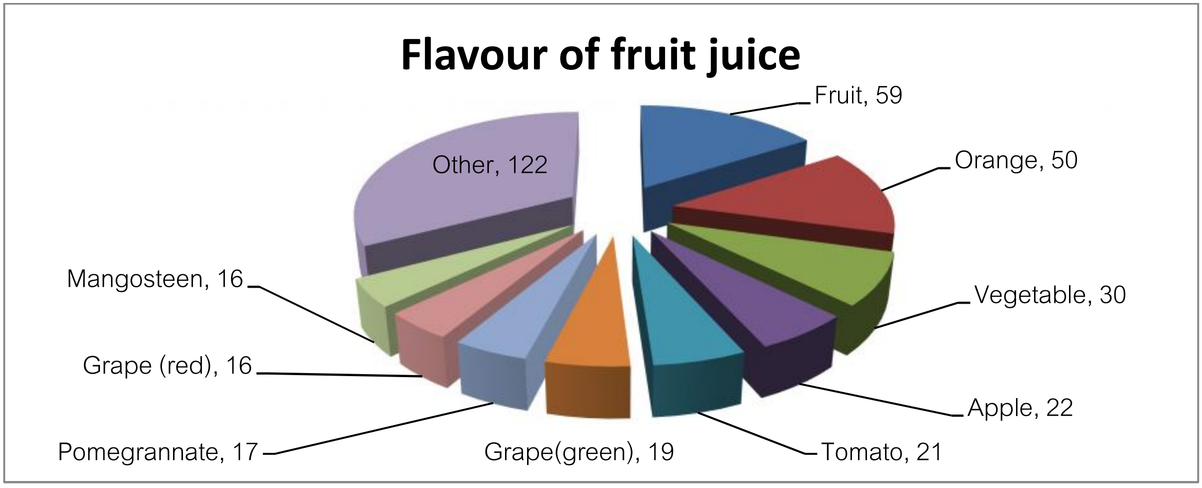


Figure 1 Flavour of fruit juices in Thai market

จากการทำแบบสอบถามพฤติกรรมผู้บริโภคต่อเครื่องดื่มน้ำผลไม้จำนวน 300 คน ได้ผลดังนี้ ผู้ตอบแบบสอบถามเป็นเพศหญิงร้อยละ 68 เพศชายร้อยละ 32 ส่วนมากมีอายุระหว่าง 21-30 ปี เมื่อสอบถามถึงความชอบรสชาติน้ำผลไม้พบว่าน้ำผลไม้รสส้ม เป็นรสที่ผู้ตอบแบบสอบถามชอบมากที่สุด ผู้ตอบแบบสอบถามร้อยละ 52.3 มักจะดื่มน้ำผลไม้มากกว่า 1 ครั้ง/สัปดาห์ ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อน้ำผลไม้ของผู้ตอบแบบสอบถามคือ รสชาติ รองลงมาเป็นสารอาหารที่ได้รับความต้องการมีสุขภาพที่ดีเป็นเหตุผลสำคัญที่สุดที่ผู้ตอบแบบสอบถามเลือกดื่มน้ำผลไม้ เมื่อถามถึงราคาที่ผู้บริโภคจะตัดสินใจซื้อคือ ผู้ตอบแบบสอบถามร้อยละ 73 จะตัดสินใจซื้อถ้ามีราคาอยู่ระหว่าง 15-30 บาท

จากการวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางเคมีของน้ำผลไม้ที่มีส้มเป็นส่วนผสมที่วางจำหน่ายในประเทศจำนวน 10 ตัวอย่าง มีค่า TSS อยู่ระหว่าง 11.10-14.20 องศาบริกซ์ และค่า pH อยู่ระหว่าง 3.47-4.43 หลังจากนั้นได้ทำการสำรวจปริมาณเม็ดบุก วุ้นมะพร้าว และเนื้อว่านหางจระเข้ ในเครื่องดื่มที่จำหน่ายในประเทศไทย พบว่าเครื่องดื่มมีปริมาณเม็ดบุก วุ้นมะพร้าว หรือเนื้อว่านหางจระเข้ อยู่ในช่วงร้อยละ 2-24

การศึกษาทัศนคติ ความต้องการของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบำรุงสายตาพร้อมทั้งเลือกแนวคิดผลิตภัณฑ์

หลังจากทำการอภิปรายกลุ่มได้ผลดังนี้ ผู้บริโภคต้องการเครื่องดื่มประเภทน้ำผักหรือน้ำผลไม้ที่มีเม็ดบุกผสมอยู่ในเครื่องดื่มด้วย ลักษณะของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มคือมีลักษณะขุ่นเหมือนน้ำผลไม้ทั่วไปกลิ่นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มคือไม่ควรมีกลิ่นเหม็นเขียวของผักบางชนิด สีของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจะต้องมีสีตรงตามชนิดของน้ำผลไม้ บรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบรรจุในขวดแก้วใส ปริมาณบรรจุประมาณ 200-300 มิลลิลิตร และสารให้ความหวานของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มควรเป็นความหวานจากน้ำผลไม้เอง หรือเป็นการเติมน้ำตาลลงไปเล็กน้อย

การเลือกแนวคิดผลิตภัณฑ์ ใช้การประเมินแนวคิดด้วยวิธี Pass/Fail screening มาประเมินวัตถุดิบ โดยกำหนดเกณฑ์การประเมิน 4 ข้อ ได้แก่ วัตถุดิบมีลูทีนเป็นองค์ประกอบ วัตถุดิบสามารถหาได้ง่าย วัตถุดิบให้สีน้ำคั้นสอดคล้องกับสีของลูทีนและวัตถุดิบต้องไม่มีกลิ่นเหม็นเขียวหรือกลิ่นไม่พึงประสงค์ ซึ่งผลการประเมินพบว่า ส้ม แครอท แตงไทยและข้าวโพดหวาน เป็นวัตถุดิบที่ผ่านการประเมิน หลังจากนั้นทำการคัดเลือกเชิงลึก โดยให้คะแนนวัตถุดิบโดยใช้หลักเกณฑ์คือ การยอมรับของผู้บริโภค ต้นทุน และช่องทางการจำหน่าย เมื่อคำนวณคะแนนแล้วพบว่า ส้มและแครอทมีคะแนนในการคัดเลือกสูงที่สุด

จากการคัดเลือกผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการต่างๆ ทำให้ได้แนวคิดผลิตภัณฑ์คือ น้ำผลไม้จากส้มและแครอทที่มีส่วนผสมของเม็ดบุกและลูทีนผงเพื่อช่วยบำรุงสายตา บรรจุในขวดแก้วปริมาตร 250 มิลลิลิตร มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้อยู่ระหว่าง 11.10-14.20 องศาบริกซ์ มีค่า pH อยู่ระหว่าง 3.47-4.43 และมีราคาประมาณ 15-30 บาท

การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มบำรุงสายตา

จากการนำน้ำส้มผสมแครอททั้ง 5 สูตร มาประเมินความชอบด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point Hedonic scale ในด้านสี กลิ่นโดยรวม กลิ่นรสส้ม กลิ่นรสแครอท รสหวาน รสเปรี้ยว และความชอบโดยรวม โดยดำเนินการทดสอบกับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน ที่ชื่นชอบการดื่มน้ำผลไม้ และมีอายุ 19 ปีขึ้นไป จำนวน 30 คนพบว่า สูตรที่ 4 และ 5 มีคะแนนความชอบแตกต่างกันในคุณลักษณะด้านสี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สูตรที่ 3 และ 5 มีคะแนนความชอบในคุณลักษณะกลิ่นรสส้มแตกต่างกับสูตรที่ 1 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และด้านความชอบโดยรวมของสูตรที่ 1 มีคะแนนความชอบแตกต่างกับสูตรที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Table 2) หลังจากนั้นวิเคราะห์คะแนนความพอดี ด้วยวิธี Net score (Table 3) ผลที่ได้ คือ สูตรที่ 5 เป็นสูตรที่คุณลักษณะด้านสีกับรสหวานมีค่าร้อยละของความพอดีมากกว่าร้อยละ 70 และผลจากวิธี Difference from norm พบว่าสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ต้องปรับกลิ่นรสส้มและรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้น ส่วนสูตรที่ 3 กับ 5 ปรับเพียงรสเปรี้ยวเท่านั้น เพราะฉะนั้นเมื่อดูจากผลคะแนนความชอบ โดยใช้ 9-point Hedonic Scale วิเคราะห์ร้อยละของความพอดี ด้วยวิธี Net score พบว่าสูตรที่ 5 เป็นสูตรที่มีระดับความพอดีด้านสีและรสหวานที่มากกว่าร้อยละ 70 และวิธี Difference from norm ที่ให้ผลวิเคราะห์ว่าควรปรับรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้นเท่านั้น จึงเลือกสูตรที่ 5 เป็นสูตรพื้นฐาน และทำการปรับค่า pH และค่า TSS เพื่อให้มีค่าอยู่ในช่วงที่กำหนดโดยอ้างอิงจากค่า pH และค่า TSS ของน้ำส้มที่วางจำหน่ายในประเทศโดย กำหนดค่า pH เท่ากับ 4.2±0.1 และค่า TSS เท่ากับ 15 องศาบริกซ์ ซึ่งทำการปรับค่า pH ด้วยการเติมกรดซิตริกเพิ่ม

การคัดเลือกปริมาณเม็ดบุก โดยนำสูตรพื้นฐานที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว มาทำการปรับปริมาณเม็ดบุก โดยแบ่งปริมาณเม็ดบุกเป็น 3 ระดับ คือ 10 15 และ 20 กรัม ต่อน้ำผลไม้สูตรพื้นฐานที่ปรับค่า pH แล้ว 100 มิลลิลิตร

หลังจากนั้นทำการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 30 คน เพื่อเลือกปริมาณเม็ดบุกที่มีผู้บริโภคชอบมากที่สุดซึ่งจากผลการทดสอบการยอมรับพบว่า คะแนนด้านกลิ่นโดยรวมของตัวอย่างที่ใส่ปริมาณเม็ดบุก 10 กรัม และ 15 กรัมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p≤0.05$) คะแนนความชอบปริมาณเม็ดบุก และความชอบโดยรวม ของปริมาณเม็ดบุก 10 และ 20 กรัม แตกต่างจากคะแนนปริมาณเม็ดบุกและความชอบโดยรวมของปริมาณเม็ดบุก 15 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p≤0.05$) (Table 4) เพราะฉะนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกปริมาณเม็ดบุก 15 กรัม เพื่อเติมในน้ำผลไม้สูตรพื้นฐานที่ปรับค่า pH แล้ว 100 มิลลิลิตร

Table 2 The 9-point Hedonic scores of basic formula

Attributes	Formula 1	Formula 2	Formula3	Formula 4	Formula 5
Color	$6.50±1.46^{ab}$	$5.97±1.77^{ab}$	$6.03±1.45^{ab}$	$5.73±1.51^{a}$	$6.67±1.32^{b}$
Odor of juice^{ns}	5.37±1.45	5.30±1.60	6.03±1.35	6.03±1.10	5.70±1.60
Orange flavoured	$5.27±1.57^{a}$	$5.73±1.62^{ab}$	$6.33±1.35^{b}$	$5.43±1.10^{a}$	$6.23±2.48^{b}$
Carrot flavoured^{ns}	5.33±1.75	5.07±1.64	5.43±1.43	4.70±1.56	5.40±1.50
Sweetness	$5.73±1.60^{ab}$	$5.17±1.64^{a}$	$6.00±1.08^{ab}$	$5.27±1.53^{a}$	$6.43±1.59^{b}$
Sourness^{ns}	5.43±1.38	5.10±1.49	5.00±1.31	5.13±1.41	5.00±1.41
Overall liking	$6.77±1.17^{b}$	$6.33±1.09^{ab}$	$6.17±0.95^{a}$	$6.37±0.89^{ab}$	$6.60±0.77^{ab}$

^{ab}Numbers with different superscript letters within the same row, by consistency are significantly different ($p≤0.05$)

^{ns}Means followed by the same letters in each row do not differ significantly ($p>0.05$)

Table 3 Just about right by Net score

Formula	% Just about right				
	Color	Orange flavoured	Carrot flavoured	Sweetness	Sourness
1	67.0%	43.3%	60.0%	70.0%	43.3%
2	66.7%	43.3%	53.3%	53.3%	33.3%
3	63.3%	56.7%	50.0%	50.0%	30.0%
4	63.3%	43.3%	56.7%	56.7%	46.7%
5	83.3%	60.0%	76.7%	76.7%	43.3%

การศึกษาปริมาณการเติมลูทีนผงในน้ำผลไม้ที่ผู้บริโภคยอมรับพบว่า การเติมลูทีนผงในน้ำผลไม้ทำให้น้ำผลไม้ได้รับคะแนนความชอบเฉลี่ยด้านรสเปรี้ยวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p≤0.05$) อย่างไรก็ตาม คะแนนความชอบด้านรสเปรี้ยวของน้ำผลไม้ที่เติมลูทีน 0.02 0.04 และ 0.06 กรัมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Table 5) ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกเติมลูทีนผงปริมาณ 0.02 กรัมต่อน้ำผลไม้สูตรพื้นฐานที่ปรับค่า pH แล้ว 100 มิลลิลิตร เนื่องจากการเติมลูทีนผงปริมาณ 0.02 กรัม จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาซึ่งมีขนาดบรรจุ 250 มิลลิลิตร มีปริมาณลูทีนไม่ต่ำกว่าปริมาณของลูทีนขั้นต่ำที่ควรบริโภคต่อวัน (Barker, 2010) จากนั้นนำเครื่องดื่มบำรุงสายตาที่พัฒนาขึ้นไปทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค

สูตรสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ น้ำผลไม้สูตรพื้นฐานที่ปรับค่า pH แล้ว 100 มิลลิลิตรซึ่งประกอบด้วย น้ำส้มร้อยละ 70 น้ำแครอทร้อยละ 15 น้ำเชื่อม ร้อยละ 15 (ที่มีค่า TSS เท่ากับ 17.50 องศาบริกซ์) เติมเม็ดบุกเพิ่ม 15 กรัม และลูทีนผง 0.02 กรัม เมื่อวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีจะค่า pH ของผลิตภัณฑ์คือ 4.23 ค่า TSS 14 องศาบริกซ์ และปริมาณเบต้าแคโรทีน 8.36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Table 4 The 9-point Hedonic scores of the functional drink with different quantity of konjac beads

Attributes	Konjac beads (per 100 ml.)		
	10g	15g	20g
Color^{ns}	6.70±1.20	6.60±1.10	6.00±1.10
Odor of juice	6.20±1.00^{a}	6.80±0.90^{b}	6.60±0.90^{ab}
Orange flavoured^{ns}	6.80±1.10	6.90±0.90	6.80±1.30
Carrot flavoured^{ns}	5.50±1.10	5.30±0.90	5.20±0.90
Sweetness^{ns}	6.20±1.20	6.10±1.20	6.30±1.10
Sourness^{ns}	5.20±1.00	5.40±1.00	5.50±0.80
Quantity of konjac beads^{ns}	5.40±0.50^{a}	6.30±1.00^{b}	5.20±0.60^{a}
Overall liking^{ns}	5.40±1.00^{a}	6.50±1.30^{b}	5.60±1.00^{a}

^{ab}Numbers with different superscript letters within the same row, by consistency are significantly different ($p \leq 0.05$)

^{ns}Means followed by the same letters in each row do not differ significantly ($p>0.05$)

Table 5 The 9-point Hedonic scores of the functional drink with different amount of lutein powder

Attributes	Lutein powder (per 100 ml.)			
	0g	0.02g	0.04g	0.06g
Color^{ns}	7.93±0.86	7.76±0.90	7.86±0.73	7.53±1.48
Odor of juice^{ns}	7.10±1.18	6.73±1.20	6.56±1.07	6.86±1.26
Sweetness^{ns}	7.33±0.48	7.66±0.92	7.30±0.99	7.66±1.06
Sourness	7.13±0.82^{a}	8.26±0.64^{b}	8.13±0.94^{b}	7.96±1.30^{b}
Quantity of konjac beads^{ns}	6.23±1.01	6.20±1.19	6.60±0.86	6.93±0.87
Overall liking^{ns}	7.56±0.73	7.70±0.75	7.43±0.73	7.46±0.68

^{ab}Numbers with different superscript letters within the same row, by consistency are significantly different ($p \leq 0.05$)

^{ns}Means followed by the same letters in each row do not differ significantly ($p>0.05$)

การยอมรับผลิตภัณฑ์และการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภค

การประเมินความชอบของผู้บริโภคโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี 9-point Hedonic score ได้ผลการทดสอบดังแสดงใน Table 6 ซึ่งจากตารางจะพบว่าความชอบด้านสีและความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับชอบปานกลาง-ชอบมาก ส่วนกลิ่นโดยรวม รสหวาน รสเปรี้ยว และปริมาณเม็ดบุกอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย-ชอบปานกลาง

การสอบถามถึงการยอมรับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบำรุงสายตาจากผู้ทดสอบจำนวน 100 คนพบว่า ผู้ทดสอบร้อยละ 82 ให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ และเมื่อสอบถามถึงการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ซึ่งมีราคาประมาณ 30 บาทต่อ 250 มิลลิลิตร พบว่าผู้ทดสอบร้อยละ 74 ตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ ในขณะที่ผู้ทดสอบร้อยละ 16 ไม่สามารถตัดสินใจได้และผู้ทดสอบร้อยละ 10 ตัดสินใจไม่ซื้อผลิตภัณฑ์และเมื่อคำนวณต้นทุนการผลิตพบว่า ต้นทุนต่อขวดคือ 12.73 บาท

Table 6 Result of 9-point Hedonic score from 100 consumers

Attributes	Liking score	Attribute	Liking score
Color	7.25±1.02	Sourness	6.72±1.00
Odor of juice	6.50±0.88	Quantity of konjac beads	6.73±1.32
Sweetness	6.78±0.86	Overall liking	7.00±1.17

สรุป

เครื่องดื่มที่มีสารบำรุงสายตาที่พัฒนาขึ้น ประกอบด้วยน้ำผลไม้ที่ปรับค่า pH แล้ว 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีส่วนประกอบ คือ น้ำส้มร้อยละ 70 น้ำแครอทร้อยละ 15 และน้ำเชื่อม ร้อยละ 15 (ที่มีค่า TSS เท่ากับ 17.50 องศาบริกซ์) เติมเม็ดบุกเพิ่ม 15 กรัม และลูทีนผง 0.02 กรัม (คิดเป็นปริมาณลูทีนบริสุทธิ์ 0.01 มิลลิกรัม) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีน (โปรวิตามินเอ) ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าในเครื่องดื่มบำรุงสายตามีปริมาณเบต้าแคโรทีน 8.36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยผลิตภัณฑ์มีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบปานกลาง-ชอบมาก ซึ่งหากสามารถปรับลดกลิ่นแครอทลง อาจทำให้มีคะแนนความชอบเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับสถานที่และเครื่องมือในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. **เคมีอาหาร.** บริษัท โอเดียนสโตร์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

ยุทธนา สุคนธทรัพย์. 2553. **โรคจอประสาทตาเสื่อม** (Age-related Macular Degeneration; AMD). แหล่งที่มา: http://dr.yutthana.com/amd.html, 25 กุมภาพันธ์ 2015.

วิมล ศรีสุข. 2557. **กินอะไร...ชะลอจอประสาทตาเสื่อม.** แหล่งที่มา: http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/189/ชะลอจอประสาทตาเสื่อมต้องกินอะไร/, 25 กุมภาพันธ์ 2015.

Loughrill E, P. Govinden and N. Zand.2016. Vitamins A and E content of commercial infant foods in the UK: A causefor concern?. **FOOD CHEM.** 210: 56-62.

Estévez-Santiago R, B. Olmedilla-Alonso, B. Beltrán-de-Miguel and C. Cuadrado-Vives. 2016. Lutein and zeaxanthin supplied by red /orange foods and fruits are more closely associated with macular pigment optical density than those from green vegetables in Spanish subjects. **Nutrition Research.** 14.

Pratheesh, V. B., N. Benny and C. H. Sujatha. 2009. Isolation, Stabilization and Characterization of Xanthophyll from Marigold Flower-*TagetesErecta-L.* **MOD APP SCI**. 3(2): 19-28.

Barker, F. M. 2010. Dietary supplementation: effects on visual performance and occurrence of AMD and cataracts. **CURR MED RES OPIN.** 26(8): 2011-23.

บทบาทของ *Aspergillus oryzae* M-01 ในการสร้างเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีเอส ในโคจิถั่วเหลืองเพื่อใช้สำหรับการผลิตทามาริแบบหมักโคจิในน้ำเกลือ

Role of *Aspergillus oryzae* M-01 in the Production of Amylase and Protease Enzymes on Soybean Koji Prepared for Brine Fermentation of Tamari Soy Sauce

ภานุมาศ คนล่ำ[1*] สิทธิสิน บวรสมบัติ[1] สกุณณี บวรสมบัติ[2] และ เรืองชัย จูวัฒนสำราญ[3]

Panumas Konlam[1*], Sittisin Bovonsombut[1], Sakunnee Bovonsombut[2] and Ruangchai Juwattanasamran[3]

บทคัดย่อ

ทามาริ (Tamari) คือ ซีอิ้วญี่ปุ่นชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักมิโซะ (miso) หรือได้จากการหมักโคจิถั่วเหลืองในน้ำเกลือ ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการเตรียมโคจิโดยการใช้ถั่วเหลืองและข้าวกล้อง (อัตราส่วน 80: 20) เป็นสับสเตรทและใช้ผงสปอร์ของรา *Aspergillus oryzae* M-01 ปริมาณ 0.1 % (w/w) เป็นกล้าเชื้อ พบว่า กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์โปรตีเอสในโคจิมีค่าสูงสุดเท่ากับ 5,770.02 และ 61.61 U/g dry weight ตามลำดับแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 8.01 log CFU/g เมื่อนำโคจิมาหมักในน้ำเกลือ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์โปรตีเอส มีค่าสูงสุดเท่ากับ 3,822.69 และ 21.71 U/ml ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 7.05 log CFU/ml และยีสต์มีจำนวนสูงถึง 6.15 log CFU/ml

ABSTRACT

Tamari is a type of Japanese soy sauce, traditionally obtained as a byproduct of miso paste or as a product of fermentation of soybean koji in brine. In this research, koji prepared from soybeans and brown rice (80:20) was used as a substrate, and 0.1% (w/w) spore powder of *Aspergillus oryzae* M-01was added as an inoculum. Analysis of koji revealed that amylase and protease activities attained the maximum values of 5770.02 and 61.61 U/g dry weight, respectively. The amount of lactic acid bacteria in koji reached 8.01log CFU/g. As koji was being fermented in brine, the maximum amylase and protease activities were 3,822.69 and 21.71 U/ml, respectively. The number of lactic acid bacteria was 7.05 log CFU/ml and the number of yeasts was 6.15 log CFU/ml.

Key Words: Tamari, Miso, Koji, Amylase, Protease

* Corresponding author; e-mail address: **emotion_bum@hotmail.com**

[1]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

[1]Department of Food Science and Technology, Faculty of Engineering and Agro–Industry, Maejo University, Chiang Mai, 50290

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[2]Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200

[3]สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้เชียงใหม่ 50290

[3]Department of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, 50290

คำนำ

ทามาริ (Tamari) คือ ซีอิ้วญี่ปุ่นชนิดหนึ่ง ได้มาจากของเหลวที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเต้าเจี้ยวญี่ปุ่น หรือที่เรียกว่าหมักมิโซะ (miso) หรือได้จากการหมักโคจิ (koji) ในน้ำเกลือคล้ายกับการหมักซีอิ้ว กระบวนการหมักทั้งหมด จะเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ 3 ชนิด คือ รา (mold) แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) และยีสต์ (yeast) โดยราในสกุล *Aspergillus* spp. จะมีบทบาทที่สำคัญที่สุดในการหมักโคจิ สายพันธุ์ที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมได้แก่ *A. oryzae* และ *A. flavus* โดยราจะสร้างเอนไซม์ที่สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่เอนไซม์อะไมเลส (amylase) เพื่อใช้ในการย่อยคาร์โบไฮเดรต ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และเอนไซม์โปรติเอส (protease) เพื่อใช้ในการย่อยโปรตีน ให้เป็นกรดอะมิโน (amino acids) ซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก และยีสต์ ในขั้นตอนการหมักโคจิในน้ำเกลือ (moromi) ในลำดับต่อไป ในขั้นตอนนี้แบคทีเรียกรดแลคติกจะเจริญได้ดีในระยะแรกของการหมัก และสร้างกรดแลคติกออกมา ทำให้ค่า pH ของน้ำหมักลดลงจนอยู่ในช่วง 4.0-5.0 (นนทรีย์, 2554) ซึ่งมีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ โดยยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำหมักให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ และสารให้กลิ่นรสที่ดีแก่ผลิตภัณฑ์

Chancharoonpong et al. (2012) รายงานว่า การเพิ่มรำข้าวสาลีในส่วนผสมโคจิจะทำให้รา *A. oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้เพิ่มขึ้นกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส และกิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอสที่ผลิตจากรา จะยังคงดำเนินต่อไปในน้ำหมัก พร้อมกับน้ำตาลรีดิวส์ (reducing sugar) ไนโตรเจนที่ละลายได้ทั้งหมด และไนโตรเจนจากกรดอะมิโนที่มีปริมาณสูงขึ้นมาก และยังพบการเจริญของยีสต์ และ *Lactobacillus* (Yong and Wood, 1977) แต่อย่างไรก็ตาม Su et al. (2005) พบว่าความเข้มข้นของน้ำเกลือ 18% ที่เติมลงในโคจิสามารถลดค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสลงเหลือประมาณ 3% แต่ไม่มีผลกระทบต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาบทบาทของ *A. oryzae* M-01 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์จากห้องปฏิบัติการคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีเอสในโคจิถั่วเหลืองผสมข้าวกล้องคั่ว โดยใช้ถั่วเหลืองดิบต่อข้าวกล้อง อัตราส่วน 80:20 โดยน้ำหนัก เป็นสับสเตรท แล้วนำโคจิที่ได้ไปหมักต่อในน้ำเกลือเข้มข้น 18% นาน 12 สัปดาห์เพื่อผลิตเป็นทามาริ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมโคจิ

ชั่งถั่วเหลืองและข้าวกล้องเชียงรายคัดพิเศษอัตราส่วน 80:20 g (w/w) นำถั่วเหลืองแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C นาน 7 นาที สะเด็ดน้ำแล้วปล่อยถั่วเหลืองสุกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมงคลุกผสมถั่วเหลืองกับข้าวกล้องคั่วและผงสปอร์ของรา *A. oryzae* M-01 (คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้) ปริมาณ 0.1 % แล้วนำไปเกลี่ยบนตะกร้าพลาสติกที่รองพื้นด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C ในตู้บ่ม (Heraeus, Model B12, Germany) เป็นเวลา 120 ชั่วโมงทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การหมักขั้นโมโรมิ

นำโคจิที่หมักนาน 60 ชั่วโมงหนัก 3.5 กิโลกรัม ถ่ายลงในถังพลาสติกทรงกระบอกแล้วเติมน้ำเกลือความเข้มข้น 18% ลงไปในอัตราส่วนโคจิต่อน้ำเกลือเท่ากับ 1:1.5 วางแผ่นไม้ไว้ด้านบนแล้วใช้หินที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อทับลงบนแผ่นไม้เป็นเวลานาน 3 เดือนทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ปริมาณความชื้นด้วยการใช้ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105°C (WTB Binder, Model BD 15, Germany) ค่า pH วัดโดยpH meter (MetlerToledo, Model FiveEasy Plus, Switzerland) ปริมาณยีสต์และราด้วยDichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC)(Merck) ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกด้วย de Man, Rogosa and sharpe agar (MRS agar) กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีเอสทั้งในตัวอย่างโคจิและทามาริ สำหรับตัวอย่างโคจิ จะทำการสกัดเอนไซม์ด้วยสารละลาย phosphate buffer 0.05 M (pH 7.0) และ acetate buffer 0.1 M (pH 5) ตามลำดับ เขย่าด้วย shaker (Certomat-R, Model D34212, Germany) ความเร็วรอบ 120 rpm นาน 30 นาทีนำของเหลวที่ได้ไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Sorvall RC 5C Plus, U.S.A) ที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 10 นาทีที่อุณหภูมิ 4°C แยกเอาของเหลวส่วนใสไปวิเคราะห์ค่ากิจกรรมอะไมเลสตามวิธีของ Nahar et al (2008) โดยกำหนดให้ค่ากิจกรรมอะไมเลส 1 U (unit) หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์สับสเตรทให้เป็นน้ำตาลกลูโคส 1 mg ในเวลา 1 นาที ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวส์วิเคราะห์โดยวิธี 3,5-dinitrosalicylic acid (Miller, 1959) และวิเคราะห์ค่ากิจกรรมโปรติเอสตามวิธีของ Folin&Ciocalteau, (1929) และ Anson (1938) โดยกำหนดให้ค่ากิจกรรมโปรติเอส 1 U (unit) หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์สับสเตรทให้เป็นtyrosine 1 μg ในเวลา 1 นาที

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะกายภาพของโคจิ

โคจิมีการเปลี่ยนแปลงด้านกายภาพทั้งในด้านลักษณะปรากฏและค่าความชื้น (Figure 1-2) พบว่าในชั่วโมงที่ 0 ของการหมัก โคจิมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 48.55% และยังสังเกตเห็นช่องว่างระหว่างเมล็ดถั่วเหลือง

Figure 1 Change of physical characteristics in Koji during fermentation: 0 hr. (a), 36 hr. (b), 72 hr. (c)

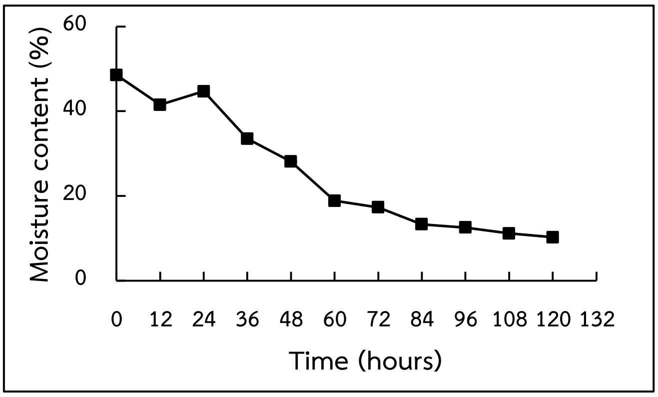


Figure 2 Changes of moisture content during koji fermentation

ได้อย่างชัดเจน ความชื้นในโคจิจะลดลงอย่างรวดเร็วตลอดระยะเวลาของการหมักนาน 84 ชั่วโมง และเริ่มมีค่าเกือบคงที่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่ 120 ชั่วโมง ซึ่งมีค่า 13.24% และ 10.33% ตามลำดับ การสูญเสียความชื้นอย่างรวดเร็วของโคจิ ทำให้โคจิมีลักษณะแห้งลงและจับตัวกันแน่นเป็นแผ่นแข็ง ประกอบกับการงอกเป็นเส้นใยของสปอร์รา *A. oryzae* M-01 ที่เติมลงไปในรูปของกล้าเชื้อ ทำให้เมล็ดถั่วเหลืองเกิดการยึดเกาะกันแน่นเพิ่มขึ้นอีกทางหนึ่งในชั่วโมงที่ 36 เส้นใยราที่เจริญเต็มที่จะเริ่มสร้างสปอร์สีเขียวอมเหลือง ปกคลุมพื้นผิวของเมล็ดถั่วเหลืองและจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มขึ้นเมื่อเวลาการหมักนาน 72 ชั่วโมง การสูญเสียความชื้นในลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Chancharoonpong et al. (2012) ที่ทำการผลิตเอนไซม์จาก *A. oryzae* ที่เจริญอยู่บนโคจิผสมกับรำข้าวสาลี โดยพบว่าปริมาณความชื้นของโคจิเริ่มต้นมีค่าร้อยละ 45 และได้ลดลงเหลือร้อยละ 22 เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไป 72 ชั่วโมง

2. การเจริญของจุลินทรีย์ในโคจิ

การเจริญของราและแบคทีเรียกรดแลคติกในโคจิ มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาหมักโคจิ (Figure 3)

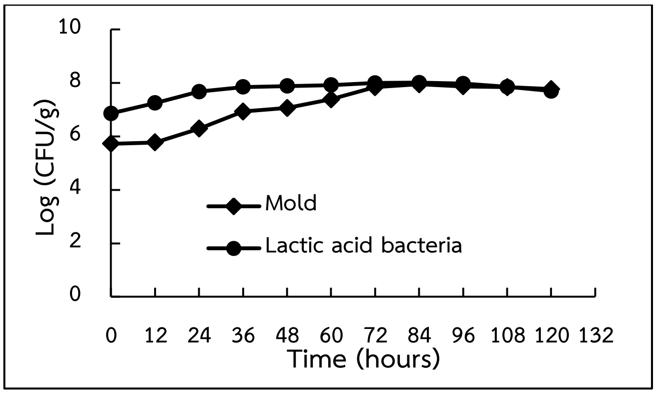


Figure 3 Growth of mold and lactic acid bacteria in koji fermentation

พบว่า สปอร์ของราที่ใช้เป็นกล้าเชื้อจะงอกเป็นเส้นใยแผ่ปกคลุมไปทั่วผิวหน้าของโคจิ เนื่องจากราต้องการออกซิเจนปริมาณมากในการหายใจ การเจริญของราจะมีค่าสูงสุดเท่ากับ 7.95 log CFU/g ในชั่วโมงที่ 84 ของการหมักโคจิ นอกจากนี้ยังพบการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 8.02 log CFU/g ในชั่วโมงที่ 84 ของการหมักโคจิ ผลลัพธ์ดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Yan et al. (2013) ที่พบว่าราและแบคทีเรียกรดแลคติก มีจำนวนสูงสุดเท่ากับ 7.2 และ 10 log CFU/g ตามลำดับในระหว่างการเตรียมโคจิเพื่อใช้หมักซอสถั่วเหลือง

3. ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสและปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในโคจิ

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในโคจิจะมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงต้นของการหมักโคจิ และมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 5,770.02 U/g (Figure 4(a)) ต่อจากนั้นจึงมีค่าลดลงเป็นลำดับ เนื่องมาจากในช่วงเวลาดังกล่าวรา *A. oryzae* M-01 เริ่มงอกและได้สร้างเส้นใยจำนวนมาก เส้นใยของราผลิตเอนไซม์หลายชนิดซึ่งรวมถึงเอนไซม์อะไมเลส เพื่อย่อยแป้งในถั่วเหลืองและข้าวกล้องให้เป็นน้ำตาลที่มีโมเลกุลสั้นลง เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวส์ (Figure 4 (b)) โดยน้ำตาลรีดิวส์จะมีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 250.20 mg/g เมื่อโคจิมีอายุ 24 ชั่วโมง ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ได้มีค่าสูงกว่าผลจากการวิจัยของ Chancharoonpong et al. (2012) ที่พบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสสูงสุดเท่ากับ 731.53 U/g ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมักโคจิที่ใช้ 40% ผสมกับรำข้าวสาลี 60%

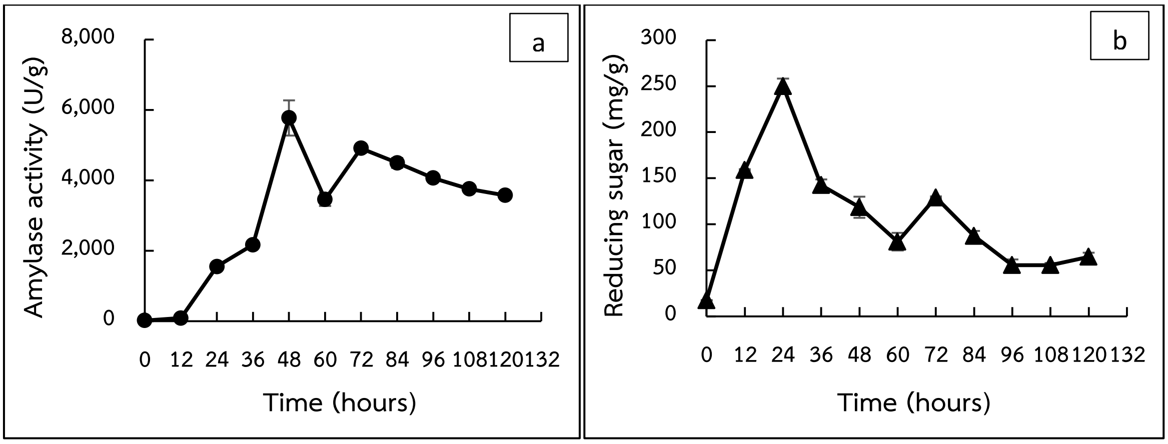


Figure 4 Changes of amylase activity and reducing sugar in koji during fermentation: amylase activity (a) and reducing sugar (b)

4. ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสในโคจิ

กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสในโคจิจะมีค่าเพิ่มขึ้นในช่วงต้นของการหมักโคจิ เช่นเดียวกับค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส และมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 เท่ากับ 61.61 U/g (Figure 5) ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส 52.89 U/g ที่ได้จากการหมักโคจิสำหรับใช้ในการหมักเต้าเจี้ยวถั่วเหลือง (นนทรี, 2554)

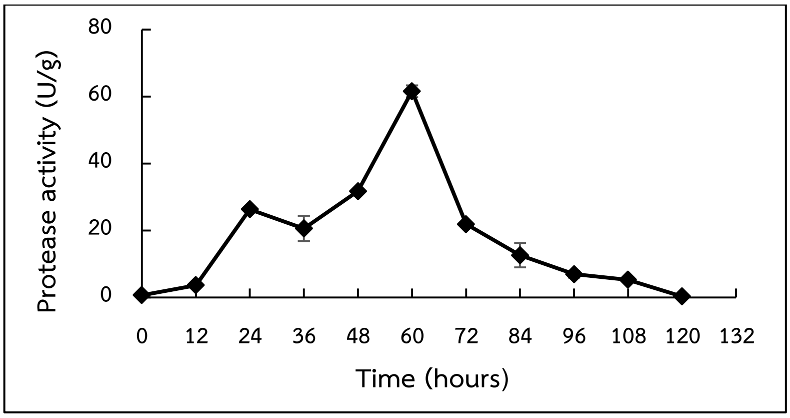


Figure 5 Protease activity in koji during fermentation

5. ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสและปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในโมโรมิ

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในโมโรมิ มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 9 สัปดาห์แรกของการหมัก เนื่องมาจากเอนไซม์ดังกล่าวในโคจิได้แพร่กระจายออกสู่น้ำเกลือที่เติมลงไป ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสมีค่าสูงสุดเท่ากับ 3,822.65U/ml (Figure 6 (a)) และยังคงสอดคล้องกับการเกิดน้ำตาลรีดิวส์ในโมโรมิ ที่พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์สูงสุดที่ได้มีค่าเท่ากับ 204.51 mg/ml ในสัปดาห์ที่ 3 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะเริ่มลดลง (Figure 6 (b)) เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติกใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน และเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นกรดแลคติกซึ่งสอดคล้องกับการลดลงอย่างต่อเนื่องของค่า pH ของโมโรมิ โดยค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.21 และเมื่อจะลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 4 ของการหมัก คือ มีค่าเท่ากับ 5.21 และเริ่มมีค่าที่เกือบจะคงที่ตราบจนสิ้นสุดกระบวนการหมักในสัปดาห์ที่ 12 (Figure 7) ผลลัพธ์ที่ได้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Wu et al. (2010) ที่ได้ทำการทดลองหมักขั้นโมโรมิ พบว่าpH ของการหมักขั้นโมโรมิเริ่มต้นที่ 6 และลดลงเท่ากับ 5.3 เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปประมาณ 3 สัปดาห์ และคงที่ไปจนสิ้นสุดกระบวนการหมักนอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Chou et al. (1998) ที่พบว่าค่า pH ของน้ำหมักในขั้นตอนการหมักโมโรมิ มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 5.0 หลังจากกระบวนการหมักผ่านไป 90 วัน

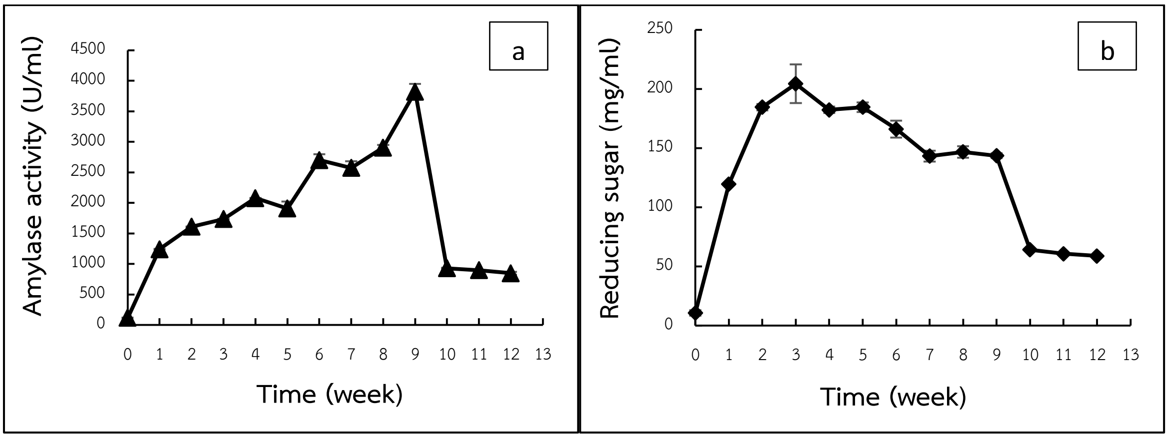


Figure 6 Change of amylase activity and reducing sugar during moromi fermentation: amylase activity (a) and reducing sugar (b)

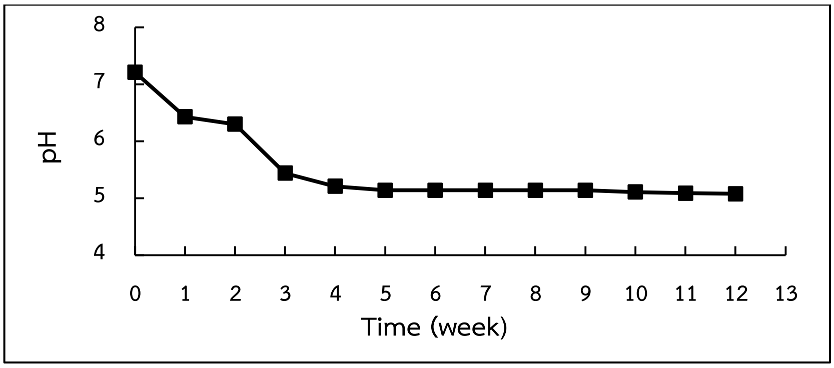


Figure 7 Change of pH during moromi fermentation

6. ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสในโมโรมิ

เอนไซม์โปรตีเอสมีลักษณะการแพร่กระจายออกจากโคจิไปสู่น้ำเกลือที่ใช้หมักโดยกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสในโมโรมิ จะมีค่าสูงสุดเท่ากับ 21.71 U/ml ในสัปดาห์ที่ 7 ของการหมัก และค่อยๆ ลดลงจนเหลือ 12.57 U/ml ในสัปดาห์ที่ 12 (Figure 8) การที่ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอสมีค่าต่ำดังกล่าวอาจเป็นผลเนื่องมาจากความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้หมักมีค่าสูงมากคือ 18% ซึ่ง Nan et al. (2005) ได้รายงานว่าเกลือที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 5% จะมีผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

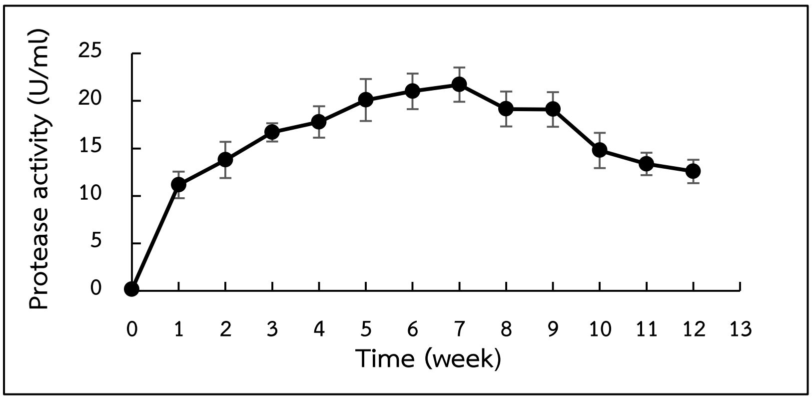


Figure 8 Protease activity during moromi fermentation

7. การเจริญของจุลินทรีย์ในในโมโรมิ

การเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในโมโรมิ มีความแตกต่างกัน (Figure 9) ราที่พบในโมโรมิ ส่วนใหญ่

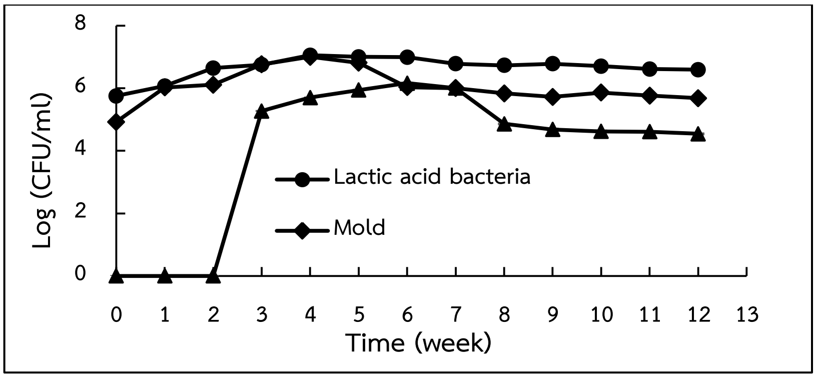


Figure 9 Growth of mold, lactic acid bacteria and yeast in moromi fermentation

เป็นสปอร์ของราที่หลุดออกจากโคจิ สปอร์ดังกล่าวไม่สามารถสร้างเส้นใยในน้ำเกลือที่ใช้หมักได้ ดังนั้น ปริมาณเชื้อราที่พบจึงมีค่าสูงสุดประมาณ 7 log CFU/ml ในสัปดาห์ที่ 4 และมีจำนวนลดลงเรื่อยๆ จนมีค่าเกือบคงที่ ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรียแลคติก จะมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงเลา 4 สัปดาห์แรกของการหมัก คือ มีค่าสูงสุดเท่ากับ 7.05log CFU/ml และมีค่าเกือบคงที่ตลอดระยะเวลาการหมักนาน 12 สัปดาห์ ในขณะที่ยีสต์กลับเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 3 และมีค่าสูงสุดในสัปดาห์ที่ 6 เท่ากับ 6.15 log CFU/ml หลังจากนั้นยีสต์จะมีค่าลดลงและเกือบมีค่าคงที่นับตั้งแต่สัปดาห์ที่ 7 ไปจนสิ้นสุดกระบวนการหมัก

สรุป

โคจิที่หมักได้มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์โปรตีเอส สูงสุดเท่ากับ 5,770.02 และ 61.61 U/g dry weight ตามลำดับ และแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่า 8.01 log CFU/g เมื่อนำโคจิมาหมักในน้ำเกลือเข้มข้น 18% กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส มีค่าสูงสุดเท่ากับ 3,822.69 และ 21.71 U/ml ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 7.05 log CFU/ml และยีสต์มีปริมาณเท่ากับ 6.15 log CFU/ml การเจริญของแบคทีเรีย และยีสต์ในน้ำหมัก เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับกระบวนการหมักซอสถั่วเหลืองทั่วไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัย และงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม-พวอ. ระดับปริญญาโทประจำปี 2557และได้รับความร่วมมือจากวิสาหกิจชุมชนกลุ่มแปรรูปแม่บ้านสันป่ายาง จังหวัดเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

นนทรี จันทร์อนันต์. 2554. **กลไกการเกิดอนุภาคสีขาวในเต้าเจี้ยวและการผลิตเต้าเจี้ยวรสเค็มน้อย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

Anson, M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin.J. **Gen. Physio.** 22: 79-89.

Chancharoonponga, C, P.C. Hsiehb, S.C. Sheu. 2012. Effect of Different combinations of soy and wheat bran on enzyme production from *Aspergillus oryzae S*. **APCBEE Procedia 2**: 68-72.

Chancharoonponga, C, P.C. Hsiehb, S.C. Sheu. 2012. Enzyme production and growth of *Aspergillus oryzae S*. on soybean koji fermentation. **APCBEE Procedia 2**: 57-61.

Chou,C.C. and M.Y. Ling. 1998. Biochemical changes in soy sauce prepared with extruded and traditional raw materails. **ELSEVIER**: 487-492.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid for estimation of reducing sugar. **ACS** 31: 426-428.

Nahar. S, F. Hossain, B. Feroza and M. A. Halim. 2008. Production of glucoamylase *Rhizopus sp.* In liquid culture. **Pak. J. Bot.,** 40(4): 1693-1698.

Su, N.W., M.L. Wang, K.F. Kwok and M.H. Lee. 2005. Effects of temperature and sodium chloride concentration on the activities of proteases and amylases in soy sauce koji. **J. Agric. Food Chem** 53: 1521-1525.

Wu, T.Y., M.S. Kan, L. F. Siow and L. K. Palnlandy. 2010. Effect of temperature on moromi fermentation of soy sauce with intermittent aeration. **AJB**: 702-706.

Yan, Y.Z., Y.L. Qian, F.D. Ji, J.Y. Chen, B.Z. Han. 2013. Microbial composition during Chinese soy sauce koji-making based on culture dependent and independent method. **ELSEVIER**: 189-195.

Yong, F.M. and B.J.B. Wood, 1977. Biochemical changes in experimental soy sauce Moromi. **Int. J. Food Sci.Technol.**, 12(3): 263-273.

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มเขียวหวาน และเปลือกมะนาว

The Study of Antioxidant Activity of Crude Extract from Tangerine Peel and Lime Peel

วนิสา รุ่งพาณิชย์[1] และ ทานตะวัน พิรักษ์[1*]

Vanisa Rungpanit[1] and Tantawan Pirak[1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมะนาว สกัดโดยวิธีการแช่ยุ่ย (maceration) ด้วยเอทานอล 95% ที่ 30°C ในอัตราส่วนของตัวถูกละลายได้แก่เปลือกส้มเขียวหวานหรือเปลือกมะนาวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:1 และ 1:3 ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดคือ 0 30 60 และ 90 นาที พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดของเปลือกส้มเขียวหวานคืออัตราส่วน 1:1 ระยะเวลาที่ใช้สกัด 60 นาทีให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 20.47±0.05 µg GAE/ml ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากวิธี DPPH, ABTS, FRAP เท่ากับ 89.30±0.05%, 2.63±0.11 µg GAE/ml และ 0.95±0.07 µg Fe(II)/ml ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเปลือกมะนาวคืออัตราส่วน 1:1 ระยะเวลาใช้ในการสกัด 90 นาที ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 17.41 ±0.06 µg GAE/ml มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากวิธี DPPH, ABTS และ FRAP เท่ากับ 82.75±0.061%, 3.14±0.02 µg GAE/ml และ 0.73±0.01 µg Fe(II)/ml ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าเปลือกส้มและเปลือกมะนาวเป็นแหล่งที่ดีของสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

ABSTRACT

This research aims to study the antioxidant activities and total phenolic content of Tangerine peel and Lime peel extracts. Extraction by maceration with 95% ethanol (30°C) in the ratio 1:1 and 1:3 for 0, 30, 60 and 90 minutes. The results showed that the optimum extraction condition for Tangerine peel was at the ratio of 1:1 for 60 minutes. The total phenolic content of this treatment was 20.47±0.05 µg GAE/ml with the antioxidant activities of DPPH, ABTS and FRAP method at 89.30±0.05 %, 2.63±0.11 µg GAE/ml and 0.95±0.07 µg Fe(II)/ml, respectively. The optimum extraction condition for Lime peel was at ratio 1:1 for 90 minutes. The total phenolic content was 17.41±0.06 µg GAE/ml and the antioxidant activities of DPPH, ABTS and FRAP method were 82.75±0.06%, 3.14±0.02 µg GAE/ml and 0.73±0.01 µg Fe(II)/ml, respectively. Therefore, the peel of Tangerine and Lime was the potential rich source of phenolic compound and natural antioxidant.

Key Words: antioxidant activity, Tangerine peel, Lime peel, crude extract

* Corresponding author; e-mail address: fagitwk@ku.ac.th

[1] ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคตระหนักถึงความปลอดภัยและใส่ใจในสุขภาพมากยิ่งขึ้น เห็นได้จากการขยายตัวของตลาดอาหารเพื่อสุขภาพที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้สารเคมีที่ได้จากธรรมชาติหรือจากพืช ผัก ผลไม้ และสมุนไพรไทยถูกนำมาใช้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เนื่องจากความเชื่อมั่นว่าสารเคมีที่ได้จากธรรมชาติมีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ที่อาจส่งผลเสียต่อผู้บริโภคได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม เนื่องจากอนุมูลอิสระก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพของอาหาร ปัจจุบันจึงมีการวิจัยสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติเช่นสาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูงมากขึ้น (Chattopadhyay *et al*., 2010)

พืชที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมักจะมีสารประกอบหลักได้แก่ฟลาวานอยด์ กรดฟีนอลิกและแอนโธไซยานิน ซึ่งพบทั่วไปในใบ ลำต้น และเปลือกของพืช กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะอยู่ในรูปของการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอม และการกำจัดออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน รวมทั้งการรวมตัวกับโลหะ (สมหมาย, 2551) ไม่เพียงเฉพาะในพืชเท่านั้นที่สามารถพบสารต้านอนุมูลอิสระ ในจุลชีพ และสัตว์ก็ยังคงพบโครงสร้างที่เป็นสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ได้เช่นกัน (Sanchez-Moreno *et al*., 2002) ในประเทศไทยเปลือกของผลไม้บางชนิดที่ไม่นิยมนำส่วนเปลือกมารับประทานและถูกทิ้งให้กลายเป็นของเสียจากอุตสาหกรรมที่พบมากเช่นผลไม้ตระกูลส้ม โดยที่เศษเหลือทิ้งในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้จากพืชตระกูลส้มมีปริมาณสูงถึง 50% ของน้ำหนักเริ่มต้น ซึ่งเศษเหลือทิ้งเหล่านี้นอกจากจะมีปริมาณใยอาหารสูง อีกทั้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่มาก (นภาพรและ นัฏฐพงศ์, 2556) จึงเหมาะที่จะนำมาศึกษาคุณสมบัติของสารต้านออกซิเดชัน ผู้วิจัยจึงเลือกผลไม้ตระกูลส้ม 2 ชนิดคือส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulate*) และมะนาว (*Citrus aurantifolia*) ซึ่งพบมากในท้องถิ่นมาศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอีกทั้งประเทศไทยมีดินฟ้าอากาศที่เหมาะสมกับการปลูกพืชดังกล่าวทำให้พบผลไม้ตระกูลส้มทั้งสองชนิดนี้ได้ตลอดทั้งปี โดยองค์ประกอบในเปลือกของพืชตระกูลส้มนั้นสามารถพบ Caffeic acid, Ferulic acid, Naringin, Hesperidin และ Ellagic acid เป็นต้นซึ่งเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันได้ (Larrauri *et al*., 1996)

ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกของส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulate*) และมะนาว (*Citrus aurantifolia*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% เพื่อเตรียมเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้กับอาหาร ยา หรือผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างเปลือกผลไม้และวิธีเตรียมสารสกัด

ตัวอย่างเปลือกผลไม้เหลือทิ้งสองชนิดได้แก่ ส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulate*) และมะนาว (*Citrus aurantifolia*) ได้มาจากตลาดสี่มุมเมือง จังหวัดปทุมธานี ซื้อเมื่อวันที่ 28 พฤษภาคม 2559 เตรียมโดยล้างเปลือกตัวอย่างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ลดขนาดตัวอย่างด้วยเครื่องปั่น จากนั้นเติมตัวทำละลายเอทานอล 95% จนได้อัตราส่วน 1:1 และ 1:3 โดยมีระยะเวลาที่ใช้สกัดคือ 0, 30, 60 และ 90 นาที ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ

30°C เมื่อครบเวลาที่กำหนด กรองสารที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 กากที่เหลือทำการแช่ต่อเป็นรอบที่สอง นำสารที่กรองได้ทั้งสองรอบรวมกัน ระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40°C เก็บสารสกัดหยาบที่ได้เก็บในภาชนะปิดสนิท ป้องกันแสงและเก็บที่อุณหภูมิ –20°C เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดจากเปลือกผลไม้

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ตามวิธีของ Wolfe *et al.* (2003) เจือจางสารสกัดจากความเข้มข้นเดิม 1000 เท่าทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก แล้วคำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อปริมาณสารสกัด 1 มิลลิลิตร

วิเคราะห์กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

วิธี DPPH ดัดแปลงวิธีของ Gamez *et al.* (1998) และ Khattak *et al.* (2008) เจือจางสารสกัดจากความเข้มข้นเดิม 10 เท่าทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank คำนวณหาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสมการ % Inhibition

วิธี ABTS (2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) ดัดแปลงวิธีของ Re *et al.* (1999) เจือจางสารสกัดจากความเข้มข้นเดิม 1000 เท่าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระของ ABTS ในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 6 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ค่าที่ได้หมายถึงฤทธิ์การจับอนุมูลอิสระ ABTS โดยใช้กรดแกลลิคเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ

วิธี FRAP ดัดแปลงวิธีของ Benzie และ Strain (1996) โดยเตรียม FRAP reagent เจือจางสารสกัดจากความเข้มข้นเดิม 200 เท่าทำปฏิกิริยากับสารละลาย FRAP reagent เก็บให้พ้นแสงที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ค่าที่แสดงออกมาเป็นค่าความเข้มข้นของ Fe^{2+} ที่สมดุลกับ $FeSO_4$ ของตัวอย่างสารสกัด 1 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้งจากนั้นวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) แบบ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Dancan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคซึ่งใช้เป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในการสกัดสารสกัดได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงที่มีสมการ $Y = 0.0107x + 0.0262$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9943$ จากตัวอย่างเปลือกส้มเขียวหวานพบว่าประกอบไปด้วยสารพฤษเคมีกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารประกอบดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้เปลือกส้มมี

คุณสมบัติดังกล่าวด้วย นอกจากนี้ยังมีสารประกอบกลุ่มลิโมนีนเป็นสารประกอบที่พบมากในพืชตระกูลส้มเช่น มะนาว ส้ม และเกรฟฟรุต ในธรรมชาติจะพบลิโมนีนในรูปของ ดี-ลิโมนีน (จันทร์ลัดดา, 2544)

Table 1 Total phenolic content (μg gallic acid equivalent/ml) from Tangerine peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	$8.18±0.02^{bA}$	$6.73±0.03^{bA}$	$20.47±0.04^{aA}$	$18.23±0.08^{aA}$
Ratio 1:3	$11.01±0.04^{cA}$	$7.72±0.01^{cA}$	$15.45±0.04^{bB}$	$20.38±0.02^{aA}$

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p≤0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p≤0.05$), The extract were diluted 1000 times.

Table 2 Antioxidant activities by DPPH radical scavenging assay (% Inhibition) from Tangerine peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	$43.92±0.47^{cA}$	$63.67±0.10^{bA}$	$89.30±0.04^{aA}$	$63.64±0.11^{bA}$
Ratio 1:3	$34.96±0.06^{cB}$	$59.24±0.02^{bA}$	$76.26±0.11^{aB}$	$84.51±0.02^{aB}$

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p≤0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p≤0.05$), The extract were diluted 10 times.

จากผลการศึกษาเมื่อคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกส้มเขียวหวานเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกดังแสดงใน Table 1 พบว่าที่อัตราส่วนเปลือกส้มเขียวหวานต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:1 ระยะเวลาการสกัด 60 นาที ให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเท่ากับ 20.47 μg GAE/ml อย่างมีนัยสำคัญคือที่อัตราส่วน 1:1 ระยะเวลาการสกัด 60 นาทีเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน จาก Table 1 ที่อัตราส่วน 1:1 จะเห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลาในการสกัด 60 นาทีจนถึงค่าหนึ่ง (20.47 μg GAE/ml) จากนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างจากที่เวลา 60 นาทีอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น (90 นาที พบ 18.23±0.08 μg GAE/ml) อาจเกิดจากการที่สารประกอบฟีนอลิกไม่คงตัวเนื่องจากการใช้เวลาในการสกัดนานขึ้นทำให้เกิดความร้อนส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกสลายตัวได้ (Toma *et al*., 2001) สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ฉะนั้นหากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง ค่าความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระจะสูงและหากมีสารประกอบฟีนอลิกต่ำค่าความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระจะต่ำไปด้วย (โอภา, 2549) เมื่อเพิ่มอัตราส่วนตัวถูกละลายต่อตัวทำละลายจาก 1:1 เป็น 1:3 ที่เวลา 0 30 และ 90 นาทีพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ยกเว้นที่เวลาการสกัด 60 นาที ตรวจพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อาจเป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสกัด เช่นอัตราส่วน อุณหภูมิ เวลา แสง หรืออาจอธิบายได้จากกฎการแพร่ของฟิกค์ (Fick's second law) ที่ว่าเมื่อถึงความเข้มข้นที่สมดุลสุดท้ายระหว่างของแข็งและของเหลวแล้วจะเป็นการแพร่ที่สมบูรณ์ (Chan *et al*., 2009)

การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมะนาวโดยใช้ 3 วิธีคือวิธีที่ 1 อาศัยการติดตามความ สามารถของตัวอย่างสารสกัดในการทำลายอนุมูลอิสระของ DPPH แสดงผลในรูปเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ วิธีที่ 2 อาศัยการติดตามความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของ 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) หรือ ABTS สารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ดีจะทำให้อัตราการเกิดสีน้ำเงินแกมเขียวของสารละลายช้า แสดงผลโดยการเปรียบเทียบกับกรดแกลลิก วิธีที่ 3 คือการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระหรือ FRAP แสดงผลในรูปของค่าสมมูล Fe(II) ต่อสารสกัด 1 มิลลิลิตร

Table 3 Antioxidant activities by 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay (µg gallic acid equivalent/ml) from Tangerine peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	0.86 ± 0.03^{cA}	1.76 ± 0.03^{bcA}	2.63 ± 0.09^{aA}	1.35 ± 0.11^{bcA}
Ratio 1:3	1.48 ± 0.01^{cB}	1.38 ± 0.02^{cB}	1.74 ± 0.03^{bB}	2.03 ± 0.01^{aA}

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), The extract were diluted 1000 times.

Table 4 Antioxidant activities by Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay (Fe (II) equivalent/ml) from Tangerine peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	0.35 ± 0.01^{bA}	0.45 ± 0.05^{bA}	0.95 ± 0.10^{aA}	0.18 ± 0.01^{cA}
Ratio 1:3	0.29 ± 0.02^{cA}	0.36 ± 0.01^{bA}	0.55 ± 0.02^{aB}	0.33 ± 0.00^{bcB}

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), The extract were diluted 200 times.

จากผลการทดลองพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และผลการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกส้มเขียวหวานพบว่าที่เวลา 30-60 นาที ที่อัตราส่วน 1:1 ให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอันได้แก่วิธี DPPH, ABTS และ FRAB สูงที่สุด เช่นเดียวกับปริมาณสารฟีนอลิกที่ให้ค่าสูงสุด ($p \leq 0.05$) (Table 2, 3, และ 4) แสดงถึงสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกส้มเขียวหวาน เมื่อพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายในการสกัด และการสูญเสียพลังงาน พบว่าเวลาในการสกัดสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเปลือกส้มเขียวหวานคือที่ระยะเวลา 60 นาที สารสกัดที่ได้ให้ผลการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP เท่ากับ 89.30±0.04%, 2.63±0.11 µg GAE/ml และ 0.95±0.07 µg Fe(II)/ml ตามลำดับ

Table 5 Total phenolic content (µg gallic acid equivalent/ml) from Lime peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	5.59±0.00^{bA}	15.90±0.06^{aA}	8.38±0.01^{bA}	17.41±0.04^{aA}
Ratio 1:3	4.34±0.01^{cB}	9.06±0.02^{aA}	8.14±0.02^{abA}	7.01±0.01^{bB}

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), The extract were diluted 1000 times.

Table 6 Antioxidant activities by DPPH radical scavenging assay (% Inhibition) from Lime peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	34.97±0.03^{dA}	61.45±0.06^{bA}	62.84±0.02^{cA}	87.32±0.05^{aA}
Ratio 1:3	26.35±0.02^{cB}	41.46±0.05^{bB}	48.68±0.05^{aB}	49.61±0.03^{aB}

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), The extract were diluted 10 times.

ผลการศึกษาเมื่อคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกมะนาวเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกดังแสดงใน Table 5 พบว่าที่อัตราส่วนเปลือกมะนาวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:1 ระยะเวลาการสกัด 90 นาทีให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเท่ากับ 17.41±0.04 µg GAE/ml และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่เวลาการสกัด 30 นาทีเท่ากับ 15.90±0.06 µg GAE/ml แต่พบว่าที่เวลาการสกัด 90 นาทีให้ผลการต้านอนุมุลอิสระสูงกว่าที่ 30 นาทีอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายพบว่าปริมาณฟีนอลิกที่ได้มีแนวโน้มลดลง ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิกมีการเปลี่ยนแปลงและสลายตัวอยู่ตลอดเวลาเนื่องมาจากหลายสาเหตุเช่น อุณหภูมิ แสง และจากผลจากการแพร่ที่สมบูรณ์ (นิธิยา, 2548) นั่นคือที่อัตราส่วน 1:1 ระยะเวลาการสกัด 90 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากเปลือกมะนาว

Table 7 Antioxidant activities by 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay (µg gallic acid equivalent/ml) from Lime peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	1.60±0.01^{dA}	2.49±0.01^{bA}	2.15±0.02^{cA}	3.14±0.012^{aA}
Ratio 1:3	1.40±0.01^{bB}	1.96±0.02^{aB}	2.02±0.03^{aA}	1.90±0.02^{aB}

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), The extract were diluted 1000 times.

Table 8 Antioxidant activities by Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay (Fe (II) equivalent/ml) from Lime peel extract at different ratio and different extraction time

Extraction time (min)	0	30	60	90
Ratio 1:1	0.19±0.02^{bA}	0.77±0.18^{aA}	0.33±0.04^{bA}	0.73±0.08^{aA}
Ratio 1:3	0.13±0.01^{cB}	0.34±0.05^{aB}	0.28±0.03^{abA}	0.24±0.02^{bB}

Note : a-c mean within a row with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), A-B mean within a column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$), The extract were diluted 200 times.

สารสกัดจากเปลือกมะนาวสกัดที่ 90 นาทีเป็นสภาวะที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงและมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นกันดังแสดงใน Table 6, 7 และ 8 ที่อัตราส่วน 1:1 เวลาในการสกัด 90 นาทีให้ผลการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากวิธี DPPH, ABTS และ FRAP เท่ากับ 82.75±0.06%, 3.14±0.02 µg GAE/ml และ0.73±0.01 µg Fe(II)/ml ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างเปลือกส้มเขียวหวานที่เวลาการสกัด 60 และเปลือกมะนาวที่ระยะเวลาการสกัด 90 นาทีพบว่าค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่อัตราส่วน 1:1 ให้ค่าสูงกว่าอัตราส่วน 1:3 ($p \leq 0.05$) เนื่องจากที่อัตราส่วนนี้ มีปริมาณตัวทำละลายมากเพียงพอที่จะละลายสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่าง เมื่อเพิ่มอัตราส่วนตัวถูกละลายจึงให้ผลในลักษณะการเจือจาง และทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการระเหยตัวทำละลายมากขึ้น อีกทั้งสิ้นเปลืองตัวทำละลายอีกด้วย ดังนั้นที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่อตัวถูกละลาย 1:1 จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสม เมื่อพิจารณาเวลาการสกัดที่ 60 นาทีและ 90 นาทีพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกมะนาวมีแนวโน้วเพิ่มขึ้นจนถึงเวลาการสกัด 90 นาที นั่นคือสารพฤษศาสตร์ที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระในเปลือกมะนาวถูกสกัดออกมาได้ช้ากว่าเปลือกส้มเขียวหวาน อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของสารพฤษศาสตร์ในเปลือกมะนาวมีหลากหลายชนิดมากกว่าในเปลือกส้มเขียวหวาน อีกทั้งยังมีองค์ ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อนและเปลี่ยนแปลงไปขึ้นกับปัจจัยต่างๆเช่น อายุ และอุณหภูมิของการเก็บรักษา (วรรณี, 2545) ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกส้มจึงมีค่าน้อยกว่าเปลือกมะนาว

สรุปผล

เปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมะนาวเป็นส่วนเหลือทิ้งที่ยังคงมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ โดยจากการทดลองพบว่าสภาวะที่สามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกส้มเขียนหวานออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพคือที่อัตราส่วนเปลือกส้มเขียวหวานต่อเอทานอล 95% เท่ากับ 1:1 ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และเปลือกมะนาวคือที่อัตราส่วนเปลือกมะนาวต่อเอทานอล 95% เท่ากับ 1:1 ระยะเวลาในการสกัด 90 นาที โดยวัตถุดิบทั้งสองชนิดสามารถสกัดได้ที่อุณหภูมิการสกัด 30°C และที่สภาวะการสกัดนี้จะให้สารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

จันทร์ลัดดา โชติรัตนดิลก. 2544. **การวิเคราะห์ลิโมนีนในเปลือกส้มโดยแก๊สโครมาโทกราฟี**. รายงานการวิจัย. ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554, **อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ**: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา, วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์. 1: 59-70.

นภาพร แก้วดวงดี และ นัฏฐพงศ์ อินทรสมบัติ. 2556. **ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของย่านาง**. วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. 13: 159-171.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2548. **วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน.** สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพมหานคร. 244.

วรรณี มาวิมล. 2545. **การพัฒนากรรมวิธีการผลิตมะนาวผงและการประเมินอายุการเก็บรักษา.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมหมาย ปัตตาลี, 2551, **การศึกษาคุณภาพของน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตจากผลมะหลอด**, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สาขาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร.

โอภา วัชระคุปต์. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** กรุงเทพฯ: พี. เอส. พริ้นท์

Benzie, I.F.F and J.J. Stain. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry** 239: 70–76.

Chan, S.W., Lee, C.Y., Yap, C.F., Wan Alda, W.M. and Ho, C.W. 2009. Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (Citrus hystrix) peels. **International Food Research Journal** 16: 203-213.

Chattopadhyay, P., Banerjee, N., and Chaudhary, B. 2010. Precise seed micromorphometric markers as a tool for comparative phylogeny of Dendrobium (Orchidaceae). **Floriculture and Ornamental Biotechnology** 4: 36-44.

Gamez, E.J.C., Luyengi, L., Lee, S., Zhu, L., Zhou, B., Fong, H., Pezzuto, J., Kinghorn, A.D. 1998. Antioxidant flavonoid glycosides from Daphniphyllum calcynum. **Journal of Natural Products** 61: 706-708.

Khattak, K. F., Ihasnullah and Simpson, T. J. 2008. Effect of gamma irradiation on the antioxidants properties of Nigella sativa. **Food Chemistry** 110: 967–972.

Larrauri, J.A., P. Ruperez, L. Bravo and F. Saura-Calixto. 1996. High dietary fibre powders from orange and lime peels: Associated polyphenols and antioxidant capacity. **Food Research International** 29: 757-762.

Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evens. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine** 26: 1231–1237.

Sanchez-Moreno, C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International** 8: 121–137.

Silva, E.M., Rogez, H. and Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction of phenolics from Inga edulis leaves using response surface methodology. **Separation and Purification Technology** 55: 381-387.

Toma, M., M. Vinatoru, L. Paniwnyk and T. J. Mason. 2001. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. **Ultrasonics Sonochemistry** 8: 137–142.

Wolfe, K., X. Wu and R.H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** 51: 609- 614.

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งจากเชื้อ *Aspergillus oryzae* อาศัยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิ

Optimization of Dextrinizing Enzymes Production from *Aspergillus oryzae* in Koji Machine by Taguchi Method

วีระสิทธิ์ กัลยากฤต[1*] ภาสกร วิเวกพรมราช[1] ประมุข ภระกูลสุขสถิตย์[1] มังกร โรจน์ประภากร[1] และ สุมัลลิกา โมรากุล[1]

Werasit Kanlayakrit[1*], Patsakorn Wiweakpomraj[1], Pramuk Parakulsuksatid[1], Mangkorn Rodprapakorn[1] and Sumallika Morakul[1]

บทคัดย่อ

โคจิ เป็นกล้าเชื้อที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารหมักชนิดต่างๆ เป็นการเติบโตของเชื้อราบนอาหารแข็ง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์จากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* อาศัยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิ โดยศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาทในเครื่องโคจิ และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และกลูโคแอมีเลสในสภาวะที่แตกต่างกันจากการออกแบบการทดลองโดยวิธีทะกุจิ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโคจิข้าวที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองมากที่สุด คือ ปริมาณข้าว 3 กิโลกรัม ความเร็วลมในเครื่องโคจิที่ ระดับกลาง (12 เมตรต่อวินาที) ความชื้นเริ่มต้นของข้าวที่อัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ 45:5 (ความชื้น 33.23 ± 0.94 เปอร์เซ็นต์) และอุณหภูมิในการบ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส โดยสภาวะดังกล่าวกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองจากการคำนวณโดยวิธีทะกุจิมีค่าเท่ากับ 11.21 และ0.07 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้งของโคจิ ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดลองจากการยืนยันผลมีค่าเท่ากับ 11.26 ± 0.09 และ0.08 ± 0.00 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้งของโคจิ ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมของการคาดทำนายโดยวิธีทะกุจิ

ABSTRACT

Koji is a starter culture widely being used in fermented food industries that can be prepared by growing fungus in solid-state fermentation. The objective of this study was to investigate the optimal conditions of enzyme production from *Aspergillus oryzae* in Koji machine by Taguchi method. In this study, the fungus was cultivated on Chainat rice in Koji machine and activities of α-amylase and glucoamylase were assayed under various conditions of experimental treatments. The results showed that the optimal conditions for rice Koji preparation under Koji machine were 3 kg of rice content, medium air velocity (12 m/s), the ratio of rice (g) to water (ml) of 45:5 (33.23 ± 0.94% moisture content) and incubation temperature at 30-35 ºC. From these optimal conditions, the predicted values of both enzymes by Taguchi model was 11.21 and 0.07 U/g dry weight Koji, respectively, whereas the confirmation achieved closely with the activity of both enzymes of 11.26 ± 0.09 and 0.08 ± 0.00 U/g dry weight Koji, respectively. It indicated well prediction under optimal condition from Taguchi approach.

Key Words: *Aspergillus oryzae*, Solid-state fermentation, Rice Koji, Amylase, Glucoamylase, Taguchi method

[*]Corresponding author; e-mail address: fagiwrk@ku.ac.th

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

โคจิ (Koji) เป็นเชื้อรากล้าเชื้ออาหารหมักที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (solid state culture) มีลักษณะเป็นเส้นใยของเชื้อราที่เติบโตบนวัตถุดิบของแข็งที่มีความชื้นต่ำ เช่น ข้าว หรือถั่วเหลือง เป็นต้น ซึ่งโคจินั้นนิยมใช้เป็นกล้าเชื้อในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารหมัก และเครื่องดื่ม เช่น เต้าเจี้ยว มิโซะ ซีอิ๊ว มิริน สาเก เป็นต้น โคจิเป็นแหล่งของเอนไซม์หลายชนิดในปริมาณสูง เช่น แอลฟาแอมีเลส (α-amylase) กลูโคแอมีเลส (glucoamylase) โปรทีเลส (protease) และอื่นๆ (Ito *et al.,* 2011; Chancharoonpong *et al.*, 2012) โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อกระบวนการผลิตโคจิ เช่น คุณภาพของวัตถุดิบ ความชื้นเริ่มต้น อุณหภูมิในการบ่ม การถ่ายเทของอากาศ เป็นต้น ซึ่งการผลิตโคจิโดยใช้เครื่องโคจิ (Koji machine) สามารถผลิตโคจิได้ในปริมาณมากเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตแบบดั้งเดิมที่ใช้กระด้งหรือถาด โดยสามารถควบคุมอุณหภูมิ และความเร็วลมในเครื่องโคจิได้ และการนำวิธีทะกุจิมาช่วยในการออกแบบการทดลองของปัจจัยต่างๆ ในเครื่องโคจิเป็นการช่วยลดจำนวนของการทดลอง สามารถศึกษาปัจจัยหลายๆ ปัจจัยพร้อมกันได้ ลดต้นทุนในการทดลอง และให้ผลลัพธ์ที่น่าเชื่อถือได้ (Roy, 2001) เพื่อให้ได้โคจิที่มีคุณภาพ วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโคจิข้าวที่มีกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และ กลูโคแอมีเลสมากที่สุดในเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิ เพื่อที่สามารถนำโคจิข้าวไปใช้ในอุตสาหกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเชื้อรา

การเตรียมกล้าเชื้อรา

ถ่ายเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ลงในหลอดอาหารแข็งเอียง Potato dextrose agar (PDA) และบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการเตรียมสารแขวนตะกอนสปอร์จากเชื้อรา (spore suspension) โดยเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อลงในหลอดทดลอง และเจือจางสปอร์ให้มีจำนวนไม่ต่ำกว่า 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

การเตรียมทาเนะโคจิ (Tane Koji)

นำข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาทมาล้างแล้วแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เทน้ำที่แช่ข้าวทิ้ง ทำให้ข้าวสะเด็ดน้ำ แล้วปรับความชื้นเริ่มต้นโดยชั่งข้าวในฟลาสก์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร ในอัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ 40:10 นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นถ่ายสปอร์ของเชื้อรา 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณข้าวที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เขย่าฟลาสก์ทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโคจิข้าวในเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิ

การออกแบบการทดลองโดยวิธีทะกุจิ

การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิมีทั้งหมด 4 ปัจจัย คือ ปริมาณข้าว ความเร็วลมใน Koji machine ความชื้นเริ่มต้นของข้าวในอัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่แตกต่างกัน และอุณหภูมิในการบ่ม โดยแต่ละปัจจัย มี 3 ระดับใช้ Orthogonal Arrays (OAs) แบบ L-9 (3^4) ดังนั้นจึงได้

การทดลองทั้งหมด 9 การทดลองประกอบด้วยจำนวนการทดลองที่ขึ้นอยู่กับระดับของปัจจัยที่กำหนดดังแสดงใน Table 1 และTable 2 แสดงภาพรวมของ Orthogonal L-9 (3^4) Array ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ในส่วนการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Taguchi ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Qualitek-4 (Roy, 2001)

Table 1 Factors and their levels for production of rice Koji.

Factor	Level		
	1	2	3
(A) Amount of rice (kg)	3	5	7
(B) Air velocity in Koji machine (m/s)	Low (6 m/s)	Medium (12 m/s)	High (18 m/s)
(C) Ratio of rice (g) to water (ml)	45:5	40:10	35:15
(D) Temperature (ºC)	25-30	30-35	35-40

Table 2 L-9 (3^4) Orthogonal Array.

Experiments	Factor			
	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

การผลิตโคจิข้าวภายใต้สภาวะการทดลองจากการออกแบบโดยวิธีทะกุจิ

ชั่งข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาทตามปริมาณที่ออกแบบไว้ นำมาล้างแล้วแช่น้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เทน้ำที่แช่ข้าวทิ้ง ทำให้ข้าวสะเด็ดน้ำ แล้วปรับความชื้นเริ่มต้นของข้าวที่ออกแบบไว้โดยชั่งข้าว และเติมน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ใส่ข้าวลงในตะแกรงของ Koji machine ขนาด 45 x 45 x 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร เกลี่ยข้าวให้แยกออกจากกัน จากนั้นถ่ายหัวเชื้อรา *A. oryzae* (ทาเนะโคจิ) จากฟลาสก์ โดยใช้ 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณข้าวที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิ และความเร็วลมใน Koji machine ที่ออกแบบไว้ จากนั้นเกลี่ยข้าว และเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงจนถึงชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้นทุก 12 ชั่วโมงจนถึงชั่วโมงที่ 72 และทุก 24 ชั่วโมงจนถึงชั่วโมงที่ 168 เป็นเวลา 7 วัน นำตัวอย่างไปสกัดเอนไซม์

การสกัดเอนไซม์

นำตัวอย่างโคจิ 50 กรัม ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 ได้สารสกัดเอนไซม์เก็บตัวอย่างสารสกัดเอนไซม์ที่สกัดได้เพื่อนำไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และเอนไซม์กลูโคแอมีเลส

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส (Onishi and Sonoda, 1979)

บ่มซับสเตรต (1 เปอร์เซ็นต์ gelatinized starch ใน 0.1 โมลาร์ Mc Ilvaine buffer (pH 3.8)) ปริมาตร 3.9 มิลลิลิตร ใน water bath อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมสารสกัดเอนไซม์ 0.1 มิลลิลิตร บ่มเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารผสมปฏิกิริยา 0.2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย 0.167 mM I_2 5 มิลลิลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis recording spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร กำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์ 1 หน่วย คือ ปริมาณของค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป 1 หน่วย ภายในเวลา 10 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคแอมีเลส (Miller, 1959)

บ่มซับสเตรต (1 เปอร์เซ็นต์ gelatinized starch ใน 0.1 โมลาร์ Mc Ilvaine buffer (pH 3.8)) ปริมาตร 3.9 มิลลิลิตร ใน water bath อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมสารสกัดเอนไซม์ 0.1 มิลลิลิตร บ่มเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารผสมปฏิกิริยา 0.2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) 0.6 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็น และเติมน้ำกลั่น 3.2 มิลลิลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis recording spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร กำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์ 1 หน่วย คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ปลดปล่อย 1 ไมโครโมลของกลูโคสจาก soluble starch ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

การผลิตโคจิข้าวภายใต้สภาวะที่เหมาะสมโดยวิธีทะกุจิด้วยเครื่องโคจิ

ทำการทดลองซ้ำการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยต่างๆ และนำสารสกัดเอนไซม์จากสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวนั้นมาทำการหากิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองเพื่อยืนยันผลการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากความชื้นเริ่มต้นของข้าวในอัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ระดับต่างๆ ที่ได้กำหนดในการทดลอง คือ 45:5, 40:10 และ35:15 พบว่า มีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 33.23 ± 0.94, 39.28 ± 0.60 และ46.00 ± 0.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิภายใต้สภาวะการทดลองจากวิธีทะกุจิ

จากการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิตามการออกแบบการทดลอง orthogonal L-9 (3^4) และนำตัวอย่างมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และกลูโคแอมีเลส พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลสมากที่สุด คือ การทดลองที่ 2 รองลงมา คือ การทดลองที่ 1, 6, 8, 9, 4, 7, 5 และ3 ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 168 (Table 3) กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคแอมีเลสมากที่สุด คือ การทดลองที่ 1 รองลงมา คือ การทดลองที่ 2, 8, 6, 4, 9, 7, 5 และ3 ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 168 (Table 3) จากการออกแบบการทดลอง พบว่า ปัจจัยของความชื้นเริ่มต้นของข้าวในอัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) มีอิทธิพลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองมากที่สุด เนื่องจากที่อัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ 45:5 (ความชื้น 33.23 ± 0.94 เปอร์เซ็นต์) มีความชื้นเริ่มต้นของข้าวที่ต่ำ ซึ่งลักษณะของข้าวหลังจากการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแล้วมีลักษณะร่วน ความหนาของชั้นข้าวไม่สูง และมีรูพรุนระหว่างเมล็ดข้าว ส่งผลให้เกิดการถ่ายอากาศภายในได้ดี แต่ในทางตรงกันข้ามที่อัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ 35:15 (ความชื้น 46.00 ± 0.52 เปอร์เซ็นต์) มีความชื้นเริ่มต้นของข้าวที่สูง ทำให้ลักษณะของข้าวมีการบวมที่มากขึ้น มีการติดกัน และความหนาของชั้นข้าวสูง ส่งผลให้การถ่ายเทอากาศภายในเป็นไปได้ยาก (Delabona *et al.*, 2013) ทำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองที่น้อยสอดคล้องกับการทดลองที่ 7, 5 และ 3 (Table 3)

Table 3 The activity of enzymes by Taguchi experimental design.

Experiments	Factor				α- amylase activity (U/g dry weight Koji)	Glucoamylase activity (U/g dry weight Koji)
	Amount of rice (kg)	Air velocity in Koji machine (m/s)	Ratio of rice (g) to water (ml)	Temperature (ºC)		
1	3	Low (6 m/s)	45:5	25-30 ºC	9.45 ± 3.29	0.07 ± 0.00
2	3	Medium (12 m/s)	40:10	30-35 ºC	10.27 ± 3.38	0.06 ± 0.01
3	3	High (18 m/s)	35:15	35-40 ºC	0.61 ± 0.01	0.01 ± 0.00
4	5	Low (6 m/s)	40:10	35-40 ºC	3.62 ± 1.15	0.03 ± 0.01
5	5	Medium (12 m/s)	35:15	25-30 ºC	1.57 ± 0.05	0.03 ± 0.00
6	5	High (18 m/s)	45:5	30-35 ºC	6.90 ± 0.04	0.04 ± 0.00
7	7	Low (6 m/s)	35:15	30-35 ºC	1.64 ± 0.13	0.02 ± 0.00
8	7	Medium (12 m/s)	45:5	35-40 ºC	5.96 ± 1.18	0.05 ± 0.00
9	7	High (18 m/s)	40:10	25-30 ºC	5.59 ± 1.63	0.03 ± 0.00

การผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิภายใต้สภาวะที่เหมาะสมจากวิธีทะกุจิ

จากการทดลองทั้งหมด 9 การทดลอง สามารถตัดสินปัจจัยที่เหมาะสมที่ดีที่สุดในการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิที่มีกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และกลูโคแอมีเลสมากที่สุด โดยสามารถหาปัจจัยที่เหมาะสมที่ดีที่สุดได้จากการหาค่าเฉลี่ยอัตราส่วน Signal to Noise (S/N Ratio) ของปัจจัยในแต่ละระดับการทดลอง โดยระดับการทดลองที่ให้ค่าเฉลี่ย S/N Ratio มากที่สุด แสดงให้เห็นว่า เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของ

ปัจจัยนั้น ซึ่งในการทดลองนี้ได้ใช้วิธีการคำนวณแบบค่าที่มากกว่าให้ผลดีกว่า (Bigger is better) จากการคำนวณในโปรแกรม Qualitek-4 พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลสมีปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด คือ ปริมาณข้าว 3 กิโลกรัม (A1) ความเร็วลมใน Koji machine ระดับกลาง (12 เมตรต่อวินาที) (B2) ความชื้นเริ่มต้นของข้าวในอัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ 45:5 (ความชื้น 33.23 ± 0.94 เปอร์เซ็นต์) (C1) และอุณหภูมิในการบ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส (D1) (Figure 1) โดยสามารถคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลสที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดได้เท่ากับ 11.21 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้งของโคจิ

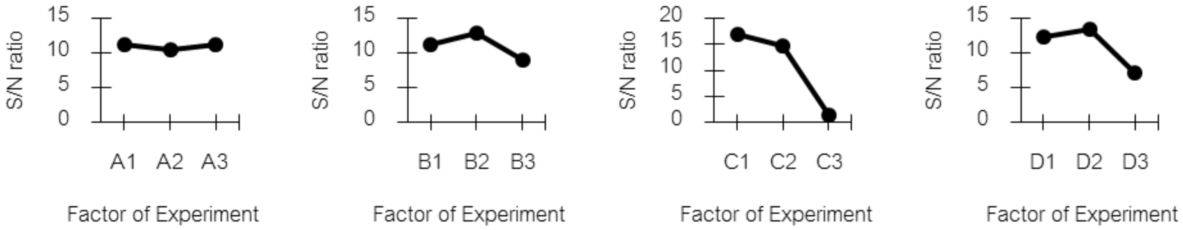


Figure 1 Effect of S/N ratio according to different levels of (A) amount of rice, (B) air velocity in Koji machine, (C) ratio of rice to water and (D) Temperature that affected α- amylase activity of *A. oryzae* in Koji machine using Taguchi's experimental design.

การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมที่ดีที่สุดในการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิที่มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคแอมีเลสมากที่สุด พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคแอมีเลสมีปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด คือ ปริมาณข้าว 3 กิโลกรัม (A1) ความเร็วลมใน Koji machine ระดับกลาง (12 เมตรต่อวินาที) (B2) ความชื้นเริ่มต้นของข้าวในอัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ 45:5 (ความชื้น 33.23 ± 0.94 เปอร์เซ็นต์) (C1) และอุณหภูมิในการบ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส (D1) (Figure 2) โดยสามารถคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคแอมีเลสที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดได้เท่ากับ 0.07 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้งของโคจิ

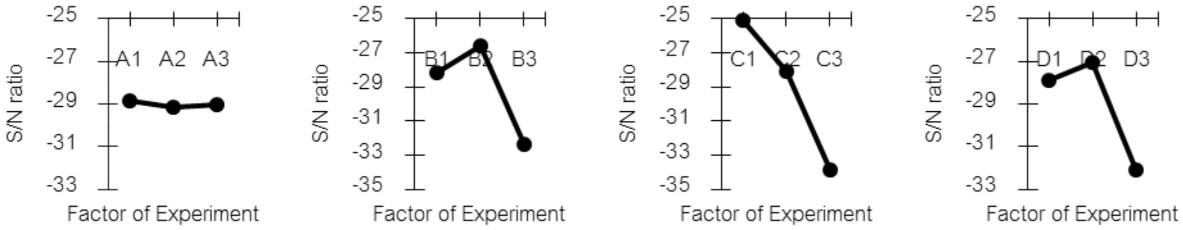


Figure 2 Effect of S/N ratio according to different levels of (A) amount of rice, (B) air velocity in Koji machine, (C) ratio of rice to water and (D) Temperature that affected glucoamylase activity of *A. oryzae* in Koji machine using Taguchi's experimental design.

การยืนยันการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิภายใต้สภาวะที่เหมาะสมจากวิธีทะกุจิ

จากการทดลองการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิ พบว่า การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโคจิข้าวที่มีกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และกลูโคแอมีเลสมากที่สุดมี

สภาวะที่เหมาะสมในระดับเดียวกัน คือ ปริมาณข้าว 3 กิโลกรัม (A1) ความเร็วลมใน Koji machine ระดับกลาง (12 เมตรต่อวินาที) (B2) ความชื้นเริ่มต้นของข้าวในอัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่ 45:5 (ความชื้น 33.23 ± 0.94 เปอร์เซ็นต์) (C1) และอุณหภูมิในการบ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส (D1) จึงทำการทดลองซ้ำเพื่อเป็นการยืนยันผลของสภาวะที่เหมาะสมที่สุด พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และกลูโคแอมีเลส เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองยืนยันผลของสภาวะที่เหมาะสมที่สุด และจากการคำนวณโดยวิธี Taguchi มีค่าใกล้เคียงกัน (Table 4) โดยค่าจากการยืนยันผลการทดลองมีค่ามากกว่าจากการคำนวณโดยวิธี Taguchi เล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าวิธี Taguchi สามารถนำมาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพในการหาปัจจัยที่เหมาะสมที่ดีที่สุดในการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิเมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลสที่ผลิตได้มีมากกว่าการทดลองของปราการ (2547) ที่ศึกษาการผลิตโคจิข้าวในระดับปฏิบัติการ โดยเพาะเลี้ยงเชื้อรา *A. oryzae* บนข้าวเจ้าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส เท่ากับ 2.00 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้งของโคจิ

Table 4 Comparison of α- amylase and glucoamylase activity between Taguchi method and actual experiment value.

Parameter	Prediction	Observation
α- Amylase (U/g dry weight Koji)	11.21	11.26 ± 0.09
Glucoamylase (U/g dry weight Koji)	0.07	0.08 ± 0.00

สรุป

การศึกษาการผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิโดยวิธีทะกุจิ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโคจิข้าวที่มีกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาแอมีเลส และกลูโคแอมีเลสมากที่สุด คือ ปริมาณข้าวที่เหมาะสมที่สุด คือ 3 กิโลกรัม ปัจจัยของความเร็วลมใน Koji machine ที่เหมาะสมที่สุด คือ ระดับกลาง (12 เมตรต่อวินาที) ปัจจัยของความชื้นเริ่มต้นของข้าวที่อัตราส่วนของข้าว (กรัม) ต่อน้ำ (มิลลิลิตร) ที่เหมาะสมที่สุด คือ 45:5 (ความชื้น 33.23 ± 0.94 เปอร์เซ็นต์) และปัจจัยของอุณหภูมิในการบ่มที่เหมาะสมที่สุด คือ 30-35 องศาเซลเซียส โดยจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สามารถผลิตโคจิข้าวด้วยเครื่องโคจิได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อนำโคจิข้าวไปใช้ในการย่อยแป้งในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้ เช่น น้ำส้มสายชู สาเก เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

ปราการ เลาหวัฒนาวณิชย์. 2547. **การใช้ข้าวเจ้าคุณภาพต่ำในการผลิตซีอิ๊วญี่ปุ่น**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตศาสตร์.

Chancharoonpong, C., P.C. Hsieh and S.C. Sheu. 2012. Effect of Different Combinations of Soybean and Wheat Bran on Enzyme Production from *Aspergillus oryzae* S. **APCBEE Procedia**. 2: 68-72.

Delabona, P.D.S., R.D.P.B. Pirota, C.A. Codima, C.R. Tremacoldi, A. Rodrigues and C.S. Farinas, 2013. Effect of Initial Moisture Content on Two Amazon Rainforest *Aspergillus* Strains Cultivated on Agro-Industrial Residues: Biomass-Degrading Enzymes Production and Characterization. **Ind Crops Prod**. 42: 236-242.

Ito, K, T. Kawase, H. Sammoto, K. Gomi, M. Kariyama and T. Miyake. 2011. Uniform Culture in Solid-State Fermentation with Fungi and Its Efficient Enzyme Production. **J Biosci Bioeng**. 111(3): 300-305.

Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Anal Chem**. 31(3): 426-428.

Onishi, H. and K. Sonoda. 1979. Purification and Some Properties of an Extracellular Amylase from a Moderate Halophile, *Micrococcus halobius*. **Appl Environ Microbiol**. 38(4): 616-620.

Roy, R.K. 2001. Design of Experiments Using the Taguchi Approach: 16 Steps to Product and Process Improvement. **John Wiley & Sons.**

ผลของการใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามต่อสมบัติทางกายภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม

Effect of Microwave Treatment in Heating Tamarind Seed on Physical Properties of Tamarind Kernel Powder

ศุภวัฒน์ สะถามันต์[1] เทพกัญญา หาญศีลวัต[1*] พิสิฏฐ์ ธรรมวิถี[1] และ ศุภกิตต์ สายสุนทร[2]

Suppawat Sathamun[1], Thepkunya Harnsilawat[1*], Pisit Dhamvithee[1] and Supakit Sayasoonthorn[2]

บทคัดย่อ

การแยกเปลือกสีน้ำตาลออกจากเมล็ดมะขามเป็นขั้นตอนที่สำคัญของกระบวนการผลิตแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม ไมโครเวฟเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สามารถให้ความร้อนในระยะเวลาอันสั้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามต่อสมบัติทางกายภาพบางประการของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม โดยใช้กำลังไฟฟ้าและเวลาในการให้ความร้อน คือ 600 และ 800 วัตต์ เป็นเวลา 1.5 และ 2.5 นาที จากนั้นแยกเปลือกสีน้ำตาลออก นำเนื้อในเมล็ดมะขามมาบดละเอียดจนได้เป็นแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม จากการศึกษา พบว่า เมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าและเวลาในการให้ความร้อนเมล็ดมะขามจะทำให้ได้ปริมาณผลผลิตแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามเพิ่มขึ้น ในขณะที่สมบัติทางกายภาพบางค่ามีค่าลดลง ได้แก่ ค่า a_w ค่าความสว่าง (L*) และค่า hue ค่าสมบัติเพสติ้ง (peak viscosity, trough, final viscosity และค่า setback) รวมถึงความหนืดของสารละลายแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามมีค่าลดลง (P□0.05) เนื่องจากไมโครเวฟเป็นกระบวนการที่ให้ความร้อนอย่างรวดเร็วจึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจสำหรับประยุกต์ในขั้นตอนการแยกเปลือกสีน้ำตาลเพื่อผลิตแป้งเมล็ดมะขามในอุตสาหกรรม

ABSTRACT

Separation of brown seed coat from tamarind is an important step in tamarind kernel powder (TKP) production. Microwave is the suitable method that can generate heating under the short time. The purpose of this study was to investigate the effect of microwave treatment in heating tamarind seed on some physical properties of TKP by varying microwave power (600 watt and 800 watt) and time (1.5 min. and 2.5min.). The results revealed that increasing microwave power and time led to an increase of TKP yield, while some physical properties were decreased such as a_w, lightness (L*), hue value, pasting properties (peak viscosity, trough, final viscosity and setback) and viscosity of TKP solution (P□0.05). Since microwave is the quick heating process therefore it is an interesting to apply in the separation of brown seed coat step for producing TKP used in the industry.

Key Words: tamarind kernel powder, microwave, physical properties, pasting properties

[*] Corresponding author; e-mail address: fagityh@ku.ac.th

[1]ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

[2]ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Department of Farm Mechanics, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900

คำนำ

แป้งเนื้อในเมล็ดมะขามเป็นแป้งที่ได้จากเอ็นโดสเปิร์มของเมล็ดมะขาม มีลักษณะเป็นผงสีขาวครีม เนื้อละเอียด สามารถกระจายตัวและรวมตัวกับน้ำเย็นได้อย่างรวดเร็ว มีความสามารถในการให้ความหนืดและเกิดเจลได้ (Kumar and Bhattacharya, 2008) แป้งเนื้อในเมล็ดมะขามสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ใช้เป็นสารให้ความหนืดและสารช่วยในการเกิดเจลที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร หรือเป็นสารต้านทานการซึมผ่านของของเหลวและสารช่วยในการยึดติดที่ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นต้น (วันเช็ง, 2553) กระบวนการผลิตแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามทำโดยการทำแห้งเมล็ดมะขามและนำไปบดเป็นผง โดยจะต้องทำการแยกเปลือกสีน้ำตาลของเมล็ดมะขามออกก่อนเพื่อให้ได้เฉพาะแป้งจากเนื้อในของเมล็ดมะขาม แต่ด้วยความแข็งของเมล็ดมะขาม การแยกเปลือกออกจึงเป็นเรื่องที่ยาก และเพื่อให้ง่ายต่อการแยกเปลือกจึงจำเป็นต้องผ่านขั้นตอนต่างๆ เช่น การอบ การใช้ไมโครเวฟ การต้ม หรือการแช่ในสารละลายเพื่อให้สามารถแยกเปลือกของเมล็ดมะขามออกได้ (พวงเพ็ชร, 2522; ชิตสุดา, 2547; หนึ่งฤทัย, 2552; ศุภลักษณ์, 2555) ในการศึกษาสมบัติทางกายภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม พบว่า ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการเตรียมก่อนกระบวนการแยกเปลือกเมล็ดมะขามส่งผลต่อคุณภาพของแป้ง เช่น ค่าสี ความหนืด (Pulungan *et al.*, 2001) ซึ่งเป็นสมบัติที่สำคัญต่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ เพื่อเป็นการควบคุมและเพิ่มประสิทธิภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม

การใช้ไมโครเวฟเป็นวิธีการที่รวดเร็วและเป็นกระบวนการที่ไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อธรรมชาติ (Clark *et al.*, 2014) จากงานวิจัยของศุภลักษณ์ (2555) พบว่า การใช้ไมโครเวฟเป็นกระบวนการที่ให้ปริมาณแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม (ปริมาณผลผลิต) และค่าความหนืดที่สูงกว่ากระบวนการให้ความร้อนโดยการต้ม แต่ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมต่อปริมาณผลผลิต และสมบัติทางกายภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามจากการให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามต่อสมบัติทางกายภาพบางประการของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม โดยแปรเปลี่ยนกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนโดยไมโครเวฟ

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

เมล็ดมะขามที่ใช้ในการศึกษาเป็นเมล็ดมะขามที่ได้จากกระบวนการแปรรูปน้ำมะขามเปียก โดยแยกเนื้อมะขามออก ทำการคัดเลือกเฉพาะเมล็ดที่สมบูรณ์ไม่แตกหักและไม่มีรอยแมลงกัดแทะ นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง เพื่อลดความชื้นของเมล็ดมะขามให้มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 11 และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

การศึกษาผลของการใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามต่อสมบัติทางกายภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม

ทำการศึกษากำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการอบเมล็ดมะขามด้วยไมโครเวฟก่อนการกะเทาะเปลือก โดยการนำเมล็ดมะขามที่ผ่านการอบแห้งปริมาณ 100 กรัม มาทำการอบด้วยไมโครเวฟ (Samsung, ME711K, กำลังไฟฟ้าสูงสุด 800 วัตต์) ที่กำลังไฟฟ้า 600 และ 800 วัตต์ นาน 1.5 และ 2.5 นาที (ดัดแปลงจาก ศุภลักษณ์, 2555) หลังจากผ่านการอบ นำเมล็ดมะขามไว้ในถาดและทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำไปกะเทาะเปลือก

หุ้มเมล็ดมะขามออกด้วยเครื่องปั่นผสมอาหาร (Severin, SEV-3881) ที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที แยกเฉพาะส่วนเนื้อในเมล็ดมะขามออกมาชั่งน้ำหนักและจดบันทึกเป็นปริมาณผลผลิตที่ได้ (%Yield) จากนั้นนำเนื้อในเมล็ดมะขามไปบดเป็นผงละเอียด และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช บรรจุแป้งเนื้อเมล็ดมะขามในถุงพลาสติกพอลิโพรพิลีน และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

การศึกษาสมบัติทางกายภาพต่าง ๆ ของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม

นำตัวอย่างแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่เตรียมไว้มาทำการศึกษาสมบัติทางกายภาพ โดยการเปรียบเทียบกับตัวอย่างแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามทางการค้า ดังนี้

1. วอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w)

นำตัวอย่างแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามใส่ภาชนะพลาสติกประมาณ 2 ใน 3 ของภาชนะเพื่อวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (Aqua Lab, CX3 TE) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อตัวอย่างถึงสมดุล รอประมาณ 2-3 นาที จึงอ่านค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (ดัดแปลงจาก Fasoyiro *et al.*, 2016)

2. ค่าสี

นำตัวอย่างผงเนื้อในเมล็ดมะขามเติมลงในจานแก้วใส (Petri dish) สำหรับการวัดค่าสี ประมาณ 2 ใน 3 ของภาชนะวัดค่าสีแบบสะท้อนกลับ (Reflectance) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer (Minolta, CM-3500d) ในระบบ CIE L*, a*, b* ใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 (ดัดแปลงจาก Dadali *et al.*, 2007)

3. สมบัติเพสติ้ง (Pasting properties)

เตรียมแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ทราบความชื้นบรรจุลงในภาชนะสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA-4, Newport) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 ให้ความร้อนเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเพิ่มระดับความร้อนขึ้นไปจนถึงอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ควบคุมให้ระบบมีอุณหภูมิคงที่เป็นเวลา 5 นาที แล้วลดอุณหภูมิลงเป็น 50 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจาก Kuar *et al.*, 2013)

4. ความหนืดและพฤติกรรมการไหล

เตรียมตัวอย่างสารละลายแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก นำตัวอย่างมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยเริ่มจับเวลาเมื่ออุณหภูมิกึ่งกลางของสารละลายเท่ากับ 95 องศาเซลเซียส ทิ้งสารละลายให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปวัดค่าความหนืดและพฤติกรรมการไหลด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield, DV-III Ultra) โดยใช้หัวเข็มเบอร์ 27 กับ small sample adapter ในการวัด ที่อัตราเฉือน 3.4-85 s^{-1} บันทึกค่าความหนืดทุก 30 วินาที (ดัดแปลงจาก Bhattacharya *et al.*, 1991)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของกระบวนการผลิตด้วยไมโครเวฟต่อสมบัติทางกายภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม

จากการศึกษากระบวนการผลิตแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามด้วยไมโครเวฟ ในส่วนของปริมาณผลผลิต (% Yield) และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) พบว่า กำลังไฟฟ้าและเวลามีปฏิกิริยาสัมพันธ์กันโดยเมื่อใช้กำลังไฟฟ้าเพิ่มขึ้นและเวลาที่นานขึ้นจะส่งผลต่อปริมาณผลผลิตและค่า a_w อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (Table 1) เนื่องจากคลื่นไมโครเวฟมีกลไกการทำให้เกิดความร้อนโดยการทำให้โมเลกุลของน้ำเกิดการสลับขั้วไปมาในทิศทางตรงกัน

ข้ามอย่างรวดเร็ว เกิดการขัดสีกันของโมเลกุลภายในโครงสร้างของแป้ง เกิดความร้อนขึ้นสูงในระยะเวลาที่รวดเร็วพร้อมกันทั้งเมล็ด (Clark *et al.*, 2014) ซึ่งส่งผลให้ค่า a_w ที่ได้มีค่าลดลง เนื่องจากเมล็ดมะขามมีเปลือกหุ้มที่ติดแน่นอยู่กับเนื้อในเมล็ดมะขามทำให้ยากแก่การแยกเปลือกออก เมื่อได้รับความร้อน เช่น การคั่ว จะทำให้เกิดช่องว่างขึ้นระหว่างเปลือกหุ้มและเนื้อในเมล็ดมะขาม การแยกเปลือกออกจึงทำได้ง่ายขึ้น (Kumar and Bhattacharya, 2008) ปริมาณของผลผลิตที่ได้จึงมีความสัมพันธ์กันกับความร้อนที่เมล็ดมะขามได้รับจากระดับกำลังไฟฟ้าและระยะเวลาที่ใช้ในการอบเมล็ดมะขามด้วยไมโครเวฟ

Table 1 Effect of microwave treatment on yield and water activity (a_w) of tamarind kernel powder.

Parameter	Time (min.)	Microwave power (watt)		Commercial sample
		600	800	
Yield (%)	1.5	17.67 ± 1.34^{bB}	50.59 ± 1.78^{aB}	-
	2.5	51.27 ± 3.19^{bA}	61.13 ± 0.58^{aA}	
a_w	1.5	0.46 ± 0.02^{aA}	0.43 ± 0.01^{bA}	0.44±0.00
	2.5	0.43 ± 0.02^{aB}	0.31 ± 0.01^{bB}	

Means within a column $^{(A\text{-}B)}$ and row $^{(a\text{-}b)}$ under each factor, means followed by a same letter are not significantly difference (P≤0.05).

Table 2 แสดงค่าสีของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม เมื่อพิจารณาผลของกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามต่อค่าความสว่าง (L*) ค่าความเป็นสีแดง (a*) ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ค่าความเข้มสี (C*) และค่าเฉดสี (°h) ของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม พบว่า กำลังไฟฟ้าและเวลามีปฏิกิริยาสัมพันธ์กัน ซึ่งส่งผลให้ค่า L* และ °h ลดลง โดยที่ค่า a*, b* และ C* จะเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการอบเมล็ดมะขามจะส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลขึ้นในแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม โดยที่จะทำให้มีรงควัตถุสีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นตามระดับของกำลังไฟและระยะเวลาที่ใช้ในการอบ (Dadali *et al.*, 2007) ซึ่งหากเปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า แป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ใช้กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ เป็นเวลา 1.5 นาที จะมีค่าสีที่ใกล้เคียงกับตัวอย่างทางการค้ามากที่สุด โดยแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ใช้กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ เป็นเวลา 1.5 นาที มีค่า °h อยู่ที่ 84.38±0.00 ซึ่งอยู่ในเฉดสีเหลือง ส่วนแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ใช้กำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ เป็นเวลา 2.5 นาที มีค่าอยู่ที่ 77.64±0.01 ซึ่งอยู่ในเฉดสีส้มแดง แสดงว่าการเพิ่มกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการอบเมล็ดมะขามจะทำให้สีของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ได้เปลี่ยนจากเฉดสีเหลืองไปสู่เฉดสีส้มแดงได้มากขึ้น

Table 2 Effect of microwave treatment on color of tamarind kernel powder.

Color	Time (min.)	Microwave power (watt) 600	Microwave power (watt) 800	Commercial sample
L*	1.5	84.43±0.09^{aA}	81.73±0.04^{bA}	87.85±0.12
	2.5	82.98±0.10^{aB}	75.88±0.14^{bB}	
a*	1.5	1.39±0.00^{bB}	2.37±0.01^{aB}	0.53±0.04
	2.5	1.97±0.00^{bA}	4.75±0.03^{aA}	
b*	1.5	14.14±0.02^{bB}	16.84±0.08^{aB}	12.16±0.21
	2.5	15.98±0.07^{bA}	21.67±0.13^{aA}	
C*	1.5	14.21±0.02^{bB}	17.00±0.08^{aB}	12.17±0.21
	2.5	16.10±0.07^{bA}	22.19±0.13^{aA}	
°h	1.5	84.38±0.00^{aA}	81.98±0.01^{bA}	87.52±0.16
	2.5	82.96±0.04^{aB}	77.64±0.01^{bB}	

Means within a column $^{(A-B)}$ and row $^{(a-b)}$ under each factor, means followed by a same letter are not significantly difference ($P \leq 0.05$).

เมื่อพิจารณาผลของกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามต่อสมบัติเพสติ้งของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า (Table 3) พบว่า กำลังไฟฟ้าและเวลามีปฏิกิริยาสัมพันธ์กัน เมื่อกำลังไฟฟ้าและเวลาเพิ่มขึ้นจะให้ค่าแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงความหนืดในทิศทางเดียวกัน โดยที่การอบด้วยไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ นาน 1.5 นาที ให้ค่า peak (ความหนืดสูงสุด), trough (ความหนืดต่ำสุด), final viscosity (ความหนืดสุดท้าย) รวมถึงค่า setback (การคืนตัว) สูงที่สุด ($P \leq 0.05$) ในขณะที่การอบกำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ นาน 2.5 นาที มีค่า breakdown (ความหนืดสูงสุด-ความหนืดต่ำสุด) สูงที่สุด การเพิ่มกำลังไฟฟ้า และระยะเวลาในการอบจะทำให้ค่า breakdown ของแป้งสูงขึ้น ซึ่งค่า breakdown เป็นค่าที่แสดงถึงความแข็งแรงของเม็ดแป้ง โดยถ้าค่า breakdown สูงจะเป็นการบ่งบอกถึงความแข็งแรงของเม็ดแป้งที่ต่ำ หากพิจารณาจาก setback ของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ผ่านการอบด้วยไมโครเวฟเปรียบเทียบกับตัวอย่างทางการค้า พบว่า การอบเมล็ดมะขามด้วยไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ นาน 1.5, 2.5 นาที และ 800 วัตต์ นาน 1.5 นาที จะมีค่า setback ที่สูงกว่า ซึ่งอาจมีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้ง ทำให้การจัดเรียงตัวกันใหม่เป็นผลึกของอนุภาคภายในโครงสร้างของแป้งเกิดได้เร็วขึ้นกว่าตัวอย่างทางการค้า (Kuar *et al.*, 2013)

Table 3 Effect of microwave treatment on pasting properties of tamarind kernel powder.

Pasting properties (cP)	Time (min.)	Microwave power (watt) 600	800	Commercial sample
Peak	1.5	687.75±1.77^{aA}	669.00±2.83^{bA}	523.00±5.29
	2.5	680.75±9.55^{aB}	653.25±1.77^{bB}	
Trough	1.5	632.00±2.12^{aA}	589.25±1.77^{bA}	420.00±4.58
	2.5	605.75±7.42^{aB}	472.25±3.18^{bB}	
Breakdown	1.5	55.75±0.35^{bB}	79.75±4.60^{aB}	103.67±6.66
	2.5	75.00±2.12^{bA}	181.00±1.41^{aA}	
Final viscosity	1.5	1576.00±9.19^{aA}	1493.50±2.83^{bA}	1145.00±5.57
	2.5	1536.50±9.19^{aB}	1183.75±0.35^{bB}	
Setback	1.5	944.00±7.07^{aA}	904.25±1.06^{bA}	727.67±4.62
	2.5	930.75±1.77^{aB}	711.50±3.54^{bB}	

Means within a column $^{(A-B)}$ and row $^{(a-b)}$ under each factor, means followed by a same letter are not significantly difference (P≤0.05).

จากสมการ Power law (R^2 = 0.993-0.997) พบว่า ตัวอย่างสารละลายแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามที่ใช้ในการทดลองมีค่า Flow behavior index เท่ากับ 0.732-0.806 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างสารละลายแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม มีพฤติกรรมการไหลแบบนอน–นิวโทเนียน ประเภทซูโดพลาสติก (Bhattacharya *et al.*, 1991) เมื่อเพิ่มอัตราการเฉือน ค่าความเค้นเฉือนจะเพิ่มขึ้น (Figure 1) โดยพบว่ากำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการอบด้วยไมโครเวฟไม่มีผลต่อพฤติกรรมการไหลของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม

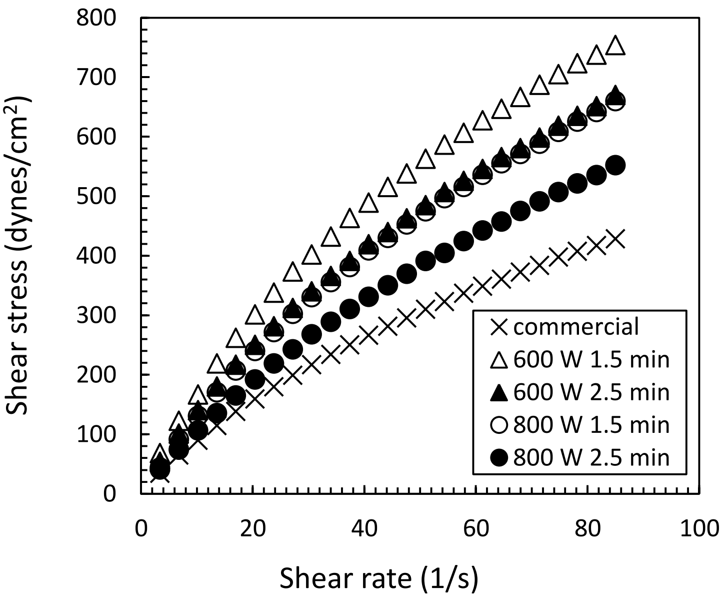


Figure 1 Effect of microwave treatment on flow behavior of tamarind kernel powder solution.

Table 4 แสดงผลค่าความหนืดของสารละลายแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม พบว่า กำลังไฟฟ้าและเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อความหนืดของสารละลายของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาที่อัตราเฉือนเดียวกัน (50 s^{-1}) สารละลายแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามการอบที่กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ นาน 1.5 นาที มีค่าความหนืดสูงที่สุด (1089.83±12.07 cP) และเมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ สารละลายแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามมีค่าความหนืดลดลง ซึ่งกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการอบมีปฏิกิริยาสัมพันธ์กัน ($P \leq 0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลความหนืดกับตัวอย่างทางการค้า พบว่า ตัวอย่างทางการค้ามีค่าความหนืดน้อยกว่า (607.23±2.54 cP) ค่าความหนืดที่แตกต่างกันอาจเป็นผลมาจากพันธะไฮโดรเจนภายในโครงสร้างของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามได้รับความเสียหายจากความร้อนระดับต่างๆ ซึ่งส่งผลให้ความแข็งแรงของเม็ดแป้งลดลงความหนืดของแป้งจึงลดลงตามไปด้วย (Pulungan *et al.*, 2001) เนื่องจากการใช้คลื่นไมโครเวฟจะทำให้เกิดความร้อนอย่างรวดเร็วพร้อมกันทั้งเมล็ด (Clark *et al.*, 2014) การเพิ่มกำลังไฟฟ้าและระยะเวลาในการอบเมล็ดมะขามด้วยไมโครเวฟจึงมีผลให้แป้งเนื้อในเมล็ดมะขามได้รับความร้อนมากขึ้น ความหนืดที่เกิดขึ้นจึงลดลง

Table 4 Effect of microwave treatment on viscosity (cP) of tamarind kernel powder solution.

Time (min.)	Microwave power (watt)		Commercial sample
	600	800	
1.5	1089.83 ± 12.07^{aA}	942.55 ± 14.73^{bA}	607.23±2.54
2.5	985.95 ± 12.94^{aB}	708.32 ± 10.11^{bB}	

Means within a column $^{(A-B)}$ and row $^{(a-b)}$ under each factor, means followed by a same letter are not significantly difference ($P \leq 0.05$).

สรุป

กำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามและมีปฏิกิริยาสัมพันธ์กัน เมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าและเวลาในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามทำให้ได้ปริมาณผลผลิตแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามเพิ่มขึ้น ในขณะที่สมบัติทางกายภาพบางค่ามีค่าลดลง ได้แก่ ค่า a_w ค่าความสว่างและค่า hue ค่าสมบัติเพสติ้ง (peak viscosity, trough, final viscosity และค่า setback) รวมถึงความหนืดของสารละลายน้ำแป้งเนื้อในเมล็ดมะขามมีค่าลดลง แต่ยังคงมีค่าสมบัติเพสติ้ง และความหนืดที่สูงกว่าตัวอย่างทางการค้า ซึ่งจากการทดลองนี้การอบเมล็ดมะขามด้วยกำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ นาน 2.5 นาที จะเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตที่มากกว่าร้อยละ 50 และมีค่าสีที่ใกล้เคียงกับตัวอย่างทางการค้า รวมถึงสมบัติทางกายภาพอื่นๆ ที่สูงกว่า การใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อนแก่เมล็ดมะขามจึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจสำหรับการประยุกต์ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งเนื้อในเมล็ดมะขาม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัท สยามออริจินัลฟู้ด จำกัด ที่สนับสนุนด้านวัตถุดิบและค่าใช้จ่ายสำหรับงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ชิตสุดา ชัยศักดานุกูล. 2547. **การศึกษาคุณสมบัติของโอลิโกแซคคาไรด์จากกัมของเมล็ดมะขาม.** งานวิจัยหลังปริญญาเอก สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย. มหาวิทยาลัยรังสิต.

วันเช็ง สิทธิกิจโยธิน. 2553. **ทามารีนกัมจากเมล็ดมะขาม.** พระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 20 (1): 173-180.

พวงเพ็ชร นิธยานนท์. 2522. **การผลิตและใช้ประโยชน์จากกัมของเมล็ดมะขาม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

หนึ่งฤทัย รงค์ทอง. 2552. **อิทธิพลของการทำแห้งด้วยไมโครเวฟต่อคุณภาพของแป้งเม็ดมะขามและไซโลกลูแคน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศุภลักษณ์ เทพรินทร์. 2555. **การเตรียมผงสีสำหรับการย้อมและสารข้นที่มีสมบัติในการกั้นสีสำหรับการพิมพ์สีพิกเมนท์จากเมล็ดมะขาม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Bhattacharya, S., S. Bal, R.K. Mukherjee and S. Bhattacharya. 1991. Rheological behavior of tamarind (*Tamarindus indica*) kernel powder (TKP) suspension. **Journal of Food Engineering.** 13: 15 1-15 8.

Clark, S., S. Jung and B. Lamsal. 2014. **Food Processing Principles and Applications.** John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Dadali, G., E. Demirhan and B. Ozbek. 2007. Color change kinetics of spinach undergoing microwave drying. **Drying Technology.** 25: 1713–1723.

Fasoyiro, S., R. Hovingh, H. Gourama and C. Cutter. 2016. Change in water activity and fungal counts of maize-pigeon pea flour during storage utilizing various packaging materials. **Procedia Engineering.** 159: 72-76.

Kuar, M., K.S. Singh and J. Kaur. 2013. Pasting properties of tamarind (*Tamarindus indica*) kernel powder in the presence of xanthan, carboxymethylcellulose and locust bean gum in comparison to rice and potato flour. **Journal of Food Science and Technology.** 50(4): 809–814.

Kumar, C.S. and S. Bhattacharya.2008. Tamarind seed: properties, processing and utilization. **Food Science and Nutrition.** 48: 1-20.

Pulungan, M.H., E.F. Sukardi, S. Maryani, N. Atifah and N. Sucipto. 2001. Tamarind kernel powder (*Tamarindus indica*) processing (reviews on roasting temperature and roasting duration). **Journal Teknologi Pertanian.** 2(3): 150-158.

Turan, D., E. Capanoglu and F. Altay. 2015. Investigating the effect of roasting on functional properties of defatted hazelnut flour by response surface methodology (RSM). **LWT - Food Science and Technology.** 63: 758-765.

การพัฒนากระบวนการผลิตเนยมะพร้าวและโปรตีนมะพร้าวเข้มข้นจากกะทิสด

Process Development for Coconut Butter and Coconut Protein Concentrate Production

ธนธรณ์ เกิดสวัสดิ์[1] และ ปาริฉัตร หงสประภาส[1*]

Thanathorn Kirdsawasd[1] and Parichat Hongsprabhas[1*]

บทคัดย่อ

กะทิสดเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีความเข้มข้นของไขมันสูงประมาณ 29 wt% จากการนำกะทิไปเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบจาน ได้ครีมกะทิซึ่งมีไขมัน 34 wt% และหางกะทิซึ่งตรวจไม่พบไขมัน ครีมกะทิและหางทิใช้สำหรับผลิตเนยมะพร้าวและโปรตีนมะพร้าวเข้มข้นตามลำดับ จากการศึกษาผลของการผลิตเนยมะพร้าวโดยการกลับเฟสของอิมัลชันโดยการอัดอากาศ และคุณสมบัติเชิงโมเลกุลของโปรตีนที่ได้จากผลิตภัณฑ์ร่วม พบว่าการกลับเฟสโดยการอัดอากาศสามารถผลิตเนยมะพร้าว โดยมีปริมาณผลได้ 49 wt% ของครีมกะทิ และการใช้ซูโครสโมโนสเตียเรทและซูโครสโมโนปาล์มมิเตท 0.05 – 1.00 wt% ของครีมกะทิไม่ส่งผลต่อปริมาณผลได้ของเนยมะพร้าว อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของซูโครสโมโนสเตียเรทในครีมกะทิทำให้ปริมาณเนยมะพร้าวที่ผลิตได้ลดลงจาก 49 wt% ของครีมกะทิเมื่อไม่ใส่สารลดแรงตึงผิวเป็น 43.5 wt% ของครีมกะทิ ($P \leq 0.05$) โปรตีนกะทิเข้มข้นที่ผลิตได้จากการตกตะกอนโปรตีนในหางกะทิที่จุดไอโซอิเล็กทริกจากบัตเตอร์มิลค์มะพร้าวที่ได้จากการผลิตเนยมะพร้าว และจากเวย์มะพร้าวมีโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลแตกต่างกัน

ABSTRACT

Fresh coconut milk, an oil-in-water (o/w) emulsion, contained high fat content of 29 wt%. The coconut milk was fractionated into coconut cream and coconut skim milk by a disc bowl centrifuge. Fat content in coconut cream was approximately 34 wt%; while coconut skim milk contained no fat. Coconut cream and coconut skim milk were used as raw materials for coconut butter and coconut protein concentrate (CPC) production, respectively. Coconut butter was produced by phase inversion process using aeration. The molecular weight (MW) profiles of proteins in the co-products from coconut butter production were investigated. Use of small molecular weight surfactants, i.e. sucrose monostrearate and sucrose monopalmitate at 0.05 – 1.00 wt% of coconut cream, did not affect the yield of coconut butter ($P > 0.05$). Production yield of butter was at 49 wt% of coconut cream. However, increasing the concentration of sucrose monostearate reduced the production yield of coconut butter from 49 wt% to 43.5 wt% of coconut cream ($P \leq 0.05$). The proteins in CPC, coconut buttermilk and coconut whey were found to have different MW profiles.

Key Words: Butter, Coconut, Milk, Protein, Phase Inversion, Surfactant

* Corresponding author; e-mail address: parichat.h@ku.ac.th

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

กะทิเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการประกอบอาหารหลากหลายชนิด ปริมาณการส่งออกกะทิของประเทศคิดเป็นร้อยละ 20 ของการผลิตทั้งหมดในโลก (Smith *et al.*, 2009) กะทิสดเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตน้ำมันมะพร้าวโดยใช้หลักการทำลายความคงตัวของอิมัลชันในน้ำกะทิด้วยกระบวนการหมัก ซึ่งจะสามารถผลิตน้ำมันมะพร้าวชนิด virgin oil ซึ่งมีคุณภาพสูงได้ในเวลา 24 – 72 ชั่วโมง (Satheesh and Prasad, 2014) นอกจากนั้นกากที่เหลือจากการคั้นกะทิยังใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันมะพร้าวโดยใช้การบีบอัดด้วย screw press น้ำมันมะพร้าวที่ได้นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อาหาร สารตั้งต้นไบโอดีเซล เชื้อเพลิง น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ น้ำมันหม้อแปลง สารกำจัดวัชพืช หรือเป็นวัตถุดิบในการผลิตสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร นอกเหนือจากการนำน้ำมันมะพร้าวไปใช้ในอุตสาหกรรมดังกล่าวข้างต้นแล้ว ในต่างประเทศยังมีผลิตภัณฑ์เนยมะพร้าว (coconut butter) เพื่อใช้เป็นแหล่งไขมันสำหรับผลิตภัณฑ์ขนมอบเพื่อลดการใช้ไขมันที่ผ่านกระบวนการไฮโดรจิเนชันและไขมันทรานส์

เนยมะพร้าวเป็นอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil emulsion) ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการผลิตเนยมะพร้าวจากกะทิโดยอาศัยหลักการกลับเฟส (phase inversion) ของอิมัลชันด้วยการอัดอากาศ (aeration) เป็นที่ทราบกันว่ากะทิเป็นอิมัลชันที่มีโปรตีนมะพร้าวและฟอสโฟลิปิดส์ทำหน้าที่เป็นสารอิมัลซิไฟตามธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพสูง โดยทั่วไปโปรตีนในพืชน้ำมันแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือ โปรตีนสะสม (storage proteins) เช่น แอลบิวมิน กลอบูลิน โพรลามิน กลูเตลิน-1 และกลูเตลิน-2 (Kwon *et al.*, 1996) และโปรตีนที่ห่อหุ้มหยดน้ำมันที่มีอยู่ตามธรรมชาติของพืชหรือออยล์บอดีส์ (oil bodies) (Li and Fan, 2008; Napier *et al.*, 1996) การทำลายความคงตัวของอิมัลชันที่รักษาความคงตัวด้วยโปรตีน สามารถทำได้โดยลดความแข็งแรงและความหนาของผิวสัมผัสร่วมระหว่างน้ำและน้ำมัน โดยอาศัยหลักการแทนที่โปรตีนด้วยสารลดแรงตึงผิวขนาดเล็ก (protein displacement) (Dickinson and Tanai, 1992) ร่วมกับการตีอัดอากาศ เพื่อให้หยดน้ำมันในกะทิที่มีผิวสัมผัสร่วมที่เป็นชั้นโปรตีนบางลงมาล้อมรอบฟองอากาศและหลอมรวมบางส่วน (partial coalescence) ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม การตีอัดอากาศที่มีไขมันหลอมรวมบางส่วนจนฟองอากาศแตก จะทำให้การหลอมรวมของไขมันและน้ำมันในที่สุดและเกิดการแยกตัวของไขมันออกจากเฟสของน้ำซึ่งเรียกว่าบัตเตอร์มิลค์ (butter milk) ไขมันที่หลอมรวมกันจนเกิดเป็นเฟสต่อเนื่องล้อมรอบหยดน้ำเอาไว้ เฟสต่อเนื่องที่อุดมไปด้วยน้ำมันจะเกิดการแข็งตัวเรียกว่าเม็ดเนย (butter granule) แยกตัวออกจากเฟสของน้ำ

อย่างไรก็ตามในการแยกไขมันออกจากกะทิ ผลิตภัณฑ์ร่วม (co-products) จากกระบวนการแยกจะยังคงมีโปรตีน น้ำตาล และเกลือแร่ละลายอยู่ งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาคุณลักษณะของโปรตีนในเฟสต่างๆ ของกะทิและหางกะทิ ข้อมูลจากการศึกษาวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในเรื่องของการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากกะทิต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

กะทิคั้นสดจากตลาดสดศรีดินแดง กรุงเทพมหานคร ซูโครสโมโนสเตียเรท (sucrose monostearate) และ ซูโครสโมโนปาล์มมิเตท (sucrose monopalmitate) มีค่า HLB เท่ากับ 1 ได้รับอนุเคราะห์จากบริษัท Mitsubishi-Kagaku Foods (Tokyo, Japan) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของกะทิ ครีมกะทิ หางกะทิ บัตเตอร์มิลค์มะพร้าว และเวย์มะพร้าว โดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl (AOAC, 2000) และใช้ N-factor 5.30 หรือ Lowry (Lowry *et al*., 1951) หรือ Bradford (Bradford, 1976) ในตัวอย่างตามความเหมาะสมกับปริมาณไขมันที่คงเหลือ วิเคราะห์ปริมาณไขมันในกะทิโดยวิธี Babcock (Herried, 1942) ปริมาณของแข็งทั้งหมดคำนวณจากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

กระบวนการผลิตเนยมะพร้าวและผลิตภัณฑ์ร่วมจากกะทิสด

เตรียมตัวอย่างเนยมะพร้าวและผลิตภัณฑ์ร่วมดังสรุปใน Figure 1 คั้นกะทิจากเนื้อมะพร้าวแก่น้ำหนัก 3 กิโลกรัมด้วยเครื่อง Hydraulic Press โดยไม่ผสมน้ำ เหวี่ยงแยกครีมด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบจาน (Disc Bowl Centrifuge, Armfield, Hampshire, England) ที่อุณหภูมิ 27 ^{o}ซ ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ได้ครีมกะทิ (coconut cream) และหางกะทิ (coconut skim milk) นำครีมกะทิปริมาณ 200 กรัมไปลดอุณหภูมิ 7 – 10 ^{o}ซ เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตีอัดอากาศ (aeration) ด้วยเครื่อง Hand Blender (Multiquick 3 MR300 soup: Braun, Kronberg, Germany) ที่อุณหภูมิ 7 – 10 ^{o}ซ เม็ดเนยมะพร้าว (coconut butter granule) จะแยกชั้นออกจากเฟสของน้ำ นวดและล้างเม็ดเนยร่วมกับน้ำที่เติม 500 กรัม ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ จนเม็ดเนยจับตัวกันเป็นก้อนเนย น้ำจากกระบวนการนวดและล้างเนยมะพร้าวที่ได้เรียกว่าบัตเตอร์มิลค์มะพร้าว (coconut buttermilk)

ในการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวซูโครสโมโนสเตียเรทและซูโครสโมโนปาล์มมิเตทต่อปริมาณผลผลิตเนยมะพร้าว หลอมเหลวสารลดแรงตึงผิวที่อุณหภูมิ 80 ^{o}ซ เป็นระยะเวลา 10 นาที แล้วค่อยผสมกับครีมกะทิให้ความร้อนที่ 50 ^{o}ซ เป็นระยะเวลา 10 นาที ก่อนไปแช่เย็นจนมีอุณหภูมิ 7 – 10 ^{o}ซ โดยควบคุมความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิวในครีมกะทิให้อยู่ในช่วง 0.01 – 1.00 wt% และนำไปผลิตเนยมะพร้าวตามวิธีที่ได้กล่าวนำข้างต้น รายงาน %yield %ของแข็งทั้งหมด %ไขมัน และ%โปรตีน

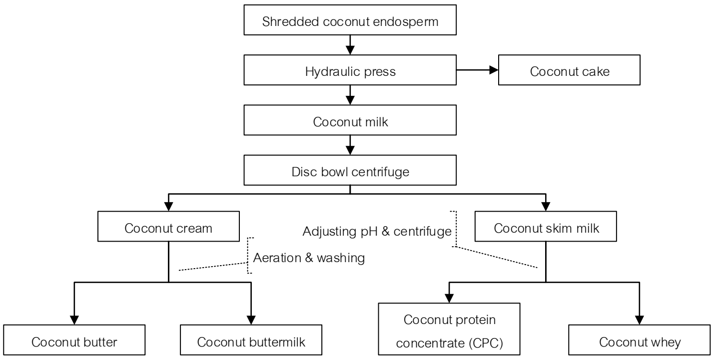


Figure 1 Schematic diagram of coconut butter production and its co-products

ในการแยกโปรตีนจากหางกะทิ นำหางกะทิไปปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วย glucono-δ-lactone (GDL) ให้เท่ากับ 3.9 ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °ซ พร้อมกับกวนผสมเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่อง Superspeed Centrifuges (Sorval RC6 Plus: Thermo Fisher scientific, Osterode, Germany) แรง 6000 g ที่อุณหภูมิ 25 °ซ เป็นระยะเวลา 30 นาที ได้โปรตีนมะพร้าวเข้มข้น (coconut protein concentrate, CPC) และเวย์มะพร้าว (coconut whey) รายงาน %yield %โปรตีน รูปแบบและมวลโมเลกุล (MW profile) ของโปรตีน วิเคราะห์มวลโมเลกุลของโปรตีนมะพร้าวด้วยวิธีแยกด้วยไฟฟ้า (Laemmil, 1970) เปรียบเทียบกับเครื่องหมายโปรตีนที่ทราบมวลโมเลกุล (Low Range Rainbow Molecular Weight Marker, RPN755E, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

แผนการทดลองเป็นแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design) โดยให้วันที่ทำการทดลองเป็นบล็อก ทำการทดลอง 2 ครั้ง (trials) ในแต่ละครั้งวัด 3 ซ้ำ (replicates) และวิเคราะห์ผลการศึกษาโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, V. 12)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการผลิตเนยมะพร้าวจากกะทิสด

ในการผลิตเนยมะพร้าวจากกะทิ ใช้หลักการกลับเฟสของอิมัลชัน โดยเปลี่ยนจากอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำของกะทิเป็นเนยมะพร้าวซึ่งเป็นอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันโดยการอัดอากาศและควบคุมสถานะของไขมัน ในขั้นแรกต้องเพิ่มความเข้มข้นของไขมันในน้ำกะทิเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการผลิต ปริมาณผลได้กะทิ (%yield) ที่คั้นได้จากมะพร้าวขูดไม่เติมน้ำคือ 57.5 – 58.3 wt% (Table 1) และมีไขมัน 29 wt% (Table 2) และเมื่อนำกะทิมาแยกครีมกะทิซึ่งเป็นอิมัลชันออกจากหางกะทิ ได้ผลิตภัณฑ์หางกะทิที่มี %yield แสดงใน Table 1 อย่างไรก็ตามการสูญเสีย yield ในแต่ละขั้นตอนเกิดจาก มีกะทิบางส่วนไม่สามารถถูกแยกออกมาในเฟสของอิมัลชันหรือหางกะทิได้ เนื่องจากความหนาแน่นสูง ตกตะกอนเมื่อนำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบจาน ซึ่งควรศึกษาแนวทางการใช้ประโยชน์ต่อไป นอกเหนือจากไขมันและโปรตีนแล้ว ผลิตภัณฑ์ร่วมยังคงมีน้ำตาลและเกลือแร่ละลายอยู่ (Table 2) ทำให้ค่า Total solids สูงกว่าผลรวมของความเข้มข้นโปรตีนและไขมัน

Table 1 Yield of coconut products and co-products from coconut butter production from coconut endosperm

Fraction	Products & co-products	%Yield of each fraction
Shredded coconut endosperm	Coconut milk	57.5 – 58.3
	Coconut cream	29.3 – 31.7
	Coconut skim milk	12.8 – 15.0
Coconut cream	Coconut butter	49.0 – 49.0
	Coconut buttermilk	253.0 – 254.0
Coconut skim milk	Coconut whey	97.0 – 98.0
	Coconut protein concentrate	2.0 – 3.0

Table 2 Protein and fat contents in coconut milk and co-products

Fraction	Products & co-products	Total solids (wt%)	Protein content (wt%)[ns]	Fat content (wt%)[ns]
Shredded coconut endosperm	Coconut milk	47.45 ± 1.82[a]	3.70 ± 0.50	29.0 ± 2.1
	Coconut cream	56.72 ± 5.53[a]	2.59 ± 0.10	34.0 ± 6.4
	Coconut skim milk	12.45 ± 1.11[b]	2.86 ± 0.61	Not detectable
Coconut cream	Coconut buttermilk	3.16 ± 0.20[ns]	0.85 ± 0.61	0.9 ± 0.0
	Coconut buttermilk + SE	3.05 ± 0.10[ns]	0.52 ± 0.06	0.7 ± 0.1

Means in the same column in each fraction followed by different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$); SE = 0.05 wt% sucrose monostearate

เมื่อทำการแยกกะทิออกเป็นสองส่วนคือ ครีมกะทิ (coconut cream) และหางกะทิ (coconut skim milk) พบว่า ปริมาณผลได้ของครีมกะทิมีมากกว่าหางกะทิ ครีมกะทิมีความเข้มข้นของไขมันเพิ่มขึ้นจาก 29 wt% เป็น 34 wt% เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกะทิ (coconut milk) ก่อนเหวี่ยงแยก (Table 2) และไม่พบไขมันในหางกะทิ (Table 2) เมื่อพิจารณาปริมาณผลได้ของเนยมะพร้าวพบว่า การใช้สารลดแรงตึงผิวขนาดเล็กไม่ส่งผลต่อน้ำหนักผลได้ของเนยมะพร้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แต่การใช้ซูโครสโมโนสเตียเรทช่วยเพิ่มปริมาณผลได้ของบัตเตอร์มิลค์มะพร้าว (Table 3) ดังนั้นการกลับเฟสจากน้ำมันในน้ำเป็นน้ำในน้ำมันด้วยวิธี aeration ที่อุณหภูมิ 7 – 10 °ซ เป็นกระบวนการที่เพียงพอสำหรับการผลิตเนยมะพร้าวโดยไม่ต้องเติมสารลดแรงตึงผิวจากภายนอก อย่างไรก็ตามเนยมะพร้าวที่ผลิตได้ควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติมเรื่อง ปริมาณความชื้น ภาวะรูปร่างหลายแบบของไขมัน (fat polymorphism) ช่วงจุดหลอมเหลว (melting point range) และคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของวัสดุ (rheological properties)

Table 3 Effect of small molecular weight surfactant types on the yield of coconut butter and coconut buttermilk from coconut cream

Treatment	%Yield	
	Coconut butter[ns]	Coconut buttermilk
Control (no surfactant)	49.0 ± 0.0	253.5 ± 0.5[b]
0.05 wt% sucrose monostearate	51.5 ± 0.5	277.0 ± 8.0[a]
0.05 wt% sucrose monoplamitate	50.0 ± 2.0	251.0 ± 7.5[b]

Means in the same column followed by different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$); Applied water 250 g to coconut cream 100 g

การเพิ่มความเข้มข้นของซูโครสโมโนสเตียเรทจาก 0 wt% เป็น 1.00 wt% ทำให้ปริมาณผลได้ของเนยมะพร้าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีผลต่อปริมาณผลได้บัตเตอร์มิลค์มะพร้าว (Table 4) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวทำให้ไขมันสามารถกระจายตัวในน้ำล้างเนยได้มากขึ้นและทำให้เกิดการสูญเสียไขมันในเนยมากขึ้น

Table 4 Effect of small molecular weight surfactant concentrations on the yield of coconut butter and coconut buttermilk from coconut cream

Treatment	%Yield	
	Coconut butter	Coconut buttermilk[ns]
Control (no surfactant)	49.0 ± 0.0[a]	253.5 ± 0.5
0.05 wt% sucrose monostearate	51.5 ± 0.5[a]	277.0 ± 8.0
0.10 wt% sucrose monostearate	43.5 ± 7.0[b]	261.0 ± 12.5
1.00 wt% sucrose monostearate	44.0 ± 5.5[b]	259.5 ± 0.5

Means in the same column followed by different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$)

ผลิตภัณฑ์ร่วมจากการแยกครีมมะพร้าวได้แก่ส่วนของหางกะทิซึ่งมีองค์ประกอบแสดงใน Table 2 โปรตีนที่มีอยู่ในกะทิมีความเข้มข้น 2.59 wt% และ 2.86 wt% ตามลำดับ และเมื่อนำหางกะทิไปปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 3.9 ซึ่งเป็นจุดไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนมะพร้าว (Samson *et al.*, 1971) แล้วเหวี่ยงแยก พบว่าโปรตีนมะพร้าวเข้มข้น (coconut protein concentrate) ที่ได้มีความเข้มข้นของโปรตีน 77.96 wt% และส่วนของเวย์มะพร้าวที่เหลือจากการผลิตโปรตีนมะพร้าวเข้มข้น (CPC) มีโปรตีนเหลืออยู่ 0.65 wt%

โปรตีนใน CPC เป็นโปรตีนสะสม (storage protein) ซึ่งมีมวลโมเลกุลมากกว่า 38 kDa โดยอาจจะเป็นการเกาะกลุ่มกันของโปรตีน cocosin หรือ 11S กลอบูลิน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบโปรตีนจากหางกะทิกับจากเวย์มะพร้าว (Figure 2) พบว่าปรากฏทั้งโปรตีนสะสมและหน่วยย่อยของโปรตีน 7S หรือ 11S กลอบูลินที่มีขนาดเล็ก (มวลโมเลกุลน้อยกว่า 24 kDa) (Chambal *et al.*, 2012; Garcia *et al.*, 2005) เมื่อพิจารณาบัตเตอร์มิลค์มะพร้าวพบว่า ปรากฏโปรตีนสะสมเช่นเดียวกับหางกะทิในสภาวะถูกรีดิวซ์โปรตีนในครีมกะทิที่นำไปแยกไขมันระหว่างการผลิตถูกชะออกมากับน้ำล้างเนยและรวมอยู่กับบัตเตอร์มิลค์มะพร้าว (Table 2) ปรากฏหน่วยย่อยเพิ่มจากหางกะทิที่ขนาดมวลโมเลกุล 15 - 26 kDa (ภายในกรอบเส้นประ) ซึ่งอาจจะ

เป็นโปรตีน โอลิโอซิน (oleosin) ที่อยู่ที่ออยล์บอดีส์ (Huang, 1992) อย่างไรก็ตามการใช้ซูโครสโมโนสเตียเรทที่ความเข้มข้น 0.05 wt% ไม่ส่งผลต่อปริมาณ รูปแบบและมวลโมเลกุลของโปรตีนมะพร้าว

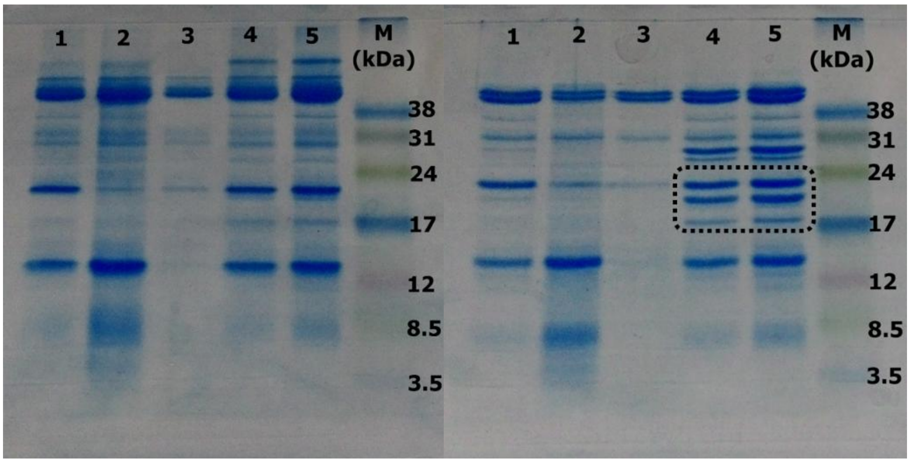


Figure 2 Molecular weight profiles of coconut milk proteins with (right) and without (left) reducing agent (lane M = low range molecular weight marker; lane 1 = coconut skim milk; lane 2 = coconut whey; lane 3 = coconut protein precipitate; lane 4 = coconut buttermilk; and lane 5 = coconut buttermilk with 0.05 wt% sucrose monostearate)

การผลิตเนยมะพร้าวจากน้ำกะทิด้วยการอัดอากาศที่อุณหภูมิ 7 – 10 °ซ ให้ผลิตภัณฑ์ร่วมไม่ว่าจะเป็นหางกะทิ บัตเตอร์มิลค์มะพร้าว โปรตีนมะพร้าวเข้มข้น โปรตีนเวย์มะพร้าวที่มีสมบัติจำเพาะของโปรตีนแตกต่างกันเล็กน้อย แต่การใช้สารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้น 0.05 wt% ไม่กระทบต่อปริมาณผลได้ของผลิตภัณฑ์เนยมะพร้าว รวมถึงปริมาณ รูปแบบและมวลโมเลกุลของโปรตีนมะพร้าว คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนมะพร้าวอยู่ระหว่างการนำไปใช้ประโยชน์

สรุป

งานวิจัยเน้นนำเสนอกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากกะทิสด การแยกองค์ประกอบของกะทิเป็นผลิตภัณฑ์หลัก คือ เนยมะพร้าว และผลิตภัณฑ์ร่วม ได้แก่ หางกะทิ โปรตีนมะพร้าวเข้มข้น บัตเตอร์มิลค์มะพร้าว และเวย์มะพร้าว เป็นการนำเสนอความเป็นไปได้ในการผลิตผลิตภัณฑ์หลากหลายประเภทของกะทิซึ่งเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เพื่อการใช้ประโยชน์จากองค์ประกอบต่างๆ ของกะทิในรูปแบบของสารผสมอาหาร (food ingredient) อย่างไรก็ตามคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารผสมอาหารที่ผลิตได้จากกะทิสดควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณรางวัลชิว-เสงี่ยม กาญจนจารี โดยมูลนิธิสวิตาและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้สนับสนุนทุนผู้ช่วยวิจัยและทุนวิจัยระดับปริญญาโทในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2000. **Office Method of Analysis.** 17th ed. Association of Official Analytical Chemistry, Arlington, Virginia.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248 – 254.

Chambal, B., B. Bergenståh and P. Dejmark. 2012. Edible protein from coconut press cake; one step alkaline extraction and characterization by electrophoresis and mass spectrometry. **Food Research International** 47: 146 – 151.

Dickinson, E. and S. Tanai. 1992. Protein displacement from the emulsion droplet surface by oil-soluble and water-soluble surfactants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 40: 179 – 183.

Garcia, R.N., R.V. Arocena and A.C. Laurena. 2005. 11S and 7S globulins of coconut (*Cocos nucifera* L.) purification and characterization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53: 1734 – 1739.

Herried, E.O. 1942. Babcock test; a review of the literature. **Journal of Dairy Science** 25 (4): 335 – 370.

Huang, A.H.C. 1992. Oil bodies and oleosins in seeds. **Plant Physiology and Molecular Biology** 43: 177-200.

Kwon, K., K.H. Park and K.C. Rhee. 1996. Fractionation and characterization of proteins from coconut (*Cocos nucifera* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 44: 1741 – 1745.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. **Nature** 227: 680 – 685.

Li, D.-D. and Fan, Y.-M. 2008. Construction and characterization of a cDNA library from the Pulp of coconut (*Cocos nucifera* L.). **Agricultural Sciences in China** 7: 1071 – 1076.

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry** 193: 265 – 275.

Napier, J.A., A.K. Stobart, P.R. Shewry. 1996. The structure and biogenesis of plant oil bodies: the role of the ER membrane and the oleosin class of proteins. **Plant Molecular Biology** 31: 945 – 956.

Samson, A.S., R.N. Khaund, C.M. Cater and K.F. Mattil. 1971. Extractability of coconut proteins. **Journal of Food Science** 36: 725 – 728.

Satheesh, N. and N.B.L. Prasad. 2014. Production of virgin coconut oil by induced fermentation with *Lactobacillus plantarum* NDRI strain 184. **Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition** 9 (1 – 2): 37 – 42.

Smith, N., N.M. Ha, V.K. Cuong, H.T.T. Dong, N.T. Son, B.Baulch and N.T.L. Thuy. 2009. Coconuts in the Mekong delta. **An Assessment of Competitiveness and Industry Potential** 1: 1 – 98.

ผลของสายพันธุ์มะม่วงสุกที่มีต่อคุณภาพของน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม

Effect of Varieties of Thai Ripe Mango on the Quality of Drinking Mango Juice

นภาพร สีทา[1*] และ ปิ่นมณี ขวัญเมือง[1]

Nababorn Seeta[1*] and Pinmanee Kwanmvang[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการยอมรับน้ำมะม่วงพร้อมดื่มจากมะม่วงสุกที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ แก้วขมิ้น เขียวเสวย น้ำดอกไม้ และแรด จากการศึกษาพบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสทางด้าน สี กลิ่น รสชาติ ความขุ่นใส ความชอบโดยรวม ของน้ำมะม่วงพร้อมดื่มจากมะม่วงแก้วขมิ้นมากที่สุด การคัดเลือกสูตรส่วนผสมน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับสูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมะม่วงแก้วขมิ้น : น้ำสับปะรด : น้ำเสาวรส เท่ากับ 70 : 25 : 5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำเท่ากับ 12 องศาบริกซ์ และมีปริมาณกรดซิตริก 0.3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก การพัฒนาน้ำมะม่วงพร้อมดื่มโดยใช้น้ำมะม่วงดิบแทนกรดซิตริก พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับน้ำมะม่วงพร้อมดื่มที่มีส่วนผสมของน้ำมะม่วงสุก : น้ำมะม่วงดิบ เท่ากับ 60 : 40 เปอร์เซ็นต์ (ของน้ำมะม่วง) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.61 ค่าสี L^* a^* b^* เท่ากับ 32.55 0.65 และ 20.07 ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยด้านสี กลิ่น รสชาติ ความขุ่นใส และความชอบโดยรวม เท่ากับ 6.94 6.48 7.14 7.02 และ 7.16 ตามลำดับ จากผู้ทดสอบจำนวน 50 คน โดยใช้แบบทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบ 9 – point hedonic scale

ABSTRACT

This research aimed to study the acceptance of drinking mango juice from four varieties of mangoes, *e.g.* Kaeww Kamin, Khiew Sawoey, Namdokmai, and Rad. The results of the acceptance for color, odor, taste, and overall acceptance of all varieties of mangoes showed that mango juice from Kaew Kamin had the most acceptance. The study on the proportion of drinking mango juice found that the best proportion was 70% Kaew Kamin mango juice, 25% pineapple juice, and 5% passion fruit juice. The drinking mango juice had 12% total soluble solids and 0.3% citric acid. Then, the drinking mango juice was developed by using green mango juice instead of citric acid. The acceptance test (50 untrained panelists) showed that the panelists accepted the drinking mango juice with 60% ripe mango juice and 40% green mango juice. The drinking mango juice had pH of 3.61 and L*, a*, and b* values of 32.55, 0.65, and 20.07, respectively. The sensory evaluation of the drinking mango juice using the 9-point Hedonic scale showed that the average levels of color, odor, taste, and overall acceptance were 6.94, 6.48, 7.14, 7.02, and 7.16, respectively.

Key Words: drinking mango juice, ripe mango, green mango

* Corresponding author; e-mail address: **Snababorn@gmail.com**

[1]ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Agricultural Education, Faculty of Industrial Education, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

คำนำ

มะม่วง (*Mangoifera indica* L.) เป็นผลไม้เมืองร้อน มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง มีเอกลักษณ์ คือ มีสีเหลืองเข้ม มีกลิ่นหอมเมื่อสุกงอม รสชาติหวาน (วัชรี และคณะ, 2556) มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยวิตามินเอ ซี อี และมีเบต้าแคโรทีน (Traci, 2015; Sara, 2015) ช่วยในการเจริญเติบโตของกระดูกให้แข็งแรง กระตุ้นการไหลเวียนของเลือดในเนื้อเยื่อและผิวหนัง มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความแก่ ลดความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็ง (Padayatty *et al.*, 2003) สามารถรับประทานได้ทั้งผลดิบและสุก หรือนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ (ภูวนาท, 2537) สำหรับประเทศไทยมะม่วงจัดเป็นผลไม้ที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายมีอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ พันธุ์ที่นิยมบริโภค และหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด คือ เขียวเสวย แก้วขมิ้น น้ำดอกไม้ และแรด เป็นต้น (นฤมล, 2547) เพื่อลดปัญหามะม่วงล้นตลาด ราคาต่ำ และปัญหาอายุการเก็บรักษามะม่วงสุกที่มีระยะการเก็บรักษาสั้น น้ำมะม่วงจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการแปรรูปมะม่วงเป็นเครื่องดื่มที่สามารถดับกระหายคลายร้อนได้ ซึ่งน้ำมะม่วง หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำผลมะม่วงสุกที่อยู่ในสภาพดีมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือก ตัดแต่งแล้วหั่นเป็นชิ้น นำไปตีปั่นโดยอาจผสมน้ำหรือไม่ก็ได้ กรอง ปรุงแต่งรสด้วยน้ำตาล เกลือ อาจผสมน้ำหรือเนื้อผลไม้อื่น เช่น น้ำเสาวรส น้ำสับปะรด ต้มฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม บรรจุในภาชนะบรรจุขณะร้อน แล้วทำให้เย็นทันที (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547: มผช. 701/2547)

การศึกษาครั้งนี้ได้นำมะม่วงพันธุ์ที่ผู้บริโภคนิยม และหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาดจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ แก้วขมิ้น เขียวเสวย น้ำดอกไม้ และแรด มาแปรรูปเป็นน้ำมะม่วงเพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่ผู้บริโภคนิยมมากที่สุด และนำไปปรับอัตราส่วนผสมเพื่อให้ได้สูตรที่มีรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมส่วนผสม

1. การเตรียมน้ำมะม่วง โดยนำมะม่วงมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือก แช่ในสารละลายกรดซิตริก (ความเข้มข้น 0.2 % ในอัตราส่วน 1,000 มิลลิลิตร ต่อมะม่วง 1 กิโลกรัม) นาน 5 นาที แยกเนื้อและเมล็ดออกจากกัน ปั่นผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และกรองด้วยผ้าขาวบาง พาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ วัชรี และคณะ, 2556) ได้น้ำมะม่วงสำหรับใช้ในการทดลอง

2. การเตรียมน้ำสับปะรด นำสับปะรด (พันธุ์ศรีราชา) ไปปั่นผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 1 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และกรองด้วยผ้าขาวบาง พาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ได้น้ำสับปะรดสำหรับใช้ในการทดลอง

3. การเตรียมน้ำเสาวรส นำเสาวรส (พันธุ์สีเหลือง) ไปล้าง ผ่ากลาง คว้านเอาเมล็ดออก กรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอาน้ำจากเยื่อหุ้มเมล็ด ได้น้ำเสาวรสเข้มข้นสำหรับใช้ในการทดลอง

การคัดเลือกพันธุ์

วิเคราะห์สมบัติต่างๆของน้ำมะม่วงสุก 4 สายพันธุ์ (แก้วขมิ้น เขียวเสวย แรด และน้ำดอกไม้) ดังนี้ ค่าสี ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์กรด และทดสอบชิมโดยผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน

การคัดเลือกสูตรการแปรรูปน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม

1. คัดเลือกสูตรการแปรรูปน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม โดยใช้น้ำมะม่วงพันธุ์ที่ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบมาเตรียมส่วนผสม (Table 1) นำมาปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ให้เท่ากับ 8 องศาบริกซ์ นำไปพาสเจอร์ไรส์และทดสอบชิมต่อไป ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้คำนวณได้โดย

$$\text{น้ำตาลทรายที่ต้องเติม} = \frac{(a - b)}{(c - a)} \times d$$

a แทน องศาบริกซ์ที่ต้องการ

b แทน องศาบริกซ์ของสารละลายเดิม

c แทน 100 องศาบริกซ์

d แทน ปริมาตรสารละลาย

Table 1 Ingredients of mango juice (100 ml.)

Ingredient	Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3
Varieties of accepted mango juice	100 ml.	80 ml.	70 ml.
Pineapple juice	-	15 ml.	25 ml.
Passion juice	-	5 ml.	5 ml.

2. ศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม โดยใช้ส่วนผสมจากสูตรที่ผู้ทดสอบยอมรับ นำไปปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ให้เท่ากับ 8 10 และ 12 องศาบริกซ์ นำไปพาสเจอร์ไรส์และทดสอบชิมต่อไป

3. ศึกษาปริมาณกรดซิตริก โดยใช้สูตรที่ผู้ทดสอบยอมรับจากการคัดเลือกสูตรและปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ นำไปเติมกรดซิตริก 0 0.1 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) นำไปพาสเจอร์ไรส์ และทดสอบชิม

4. การพัฒนาน้ำมะม่วงพร้อมดื่มด้วยการใช้มะม่วงดิบแทนการใส่กรดซิตริก โดยใช้สูตรที่ผู้ทดสอบยอมรับมาเตรียมส่วนผสม (Table 2) นำไปพาสเจอร์ไรส์ และทดสอบชิมต่อไป โดยเปรียบเทียบกับสูตรที่ผู้ทดสอบยอมรับจากการศึกษาปริมาณกรดซิตริก

Table 2 The proportion of green and ripe mango juices in mango juice formulations

Treatment	Green mango juice (%)	Ripe mango juice (%)
1	accepted mango juice from citric acid	
2	20	80
3	40	60
4	50	50

การวิเคราะห์คุณภาพ

1. ค่าสี ทำการตรวจวัดสีน้ำมะม่วงโดยเครื่องวัดสี CR-300 รายงานผลเป็นค่า L* a* และ b*

2. วิเคราะห์ความเป็นกรด – ด่าง ด้วยเครื่องมือ pH meter ปรับมาตรฐานเครื่องวัดกรด-ด่าง ด้วยบัฟเฟอร์ที่มีกรด - ด่าง 7 และ 4 จากนั้นวัดค่าความเป็นกรด - ด่างของน้ำมะม่วงที่อุณหภูมิห้อง

3. วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรด ด้วยวิธีการไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และใช้ฟีนอลทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ตามวิธีการของ AOAC. (2000)

4. วิเคราะห์องศาบริกซ์ ด้วยการหาค่าความเข้มข้นของของแข็งที่ละลายอยู่ในสารละลาย โดยใช้เครื่อง Digital Wine Refractometer 0-50 %Brix ที่อุณหภูมิห้องอ่านค่าที่ได้เป็น องศาบริกซ์

การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้าน สี กลิ่น รสชาติ ความขุ่นใส ความชอบโดยรวม ใช้แบบทดสอบชิมให้คะแนนความชอบแบบ 9-point hedonic scales กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน

สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

การวิเคราะห์ผลการทดลองแบบประสาทสัมผัสเพื่อเลือกสูตรที่ดีที่สุด 1 สูตร โดยใช้แผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) ค่าทางกายภาพและเคมีทดสอบแบบ CRD (Complete Randomized Design) ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ด้วยสถิติ F-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาคัดเลือกพันธุ์มะม่วงที่เหมาะสำหรับทำน้ำมะม่วงพร้อมดื่มที่ผู้บริโภคยอมรับ

จากการศึกษาคัดเลือกพันธุ์มะม่วงที่เหมาะสมสำหรับทำน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม โดยทำการคัดเลือกมะม่วง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ แก้วขมิ้น เขียวเสวย น้ำดอกไม้ และแรด พบว่าน้ำมะม่วงแรดมีปริมาณกรดอินทรีย์มากที่สุด น้ำมะม่วงเขียวเสวยมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากที่สุด (Table 3) ค่าสีค่า L* ในน้ำมะม่วงพันธุ์ต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกัน น้ำมะม่วงเขียวเสวยมีค่าสูงสุดเท่ากับ 48.33 น้ำมะม่วงแก้วขมิ้นมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 42.65 ค่า a* ในน้ำมะม่วงแก้วขมิ้นมีค่าเท่ากับ +2.28 มีสีส้มอมเหลืองซึ่งสอดคล้องกับค่า a* ที่มีค่าเป็น บวก ซึ่งแตกต่างจากน้ำมะม่วงอีก 3 พันธุ์ ที่มีค่า a* เป็น ลบ เนื่องจากน้ำมะม่วงอีก 3 พันธุ์ มีสีเหลืองเป็นส่วนใหญ่ ในน้ำมะม่วงแก้วขมิ้นมีค่า b* สูงที่สุดเท่ากับ +41.34 เนื่องจากมะม่วงแก้วขมิ้นเมื่อสุกมีสีส้มอมเหลือง (ทวีศักดิ์, 2558)

Table 3 Physical and chemical qualities of pure mango juices

Physical and Chemical Qualities	Mangoes Variety			
	Kaew Kamin	Khiew Sawoey	Namdokmai	Rad
Citric acid (%)	0.40±0.00	0.52±0.00	0.75±0.00	1.27±0.00
Tartaric acid (%)	0.47±0.00	0.61±0.00	0.88±0.00	1.49±0.00
Malic acid (%)	0.42±0.00	0.54±0.00	0.78±0.00	1.33±0.00
Total soluble solids ($^{\circ}$ Brix)	7.3±0.00	11.2±0.00	9.8±0.00	10.2±0.00
pH	4.5±0.00	4.5±0.00	4.5±0.00	4.5±0.00
L*	42.65±0.19	48.33±0.11	45.85±0.54	47.12±0.06
a*	+ 2.28±0.07	- 4.11±0.06	- 1.04±0.16	- 3.28±0.01
b*	+ 41.34±0.28	+ 29.68±0.00	+ 35.01±0.74	+ 27.60±0.00

ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบน้ำมะม่วงในทรีทเมนต์ที่ 1 ได้จากมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้นมากที่สุด มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 7.3 มีค่า pH เท่ากับ 4.5 และมีค่าเฉลี่ยด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.82 6.66 6.28 6.58 และ7.10 ตามลำดับ (Table 4)

Table 4 Sensory evaluation of drinking mango juice with different variety.

Treatment	Average scores of acceptance of the sensory attributes				
	Color	Odor	Taste	Texture	Overall acceptance
1	7.82±1.08[a]	6.66±1.30[a]	6.28±1.40[a]	6.58±1.55[a]	7.10±1.21[a]
2	5.48±1.61[c]	5.24±1.63[c]	5.64±1.56[b]	5.84±1.62[b]	5.76±1.28[b]
3	6.40±1.39[b]	5.88±1.30[b]	5.68±1.49[b]	6.02±1.42[ab]	5.96±1.47[b]
4	6.10±1.48[b]	6.08±1.39[b]	5.50±1.52[b]	6.06±1.40[ab]	6.00±1.26[b]

[a,b] Means with the same letter in the same columns are not statistically different ($p > 0.05$)

Treatment 1 : Ready to drink mango juice which contains 100% Kaew-Kamin mango juice

Treatment 2 : Ready to drink mango juice which contains 100% Khiew Sawoey mango juice

Treatment 3 : Ready to drink mango juice which contains 100% Namdokmai mango juice

Treatment 4 : Ready to drink mango juice which contains 100% Rad mango juice

การศึกษาคัดเลือกสูตรส่วนผสมของน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม

การศึกษาคัดเลือกสูตรส่วนผสมของน้ำมะม่วงที่ใช้ส่วนผสมต่างกัน โดยนำน้ำมะม่วงพันธุ์ที่ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบ มาหาอัตราส่วนของน้ำมะม่วงแก้วขมิ้น : น้ำสับปะรด : น้ำเสาวรส พบว่าผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบน้ำมะม่วงในทรีทเมนต์ที่ 3 (Table 5) ที่มีอัตราส่วนของน้ำมะม่วงแก้วขมิ้น : น้ำสับปะรด : น้ำเสาวรส เท่ากับ 70 : 25 : 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH เท่ากับ 4 โดยมีค่าเฉลี่ยด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.56 7.24 6.46 6.56 และ6.84 ตามลำดับ (Table 5)

Table 5 Sensory evaluation of drinking mango juice with different ingredients.

Treatment	Average scores of acceptance of the sensory attributes				
	Color	Odor	Taste	Texture	Overall acceptance
1	7.34±1.13[a]	6.66±1.37[b]	5.66±1.99[b]	6.40±1.59[a]	6.52±1.34[a]
2	7.26±1.12[a]	7.06±1.37[ab]	5.78±1.86[ab]	6.24±1.43[a]	6.54±1.35[a]
3	7.56±1.12[a]	7.24±1.34[a]	6.46±1.74[a]	6.56±1.50[a]	6.84±1.39[a]

[a,b] Means with the same letter in the same columns are not statistically different ($p > 0.05$)

Treatment 1 : Ready to drink mango juice which contains 100%kaew kamin mango juice

Treatment 2 : Ready to drink mango juice which contains 80%kaew kamin mango juice, 15% pineapple juice and 5%passion fruit juice

Treatment 3 : Ready to drink mango juice which contains 70%kaew kamin mango juice, 25% pineapple juice and 5%passion fruit juice

การศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม

การศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะม่วง โดยนำสูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบที่มีส่วนผสมของน้ำมะม่วงแก้วขมิ้น : น้ำสับปะรด : น้ำเสาวรส เท่ากับ 70 : 25 : 5 เปอร์เซ็นต์ มาปรับให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 8 10 และ 12 องศาบริกซ์ ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบน้ำมะม่วงในทรีทเมนต์ที่ 3 (Table 6) มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 12 องศาบริกซ์ มีค่า pH เท่ากับ 4 สอดคล้องกับการผลิตเครื่องดื่มน้ำมะม่วงของ Miracea. (1995) ที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ในช่วง 12-15 องศาบริกซ์ โดยค่าเฉลี่ยด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.52 7.38 7.56 และ 7.66 ตามลำดับ (Table 6)

Table 6 Sensory evaluation of drinking mango juice with different degree brix of total soluble solids.

Treatment	Average scores of acceptance of the sensory attributes			
	Color	Odor	Taste	Overall acceptance
1	7.48±1.12[a]	7.20±1.30[a]	5.86±1.52[b]	6.46±1.51[b]
2	7.48±1.18[a]	7.24±1.36[a]	7.18±1.54[a]	7.10±1.58[a]
3	7.52±1.07[a]	7.38±1.12[a]	7.56±1.38[a]	7.66±1.27[a]

[a,b] Means with the same letter in the same columns are not statistically different ($p > 0.05$)

Treatment 1 : Ready to drink mango juice have 8 degree brix of total soluble solids

Treatment 2 : Ready to drink mango juice have 10 degree brix of total soluble solids.

Treatment 3 : Ready to drink mango juice have 12 degree brix of total soluble solids.

การศึกษาปริมาณกรดซิตริกที่เหมาะสำหรับการแปรรูปน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม

การศึกษาปริมาณกรดซิตริกของน้ำมะม่วง ทำการศึกษาโดยนำน้ำมะม่วงจากสูตรที่ผู้ทดสอบยอมรับโดยมีส่วนผสมของน้ำมะม่วง : น้ำสับปะรด: น้ำเสาวรส เท่ากับ 70 : 25 : 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 12 องศาบริกซ์ และเติมปริมาณกรดซิตริกที่ต่างกัน คือ 0 0.1 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบน้ำมะม่วงพร้อมดื่มในทรีทเมนต์ที่ 3 (Table 7) ที่เติมกรดซิตริก 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH เท่ากับ 3.4 โดยมีค่าเฉลี่ยด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.04 6.80 7.24 และ7.34 ตามลำดับ

Table 7 Sensory evaluation of drinking mango juice with different % citric acid.

Treatment	Average scores of acceptance of the sensory attributes			
	Color	Odor	Taste	Overall acceptance
1	6.86±1.40[a]	6.50±1.46[a]	5.88±1.72[b]	6.24±1.40[b]
2	7.04±1.34[a]	6.84±1.29[a]	6.40±1.75[b]	6.86±1.72[ab]
3	7.04±1.30[a]	6.80±1.30[a]	7.24±1.55[a]	7.34±1.58[a]

[a,b] Means with the same letter in the same columns are not statistically different ($p > 0.05$)

Treatment 1 : Ready to drink mango juice

Treatment 2 : Ready to drink mango juice add 0.1% of citric acid.

Treatment 3 : Ready to drink mango juice add 0.3% of citric acid.

การพัฒนาน้ำมะม่วงพร้อมดื่มด้วยการใช้มะม่วงดิบให้รสชาติเปรี้ยว

การพัฒนาน้ำมะม่วงพร้อมดื่มด้วยการใช้มะม่วงดิบให้รสชาติเปรี้ยว แทนการใช้กรดซิตริก ทำการศึกษาโดยนำน้ำมะม่วงจากสูตรที่ผู้ทดสอบยอมรับจากการศึกษาปริมาณการเติมกรดซิตริกที่เหมาะสม ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบน้ำมะม่วงพร้อมดื่มในทรีทเมนต์ที่ 3 (Table 8) ที่มีส่วนผสมของน้ำมะม่วงสุก : น้ำมะม่วงดิบเท่ากับ 60 : 40 เปอร์เซ็นต์ (ของน้ำมะม่วง) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Aiza. (2008) ได้พัฒนาน้ำมะม่วงพร้อมดื่มจากมะม่วงดิบ พบว่าผู้ทดสอบยอมรับน้ำมะม่วงที่มีส่วนผสมของมะม่วงดิบ 30 กรัม ผสมเนื้อมะม่วง 50 กรัม น้ำมะม่วงพร้อมดื่มจากมะม่วงแก้วขมิ้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 12 องศาบริกซ์ มีค่า pH เท่ากับ 3.6 โดยมีค่าเฉลี่ยด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมเท่ากับ 6.94 6.48 7.14 7.02 และ7.16

Table 8 Sensory evaluation of drinking mango juice with different green mango and ripe mango juice.

Treatment	Average scores of acceptance of the sensory attributes				
	Color	Odor	Taste	Texture	Overall acceptance
1	6.92±1.88^{a}	6.38±2.12^{a}	6.04±2.08^{c}	6.50±1.80^{a}	6.38±2.03^{b}
2	6.60±1.90^{a}	6.18±1.72^{a}	6.32±1.9^{bc}	6.32±1.78^{a}	6.52±1.56^{ab}
3	6.94±1.63^{a}	6.48±1.51^{a}	7.14±1.74^{a}	7.02±1.47^{a}	7.16±1.47^{a}
4	6.92±1.76^{a}	6.44±1.52^{a}	6.84±1.55^{ab}	6.86±1.47^{a}	6.98±1.39^{ab}

^{a,b,c} Means with the same letter in the same columns are not statistically different ($p > 0.05$)

Treatment 1 : Ready to drink mango juice which contains 100% ripe mango juice

Treatment 2 : Ready to drink mango juice which contains 80% ripe mango juice and 20% green mango juice

Treatment 3 : Ready to drink mango juice which contains 60% ripe mango juice and 40% green mango juice

Treatment 4 : Ready to drink mango juice which contains 50% ripe mango juice and 50% green mango juice

น้ำมะม่วงพร้อมดื่มจากสูตรส่วนผสมของน้ำมะม่วงแก้วขมิ้น : น้ำสับปะรด : น้ำเสารสรส เท่ากับ 70 : 25 : 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 12 องศาบริกซ์ มีส่วนผสมของน้ำมะม่วงแก้วขมิ้นสุก : น้ำมะม่วงแก้วขมิ้นดิบ เท่ากับ 60 : 40 มีกรดซิตริก ทาร์ทาริก และมาลิก เท่ากับ 0.18 0.21 และ 0.19 ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 3.61 มีค่า L* a* b* เท่ากับ 32.55 +0.65 และ+20.07 ตามลำดับ สอดคล้องกับสีของมะม่วงแก้วขมิ้นที่มีสีส้มอมเหลือง(ทวีศักดิ์, 2558)

Table 9 Physical and chemical qualities of drinking mango juice

Physical and Chemical Qualities	
Citric acid (%)	0.18±0.00
Tartaric acid (%)	0.21±0.00
Malic acid (%)	0.19±0.00
Total soluble solids (TSS)	12±0.00
pH	3.61±0.00
L*	32.55±0.01
a*	+ 0.65±0.00
b*	+ 20.07±0.00

สรุป

การทดสอบการยอมรับของผู้ทดสอบที่มีต่อน้ำมะม่วงพร้อมดื่มจากมะม่วงสายพันธุ์ที่นิยมบริโภคและหาซื้อได้ง่าย ได้แก่ มะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้น เขียวเสวย น้ำดอกไม้และแรด พบว่าน้ำมะม่วงพร้อมดื่มจากมะม่วงพันธุ์แก้วขมิ้นได้รับการยอมรับมากที่สุด การพัฒนาสูตรน้ำมะม่วงพร้อมดื่มพบว่าสูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมะม่วงแก้วขมิ้น น้ำสับปะรดและน้ำเสารส ในสัดส่วน 70 25 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 12 องศาบริกซ์ ได้รับการยอมรับมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้น้ำมะม่วงดิบทดแทนการเติมกรดซิตริกได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบ โดยมีค่าเฉลี่ยของความชอบสูงสุดในทุกด้านของการทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังนั้นจึงสามารถนำผลงานวิจัยนี้มาพัฒนาเป็นเครื่องดื่มดับกระหายที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เนื่องจากมีองค์ประกอบของแคลเซียม ฟอสฟอรัส และเบต้าแคโรทีนซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีส่วนช่วยในการต่อต้านการเกิดโรคมะเร็ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ รศ.ดร. ปิ่นมณี ขวัญเมือง ที่คอยให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการทำการวิจัยเสมอมา ขอบคุณเพื่อนๆที่คอยให้กำลังใจ และขอบคุณภาควิชาครุศาสตร์เกษตรที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. 2558. มะม่วงพันธุ์ดีจากเพื่อนบ้านในเอเชีย. **วารสารเทคโนโลยีชาวบ้าน**.27(603): 24-26

นฤมล มานิพพาน. 2547. **คู่มือการเพาะปลูกมะม่วง**. สำนักพิมพ์ส่งเสริมอาชีพธุรกิจ เพชรกะรัต, กรุงเทพฯ.

ภูวนาท นนทรี. 2537. **การปลูกมะม่วง**. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน, กรุงเทพฯ.

วัชรี เทพโยธิน, วาสนา รุ่งตระกูลไทย และสายสมร บุตรพรม. 2556. การยอมรับของผู้บริโภคและคุณภาพของน้ำมะม่วงมหาชนกพร้อมดื่ม, น. 131-140. ใน **การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล** ครั้งที่ 5. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. **น้ำมะม่วง.** มผช. 701/2547.

Aiza,P.R.,Ivy, M.B.C. 2008. Development of ready-to-drink green mango juice. **USM R&D** 16(1):71-77.

AOAC 2000. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17thed. The United States of America.

Mircea,E.D. 1995. **Fruit and vegetable processing**. Agriculture and Consumer Protection, Rome.

Padayatty, S.J., A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J. Lee, S. Chen, C. Corrpe, A. Dutta, S.K. Dutta and M. Levine. 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. **American College of nutrition** 22: 18-35.

Sara, I. 2015. **What Are the Health Benefits of Mango Juice**. Available Source: http://www. live strong.com/article/390825-what-are-the-health-bene fits-of-mango-juice, May 1,2016.

Traci, J. 2015. **What Is The Nutritional Value of a Mango**. Available Source: http://www.livestrong. com/article/17742-nutritional-value-mango, May 1,2016.

ผลของส่วนผสมต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีน้ำมันมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ
Effect of Ingredients on Qualities of Lotion Product Containing Coconut Oil

ญาณตา พ่วงศิริ[1] เทพกัญญา หาญศีลวัต[1*] หทัยรัตน์ ริมคีรี[1] และ อนุวัตร แจ้งชัด[1]

Yanata Puangsiri[1], Thepkunya Harnsilawat[1*], Hathairat Rimkeeree[1] and Anuvat Jangchud[1]

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์โลชั่นในการศึกษานี้เป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีน้ำมันมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากส่วนผสมต่างๆ ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์โลชั่นมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของส่วนผสมต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่น การศึกษานี้มีการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in completely randomized design (CRD) ทำการศึกษาผลของส่วนผสมได้แก่ น้ำมันมะพร้าว (2, 4 และ 6%) แว็กซ์ (stearic acid: cetyl alcohol อัตราส่วน 1:1 ที่ระดับ 2 และ 4%) และอิมัลซิไฟเออร์ (PEG-100 Stearate & Glyceryl stearate ที่ระดับ 1.5 และ 3%) พบว่า ส่วนผสมทั้งสามมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่น โดยทุกสูตรมีลักษณะเป็นอิมัลชันที่มีเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น และมีสีขาว มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.75 - 6.23 เมื่อปริมาณน้ำมันมะพร้าว แว็กซ์ และอิมัลซิไฟเออร์เพิ่มขึ้น มีผลให้ความหนืดของโลชั่นเพิ่มขึ้น โดยน้ำมันมะพร้าวและแว็กซ์มีปฏิกิริยาสัมพันธ์กันต่อความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) จากการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณแว็กซ์ในสูตรมีผลให้แนวโน้มของคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี ความง่ายในการทาผิว ความง่ายในการซึมสู่ผิว และความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบเพิ่มขึ้น

ABSTRACT

In this study, lotion products are oil-in-water emulsions which contained coconut oil. Since ingredients used in lotion have effects on its qualities, therefore the objective of this study is to investigate the effect of ingredients on lotion qualities. The experimental design used in this study is a factorial in completely randomized design (CRD) by varied coconut oil (2, 4 and 6%), wax (2 and 4% stearic acid: cetyl alcohol) and emulsifier (1.5 and 3% PEG-100 stearate & glyceryl stearate). The results showed that those ingredients had effects on lotion qualities. Every formula of lotion products provided homogeneous emulsion which had no phase separation and had white color. The pH of lotion products was range from 5.75 to 6.23. When increasing coconut oil, wax and emulsifier resulted in an increase of lotion viscosity. The coconut oil and wax had an interaction on viscosity significantly ($p \leq 0.05$). The sensory evaluation on liking score showed that the trend of the liking score of appearance, color, spreadability on the skin, feeling on the skin after adsorption and overall liking was increased when increased the amount of wax in the formula.

Key Words: coconut oil, lotion properties, emulsifier, wax

[*] Corresponding author; e-mail address: fagityh@ku.ac.th

[1] ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

คำนำ

น้ำมันมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคให้ความสนใจมาก เนื่องจากในปัจจุบัน ผู้บริโภคมีความใส่ใจในการดูแลสุขภาพมากขึ้น จึงมีความนิยมที่จะใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารจากธรรมชาติมากขึ้นด้วย สำหรับน้ำมันมะพร้าวสกัดเย็น หรือน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (virgin coconut oil) เป็นน้ำมันที่ได้จากการแยกน้ำมันจากเนื้อมะพร้าวโดยไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน และไม่ผ่านกระบวนการแปรรูปทางเคมี ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวมากกว่า 90% ทำให้เกิดออกซิเดชันได้ยาก โดยเป็นกรดไขมันอิ่มตัวขนาดกลางในปริมาณมากกว่า 60% ของกรดไขมันทั้งหมด ทั้งนี้ ด้วยโมเลกุลขนาดเล็ก น้ำมันมะพร้าวจึงถูกดูดซึมเข้าทางผิวหนังได้ดี ลักษณะพิเศษของน้ำมันมะพร้าวคือเป็นแหล่งสารต้านออกซิเดชันหลายชนิด เช่น วิตามินอี สารฟีนอล และไฟโตสเตอรอล (ณรงค์, 2554) จึงสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอางบำรุงผิวเพื่อให้ความชุ่มชื้นได้

ผิวหนังของมนุษย์เป็นอวัยวะที่ห่อหุ้มร่างกาย ทำหน้าที่ปกป้องอวัยวะต่างๆ เป็นที่กักเก็บน้ำและไขมัน ป้องกันการสูญเสียน้ำ ได้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ทดแทนหรือป้องกันการสูญเสียน้ำหรือความชุ่มชื้นจากผิว องค์ประกอบของสารที่ทำให้เกิดความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ได้แก่ อิมอลเลียนท์ (emollient) ฮิวเมคแทนท์ (humectant) สารทดแทนความชื้นตามธรรมชาติในผิว (natural moisturizing factor) หรือสารที่ให้ความชุ่มชื้นผิวอื่นๆ (พิมพร, 2543) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้มาก คือ โลชั่น ซึ่งเป็นอิมัลชันประเภทหนึ่ง อาจเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ หรืออิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันก็ได้ ขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการใช้ ประกอบด้วยเฟสของน้ำมัน และเฟสของน้ำ ผสมเข้าด้วยกันโดยมีอิมัลซิไฟเออร์เป็นสารที่ช่วยทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน Loo *et al.* (2013) ได้ศึกษาผลของการแปรเปลี่ยนส่วนผสมของ nanostructured lipid carriers ที่มีผลต่อความชุ่มชื้นของผิวซึ่งพบว่า การใช้ส่วนผสมที่แตกต่างกันมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

จากงานวิจัยต่างๆ ทำให้ทราบว่าปริมาณส่วนผสมที่จะใช้มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่น งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของส่วนผสม (น้ำมันมะพร้าว, แว็กซ์ และอิมัลซิไฟเออร์) ที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนผสมของน้ำมันมะพร้าว เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบและสารเคมี

1.1 วัตถุดิบ

น้ำมันมะพร้าวสกัดเย็น บริษัท ไทยเพียว จำกัด

1.2 สารเคมี

Stearic acid, Cetyl alcohol, Emulsifier (PEG-100 Stearate & Glyceryl stearate), Thickener (Polyacrylamide & C13-14, Isoparaffin & Laurate-7), Isononyl Isononanoate, Vitamin E, Phenostat, Distilled water

2. การศึกษาผลของส่วนผสมต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีน้ำมันมะพร้าวเป็นส่วนประกอบ

เตรียมผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีลักษณะเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ โดยแบ่งส่วนผสมเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งคือ เฟสที่กระจายประกอบด้วย น้ำมันมะพร้าว (2, 4 และ 6%), stearic acid: cetyl alcohol อัตราส่วน 1:1

(2 และ 4%), PEG-100 stearate & glyceryl stearate (1.5 และ 3%) และ Isononyl Isononanoate (5%) และส่วนที่สองคือ เฟสต่อเนื่องประกอบด้วย Thickener (2%) และน้ำกลั่น (q.s.) นำทั้งสองเฟสมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ผสมกันแล้วโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที เติม vitamin E (0.5%) และ Phenostat (1%) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำการโฮโมจีไนซ์อีกครั้งที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที บรรจุตัวอย่างใส่ขวดพลาสติกไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำตัวอย่างมาวัดคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพ และประสาทสัมผัส รวมถึงการศึกษาความคงตัวของโลชั่นดังนี้

2.1 ค่าความเป็นกรดด่าง

วัดค่าความเป็นกรดด่างด้วยเครื่อง pH Meter Cyberscan รุ่น 500 โดยนำตัวอย่างโลชั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ จากนั้นวัดค่าความเป็นกรดด่างของโลชั่น (ดัดแปลงจาก Shahtalebi *et al*., 2015)

2.2 ค่าสีของตัวอย่าง

เทตัวอย่างโลชั่นใส่ลงในจานแก้วใส (Petri dish) ประมาณ 2 ใน 3 ของภาชนะ ตรวจวัดค่าสีโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer (Minolta, CM-3500d) ใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 ผู้สังเกตการณ์มาตรฐาน 10° ในระบบค่าสีของ CIE L*, a*, b* โดยวัดในโหมด reflectance (ดัดแปลงจาก Chantrapornchai *et al*., 1998)

2.3 ค่าความหนืด

วัดค่าความหนืดของตัวอย่าง โดยใช้เครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer รุ่น DV-III โดยควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างที่ 25.0±0.2 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างโลชั่นมา 15 มิลลิลิตร ใส่ลงในกระบอกใส่ตัวอย่าง จากนั้นใช้หัวเข็มเบอร์ 29 ใช้ small sample adapter ในการวิเคราะห์ ที่ shear rate 2.5-50 s^{-1} บันทึกค่าความหนืดทุก 30 วินาที (ดัดแปลงจาก Shahtalebi *et al*., 2015)

2.4 ความคงตัวของผลิตภัณฑ์โลชั่น

ทดสอบความคงตัวโดยใช้วิธีการหมุนเหวี่ยง (Centrifugal test) โดยนำตัวอย่างโลชั่น 30 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง Refrigerated centrifuge (Rotina 380R, Hettich, Germany) อัตราการหมุน 5,000 g นาน 20 นาที บันทึกลักษณะของตัวอย่างโดยให้คะแนนตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (มอก. 152-2539)

2.5 การทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ

ทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 50 คน โดยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) โดยทดสอบบริเวณท้องแขน (ตั้งแต่ข้อพับจนถึงข้อมือ ทั้ง 2 ข้าง) กดตัวอย่าง 1 หยด (ประมาณ 1 กรัม) แล้วให้ผู้ทดสอบทาวนทิศทางตามเข็มนาฬิกา ประมาณ 30 วินาที แล้วเช็ดออกด้วยสำลี จากนั้นให้คะแนนความชอบตามความรู้สึก (ดัดแปลงจาก Noor *et al.*, 2013)

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางกายภาพ เคมี และการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test โดยใช้โปรแกรม SPSS for window version 12.0, SPSS Inc., Thailand ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 0.05

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของส่วนผสมต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนประกอบของน้ำมันมะพร้าว

จากการศึกษาผลของส่วนผสมต่อคุณภาพทางเคมี กายภาพ และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โลชั่น โดยศึกษาปริมาณน้ำมันมะพร้าว 3 ระดับ ได้แก่ 2, 4 และ 6% ปริมาณแว็กซ์ (อัตราส่วนของ stearic acid: cetyl alcohol เท่ากับ 1:1) 2 ระดับ ได้แก่ 2 และ 4% และอิมัลซิไฟเออร์ 2 ระดับ ได้แก่ 1.5 และ 3% นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษา ค่าความเป็นกรดด่าง ลักษณะปรากฏ ค่าสี ความหนืด ความคงตัวของอิมัลชัน และความชอบของผู้ทดสอบ จากการเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์โลชั่นทุกสูตรมีลักษณะเนื้ออิมัลชันที่มีเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น และมีสีขาว เมื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า ตัวอย่างมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.75 - 6.23 เมื่อนำมาวัดค่าความคงตัวของอิมัลชัน พบว่า ผลิตภัณฑ์โลชั่นทุกสูตร มีความคงตัวดีโดยไม่ปรากฏการแยกชั้นเมื่อผ่านการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 g (พิมพร, 2540)

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ทั้งสามปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ น้ำมันมะพร้าว แว็กซ์ และอิมัลซิไฟเออร์ มีผลต่อคุณภาพด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์โลชั่น เมื่อพิจารณาค่าสีใน Table 1 พบว่า ค่าความสว่าง (L*) อยู่ในช่วง 88.52 - 90.73 ค่าความเป็นสีแดง (a*) อยู่ในช่วง (-0.86) - (-0.51) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) อยู่ในช่วง (-0.99) - 0.5 เมื่อพิจารณาผลของอิมัลซิไฟเออร์ พบว่า การเพิ่มอิมัลซิไฟเออร์อาจส่งผลให้ขนาดอนุภาคในอิมัลชันมีขนาดเล็กลง จึงทำให้ค่า L* มีค่าเพิ่มขึ้น ดังเช่นงานวิจัยของ Chantrapornchai *et al.* (1998) ศึกษาผลของขนาดอนุภาคต่อค่าสีของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ พบว่า ขนาดอนุภาคของอิมัลชันที่เล็กลงมีผลทำให้ค่าความสว่างของอิมัลชันเพิ่มขึ้น

Table 1 Effect of ingredients on color of lotions.

Coconut oil (%)	Wax (%)	Emulsifier (%)	L*	a*	b*
2	2	1.5	88.55±0.50^{f}	-0.79±0.02^{g}	-0.64±0.04^{f}
		3	89.72±0.10^{cd}	-0.76±0.06^{fg}	-0.37±0.04^{e}
	4	1.5	90.26±0.15^{b}	-0.64±0.06^{cd}	0.29±0.05^{b}
		3	90.05±0.57^{bc}	-0.57±0.03^{b}	0.50±0.12^{a}
4	2	1.5	88.52±0.14^{f}	-0.60±0.03^{bc}	0.14±0.08^{g}
		3	88.84±0.38^{ef}	-0.51±0.03^{a}	0.51±0.24^{a}
	4	1.5	89.65±0.79^{d}	-0.72±0.03^{ef}	-0.08±0.03^{d}
		3	90.63±0.10^{a}	-0.74±0.05^{f}	-0.04±0.02^{d}
6	2	1.5	88.95±0.24^{e}	-0.86±0.02^{h}	-0.99±0.08^{c}
		3	89.86±0.12^{cd}	-0.74±0.10^{fg}	-0.36±0.04^{e}
	4	1.5	89.84±0.37^{cd}	-0.61±0.03^{bc}	0.11±0.01^{c}
		3	90.73±0.06^{a}	-0.67±0.10^{de}	0.08±0.02^{c}

$^{a-g}$ mean followed by different upper case letters in the same column indicate significant differences ($p\leq0.05$)

เมื่อทำพิจารณาสมบัติทางรีโอโลจีของผลิตภัณฑ์โลชั่น พบว่า ทุกตัวอย่างมีพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic นั่นคือ เมื่อเพิ่มอัตราเฉือน (shear rate) ตัวอย่างจะมีความหนืดลดลง ซึ่งเป็นลักษณะของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (Fig. 1) (McClements, 2005)

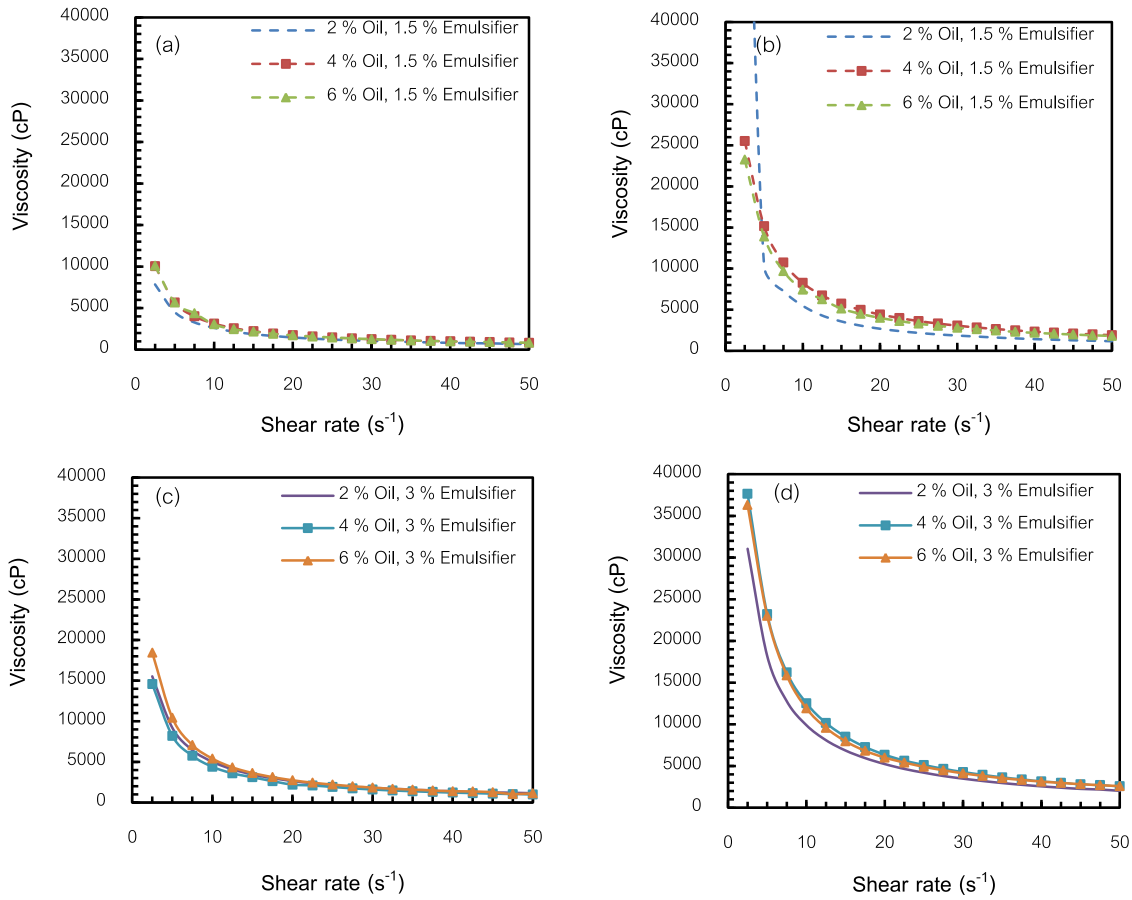


Figure 1 Viscosity of lotions with coconut oil; (a), (c) 2 % wax and (b), (d) 4 % wax.

เมื่อพิจารณาผลของส่วนผสมต่อความหนืดของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่อัตราเฉือน 30 s^{-1} พบว่า ทั้งสามปัจจัยมีอิทธิพลต่อความหนืดของโลชั่น เมื่อปริมาณน้ำมันมะพร้าว แว็กซ์ และอิมัลซิไฟเออร์เพิ่มขึ้น มีผลให้ความหนืดของโลชั่นเพิ่มขึ้น (Table 2) โดยพบว่า น้ำมันมะพร้าวและแว็กซ์มีปฏิกิริยาสัมพันธ์กันต่อความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) อาจเป็นผลมาจากทั้งน้ำมันมะพร้าวและแว็กซ์มีสมบัติเป็นไขมันทำให้ความเข้มข้นของเฟสกระจาย (dispersed phase) เพิ่มขึ้น ความหนืดของโลชั่นจึงเพิ่มขึ้นด้วย (McClements, 2005)

Table 2 Effect of coconut oil, wax and emulsifier on lotions viscosity with coconut oil.

Emulsifier	2 % wax^{b}			4 % wax^{a}		
(%)	2 % oil	4 % oil	6 % oil	2 % oil	4 % oil	6 % oil
1.5	1058.3 ± 11.8^{bB}	1281.2 ± 32.2^{aB}	1249.8 ± 23.7^{aB}	1853.6 ± 30.2^{bB}	2802.0 ± 20.5^{aB}	3056.2 ± 26.5^{aB}
3	1598.0 ± 62.2^{bA}	1831.2 ± 79.8^{aA}	1815.2 ± 23.9^{aA}	3487.5 ± 15.2^{bA}	4266.5 ± 17.7^{aA}	4145.8 ± 29.3^{aA}

Means within a column $^{(A-B)}$ and row $^{(a-b)}$ under each factor, means followed by a same letter are not significantly difference ($p\leq0.05$).

การวิเคราะห์ผลความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) พบว่า ปริมาณส่วนผสมทั้งสามปัจจัยมีผลต่อความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี การง่ายในการซึมสู่ผิว และความชอบโดยรวมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ความชอบต่อความง่ายในการทาของทุกสูตรไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาผลที่ได้ใน Table 3 พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณแว็กซ์มีผลให้แนวโน้มของคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี ความง่ายในการทาผิว ความง่ายในการซึมสู่ผิว และความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบเพิ่มขึ้น อาจจะเป็นผลมาจากลักษณะเนื้อสัมผัสของโลชั่นที่มีปริมาณแว็กซ์มากขึ้นไม่เหลวจนเกินไป เนื่องจากการเพิ่มปริมาณแว็กซ์ มีผลให้ความหนืดของโลชั่นเพิ่มขึ้น

Table 3 Average liking scores (9-point hedonic scale) of lotions with coconut oil.

Coconut oil (%)	Wax (%)	Emulsifier (%)	Appearance	Color	Spreadability on the skin	Feeling on the skin after adsorption	Overall liking
2	2	1.5	6.4±1.4[b]	6.7±1.5[b]	6.4±1.8[b]	4.2±1.8[e]	5.0±1.5[f]
		3	7.0±1.3[ab]	7.1±1.0[ab]	6.7±1.7[ab]	5.9±1.9[abc]	6.3±1.6[bcde]
	4	1.5	7.4±0.9[a]	7.5±1.0[a]	7.0±1.6[ab]	6.6±1.7[ab]	6.8±1.5[abc]
		3	7.1±1.4[ab]	7.2±1.1[ab]	7.0±1.4[ab]	6.6±1.5[ab]	6.9±1.2[abc]
4	2	1.5	7.0±1.5[ab]	7.0±1.1[ab]	6.8±1.9[ab]	5.5±1.9[cd]	6.0±1.8[cde]
		3	7.0±1.4[ab]	7.2±1.0[ab]	6.7±1.3[ab]	5.7±1.3[bcd]	6.1±1.2[cde]
	4	1.5	7.5±0.9[a]	7.4±1.0[a]	7.5±1.0[a]	6.7±1.3[a]	7.2±1.2[a]
		3	7.6±0.8[a]	7.5±0.9[a]	7.2±1.2[ab]	6.3±1.6[abc]	6.9±1.3[abc]
6	2	1.5	6.9±1.4[ab]	7.1±0.8[ab]	6.6±1.8[ab]	4.9±1.6[de]	5.3±1.5[ef]
		3	7.5±0.9[a]	7.4±1.0[a]	6.9±1.6[ab]	6.3±1.5[abc]	6.6±1.5[abcd]
	4	1.5	7.4±1.2[a]	7.5±0.9[a]	7.4±1.3[a]	6.8±1.5[a]	7.0±1.3[ab]
		3	7.5±1.2[a]	7.5±0.9[a]	7.3±1.4[ab]	6.8±1.7[a]	7.1±1.5[ab]

[a-f] mean followed by different upper case letters in the same column indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

สรุป

จากการศึกษาผลของส่วนผสมต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นที่มีส่วนประกอบของน้ำมันมะพร้าว พบว่า ปริมาณน้ำมันมะพร้าว แว็กซ์ และอิมัลซิไฟเออร์มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่น ผลิตภัณฑ์โลชั่นทุกสูตรมีลักษณะเป็นอิมัลชันที่มีเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น และมีสีขาว มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.75 - 6.23 มีความคงตัวดีโดยไม่ปรากฏการแยกชั้นเมื่อผ่านการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 g เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าคุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัสพบว่า ค่าสีของผลิตภัณฑ์โลชั่น มีค่าความสว่าง (L*) อยู่ในช่วง 88.52 - 90.73 ค่าความเป็นสีแดง (a*) อยู่ในช่วง (-0.86) - (-0.51) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) อยู่ในช่วง (-0.99) - 0.5 ทุกตัวอย่างมีพฤติกรรมการไหลแบบ shear thinning โดยส่วนผสมทั้งสามมีอิทธิพลต่อความหนืดของโลชั่น เมื่อปริมาณน้ำมันมะพร้าว แว็กซ์ และอิมัลซิไฟเออร์เพิ่มขึ้น มีผลให้ความหนืดของโลชั่นเพิ่มขึ้น และพบว่า น้ำมัน

มะพร้าวและแว็กซ์มีปฏิกิริยาสัมพันธ์กันต่อความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนของผลการทดสอบความชอบ (9-point hedonic scale) ของผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 50 คน ที่มีต่อลักษณะปรากฏ สี ความง่ายในการทา ความง่ายในการซึมสู่ผิว และความชอบโดยรวม พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณแว็กซ์มีผลให้แนวโน้มของคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี ความง่ายในการทาผิว ความง่ายในการซึมสู่ผิว และความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่สนับสนุนทุนวิจัยผ่านหน่วยวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์ (PIRUN)

เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ โฉมเฉลา. 2554. **มหัศจรรย์น้ำมันมะพร้าว**. พิมพ์ครั้งที่ 1. โพสต์ พับลิชชิง, กรุงเทพฯ.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2540. **อิมัลชันทางเครื่องสำอาง.** พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

_______. 2543. **เครื่องสำอางธรรมชาติผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง.** ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม, คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2539. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง: ข้อกำหนดทั่วไป.** มอก. 478-2526.

Chantrapornchai, W., F. Clydesdale and D.J. McClements. 1998. Influence of droplet size and concentration on the color of oil-in-water emulsions. **Journal of Agriculture and Food Chemistry.** 46: 2914-2920.

Loo, C., M. Basri, R. Ismail, H.L.N. Lau, B.A. Tejo, M.S. Kanthimathi, H.A. Hassan and Y.M. Choo. 2013. Effect of compositions in nanostructured lipid carriers (NLC) on skin hydration and occlusion. **International Journal of Nanomedicine**. 8: 13–22.

McClements, D.J. 2005. **Food Emulsion: Principle, Practice and Techniques.** 2nd ed. CRC Press., USA.

Noor, N. M., A.A. Aziz, M.R. Sarmidi and R. Aziz. 2013. The effect of virgin coconut oil loaded solid lipid particles (VCO-SLPs) on skin hydration and skin elasticity**. Jurnal Teknologi.** 62: 39-43.

Shahtalebi, M.A., A.H. Siadat and S. Karbasizade. 2015. Preparation and evalution of the clinical efficacy and safety of tomato lotion containing lycopene. **Journal of HerbMed Pharmacology.** 4(4): 142-148.

Zhong, L., M. Oostrom, M.J. Truex., V.R. Vermeul. and J.E. Szecsody. 2013. Rheological behavior of xanthan gum solution related to shear thinning fluid delivery for subsurface remediation. **Journal of Hazardous Materials.** 244-245: 160-170.

คุณสมบัติของไซลาเนสชอบอุณหภูมิสูงจาก *Thermobifida fusca* PA 1-1

Characteristics of Thermophilic Xylanase from *Thermobifida fusca* PA 1-1

มังกร โรจน์ประภากร[1*] ดนัย ขอประเสริฐ[1] วีระสิทธิ์ สรรพมงคลไชย[1] และ วิรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตนา[1]

Mangkorn Rodprapakorn[1*], Danai Khorprasert[1], Werasit Sanpamongkolchai[1] and Wirat Vanichasriratana[1]

บทคัดย่อ

Thermobifida fusca PA 1-1 ซึ่งถูกคัดแยกจากทลายปาล์มในประเทศไทยผลิตไซลาเนสสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหาร minimal salt-yeast extract nutrient ซึ่งใช้ฟางข้าวร้อยละ 1.5 เป็นแหล่งคาร์บอนที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 11.0 เขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที นาน 6 วัน พบว่าไซลาเนสซึ่งยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แสดงค่ากิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 6.0 และอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีความเสถียรสูงในช่วงพีเอช 4.0-8.0 และช่วงอุณหภูมิ 40-65 องศาเซลเซียส กิจกรรมของไซลาเนสถูกกระตุ้นเพิ่มสูงขึ้นโดย 10 mM Mn^{2+} และถูกลดลงโดย EDTA ไซลาเนสซึ่งชอบอุณหภูมิสูงนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการใช้งานในภาคอุตสาหกรรมต่างๆ อาทิ เช่น ด้านการเกษตร อาหาร และเชื้อเพลิงชีวภาพ

ABSTRACT

Thermobifida fusca PA 1-1 which was isolated from palm empty bunch in Thailand showed the maximum xylanase production when grown in minimal salts-yeast extract nutrient medium using 1.5% rice straw as a carbon source at 50°C, pH 11.0 and shaken at 250 rpm after 6 days of incubation. Crude xylanase exhibited highest activity at pH 6.0 and 65°C. Stability of crude enzyme was high at pH range 4.0-8.0 and 40-65°C. Xylanase activity was stimulated by 10 mM Mn^{2+} and decreased by EDTA. This thermophilic xylanase should therefore be useful for several industrial applications, such as agricultural, food and biofuel.

Key Words: thermophilic xylanase, Thermobifida fusca, optimum temperature, optimum pH

* Corresponding author; e-mail address: MANGKORN.R@KU.AC.TH

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ไซแลนเป็นพอลิแซคคาไรด์ซึ่งประกอบด้วยโครงสร้างแกนหลักของ β-1,4-D-xylopyranoside residues และกิ่งก้านสาขาสายสั้น ไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลส และเป็นวัสดุจากพืชซึ่งมีมากเป็นอันดับที่สองในธรรมชาติ (Kuhad and Singh, 1993) การย่อยสลายไซแลนอย่างสมบูรณ์จำเป็นจะต้องมีการทำงานเสริมกันของเอนไซม์ไซลาโนติกหลายชนิด ซึ่งประกอบด้วย endoxylanase, β-xylosidase และเอนไซม์อื่นๆ อาทิเช่น α-arabinofuranosidase และ α-glucuronidase (Sunna and Antranikian, 1997) โดยในบรรดาเอนไซม์เหล่านี้ endoxylanase (β-1,4-xylan xylohydrolase; EC 3.2.1.8) จะเป็นเอนไซม์หลักย่อยสลายไซแลนเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นความยาวต่างๆ (Krengel et al. 1996)

ปัจจุบันไซลาเนสถูกใช้ในกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพต่างๆ เช่น กระบวนการเปลี่ยนลิกโนเซลลูโลสเป็นน้ำตาลสำหรับผลิตภัณฑ์ทางอุตสาหกรรมต่างๆ รวมทั้งเชื้อเพลิงชีวภาพ กระบวนการผลิตอาหารสัตว์ การทำน้ำผลไม้และไวน์ให้ใส การปรับปรุงคุณภาพขนมปัง การฟอกสีทางชีวภาพและการผลิตเส้นใย การฟอกสีเยื่อกระดาษ การผลิตไซเลจ การบำบัดของเสีย ฯลฯ (Butt et al. 2008; Bajaj and Singh, 2010) โดยส่วนใหญ่ทำในสภาวะอุณหภูมิสูงจึงทำให้เอนไซม์ซึ่งมีความเสถียรที่อุณหภูมิสูงมีความได้เปรียบมากกว่า

ไซลาเนสเป็น extracellular enzymes ผลิตโดยจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีต รา และยีสต์บางชนิด แอคติโนมัยซีตเป็นแบคทีเรียแบบเส้นใยชนิดแกรมบวกซึ่งถูกรายงานว่าผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมหลายชนิดซึ่งเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส ยิ่งกว่านั้นแล้วไซลาเนสซึ่งถูกผลิตจากแอคติโนมัยซีตยังมีค่ากิจกรรมสูงและมีความเสถียรที่สภาวะอุณหภูมิสูง (Sharma and Bajaj, 2005) และมีค่าพีเอชที่เหมาะสมในช่วงกว้างซึ่งสะดวกต่อการใช้งานในอุตสาหกรรมต่างๆ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสมบัติของเอนไซม์ไซลาเนสชอบอุณหภูมิสูงซึ่งผลิตโดยแอคติโนมัยซีตชอบอุณหภูมิสูง *Thermobifida fusca* PA 1-1 ซึ่งคัดแยกจากทลายปาล์มในประเทศไทย (วาทินี, 2554)

อุปกรณ์และวิธีการ

จุลินทรีย์และสภาวะการเพาะเลี้ยง

แอคติโนมัยซีต *Thermobifida fusca* PA 1-1 ซึ่งถูกคัดแยกจากทลายปาล์มในประเทศไทย (วาทินี, 2554) ถูกเก็บรักษาในรูปสารแขวนลอยของสปอร์และเส้นใยในสารละลายกลีเซอรอล 20% (v/v) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และถูกถ่ายเชื้อโดยการเลี้ยงบนจานอาหาร L-agar (Ramachandra et al. 1988) ซึ่งประกอบด้วย ทริปโตน 0.5% (w/v) สารสกัดจากยีสต์ 0.5% (w/v) โซเดียมคลอไรด์ 0.5% (w/v) กลูโคส 0.1% (w/v) และวุ้น 1.5% (w/v) พีเอช 8.0 และใช้สปอร์ซึ่งแขวนลอยในสารละลายกลีเซอรอล 20% (v/v) เป็นกล้าเชื้อของทุกการเพาะเลี้ยง

การผลิตไซลาเนส

เติมกล้าเชื้อในอัตราส่วน 5% ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรซึ่งมีอาหารเหลว minimal salts-yeast extract nutrient (MSYE) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยปรับพีเอช 11.0 ด้วย 1 N NaOH (Ramachandra et al. 1988) ฟางข้าว 1.5% (w/v) โดยอาหารเหลวประกอบด้วยสารสกัดจากยีสต์ 0.6% (w/v) แอมโมเนียมซัลเฟต 0.01% (w/v) โซเดียมคลอไรด์ 0.03% (w/v) แมกนีเซียมซัลเฟต 0.01% (w/v) แคลเซียมคาร์บอเนต 0.02% (w/v)

และสารละลาย Trace element 1.0% (w/v) พีเอช 8.0 โดยสารละลาย Trace element ประกอบด้วย เฟอรัสซัลเฟต 0.1% (w/v) ซิงค์ซัลเฟต 0.09% (w/v) และแมงกานีสซัลเฟต 0.02% (w/v) พีเอช 8.0 เพาะเลี้ยงในเครื่องเขย่า (VISION VS-8480SFN) ที่ความเร็ว 250 rpm อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงและปั่นเหวี่ยงแยกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำส่วนใสซึ่งมี crude enzyme ไปวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของไซลาเนส

การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของไซลาเนส

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของไซลาเนสโดยการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากสารละลายไซแลนด้วยวิธี 3,5-dinitro-salicylic acid (DNS) (Miller, 1959) โดยการทำปฏิกิริยาสารละลายไซแลน (1% Beechwood xylan) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.0 กับเอนไซม์ซึ่งถูกเจือจางในระดับที่เหมาะสมปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม DNS reagent ในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็นด้วยการแช่ในน้ำแข็งนาน 5 นาที ตรวจวัดค่ากิจกรรมของไซลาเนสโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ 1 หน่วยของไซลาเนสเท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายไซแลนจนได้น้ำตาลไซโลส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

ผลของพีเอชต่อกิจกรรมและความเสถียรของไซลาเนส

ศึกษาการทำงานของไซลาเนสโดยการตรวจวัดค่ากิจกรรมของไซลาเนสในช่วงพีเอช 3.0-12.0 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที โดยใช้สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ควบคุมพีเอชในช่วง 3.0-6.5 ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ควบคุมพีเอชในช่วง 7.0-8.0 และใช้สารละลาย Glycine-NaOH บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ควบคุมพีเอชในช่วง 9.0-12.0 และศึกษาความเสถียรของไซลาเนสโดยการบ่มไซลาเนสในช่วงพีเอช 3.0-12.0 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์ค่ากิจกรรมของไซลาเนสที่เหลืออยู่ที่พีเอช 7.0

ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมและความเสถียรของไซลาเนส

ศึกษาการทำงานของไซลาเนสโดยการตรวจวัดค่ากิจกรรมของไซลาเนสในสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งมีพีเอชที่เหมาะสมและแปรผันอุณหภูมิในช่วง 40-80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี DNS (Miller, 1959) และศึกษาความเสถียรของไซลาเนสโดยการบ่มเอนไซม์ในช่วงอุณหภูมิ 40-80 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นแล้ววิเคราะห์ค่ากิจกรรมของไซลาเนสที่เหลืออยู่

ผลของไอออนโลหะและสารคีเลตต่อกิจกรรมของไซลาเนส

ศึกษาการทำงานของไซลาเนสโดยการตรวจวัดค่ากิจกรรมของไซลาเนสในสภาวะที่เหมาะสมที่มีไอออนโลหะต่อไปนี้ Na^{+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+} และ Ca^{+} และสารคีเลต EDTA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ตรวจวัดค่ากิจกรรมของไซลาเนสที่เหลืออยู่เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมไอออนโลหะและสารคีเลต

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของพีเอชต่อกิจกรรมและความเสถียรของไซลาเนส

กิจกรรมของไซลาเนสซึ่งยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ในช่วงพีเอช 3.0-12.0 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของไซลาเนสคือพีเอช 6.0 (กิจกรรมเท่ากับ 97.03 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่กิจกรรมของไซลาเนสมีค่าต่ำในสภาวะเป็นด่างโดยมีกิจกรรมสัมพัทธ์เหลือเพียงร้อยละ 41 ที่พีเอช 8.0 และเหลือเพียงร้อยละ 17 ทีพีเอช 12.0 และที่พีเอชต่ำกว่า 5.5 เกิดการตกตะกอนของเอนไซม์ ซึ่งปรากฏการณ์นี้คล้ายคลึงกับไซลาเนสจากราเช่น *Aspergillus nidulans* (Fernández-Espinar et al. 1993) และ *Trichoderma coningii* G-39 (Huang et al. 1991) ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงพีเอช 4-6 และมีเอนไซม์จากแบคทีเรียเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นซึ่งแสดงกิจกรรมสูงสุดที่พีเอชสูงกว่า 7.0 และยังพบว่าเอนไซม์ endoxylanase และ endoglucanase ของแอคติโนมัยซีตจาก *T. fusca*, *T. curvata*, *T. chromogenes* และ *Saccharomonospora viridis* มีความคล้ายคลึงกันคือกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้มีพีเอชที่เหมาะสมในช่วงพีเอช 5-8 (Tuncer, 2000)

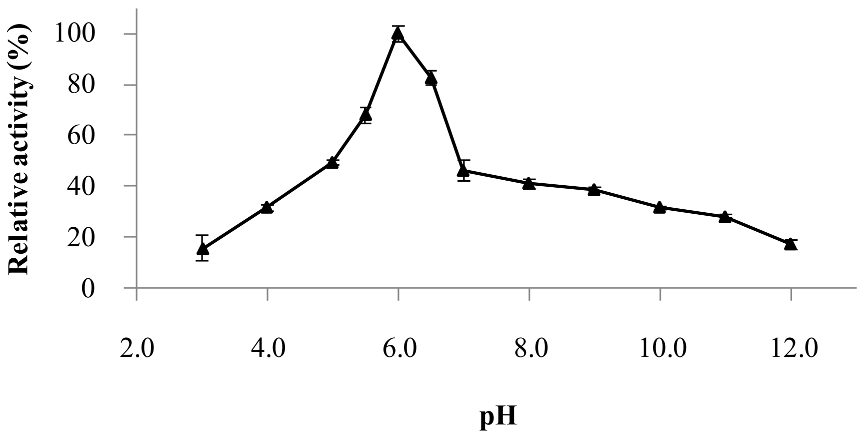


Figure 1 Effect of pH on xylanase activity of the *Thermobifida fusca* PA 1-1

การศึกษาความเสถียรของเอนไซม์นี้โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงในช่วงพีเอช 3.0-12.0 พบว่าไซลาเนสมีความเสถียรในช่วงพีเอชกลางไปจนถึงสภาวะเป็นกรด (4.0-6.5) และมีกิจกรรมเหลือสูงกว่าร้อยละ 90 ของกิจกรรมเริ่มต้น กิจกรรมของไซลาเนสลดลงอย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะเป็นด่าง และที่พีเอช 12.0 มีกิจกรรมของไซลาเนสเหลือประมาณร้อยละ 60 ของกิจกรรมเริ่มต้น (ภาพที่ 2) โดยการลดลงของกิจกรรมของไซลาเนสที่สภาวะเป็นด่างเนื่องจากค่าประจุในแอคทิฟไซต์ของโมเลกุลของเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของเอนไซม์และสับสเตรท (Pal and Khranum, 2011) ดังนั้นจึงสามารถจะใช้ประโยชน์จากการชอบสภาวะเป็นกรดและมีความเสถียรเพิ่มขึ้นในสภาวะเป็นกรดของไซลาเนสนี้สำหรับการใช้งานในอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งเอนไซม์จะต้องทำงานในสภาวะพีเอชต่ำได้

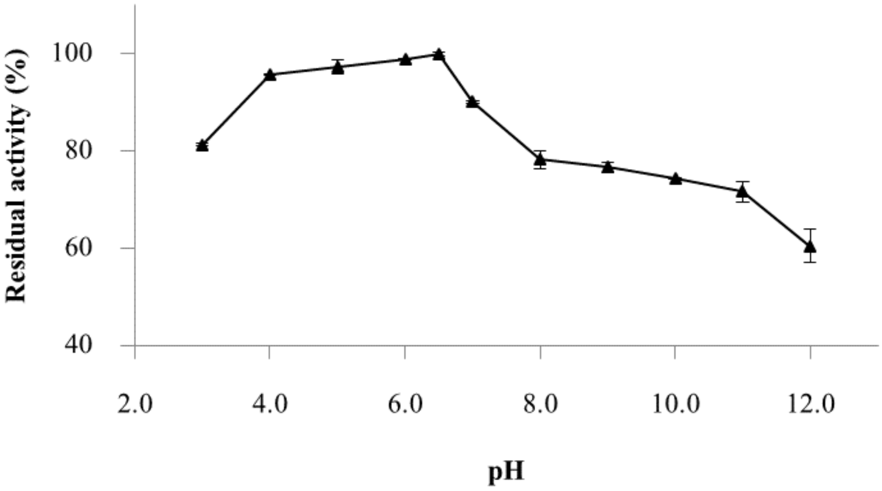


Figure 2 Effect of pH on xylanase stability of the *Thermobifida fusca* PA 1-1

ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมและความเสถียรของไซลาเนส

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของไซลาเนสในช่วงอุณหภูมิ 40-80 องศาเซลเซียส พบว่ากิจกรรมสูงสุดของไซลาเนสเท่ากับ 127.18 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3) และมีกิจกรรมสัมพัทธ์สูงกว่าร้อยละ 90 ในช่วงอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส กิจกรรมของไซลาเนสเริ่มลดต่ำลงเมื่ออุณหภูมิสูงเกิน 65 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมของไซลาเนสนี้ใกล้เคียงกับไซลาเนสจาก *Bacillus subtilis* (Pereira et al., 2002) *Streptomyces actuosus* A-151 (Wang et al. 2003) *Streptomyces mexicanus* 901 (Khaibuddee, 2014) และ *Bacillus* sp. JB-99 (Virupakshi et al. 2005)

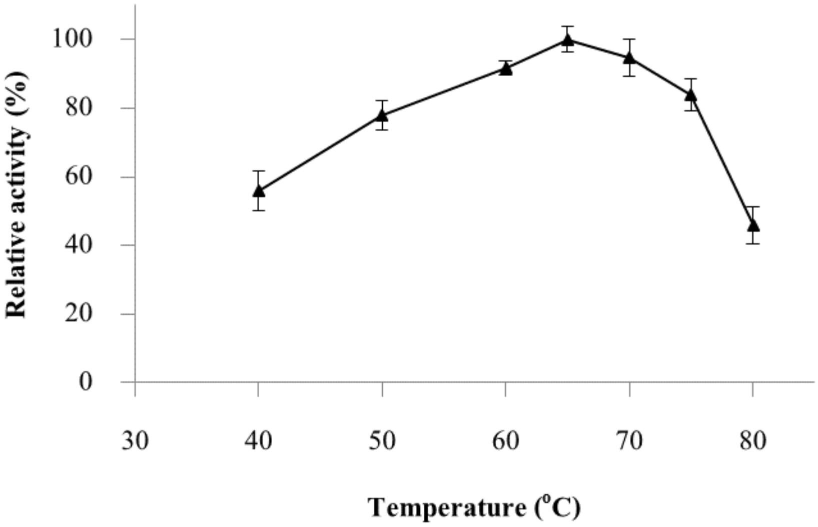


Figure 3 Effect of temperature on xylanase activity of the *Thermobifida fusca* PA 1-1

ภายหลังจากบ่มนาน 1 ชั่วโมง ที่พีเอช 6.0 เอนไซม์ซึ่งไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ยังมีกิจกรรมเหลือสูงกว่าร้อยละ 90 ของกิจกรรมเริ่มต้นในช่วงอุณหภูมิ 40-65 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามกิจกรรมของไซลาเนสเริ่มลด

ลงเมื่ออุณหภูมิสูงเกิน 65 องศาเซลเซียส และสูญเสียกิจกรรมเกือบทั้งหมดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4)

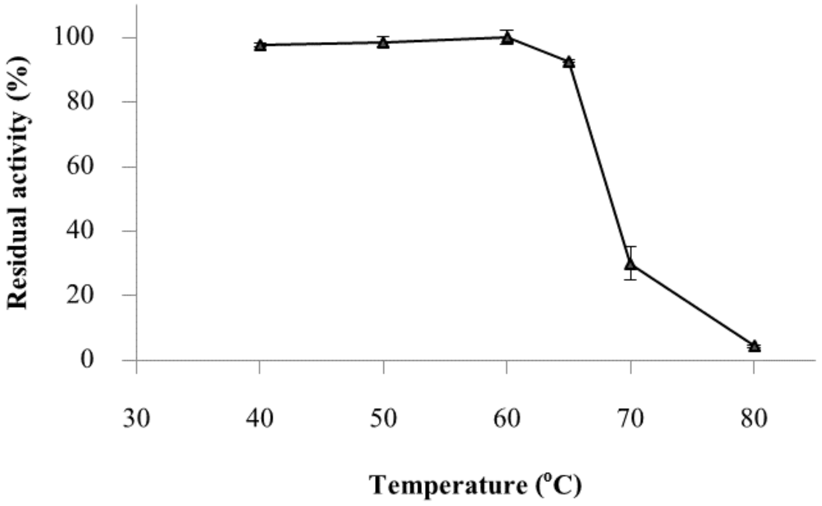


Figure 4 Effect of temperature on xylanase stability of the *Thermobifida fusca* PA 1-1

ผลของไอออนโลหะและสารคีเลตต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส

การทดสอบผลของไอออนโลหะชนิดต่างๆ และสารคีเลตต่อกิจกรรมของไซลาเนสโดยการเติมสารละลายของเกลือโลหะและสารคีเลตให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่ากิจกรรมของไซลาเนสไม่ได้รับผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญจากไอออนของ Ca^{+}, Na^{+}, Mg^{2+}, Mn^{2+} และ Fe^{2+} ซึ่งผลเหมือนกับไซลาเนสจาก *Streptomyces mexicanus* 901 (แพรสาย, 2557), *F. proliferatum* (Saha, 2002) และ *J. denitrificans* (Nawel et al. 2011) อย่างไรก็ตาม พบว่ากิจกรรมของไซลาเนสนี้ถูกกระตุ้นเพิ่มสูงขึ้นโดย Mn^{2+} เช่นเดียวกับไซลาเนสจาก *S. mexicanus* 901 (แพรสาย, 2557)

Table 1 Effect of metal ions and chelating agent on xylanase activity

Additives	Relative Activity (%)
Control	100[a]
Mg^{2+}	97.18[a]
Mn^{2+}	123.75[b]
Fe^{2+}	97.49[a]
Ca^{2+}	98.96[a]
Na^{+}	97.40[a]
EDTA	86.96[c]

*Note: Mean values in the same column followed by a different letter represent significant differences ($P < 0.05$).

สันนิษฐานว่า Mn^{2+} มีผลโดยการทำปฏิกิริยากับกรดแอมิโนบางชนิดในแอคทิฟไซต์ของเอนไซม์ทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างส่งผลทำให้มีกิจกรรมเพิ่มสูงขึ้น ขณะที่ไอออนโลหะอื่นๆไม่มีผลต่อแอคทิฟไซต์

(Nakamura et al. 1993; Nawel et al. 2011) และผลของ EDTA ซึ่งทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนสนี้ลดลง สันนิษฐานว่าเกิดจาก EDTA จับกับไอออนโลหะที่จำเป็นสำหรับการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์นี้

สรุป

Thermobifida fusca PA 1-1 ผลิตไซลาเนสซึ่งชอบอุณหภูมิสูง โดยมีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ซึ่งไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์เท่ากับ 6.0 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีความเสถียรในช่วงพีเอช 4.0-8.0 และช่วงอุณหภูมิ 40-65 องศาเซลเซียส กิจกรรมของไซลาเนสถูกกระตุ้นเพิ่มสูงขึ้นโดย Mn^{2+} และถูกลดลงโดย EDTA

เอกสารอ้างอิง

แพรสาย ไขบุดดี 2557. **การผลิต การทำให้บริสุทธิ์บางส่วน และคุณสมบัติของไซลาเนสจาก *Streptomyces mexicanus* 90**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วาทินี คุณเผือก. 2554. **การคัดแยก ศึกษาสมบัติ และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสจากแบคทีเรียชอบความร้อนสูงในดิน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Bajaj B.K. and Singh N.P. 2010. Production of xylanase from an alkalitolerant *Streptomyces* sp. 7b under solid-state fermentation, its purification, and characterization. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 62: 1804-1818.

Butt, M.S., Ahmad Z.and Sultan M.S. 2008. Xylanases and their applications in baking industry. **Food Technol. Biotechnol.** 46: 22-31.

Fernández-Espinar, M.T., Piñaga, F., Sanz, P., Ramón, D. and Vallés, S. 1993. Purification and characterization of a neutral endoxylanase from *Aspergillus nidulans*. **FEMS Microbiol Letters.** 113: 223-228.

Huang, L., Hseu, T.H. and Wey, T.T. 1991. Purification and characterization of an endoxylanase from *Trichoderma koningii* G-39. **Biochemical J.** 278: 329-333.

Khaibuddee P., Rodprapakorn M. and Sanpamongkolchai W. 2014. Partial purification and characterization of xylanase from *Streptomyces mexicanus* 901, pp. 90–97. *In* **The Proceeding of 26th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference.** Mae Fah Luang University, Chiang Rai. Thailand.

Krengel, U., Dijkstra B.W. and Bioson A.F. 1996. Three–dimensional structure of endo-1,4-β-xylanase I from *Aspergillus niger*: Molecular basis for its low pH optimum. **J. Mol. Biol**. 263: 70–78.

Kuhad, R.C. and Singh, A., 1993. Lignocellulosic biotechnology: current and future prospects. **Critical Reviews in Biotechnology**. 13: 151-172.

Miller G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**. 31: 426-428.

Nakamura S., Wakabayashi K., Nakai R., Aono R. and Horikoshi K. 1993. Purification and some properties of an alkaline xylanase from alkaliphilic *Bacillus* sp. strain 41M-1. **Applied and Environmental Microbiology.** 59(7): 2311-2316.

Nawel B., Said B., Estelle C., Hakim H. and Duchiron F. 2011. Production and partial characterization of xylanase produced by *Jonesia denitrificans* isolated in Algerian soil. **Process Biochemistry**. 46: 519–525.

Pal A. and Khanum F. 2011. Purification of xylanase from *Aspergillus niger* DFR-5: Individual and interactive effect of temperature and pH on its stability. **Process Biochemistry**. 46: 879–887.

Pereira P.S., Ferreira M.C. and Barros M.R.A. 2002. Enzymatic properties of a neutral endo-1,3(4)-*β*-xylanase XylI from *Bacillus subtilis*. **Journal of Biotechnology**. 94: 256–275.

Ramachandra M., Craeford D.L. and Hertel G. 1988. Characterization of an extracellular lignin peroxidase of the lignocellulolytic actinomycete *Streptomyces viridosporus*. **Applied and Environmental Microbiology**. 54: 3057–3063.

Saha, B.C. 2002. Production, purification and properties of xylanase from a newly isolated *Fusarium proliferatum* capable of utilizing corn fiber xylan. **Process Biochem**. 37: 1279-1284.

Sharma, P. and Bajaj, B.K. 2005. Production and partial characterization of alkali-tolerant xylanase from an alkaliphilic *Streptomyces* sp. CD3. **J. Sci. Ind. Res.** 64: 688-698.

Sunna A. and Antranikian G. 1997. Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. **Critical Reviews in Biotechnology**. 17: 39–67.

Tuncer M. 2000. Characterization of endoxylanase activity from *Thermomonospora fusca* BD25. **Turkish Journal of Biology**. 24: 737-752.

Virupakshi K., Kyu K. L. and Tanticharoen M. 2005. Purification and properties of a xylan-binding endoxylanase from alkaliphilic *Bacillus* sp. strain K-1. **Applied and Environmental Microbiology**. 65: 694-697.

Wang S.L., Yen Y.H. and Shih I.L. 2003. Production of xylanases from rice bran by *Streptomyces actuosus* A-15. **Enzyme and Microbial Technology**. 33: 917-925.

อิทธิพลของกลีเซอรอลต่อสมบัติทางกายภาพและความร้อนของฟิล์มสตาร์ชมันสำปะหลัง

Effect of Glycerol on Physical and Thermal Properties of Tapioca Starch Films

ศศิประภา ปิติภัทรวรโชติ[1] และ บัวผัน พวงศิลป์[1*]

Sasiprapa Pitiphatharaworachot[1] and Buapan Puangsin[1*]

บทคัดย่อ

การศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการใช้กลีเซอรอลเพื่อเป็นพลาสติไซเซอร์ ร่วมกับแป้งมันสำปะหลังธรรมชาติในการเตรียมฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช ด้วยเทคนิคการขึ้นรูปแบบสารละลาย โดยใช้การเติมกลีเซอรอลที่ระดับต่างๆ (20, 25, 30 และ 35% โดยน้ำหนัก) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติของฟิล์ม คือ ปริมาณความชื้น ทัศนสมบัติ สมบัติความแข็งแรงทางด้านแรงดึง และสมบัติทางด้านความร้อน จากการศึกษาพบว่า ที่ระดับการเติมความเข้มข้นกลีเซอรอล 25% แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการยอมให้แสงส่องผ่าน ความแข็งแรงทางด้านแรงดึง และโมดูลัสยืดหยุ่น มีค่าสูงสุด (73%, 17 เมกะปาสคาล และ 1577 เมกะปาสคาล ตามลำดับ) เมื่อเพิ่มระดับการเติมกลีเซอรอล พบว่าร้อยละการยืดตัวและปริมาณความชื้นของแผ่นฟิล์มมีค่าสูงขึ้นเป็นอย่างมากจาก 1 เป็น 19% และจาก 8.5 เป็น 25.3% ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นของกลีเซอรอลสูงขึ้นความเสถียรทางความร้อนของตัวอย่างทดลองต่ำลง

ABSTRACT

The optimization of glycerol addition level as plasticized with natural tapioca starch to prepare thermoplastic starch films by solution casting method was carried out. Various glycerol addition levels (20, 25, 30 and 35% by weight) were applied to evaluate the film properties. Moisture content, optical, tensile and thermal property of the films were determined. At addition level of 25%, glycerol-plasticized film exhibited the highest light transmittance, tensile strength and Young's modulus (73%, 17 MPa and 1577 MPa, respectively). With more glycerol addition, elongation at break and moisture content of the films were dramatically increased from 1 to 19% and 8.5 to 25.3%, respectively. However, the higher concentration of the glycerol was added, the lower thermal stability of samples was achieved.

Key Words: glycerol, tapioca, starch, film

* Corresponding author; e-mail address: fforbpp@ku.ac.th

[1]ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Forest Products, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

วัตถุดิบที่ถูกนำมาใช้ในบรรจุภัณฑ์อาหาร ได้แก่ แก้ว โลหะ กระดาษ กระดาษแข็ง และพลาสติก อย่างไรก็ตาม บรรจุภัณฑ์อาหารถูกจับตามองว่าจะสามารถช่วยลดและจัดการอัตราการเกิดขยะ เพราะการจัดการขยะคือสิ่งสำคัญที่จะช่วยรักษาสุขภาพมนุษย์และสิ่งแวดล้อมได้ ปัจจุบันสัดส่วนของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์จะได้มาจากเชื้อเพลิงถ่านหิน หรือกลุ่มปิโตรเคมี ซึ่งส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยสลายได้ ด้วยเหตุผลนี้ วัตถุดิบบรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร โดยเฉพาะในกลุ่มบรรจุภัณฑ์อาหารที่มีการเก็บรักษาได้ไม่นาน ได้กลายมาเป็นปัญหาใหญ่ทางด้านสิ่งแวดล้อมของโลก ดังนั้นจึงได้มีความพยายามที่จะเพิ่มอายุการจัดเก็บและรักษาคุณภาพอาหารขึ้นมา โดยขณะเดียวกันก็ลดการใช้บรรจุภัณฑ์อาหารเพื่อที่จะลดขยะลงด้วย ซึ่งทำให้เกิดการศึกษาค้นคว้าวัตถุดิบชนิดใหม่ที่เกิดจากธรรมชาติ (bio-based packaging materials) เช่น ฟิล์มจากวัตถุดิบที่ธรรมชาติสร้างขึ้นใหม่ได้และเป็นฟิล์มที่สามารถกินและย่อยสลายได้ นอกเหนือจากนี้ก็ยังคงรักษาสภาพอาหารทั้งคุณภาพ รสชาติ และความปลอดภัยให้กับลูกค้าได้ด้วย ปัจจุบันงานวิจัยในกลุ่ม พอลิเมอร์นาโนคอมโพสิท (polymer nanocomposites) ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากพบว่าสามารถช่วยปรับปรุงคุณสมบัติความแข็งแรง และการต้านทานการไหลของไอน้ำของพอลิเมอร์ได้ โดยพอลิเมอร์นาโนคอมโพสิท จะประกอบด้วยพอลิเมอร์ที่ผสมฟิลเลอร์เสริมแรงที่มีขนาดเล็กระดับนาโนซึ่งส่งผลให้มีคุณสมบัติที่ดีกว่า และแตกต่างกว่าการใช้ฟิลเลอร์เสริมแรงที่มีขนาดระดับมาโคร

แป้งจัดเป็นวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติชนิดหนึ่ง ที่มีศักยภาพสูง ในการใช้เป็นวัตถุดิบทดแทนในการผลิตพลาสติกบรรจุภัณฑ์ที่ได้จากปิโตรเคมี เนื่องจากมีความพร้อมในการใช้งานสูง ราคาค่อนข้างต่ำ สามารถย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ (รังสินี, 2558) ลักษณะเด่นของแป้งมันสำปะหลัง คือมีความบริสุทธิ์สูง มีสิ่งปนเปื้อนต่ำ เม็ดแป้งมันสำปะหลังโดยส่วนใหญ่จะมีขนาดปานกลาง คืออยู่ในช่วง 3-40 ไมครอน เมื่อได้รับความร้อน จะมีค่ากำลังการพองตัวสูงจึงให้ความหนืดสูง เมื่อทำให้เย็นลงจะมีความหนืดต่ำ เนื่องจากมีอะมิโลสค่อนข้างต่ำ ทำให้เกิดการจับกันของหมู่ไฮดรอกซิลของอะมิโลสในระหว่างเย็นตัวต่ำ (retrogradation) จึงเป็นแป้งที่เกิดการคืนตัวต่ำ (ค่า setback ต่ำ) และให้ลักษณะของแป้งเปียกที่ใส ไม่ทึบแสง เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่นๆ (กล้าณรงค์, 2550) ฟิล์มที่ผลิตจากแป้งมีคุณสมบัติขวางกั้นออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดี ซึ่งเป็นสมบัติที่เหมาะกับการผลิตเป็นพลาสติกบรรจุภัณฑ์ แต่ยังมีข้อเสียคือ แป้งธรรมชาติมีความเปราะและความสามารถในการผลิตไม่ดี (Sanyang *et al.*, 2016) เนื่องมาจากในการขึ้นรูปฟิล์ม จะเกี่ยวข้องกับแรงสองชนิด ได้แก่ โคฮีชัน (cohesion เป็นแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ด้วยกันภายในฟิล์ม) และแอดฮีชัน (adhesion เป็นแรงดึงดูดกันระหว่างฟิล์มและสารอื่นๆ) แรงโคฮีชันระหว่างโมเลกุลพอลิเมอร์ด้วยกันทำให้ฟิล์มเปราะ จึงมีผลต่อสมบัติโดยรวมของฟิล์ม ในการแก้ปัญหานี้ จึงต้องเติมพลาสติไซเซอร์ เพื่อลดแรงระหว่างโมเลกุลของสายโซ่พอลิเมอร์ การลดแรงระหว่างโมเลกุลเป็นการเพิ่มการเคลื่อนตัวของสายพอลิเมอร์ พลาสติไซเซอร์จะลดอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature) จึงทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่น (flexibility) มีความยืดตัว (elongation) และความเหนียว (toughness) (รังสินี, 2558)

พลาสติไซเซอร์ที่นิยมใช้ผสมลงในแป้ง ได้แก่ น้ำ แต่เนื่องจากน้ำระเหยได้ง่ายทำให้พลาสติกที่ได้มีลักษณะเปราะ จึงนิยมใช้กลีเซอรอลมากกว่า โดยปริมาณกลีเซอรอลที่นิยมใช้ ต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 15-30 โดยน้ำหนัก จึงจะสามารถทำให้แป้งเป็นเทอร์โมพลาสติกสตาร์ชได้ พลาสติไซเซอร์ที่เป็นกลีเซอรอลจะทำให้อุณหภูมิ

การเกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization) เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากกลีเซอรอล มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าน้ำ จึงไม่สามารถเข้าไปภายในเม็ดแป้งได้ และไม่สามารถเพิ่มส่วนของช่องว่างความเป็นอสัณฐานได้ แต่อย่างไรก็ตามกลีเซอรอลสามารถทำให้แป้งเกิดเจลาติไนซ์ได้อย่างสมบูรณ์ (Belgacem and Gandini, 2008) กลีเซอรอลที่เติมลงไปในแป้งธรรมชาติ สามารถแก้ไขเรื่องความเปราะของฟิล์มได้ เป็นการปรับปรุงให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่น และมีประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์มากขึ้น แต่หมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอล เกิดปฏิกิริยาได้ดีกับโมเลกุลน้ำ จึงทำให้ฟิล์มที่ใส่กลีเซอรอลอุ้มน้ำได้ดีภายในเมทริกซ์ (Sanyang *et al.*, 2016) กลีเซอรอลสามารถช่วยกระบวนการผลิต โดยจะลดการติดกับแม่พิมพ์ เพิ่มความชื้นบนพื้นผิว และช่วยปรับปรุงสมบัติของผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้ คือ เพิ่มความยืดหยุ่น เพิ่มการยืดตัว และลดอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว พลาสติไซเซอร์ประเภทฟอร์มาไมด์ (formamide) ยูเรีย (urea) และอะเซทาไมด์ (acetamide) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพให้กับพอลิเมอร์ ไม่ให้เกิดการกลับคืนตัวของพอลิเมอร์ ช่วยให้พอลิเมอร์ไม่กลับมาเป็นผลึกเพิ่มขึ้น มีข้อได้เปรียบในการระงับการคืนตัวได้ดีกว่ากลีเซอรอล เนื่องจากพลาสติไซเซอร์เหล่านี้เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของแป้งได้ดี ซึ่งลำดับการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับแป้งเป็นดังนี้ ยูเรีย > ฟอร์มาไมด์ > อะเซทาไมด์ > โพลีออล แต่อย่างไรก็ตามกลีเซอรอลเป็นพลาสติไซเซอร์ที่ไม่อันตรายต่อสุขภาพ เมื่อเทียบกับพลาสติไซเซอร์ของกลุ่มเอไมด์ (amid) ที่มีข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์ เช่น อาหารจานด่วน บรรจุภัณฑ์อาหาร เป็นต้น เพราะอาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

ปริมาณความเข้มข้นของพลาสติไซเซอร์มีผลต่อค่าความแข็งแรงทางด้านแรงดึง (tensile strength) และร้อยละการยืดตัว (elongation at break) เนื่องจากกลีเซอรอลลดแรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ จึงเพิ่มปริมาตรอิสระ และเพิ่มการเคลื่อนตัวของสายพอลิเมอร์ ทำให้ฟิล์มมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น ลดอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว แต่ถ้ามีปริมาณความเข้มข้นของกลีเซอรอลมากเกินไปทำให้ความแข็งแรงทางด้านแรงดึงต่ำลง ร้อยละการยืดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่มากขึ้น (Laohakunjit and Noomhorm, 2004) ด้วยลักษณะดังกล่าว จึงต้องมีการกำหนดปริมาณการใช้พลาสติไซเซอร์ ให้พอเหมาะในกระบวนการผลิตเป็น ฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช (Belgacem and Gandini, 2008)

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อศึกษาอิทธิพลของกลีเซอรอล ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 20, 25, 30 และ 35% โดยน้ำหนัก ที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางความร้อนของฟิล์ม ตรวจสอบลักษณะสัณฐานของแผ่นฟิล์ม เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเบื้องต้น ในการใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติไซเซอร์ให้กับฟิล์มแป้งมันสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นสภาวะสำหรับนำไปผลิตพอลิเมอร์นาโนคอมโพสิทที่ย่อยสลายได้โดยธรรมชาติจากการใช้นาโนเซลลูโลสเป็นตัวเสริมแรงต่อไป โดยวิธีการทดลองจะใช้เทคนิคการขึ้นรูปแบบสารละลาย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

1.1 ผงแป้งมันสำปะหลัง บริษัทแป้งมันไทยทำ จังหวัดชลบุรี

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ในการทดลอง

- เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมีทรี (UV–Vis spectrophotometry) รุ่น UV-1800 บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น วัดความยาวคลื่นที่ 300-900 นาโนเมตร
- เครื่องทดสอบคุณสมบัติทางกล (Instron) รุ่น Testo metric Micro 350 ใช้โหลดเซล (load cell) 500 นิวตัน , ความเร็ว 50 มิลลิเมตรต่อนาที
- เครื่องมือวิเคราะห์ทดสอบสมบัติทางความร้อน (Thermogravimetric analysis, TGA) รุ่น STA PT-1000 TG-DSC บริษัท Linseis ประเทศเยอรมัน ใช้อุณหภูมิ 25-800 องศาเซลเซียส อัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ภายใต้สภาวะก๊าซไนโตรเจน

2.2 สารเคมี

- กลีเซอรอล (มีความบริสุทธิ์ 85%) จาก Merck ประเทศเยอรมัน ใช้เป็นพลาสติไซเซอร์
- สารเคมีและสารมาตรฐานอื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

3. วิธีการเตรียมฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช

เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลัง โดยเติมน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้นของของแข็งทั้งหมด 5.5 กรัมต่อมิลลิลิตร (Angellier *et al*., 2006) ใช้แป้งมันสำปะหลัง 80% โดยน้ำหนักของของแข็งทั้งหมด ให้ความร้อน 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พร้อมกวนไปด้วย เมื่อเกิดการเจลาติไนเซชัน (เปลี่ยนจากสีขาวขุ่นเป็นสีใสและมีความหนืดสูง) เติมกลีเซอรอลร้อยละ 20, 25, 30 และ 35% โดยน้ำหนัก ตามสภาวะที่กำหนดไว้ ลงในสารละลายแป้งเจลาติไนซ์ กวนผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน และนำแป้งเจลาติไนซ์ที่ได้ไปทำให้อุณหภูมิเย็นลง 40 องศาเซลเซียส นำมากำจัดฟองอากาศออกโดยใช้ปั๊มดูดสูญญากาศ (vacuum pumping) และนำไปขึ้นรูปฟิล์ม โดยเทใส่แผ่นขึ้นรูปฟิล์มอะคริลิกขนาด 10x10 เซนติเมตร นำไปอบ ที่อุณหภูมิ 35±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ที่ห้องควบคุมสภาวะ ที่อุณหภูมิ 23±1 องศาเซลเซียส , ความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity, RH) 50±2% เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำฟิล์มไปทดสอบต่อไป ซึ่งขั้นตอนการเตรียมและทดสอบฟิล์ม (Figure 1)

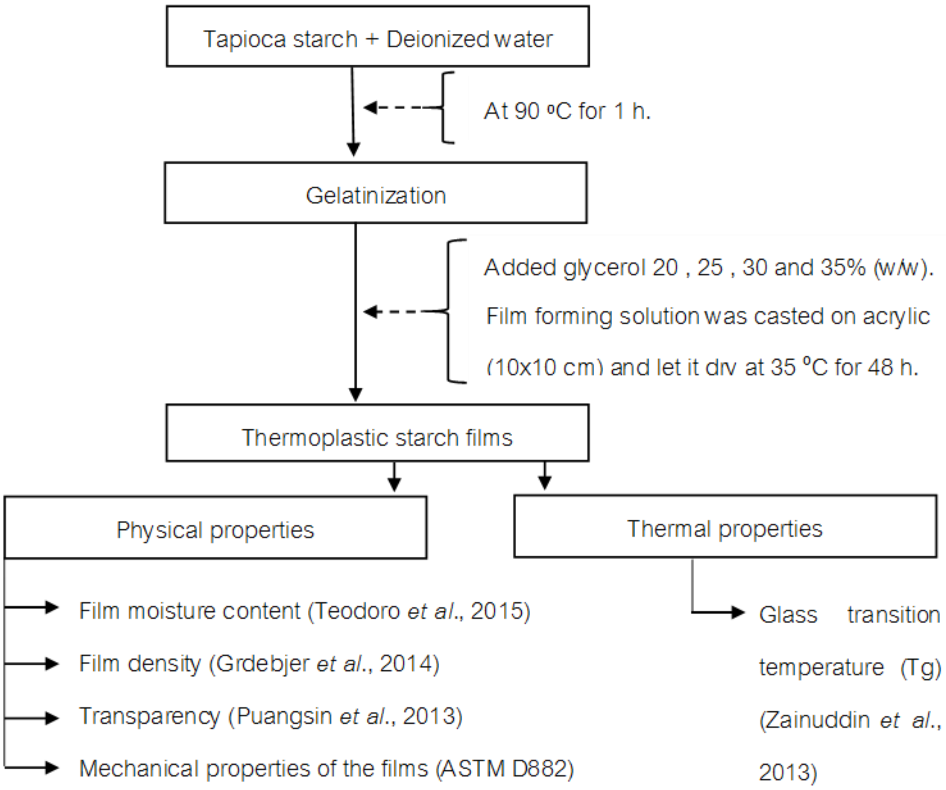


Figure 1 Thermoplastic starch films preparation.

ผลและวิจารณ์

1. สมบัติทางกายภาพของเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช

1.1 สมบัติเชิงแสงของแผ่นฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช

จากการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่ระดับ 20, 25, 30 และ 35% โดยน้ำหนัก ที่ใส่ลงไปเป็นพลาสติไซเซอร์ให้กับฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณความเข้มข้นของกลีเซอรอลมีผลต่อความใสของแผ่นฟิล์ม (Figur 2, Figure 3) ที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 25% ฟิล์มมีความใสมากที่สุด ยืนยันได้จากการวิเคราะห์ทัศนสมบัติ ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ระดับความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 25% มีค่าความสามารถยอมให้แสงส่องผ่านเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่ 20% เพิ่มขึ้นจาก 59 เป็น 73% แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็น 30 และ 35% ทำให้ค่าความสามารถยอมให้แสงส่องผ่านต่ำลง เป็น 71 และ 64% ตามลำดับ

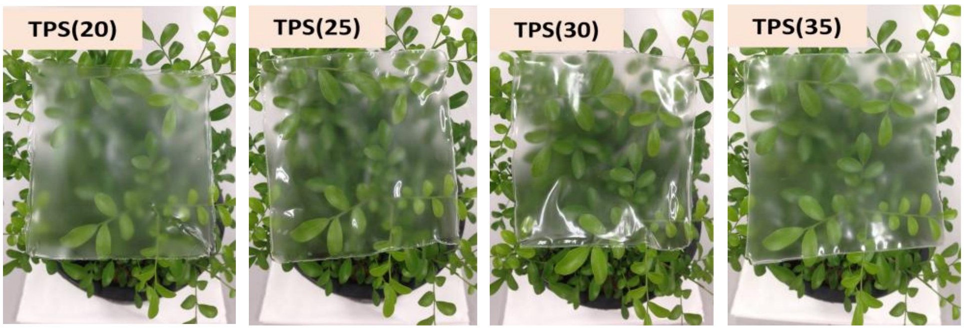


Figure 2 The corresponding photographs of starch films with different contents of glycerol.

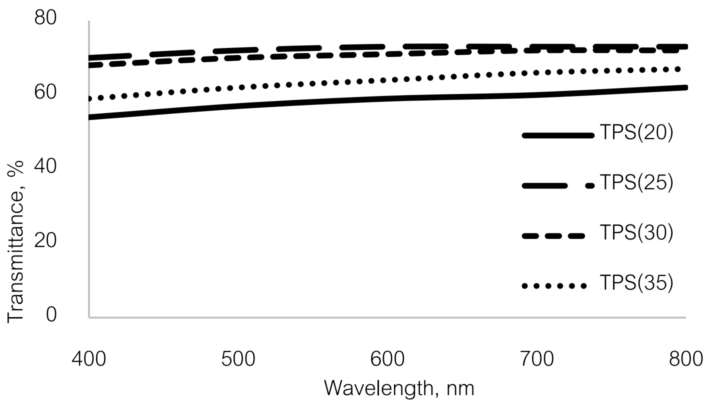


Figure 3 Light transmittance spectra of starch films with different contents of glycerol.

1.2 ปริมาณความชื้น ความหนาแน่น และความหนาของแผ่นฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช

จากการทดลอง ระดับความเข้มข้นของกลีเซอรอล 20, 25, 30 และ 35% โดยน้ำหนัก ที่ผสมลงในฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช ฟิล์มมีความหนาอยู่ระหว่าง 0.123-0.132 มิลลิเมตร จากผลการทดลองพบว่าปริมาณความเข้มข้นของกลีเซอรอลมีผลต่อความชื้นและความหนาแน่นของฟิล์ม ที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 20% ฟิล์มมีความชื้น 8.525% และมีความหนาแน่นอยู่ที่ 1.088 กรัมต่อตารางเซนติเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็น 35% พบว่าฟิล์มมีความชื้นและความหนาแน่นเพิ่มขึ้น เป็น 25.316% และ 1.328 กรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Sanyang *et al*. (2016) ที่พบว่าเมื่อเติมกลีเซอรอลให้กับแป้ง ทำให้ฟิล์มมีความชื้นเพิ่มมากขึ้น เนื่องมาจากหมู่ไฮดรอกซิลในกลีเซอรอล เกิดพันธะไฮโดรเจนได้ดีกับโมเลกุลน้ำ จึงทำให้กลีเซอรอลเป็นสารอุ้มน้ำไว้ภายในเมทริกซ์ได้ดี

Table 1 Effect of glycerol on the moisture content , density and thickness of plasticized starch films.

Plasticizer (% w/w)	Films moisture content (%)	Film density (g/cm^3)	Film thickness (mm)
20	8.526±0.865	1.088±0.291	0.123±0.012
25	11.055±2.398	1.157±0.091	0.132±0.002
30	16.793±0.154	1.229±0.047	0.130±0.004
35	25.316±0.950	1.328±0.044	0.127±0.001

± Arithmetic mean

1.3 สมบัติเชิงกลของฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช

เมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงทางด้านแรงดึง (tensile strength) (Figure 4) และร้อยละการยืดตัว (elongation) ของฟิล์ม พบว่าปริมาณความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่ 25% ฟิล์มมีค่าความแข็งแรงทางด้านแรงดึงสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่ 20% เพิ่มขึ้นจาก 4 เป็น 17 เมกะปาสคาล และมีค่าโมดูลัสของยังเพิ่มขึ้นจาก 863 เป็น 1577 เมกะปาสคาล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลมากกว่า 25% ส่งผลให้ค่าความแข็งแรงทางด้านแรงดึง และค่าโมดูลัสของยังลดลงตามลำดับ ส่วนร้อยละการยืดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้นจาก 1 เป็น 19% ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Laohakuniji and

Noomhorm, (2004) พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลสูงมากขึ้น ทำให้ค่าความแข็งแรงทางด้านแรงดึงต่ำลง แต่มีค่าร้อยละการยืดตัวสูงขึ้น เนื่องจากกลีเซอรอลเข้าไปแทรกระหว่างสายพอลิเมอร์ของแป้ง และพันธะไฮโดรเจน ทำให้ลดแรงระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ จึงเพิ่มปริมาตรอิสระ และเพิ่มการเคลื่อนตัวของสายโซ่ของพอลิเมอร์

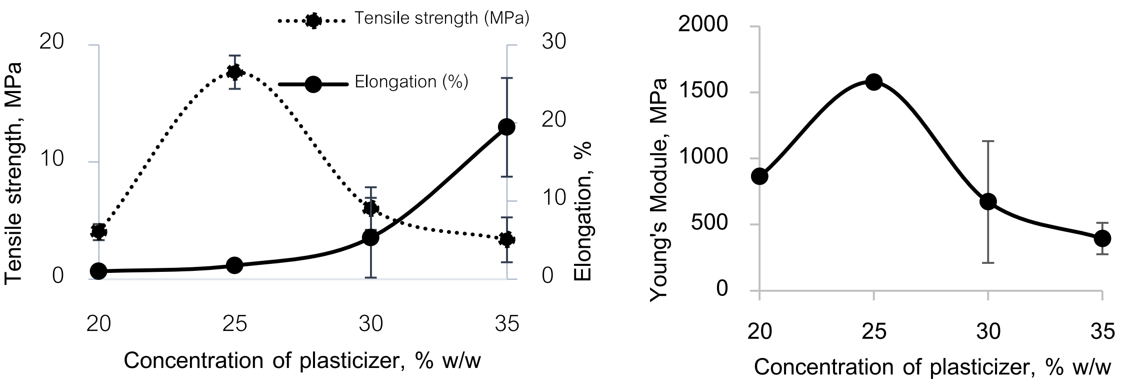


Figure 4 Mechanical properties of the starch films.

2. สมบัติทางความร้อนของฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช

2.1 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช

เทอร์โมกราวิเมทริกแอนาลิซิส (Thermogravimetric analysis, TGA) เป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำ ในการวิเคราะห์อุณหภูมิในการเสื่อมสลายและความเสถียรทางความร้อนของวัสดุ จากผลการทดลอง (Figure 5) แสดง TGA เทอร์โมแกรมของเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช ที่ผสมกลีเซอรอลความเข้มข้น 20, 25, 30 และ 35% โดยน้ำหนัก พบว่าทุกตัวอย่างปรากฏช่วงอุณหภูมิของการสลายตัว 3 ขั้นคือ ขั้นแรกช่วงระหว่าง 60-120 องศาเซลเซียส เป็นการระเหยของน้ำที่อยู่ในตัวอย่าง ขั้นที่สองระหว่างช่วงอุณหภูมิ 200-260 องศาเซลเซียส เป็นการสลายตัวของกลีเซอรอล และขั้นที่สามช่วงอุณหภูมิ 270-360 องศาเซลเซียส เป็นการเสื่อมสลายของแป้งมันสำปะหลัง โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่สูญเสียไปของฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช ที่ผสมกลีเซอรอลระดับความเข้มข้น 20, 25, 30 และ 35% โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส มีค่า 82.046, 90.072, 92.500 และ 89.058 เปอร์เซ็น ตามลำดับ ดังนั้นสรุปได้ว่าเมื่อยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลสูงขึ้น จะทำให้ความเสถียรทางความร้อนของฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ชต่ำลง

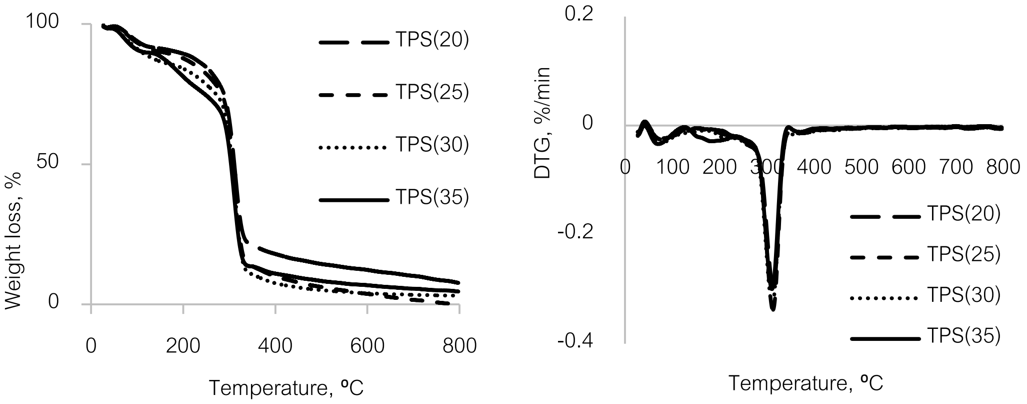


Figure 5 TGA curves of starch films with different contents of glycerol.

สรุป

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการหาระดับความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เหมาะสม เพื่อใช้เป็นสภาวะสำหรับนำไปผลิตพอลิเมอร์นาโนคอมโพสิทที่ย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ จากการใช้นาโนเซลลูโลสเป็นตัวเสริมแรงต่อไป โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 25% เพิ่มศักยภาพให้กับเทอร์โมพลาสติกสตาร์ชมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่ 20% พบว่าสมบัติความแข็งแรงทางด้านแรงดึงเพิ่มสูงขึ้น จาก 4 เมกะปาสคาล เป็น 17 เมกะปาสคาล และมอดูลัสยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นไปจนถึง 1577 เมกะปาสคาล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลมากกว่า 25% ทำให้สมบัติทางด้านแรงดึงลดลง ส่วนการยืดตัวของฟิล์มเพิ่มขึ้น ค่าความเสถียรทางความร้อนของฟิล์มเทอร์โมพลาสติกสตาร์ช ที่ผสมกลีเซอรอล 25% เป็นค่าที่ยอมรับได้

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2550. **เทคโนโลยีของแป้ง**. กรุงเทพ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รังสินี โสธรวิทย์. 2558. **ฟิล์มและสารเคลือบพอลิเมอร์ชีวภาพสำหรับระบบอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Angellier, H., S. M. Boisseau, P. Dole and A. Dufresne. 2006. Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites. **Biomacromolecules Journal** 7: 531-539.

Belgacem, M.N. and A. Gandini. 2008. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. Elsevier, Netherlands.

Gardebjer, S., A. Berstrand and A. Larsson. 2014. A mechanistic approach to explain the relation between increased dispersion of surface modified cellulose nanocrystals and final porosity in biodegradable films. **European Polymer Journal** 57: 160-168.

Laohakunjit, N. and A. Noomhorm. 2004. Effect of plasticizers on mechanical and barrier properties of rice starch film. **Starch-Starke Journal** 56: 348-356.

Puangsin, B., S. Fujisawa, R. Kuramae, T. Saito and A. Isogai. 2013. TEMPO-mediated oxidation of hemp bast holocellulose to prepare cellulose nanofibrils dispersed in water. **Polymers and the Environment Journal** 21: 555-563.

Sanyang, M.L., S.M. Sapuan, M. Jawaid, M.R. Ishak and J. Sahari. 2016. Effect of glycerol and sorbitol plasticizers on physical and thermal properties of sugar palm starch based films. **Recent Advances in Environment, Ecosystems and Development** 39: 157-162.

Teodoro, A.P., S. Mali, N. Romero,G. M. d. Carvalho. 2015. Cassava starchs containing acetylated starch nanoparticles as reinforcement: physical and mechanical characterization. **Carbohydrate Polymers Journal** 126: 9-16.

Zainuddin, S.Y.Z., I. Ahmad and H. Kargarzadeh. 2013. Cassava starch biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals from kenaf fibers. **Composite Interfaces Journal** 20: 189-199.

ผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อแบบแผนของโปรตีนมะพร้าวในน้ำกะทิ

Effect of Sodium Chloride Addition on Coconut Protein Profiles in Coconut Milk

นวรัตน์ ธนทวีธรรม[1] และ ปาริฉัตร หงสประภาส[1*]

Nawarat Thanataweetrum[1] and Parichat Hongsprabhas[1*]

บทคัดย่อ

กะทิเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ซึ่งมีโปรตีนและฟอสโฟลิพิดส์ช่วยรักษาความคงตัวของอิมัลชัน โปรตีนมะพร้าวส่วนใหญ่เป็นโปรตีนโกลบูลินที่ละลายได้ดีในสารละลายเกลือ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาแบบแผนการกระจายตัวของโปรตีนมะพร้าวในชั้นครีมและชั้นซีรัมหลังการเหวี่ยงแยกน้ำกะทิร่วมกับการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0-10 % (w/v) พบว่า การเติมเกลือทำให้ปริมาณผลได้ของชั้นซีรัมและชั้นครีมรวมทั้งความเข้มข้นของโปรตีนในแต่ละชั้นเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเกลือ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม ระดับความเข้มข้นของเกลือที่เพิ่มขึ้นจาก 2.5 ถึง 10.0% (w/v) ไม่มีผลต่อปริมาณผลได้ของชั้นซีรัมและชั้นครีมและความเข้มข้นของโปรตีนในแต่ละชั้น ($P\geq0.05$) จากการศึกษามวลโมเลกุลของโปรตีนในชั้นซีรัมและชั้นครีม พบว่าโปรตีนที่แยกได้ในชั้นซีรัมและชั้นครีมมีมวลโมเลกุลที่แตกต่างกันบางส่วน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงมวลโมเลกุล 52-225 กิโลดาลตัน การเติมเกลือระหว่างการเหวี่ยงแยกทำให้โปรตีนที่มีมวลโมเลกุลระหว่าง 52-225 กิโลดาลตันในชั้นซีรัมมีแบบแผนแตกต่างจากเมื่อไม่เติมเกลือ อย่างไรก็ตามการใช้เกลือโซเดียมคลอไรด์ในระหว่างการเหวี่ยงแยกไม่มีผลต่อแบบแผนมวลโมเลกุลของโปรตีนที่อยู่ในชั้นครีม

ABSTRACT

Coconut milk is an oil-in-water emulsion stabilized by protein and phospholipids. Globulins, the salt-soluble proteins, are major proteins in coconut. The aim of this study was to explore the influences of NaCl (0-10% w/v) on the distribution of coconut proteins in cream and serum phases after centrifugation of coconut milk emulsion. It was found that the addition of NaCl during centrifugation to separate cream phase and serum phase could increase %yield and the protein content in each phase, compared to those without additional NaCl ($P<0.05$). However, increasing NaCl concentration from 2.5 to 10% (w/v) did not significantly change %yield and protein content in each phase ($P\geq0.05$). Proteins extracted from serum phase had, in part, different molecular weight (MW) profiles from those from cream phase, particularly between 52 to 225 kDa range. The addition of NaCl during centrifugation of coconut milk resulted in different protein profiles in the serum phase compared to those with no NaCl addition, especially those having MWs between 52-225 kDa. However, NaCl addition did not affect the MW profiles of proteins in the cream phase.

Key Words: coconut, cream, globulin, protein, milk, oil

* Corresponding author; e-mail address: parichat.h@ku.ac.th

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

มะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และไทย ผลิตภัณฑ์มะพร้าวส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ น้ำมันมะพร้าว น้ำมะพร้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เนื้อมะพร้าวอบแห้ง กะทิที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เป็นต้น (Santana *et al.*, 2011) แม้ว่ากะทิจะมีสัดส่วนของปริมาณไขมันสูงแต่กะทิยังสามารถรักษาความคงตัวอยู่ได้ด้วยโปรตีนและฟอสโฟลิพิดส์ที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ทางธรรมชาติในกะทิ (Birosel *et al.*, 1963) ดังนั้นโปรตีนมะพร้าวจึงมีบทบาทที่สำคัญในการช่วยรักษาความคงตัวในกะทิ (Tangsuphoom and Coupland, 2008)

โปรตีนมะพร้าวสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ประเภทแรก คือ โปรตีนโครงสร้าง (structural protein) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ผิวสัมผัสร่วมระหว่างหยดน้ำมันกับน้ำ (oil-water interface) ทำหน้าที่ป้องกันการรวมตัวของหยดน้ำมันในกะทิ โปรตีนโครงสร้างประมาณ 80-90%ของโปรตีนทั้งหมดนี้เป็นโปรตีนที่เรียกว่าโอลิโอซิน (Capuano *et al.*, 2007; Huang, 1992) โปรตีนประเภทที่สองเป็นโปรตีนสะสม (storage protein) ทำหน้าที่สะสมอาหารเพื่อเป็นแหล่งพลังงานและไนโตรเจนแก่การเจริญเติบโตระหว่างการงอกของต้นมะพร้าว โปรตีนสะสมสามารถแบ่งชนิดตามหลักของ Oswald solubility ได้เป็น 5 ชนิด ได้แก่ แอลบูมิน 21% (w/v) โกลบูลิน 40% (w/v) โปรลามิน 3.3% (w/v) กลูทีลินชนิดละลายได้ดีในกรด 14.4% (w/v) และกลูทีลินชนิดละลายได้ดีในด่าง 4.8% (w/v)(Kwon *et al.*, 1996; Rasyid *et al.*, 1992)

โปรตีนโกลบูลินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในโปรตีนมะพร้าวสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ 7S-globulin (vicilin) ซึ่งมีอยู่ 14% ของโปรตีนโกลบูลินทั้งหมด และ11S-globulin (cocosin) ประมาณ 86% ของโปรตีนโกลบูลินทั้งหมด โดยที่โปรตีน cocosin มีมวลโมเลกุลประมาณ 300 ถึง 360 กิโลดาลตัน และมีโปรตีนหน่วยย่อยมวลโมเลกุล 55 กิโลดาลตัน ประกอบด้วยเอซิดิกเพปไทด์มวลโมเลกุล 32–34 กิโลดาลตัน และเบสิกเพปไทด์มวลโมเลกุล 22–24 กิโลดาลตันเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ในขณะที่โปรตีน vicilin มีมวลโมเลกุล 150 กิโลดาลตัน และมีโปรตีนหน่วยย่อยมวลโมเลกุล 16 22 และ 24 กิโลดาลตัน ยึดจับกันด้วยพันธะนอนโคเวเลนท์และไม่มีพันธะไดซัลไฟด์ (Carr *et al.*, 1990; Garcia *et al.*, 2005)

จากแนวคิดที่ว่าโปรตีนมะพร้าวมีบทบาทสำคัญในการรักษาความคงตัวของกะทิ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาแบบแผนการกระจายตัวของโปรตีนในแต่ละเฟสของอิมัลชันน้ำกะทิ โปรตีนส่วนใหญ่เป็นโปรตีนโกลบูลินที่ละลายได้ดีในน้ำเกลือ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้หลักการละลายได้ที่แตกต่างกันของโปรตีนในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาประกอบแนวคิดว่าเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เติม จะทำให้โปรตีนแอลบูมิน โกลบูลิน โปรลามิน กลูทีลิน และโอลิโอซินกระจายในชั้นซีรัมและชั้นครีมแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกะทิที่ไม่ใส่เกลือ ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์เรื่องการสกัดโปรตีนแบบคัดเลือก (selective extraction) จากกะทิต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

กะทิคั้นสดด้วยเครื่องคั้นกะทิระบบไฮโดรลิค โดยใช้เนื้อมะพร้าวขูดขาวไม่ใส่น้ำจากตลาดอมรพันธ์ (ตลาดสด กรุงเทพมหานคร) เก็บกะทิไว้ที่อุณภูมิ 4 องศาเซลเซียสภายในเวลา 20 นาทีหลังการคั้นก่อนทำการศึกษาภายในเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง

การเตรียมตัวอย่าง

นำกะทิที่คั้นสด 30 มล. มาผสมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของโซเดียมคลอไรด์เป็น 0 2.5 5.0 7.5 และ 10.0% (w/v) ในหลอดทดลองขนาด 50 มล. จากนั้นนำตัวอย่างมาบ่มที่อุณหภูมิ 40 °ซ เป็นระยะเวลา 30 นาทีในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Model SV 1422, Memmert GmbH&Co.KG, Schwabach, Germany) เพื่อให้ชั้นน้ำมันอยู่ในรูปของเหลว นำตัวอย่างไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Damon/IEC divisin, USA) ที่ความเร็วรอบ 1222 g เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งจะแยกอิมัลชันของน้ำกะทิได้เป็น 4 ส่วน ส่วนแรก คือ ชั้นน้ำมันอยู่ด้านบน ส่วนที่สอง คือ ชั้นครีม ส่วนที่สาม คือ ชั้นซีรัมเป็นสารละลายโปร่งแสง และบางกรณีได้ตะกอนสีขาวอยู่ชั้นล่างดังแสดงใน Figure 1แยกส่วนของชั้นน้ำมันและตะกอนสีขาวออก จากนั้นแยกส่วนของชั้นซีรัมและชั้นครีมมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณปริมาณผลได้เทียบกับน้ำหนักของกะทิ 30 มล. สุดท้ายเก็บส่วนของชั้นซีรัมและชั้นครีมไว้ที่อุณหภูมิ -20 °ซ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนนำไปวิเคราะห์โปรตีนในแต่ละเฟสต่อไป

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในชั้นซีรัมด้วยวิธี Kjeldahl (N-factor = 5.3) (AOAC, 2000) นำครีมที่ได้ 5 ก. และเอทีลอีเทอร์ 10 มล. มาผสมใส่หลอดทดลองขนาด 50 มล. จากนั้นเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer Genie 2, Scientific Industries, Bohemia, NY, USA) เป็นเวลา 30 วินาที แยกสารละลายเอทีลอีเทอร์ออกแล้วนำส่วนตะกอนไปผสมสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ 10 มล. เขย่าสารเป็นเวลา 30 วินาที แยกสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ออก นำตะกอนที่ได้ไปสกัดซ้ำกับตัวทำละลายเอทีลอีเทอร์ตามด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์อีก 2 รอบ ตะกอนที่ได้นำไประเหยตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนเหวี่ยง (Centrivap Cold Traps, Labconco, Kansas, MO, USA) จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตะกอนด้วยวิธี Lowry(Lowry, 1951)

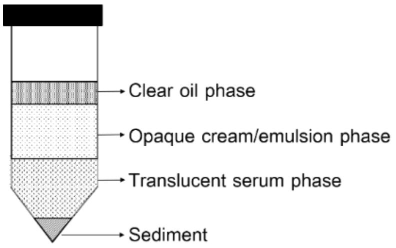


Figure 1 Schematic diagram of phase separation of coconut milk (20 %w/v fat) after NaCl addition and centrifugation at 1222 g for 10 min at 25 °C

การศึกษาแบบแผนมวลโมเลกุลของโปรตีนมะพร้าวในชั้นซีรัมและชั้นครีม

วิเคราะห์มวลโมเลกุลของโปรตีนในตัวอย่างด้วยเทคนิคการแยกโปรตีนโดยกระแสไฟฟ้าตามมวลโมเลกุล (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)ตามวิธีการของ (Laemmli, 1970) โดยใช้ความเข้มข้นของ separating gel เป็น 15% (w/v) acrylamide และ stacking gel เป็น 4% (w/v) acrylamide ปรับตัวอย่างให้มีความเข้มข้นโปรตีนเป็น 1 มก./มล. ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ประกอบด้วย Tris-hydrochloric acid 0.5 M pH 6.8, Sodium dodecyl sulfate 10% (w/v), กลีเซอรอล ซึ่งมีการเติมและไม่เติมบีตา-เมอร์แคพโทอีทานอล (β-mercaptoethanol) จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 4 นาที เหวี่ยงแยกตะกอนด้วยความเร็วรอบ 2606 g (Labnet Spectrafuge 16M, Labnet International Inc., Woodbridge, VA, USA) เป็นเวลา 5 นาที หยดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตรลงใน 1 well ทำการแยกโปรตีนโดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 150 โวลต์ เป็นเวลา 115 นาที ด้วยเครื่อง Bio-Rad Mini-Protein® 3 cell (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) เจลจะถูกย้อมสีด้วยสีโคแมซีบลู (Coomassie brilliant blue G-250, Bio-Rad Laboratories, Bio-Rad, Berkeley, CA, USA) เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงล้างเจลเป็นเวลา 30 นาทีทั้งหมด 2 ครั้ง สุดท้ายแช่เจลในน้ำกลั่นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ประมาณมวลโมเลกุลของตัวอย่างโดยเทียบกับมวลโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานชนิดมวลโมเลกุลสูงขนาดมวลโมเลกุล 12 ถึง 225 กิโลดาลตัน (Full-range rainbow molecular weight markers, RPN 800E, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) และมวลโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐานชนิดมวลโมเลกุลต่ำขนาดมวลโมเลกุล 3.5 ถึง 38 กิโลดาลตัน (Low-range rainbow molecular weight markers, RPN755E, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบบล็อกอย่างสมบูรณ์ โดยให้วันที่ทำการทดลองเป็นบล็อก ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง (3 trials) และวิเคราะห์การทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (3 replications) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 12 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncun's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์การทดลอง

ภายหลังการหมุนเหวี่ยงอิมัลชันน้ำกะทิถูกแยกเป็น 4 ส่วน ประกอบด้วย ชั้นน้ำมัน (oil phase) ชั้นครีม (cream phase) ชั้นซีรัม (serum phase) และชั้นตะกอน (sediment phase) ซึ่งการทดลองนี้ทำการวิเคราะห์ปริมาณผลได้ (% yield) เฉพาะส่วนของชั้นซีรัมและชั้นครีม จึงทำให้ร้อยละผลได้โดยรวมทั้งสองส่วนต่ำกว่า 100 การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ทำให้ร้อยละผลได้ (% yield) โดยรวมของชั้นครีมและชั้นซีรัมเพิ่มขึ้น (Table 1) และความเข้มข้นของโปรตีนในชั้นซีรัมเพิ่มขึ้นจากเมื่อไม่เติมเกลือ อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของโซเดียมคลอไรด์ จาก 2.5% จนถึง 10% (w/v) ไม่ได้ทำให้ปริมาณผลได้และความเข้มข้นของโปรตีนที่สกัดได้แตกต่างกัน จากการแบ่งประเภทตามความสามารถในการละลายตามทฤษฎีของ Oswald Solubility การใช้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น0.5 โมลต่อลิตร (2.93 %w/v) ถึง 2 โมลต่อลิตร (11.70 %w/v) ทำให้โปรตีนละลายได้เพิ่มขึ้น (Arakawa *et al.*, 1990) เนื่องจากเกลือจะแตกตัวและไอออนของเกลือที่ไปจับโมเลกุลของโปรตีนจะทำให้โปรตีนเกิดอันตรกิริยากับน้ำได้ดีขึ้นโปรตีนจึงละลายได้ดีขึ้นในช่วงความเข้มข้นดังกล่าว (Zhang *et al.*,

2017) นอกจากนี้โปรตีนมะพร้าวส่วนใหญ่เป็นโปรตีนโกลบูลินที่ละลายได้ดีในน้ำเกลือ ดังนั้นเมื่อสกัดตัวอย่างร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ทำให้โปรตีนละลายได้มากขึ้นส่งผลให้โปรตีนในชั้นซีรัมมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

Table 1 Effect of salt concentration on %yield and %protein content in different phases

Added NaCl	Yield (%)		Protein% (w/v)	
	Serum phase	Cream phase	Serum phase	Cream phase^{ns}
0%	55.50^{b}±0.94	20.14^{b}±3.94	1.51^{b}±0.01	0.97±0.14
2.5%	58.92^{ab}±2.32	26.10^{ab}±8.56	4.39^{a}±0.56	0.99±0.00
5.0%	62.84^{a}±4.19	34.27^{ab}±2.32	4.19^{a}±0.18	0.97±0.05
7.5%	63.46^{a}±5.60	34.69^{ab}±4.14	4.63^{a}±0.85	0.68±0.16
10.0%	57.71^{ab}±3.41	39.22^{a}±3.44	4.35^{a}±0.38	1.02±0.29

Mean value in the same column followed by different superscripts are significantly different ($P \leq 0.05$)

เมื่อศึกษามวลโมเลกุลของโปรตีนในชั้นซีรัมและชั้นครีมด้วยวิธีการแยกโปรตีนด้วยไฟฟ้าตามมวลโมเลกุล (Figure 2) พบว่ามวลโมเลกุลของโปรตีนในชั้นซีรัม (Figure 2A)และชั้นครีม (Figure 2C)มีความแตกต่างกัน ในสภาวะนอนรีดิวซ์โปรตีนในชั้นซีรัมที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์มีมวลโมเลกุล 3.5-76 กิโลดาลตัน (lane 2, Figure 2A) เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนในชั้นซีรัมที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2.5-10% (w/v) (lane 3-6, Figure 2A) พบว่าการเติมโซเดียมคลอไรด์ทำให้สามารถสกัดโปรตีนบางชนิดได้เพิ่มขึ้นโดยปรากฏโปรตีนมวลโมเลกุล 52-225 กิโลดาลตัน แต่ไม่ปรากฏในตัวอย่างที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ โปรตีนช่วงมวลโมเลกุล 52-225 กิโลดาลตันนี้พบในตัวอย่างชั้นครีมทั้งตัวอย่างที่เติมและไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ (lane 2-6, Figure 2C) ซึ่งแสดงว่าโปรตีนใน bulk aqueous phase และ oil-water interface สามารถแบ่งส่วน (partition) ได้ที่ความเข้มข้นของเกลือสูงกว่า 2.5% (w/v)

ในสภาวะรีดิวซ์ด้วยบีตา-เมอร์แคพโทอีทานอล พบว่าพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนในชั้นซีรัมและชั้นครีมที่มีมวลโมเลกุลสูงกว่า 52 กิโลดาลตัน ถูกรีดิวซ์และปรากฏโปรตีนที่มีมวลโมเลกุล 17-38 กิโลดาลตัน (Figure 2B และ 2D) ซึ่งอาจเป็นโปรตีนหน่วยย่อยของ 11S-globulin ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 22-24 กิโลดาลตัน และ 32-34 กิโลดาลตัน (Garcia *et al*., 2005) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์ในการสกัดโปรตีนส่งผลต่อชนิดของโมเลกุลโปรตีนที่สกัดได้จากชั้นซีรัม เนื่องจากพบโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลแตกต่างกันในชั้นซีรัมเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว แต่การใช้โซเดียมคลอไรด์ในช่วงความเข้มข้นที่ทำการศึกษานี้ไม่มีผลต่อชนิดของโปรตีนที่สกัดได้จากชั้นครีม และในสภาวะรีดิวซ์โปรตีนที่ตรวจพบเมื่อสกัดด้วยน้ำในชั้นครีม (Figure 2D) มีความเข้มของ band แตกต่างจากโปรตีนที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำเกลืออย่างชัดเจน ซึ่งอาจใช้เป็นแนวทางเพิ่มเติมในการสกัดโปรตีนแบบคัดเลือกโดยใช้สารสกัด (extractant) ที่มีทั้ง reducing agent และโซเดียมคลอไรด์ต่อไป

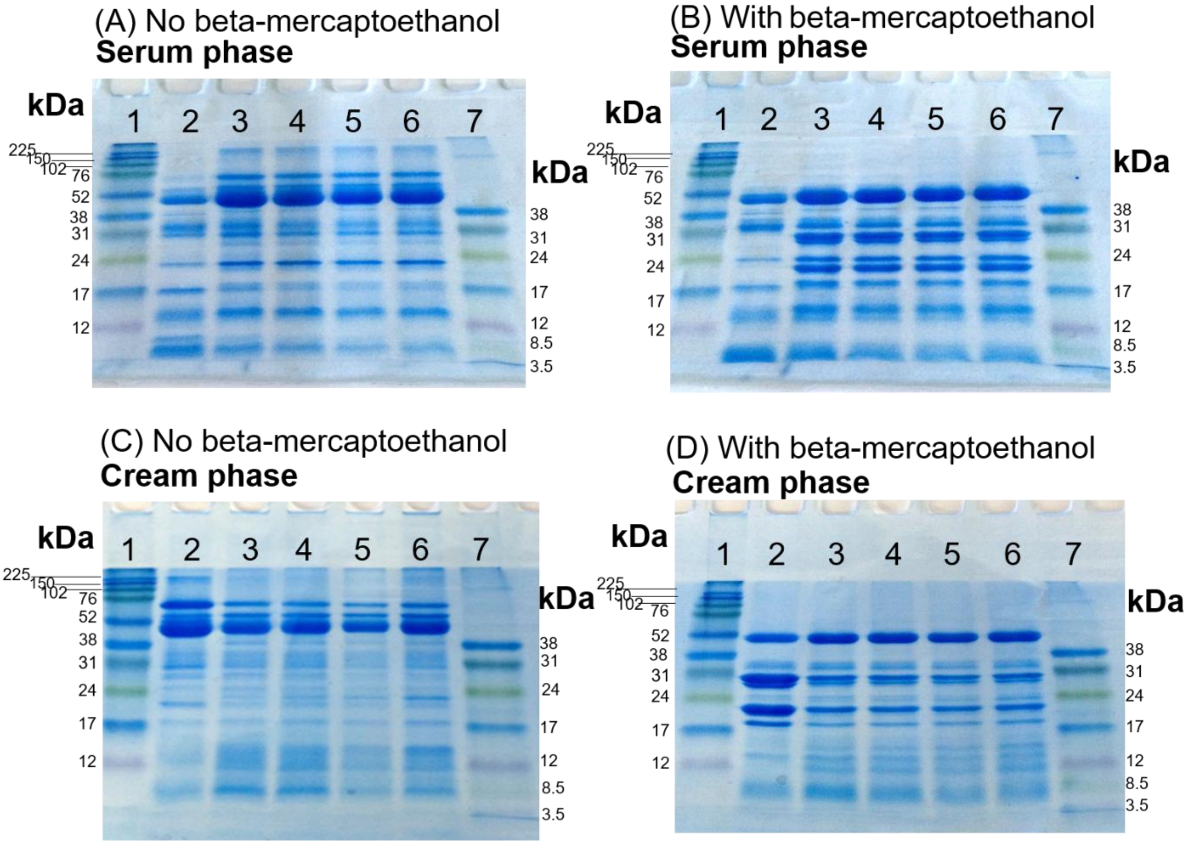


Figure 2 Molecular weight (MW) profiles of coconut milk proteins in different phases; serum phase (A, B) and cream phase (C, D). Lane 1=full range MW standard; lane 2=control (0% NaCl); lane 3=2.5%NaCl; lane=5.0% NaCl; lane5=7.5% NaCl; lane 6=10% NaCl; and lane 7=low range MW standards.

สรุป

การเติมโซเดียมคลอไรด์ในระหว่างการหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นครีมและชั้นซีรัมจากน้ำกะทิ เมื่อใช้ความเข้มข้น 2.5-10 %(w/v) สามารถเพิ่มปริมาณผลได้ของชั้นซีรัมและชั้นครีมของกะทิ นอกจากนี้การใช้โซเดียมคลอไรด์ยังสามารถสกัดโปรตีนบางชนิดในชั้นซีรัมได้เพิ่มขึ้น แต่โซเดียมคลอไรด์นั้นไม่ส่งผลต่อชนิดของโปรตีนในชั้นครีม งานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้สกัดโปรตีนแบบคัดเลือกชนิดโปรตีนจากกะทิสด ขณะนี้อยู่ระหว่างการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สกัดได้จากชั้นต่างๆ ของกะทิ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณรางวัลซิว–เสงี่ยม กาญจนจารี มูลนิธิสวิตาร่วมกับมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัยเพื่อพัฒนานิสิตระดับปริญญาโท หลักสูตร วท.บ. (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis**. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlingtion, Virginia.

Arakawa, T., R. Bhat and S.N. Timasheff. 1990. Preferential interactions determine protein solubility in three-component. **Biochemistry.** 29: 1914-1923.

Birosel, D.M., A.L. Gonzales and M.P. Santos. 1963. The nature and properties of the emulsifier system of oil globules in coconut milk and cream. **Phil. J. Sci**. 92(1): 1–15.

Capuano, F., F. Beaudoin, J.A. Napier and P.R. Shewry. 2007. Properties and exploitation of oleosins. **Biotech. Adv.** 25(2): 203-206.

Carr, H.J., G.W. Plumb, M.L. Parker and N. Lambert. 1990. Characterization and crystallization of an 11S seed storage globulin from coconut (*Cocos nucifera*). **Food. Chem.** 38: 11-20.

Garcia, R.N., R.V. Arocena, A.C. Laurena and E.M. Tecson-Mendoza. 2005. 11S and 7S globulins of coconut (*Cocos nucifera* L.): purification and characterization. **J. Agric. Food. Chem.** 53(5): 1734-1739.

Huang, A.H.C. 1992. Oil bodies and oleosins in seeds. **Annu. Rev. Plant. Physiol. Plan. Mol. Biol.** 43(1): 177-200.

Kwon, K.S., K.H. Park and K.C. Rhee. 1996. Fractionation and characterization of proteins from coconut (*Cocos nucifera* L.). **J. Agric. Food. Chem.** 44(7): 1741-1745.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. **Nature** 227: 680-686.

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Bio. Chem.** 193: 265-275.

Rasyid, F., M. Manullang and P.M.T. Hansen. 1992. Isolation and characterization of coconut protein. **Food Hydrocoll.** 6(3): 301-314.

Santana, I.A., E.P. Ribeiro and A.M. Iguti. 2011. Evaluation of green coconut (*Cocos nucifera* L.) pulp for use as milk, fat and emulsifier replacer in ice cream. **Procedia. Food. Sci.** 1(0): 1447-1453.

Tangsuphoom, N. and J.N. Coupland. 2008. Effect of pH and ionic strength on the physicochemical properties of coconut milk emulsions. **J. Food. Sci.** 73(6): 274-280.

Zhang, R., R. Zhou, W. Pan, W. Lin, X. Zhang, M. Li, J. Li, F. Niu and A. Li. 2017. Salting-in effect on muscle protein extracted from giant squid (*Dosidicus gigas*). **Food. Chem.** 215: 252-262

Effect of pH and Fructose Addition on Aroma and Color Characteristics of Papain Hydrolyzed Rice Bran Protein Concentrate

Supeeraya Arsa[1] and Chockchai Theerakulkait[1*]

ABSTRACT

Rice bran protein (RBP) has been found to be a high-quality natural protein with low price. Sugar, pH and drying are the important parameters affecting the aroma and color formation of the Maillard reaction. Therefore, the effect of pH and fructose addition on aroma and color characteristics of papain hydrolyzed RBP in liquid and powder form were investigated. The liquid hydrolysate (LH) was prepared by hydrolysis of RBP with papain at pH 8.0, 37°C for 4 h. Then, pH was adjusted to 4, 7 or 10. Fructose was added to LH and spray drying, resulting in different hydrolysates powder (HP). Aroma and color characteristics of the LH and HP were evaluated by descriptive sensory analysis and color measurement. The results showed that the aroma intensity of rice bran–like, feed-like, sea food-like and soy sauce-like odor were significantly higher in LH at pH 10 than those at pH 4 and 7 ($p \leq 0.05$), while the aroma intensity of cereal-like and nut-like aroma were significantly lower than LH at pH 4 and 7 ($p \leq 0.05$). Milk powder-like, sweet and cocoa-like aromas were only found in HP. Moreover, the aroma intensity of cereal-like and nut-like aroma of HP were significantly increased in HP. The HP had high L* and b* values, while low a* values. Furthermore, total color difference values between LH and HP were highest in the hydrolysate at pH 10 ($p \leq 0.05$). These results indicated that desirable aromas were higher in HP and the lighter color was detected in the LH and HP at pH 4.

Key Words: aroma characteristic, color, enzymatic hydrolysis, papain, rice bran protein

* Corresponding author; e-mail address: fagicct@ku.ac.th

[1]Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

INTRODUCTION

Rice bran is a by-product from rice milling industries and rice bran protein (RBP) is a high-quality protein with unique nutritional and nutraceutical properties. However, rice bran is limited consumed by human and low consumer acceptance because of its unpleasant flavor. Enzymatic hydrolysis is an effective way to improve flavor by modification of protein into peptides or free amino acids. Moreover, the free amino acids and small peptides from enzymatic hydrolyzed RBP were principal substrates for Maillard reaction.

The Maillard reaction or non-enzymatic browning reactions is important in producing flavor compounds and the formation of most cooked flavor. Besides, the sensory thresholds of volatile compounds from the Maillard reaction are very low; therefore, it makes them important to food aroma (Reineccius *et al*., 2006). The complexity of chemical reaction in Maillard lies in the fact that it is influenced by numerous factors. Type of amino acid and sugar, pH, heat treatment and drying process are the crucial parameters to generate volatile compounds and color from the Maillard reaction.

RBP which was prepared by acid hydrolysis could produce many aroma components such as 2-methoxyphenol, 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)furanone, vanillin and 3-methylbutanal (Jarunrattanasri *et al*., 2007). Moreover, the acid hydrolyzed RBP spray-dried powders could create desirable aromas such as sweet, cracker-like aroma (Kaewka *et al*., 2009). However, the aroma and color characteristics of enzymatic hydrolyzed RBP have yet to be fully discovered. Therefore, the aims of this study were to investigate the effect of pH and fructose addition on aroma and color characteristics of papain hydrolyzed RBP in liquid and powder form.

MATERIALS AND METHODS

1. Preparation of rice bran protein concentrates (RBPC)

Defatted rice bran was prepared by defatting twice with hexane. Alkali protein extraction procedures followed by isoelectric precipitation were used to prepare RBPC from defatted rice bran (Gnanasambandam and Hettiarachchy, 1995).

2. Preparation of liquid hydrolysate (LH) and hydrolysate powder (HP)

The LH was prepared by hydrolysis RBPC with papain at pH 8.0, 37°C for 4 h. The pH of LH was adjusted to 4.0, 7.0 or 10.0. Then, fructose was added before heating to 95°C for 10 min and spray drying, resulting in HP at different pHs. The aroma characteristics and color values of LH and HP were investigated.

3. Sensory evaluation

Aroma characteristics and aroma liking score of the LH and HP were determined by descriptive sensory analysis and hedonic test using a modification of Theerakulkait *et al.* (1995), Kaewka *et al.* (2009) and Arsa and Theerakulkait (2015).

4. Color measurement

L*, a* and b* values of the LH and HP were evaluated using a spectrophotometer in a reflectance mode. Total color difference values were calculated followed the procedure described by Arsa and Theerakulkait (2015).

5. Statistical analysis

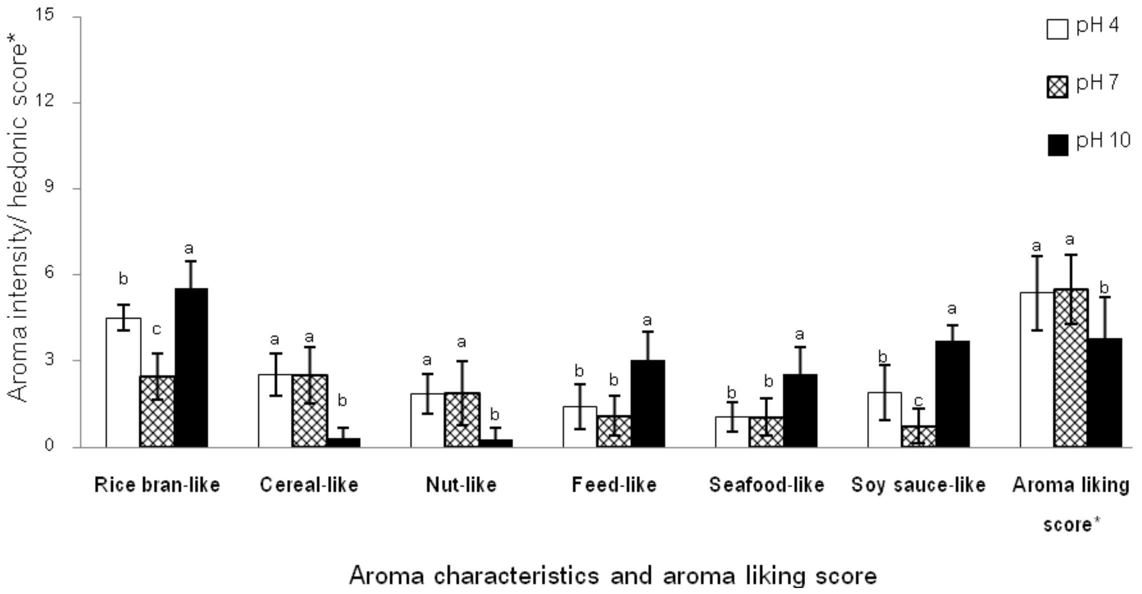
A complete randomized design was used in the experiments and a randomized complete block design was used in sensory analysis. Data of descriptive sensory aroma profiles, aroma liking score and color values of LH and HP were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and least significant differences procedures to separate means and differences. Differences were reported as significant at $p \leq 0.05$, using a standard statistical software package. Three sample replicates were performed.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Effect of pH and fructose addition on aroma characteristics

The aroma characteristics of LH at different pHs are illustrated in Figure 1A. It was found that the aroma intensity of rice bran-like, feed-like, seafood-like and soy sauce-like notes were significantly higher at pH 10 than other pHs ($p \leq 0.05$). The significantly highest aroma intensity of cereal-like and nut-like aromas were found in LH at pH 4 and 7 ($p \leq 0.05$). The highest aroma liking score was found in LH at pH 4 and 7 (5 = neither like nor dislike), whereas the lowest aroma liking score was found in LH at pH 10. This might be due to the higher aroma intensity of cereal-like and nut-like notes detected in the LH at pH 4 and 7, respectively. In contrast, the higher aroma intensity of rice bran-like, feed-like, seafood-like and soy sauce-like notes were detected in the LH at pH 10. This might reduce the aroma liking score of the sample. The lower aroma liking score were also found in the protein hydrolysate from Brassica sp. at higher pH with the same heating temperature (Guo *et al*., 2010).

(A)



(B)

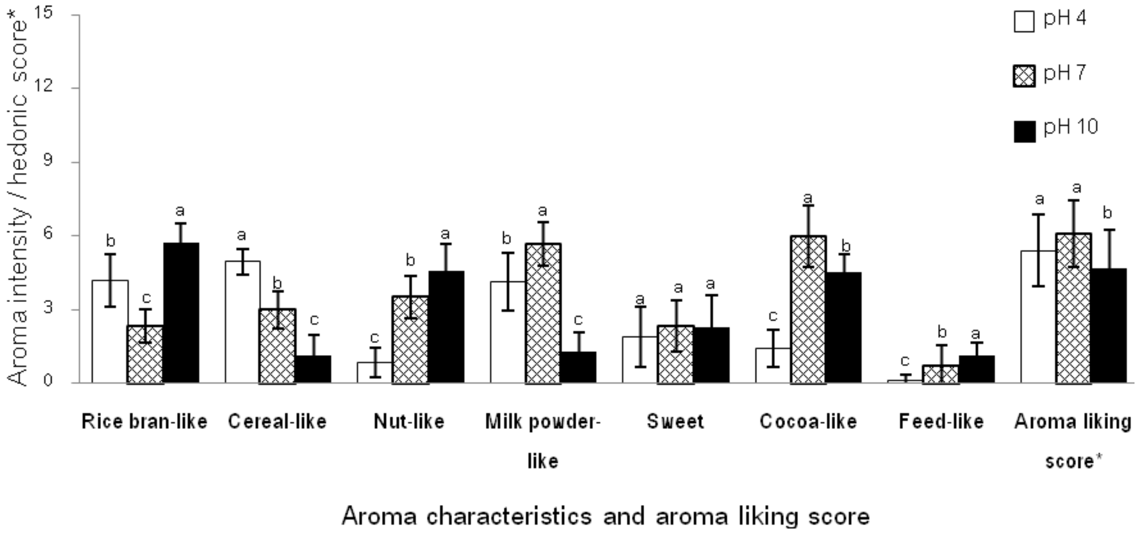


Figure 1 Descriptive sensory aroma profiles and aroma liking score of LH (A) and HP (B) at different pHs.

[a-c] The different letters at the same parameters are significantly different at 0.05 significant level.

The intensity of aroma characteristics were in a range of 0 (none) to 15 (strong).

*Aroma liking score were in a range of 1 (dislike extremely) to 9 (like extremely).

The aroma characteristics of HP at different pHs are expressed in Figure 1B. According to the effect of fructose addition and spray drying, milk powder-like, sweet-like, and cocoa-like aromas were found in HP, while these aromas were not detected in LH. In addition, the aroma intensity of

cereal-like and nut-like aromas of HP were increased by fructose addition and spray drying. Moreover, soy sauce-like and seafood-like odors were not detected in HP. The highest aroma intensity of cereal-like aroma was found in HP at pH 4 ($p \leq 0.05$). The aroma intensity of milk powder-like and cocoa-like note were highest in HP at pH 7 ($p \leq 0.05$). These results indicated that an important reaction might be the Maillard reaction, which is promoted at higher temperatures. The Maillard reaction is a crucial reaction generating aromas in heated foods. Moreover, the greatly affected of pH influence to the generation of aroma attributes from the Maillard reaction (Yu and Zhang, 2010). Furfural, which creates bread or cereal-like aroma (Castro-Vazquez *et al.,* 2007), was favored by lower pH value (Ames and Apriyantono, 1994; Ames *et al.,* 2001). Moreover, the 2-methylpropanal, 2-methylbutanal and 3- methylbutanal increased with increasing pH from pH 3 to pH 7 (Cremer and Eicher, 2000). These compounds were flavor-active compounds identified as having strong chocolate note from GC-O (Afoakwa *et al.,* 2009). On the contrary, these compounds were significantly decreased when pH increased from 7 to 10 (Chan and Reineccius, 2005). Besides, the highest aroma intensity of nut-like aroma was found in HP at pH 10 ($p \leq 0.05$). Pyrazines were describes as a nutty, roasted and burnt odorant (Liu *et al.,* 2015) and alkali conditions favor the formation of alkylpyrazines. The production of pyrazines could develop at higher pH (from 8.00-9.55) of ascorbic acid and threonine or serine model system, while pyrazines are inhibited by acidic conditions (Yu and Zhang, 2010). Therefore, the HP at pH 4 had lower aroma intensities of nut-like odor ($p \leq 0.05$). Moreover, the higher aroma intensity of feed-like odor was detected in HP at pH 10. This might be related to the released ammonia at the high pH (approximately 8) (Sarkar *et al.,* 1997). This could reduce the aroma liking score of the hydrolysate at pH 10. HP at pH 7 showed the highest aroma liking score ($p > 0.05$) because the high intensity of desirable aromas such as milk powder-like and cocoa-like notes and the lower intensity of rice bran-like odor were detected at pH 7.

2. Effect of pH and fructose addition on color values

Color and total color difference values of LH and HP different pHs are shown in Table 1. The L*, a* and b* values of LH and HP were highest at pH 4 and the LH and HP showed lighter color than those at pH 7 and 10 ($p \leq 0.05$). Thee agreed with many studies which reported that browning increases with pH values, slightly up to pH 8 and more drastically for pH 8 (Ames, 1998; Ajandouze *et al*., 2001; Benjakul *et al*., 2005). This might be due to melanoidins, brown pigment from the Maillard reaction. The higher pH of LH and HP favored the Maillard reaction than those lower pH because the increased pH will increase the amount of unprotonated amino groups and open-chain of reducing sugars. These are considered to be the reactive species for the Maillard reaction (Martins and Boekel, 2005; Lertittikul *et al*., 2007). It could be also confirmed by the result of the lowest values of total color difference between LH and HP at pH 4. After fructose addition and spray drying, the L* and

b* values of the all hydrolysates were increased (p≤0.05), while a* values were decreased (p≤0.05). The total color difference values between LH and HP were highest at pH 10 (p≤0.05) followed by pH 7, and 4, respectively. The papain hydrolyzed RBP has a potential to be used as a flavoring agent in beverage or food products.

Table 1 Color and total color different values of LH and HP at different pHs.

Sample	Color values						ΔE* values
	L*		a*		b*		
	LH	HP	LH	HP	LH	HP	
pH 4	48.39±1.38[Ba]	73.73±0.02[Aa]	5.76±0.21[Aa]	4.76±0.02[Ba]	12.02±0.48[Ba]	18.02±0.06[Aa]	26.06±1.32[c]
pH7	38.62±0.08[Bb]	68.80±0.06[Ac]	4.27±0.05[Ac]	3.84±0.01[Bc]	6.50±0.18[Bb]	15.99±0.13[Ab]	31.64±0.09[b]
pH 10	35.69±0.15[Bc]	71.84±0.07[Ab]	4.58±0.03[Ab]	4.38±0.18[Bb]	7.00±0.11[Bb]	15.55±0.31[Ac]	37.15±0.11[a]

[A-B] Means in the same row at the same parameters with different letters are significantly different at 0.05 significant level.

[a-c] Means in the same column with different letters are significantly different at 0.05 significant level.

ΔE* values were calculated from the different between LH and HP.

CONCLUSION

Preparation conditions; pH and fructose addition affected to the aroma and color characteristics of LH and HP from RBP. The desirable aromas were higher in HP than those in LH. The lighter color was detected in the LH and HP at pH 4. Besides, the total color difference values were highest in the hydrolysate at pH 10. These significant findings could be provided useful information for the preparation of enzymatic hydrolysate from RBP. Furthermore, these could add the value of rice bran which is a byproduct form rice milling industry.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to express their sincere gratitude to the Thailand research fund; the Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program and Kasetsart University (Grant no. PHD/0232/2550) to S. Arsa and C. Theerakulkait and Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI) for the financial support of this research.

REFERENCES

Afoakwa, E.O., A. Paterson, M. Fowler and A. Ryan. 2009. Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying in particle size distribution and fat content using GC–mass spectrometry and GC–olfactometry. **Food Chemistry**. 113: 208-215.

Ames, J.M. 1998. Applications of the Maillard reaction in the food industry. **Food Chemistry.** 62: 431–439.

Ames, J.M. and A. Apriyantono. 1994. Chap.18. *In* "**Thermally Generated Flavors**". Effect of pH on the volatile compounds formed in a xylose-lysine model system. T.H. Parliament, J.M. Michael and R.J. McGorrin (eds.): 228-239. ACS Symposium Series; American Chemical Society, Washington, DC.

Ames, J.M., R.C.E. Guy and G.J. Kipping. 2001. Effect of pH, temperature, and moisture on the formation of volatile compounds in glycine/glucose model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49: 4315—4323.

Arsa, S. and C. Theerakulkait. 2015. Sensory aroma characteristics of alcalase hydrolyzed rice bran protein concentrate as affected by spray drying and sugar addition. **Journal of Food Science and Technology**. 52: 5285–5291.

Benjakul, S., W. Lertittikul and F. Bauer. 2005. Antioxidant activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-sugar model system. **Food Chemistry**. 93: 189–196.

Castro-Vázquez, L., M.C. Díaz-Maroto and M.S. Pérez-Coello. 2007. Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. **Food Chemistry**. 103: 601-606.

Chan, F. and G.A. Reineccius. 2005. *In* "**Maillard Reaction In Chemistry, Food And Health**". The reaction kinetics for the formation of isovaleraldehyde, 2-acetyl-1-pyrroline, di(H-)di(OH)-6-methylpyranone, phenylacetaldehyde, 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal and 2-acetylfuran in model systems. T.P. Labuza, G.A. Reineccius, V.M. Monnier, J. O'Brien, J.W. Baynes (eds.): 131-139. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Gnanasambandam, R. and N.S. Hettiarachchy. 1995. Protein concentrates from unstabilized and stabilized rice bran: preparation and properties. **Journal of Food Science.** 60: 1066-1074.

Guo., X, S. Tian and D.M. Small. 2010. Generation of meat-like flavourings from enzymatic hydrolysates of proteins from Brassica sp. **Food Chemistry**. 119(1): 167-172.

Jarunrattanasri, A., C. Theerakulkait and K. R. Cadwallader. 2007. Aroma components of acid-hydrolyzed vegetable protein made by partial hydrolysis of rice bran protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 55: 3044-3050.

Kaewka, K., C. Theerakulkait and K. R. Cadwallader. 2009. Effect of preparation conditions on composition and sensory aroma characteristics of acid hydrolyzed rice bran protein concentrate. **Journal of Cereal Science.** 50: 56-60.

Lertittikul, W., S. Benjakul, M. Tanaka. 2007. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucosemodel system as influenced by pH. **Food Chemistry**. 100: 669–677.

Liu, J., M. Liu, C. He, H. Song and F. Chen. 2015. Effect of thermal treatment on the flavor generation from Maillard reaction of xylose and chicken peptide. **LWT - Food Science and Technology.** 64(1): 316-325.

Martins, S.I.F.S and M.A.J.S. Van Boekel. 2005. Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: Influences of pH and reactant initial concentrations. **Food Chemistry.** 92: 437–448.

Reineccius, G. 2006. **Flavor Chemistry and Technology.** 2nd ed. Taylor and francis group, New York.

Sarkar, P. K., L. J. Jones, G. S. Craven, S. M. Somerset and C. Palmer. 1997. Amino acid profiles of kinema, a soybeanfermented food. **Food Chemistry**. 59(1): 69-15.

Theerakulkait, C., D.M. Barrett and M.R. McDaniel. 1995. Sweet corn germ enzymes affect odor formation. **Journal of Food Science**. 60:1034–1040.

Yu, A.N. and A.D. Zhang. 2010. The effect of pH on the formation of aroma compounds produced by heating a model system containing L-ascorbic acid with L-threonine/L-serine. **Food Chemistry**. 119: 214–219.

การเตรียมกากมะพร้าวจากกากคั้นกะทิเพื่อนำไปดัดแปรทางเคมีและเสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร

Preparation of Coconut Residue for Chemical Modification and Addition in Food Products

มุก ลิ้มมณี[1*] และ พิณทิพย์ รัมภกาภรณ์[1]

Mook Limmanee[1*] and Pinthip Rumpagaporn[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อลดปริมาณไขมันในกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมผลิตน้ำกะทิ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับนำไปดัดแปรทางเคมีหรือเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยวิธีการบดลดขนาดแบบเปียกด้วยน้ำหรือร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เพื่อกำจัดไขมันออกและใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อกำจัดโปรตีน ผลการศึกษาพบว่าการเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดสามารถลดปริมาณไขมันได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปริมาณไขมันในกากเนื้อมะพร้าวลดลงจากร้อยละ 36.22 เป็น 4.84 หลังจากการบดลดขนาดแบบเปียกด้วยน้ำและสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน 2 ครั้ง ครั้งละ 6 ชั่วโมง ส่วนปริมาณโปรตีนลดลงจากร้อยละ 4.10 เป็น 1.46 เมื่อกวนผสมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ 10) นาน 1 ชั่วโมง นอกจากนี้การบดลดขนาดแบบเปียกด้วยน้ำจำนวน 4 รอบ สามารถลดปริมาณไขมันในกากเนื้อมะพร้าวจากร้อยละ 36.22 เป็น 4.06 ดังนั้นทั้งสองวิธีการจึงถูกนำมาใช้ในการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวซึ่งมีปริมาณใยอาหารสูง (ร้อยละ 98.16-99.42) เพื่อนำไปใช้ในการดัดแปรทางเคมีหรือใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

ABSTRACT

The present study aimed to reduce the oil content in coconut residue, a by-product of the coconut milk industry, for further use as a material for chemical modification or as an ingredient in the food products. Milling with water alone or combined with hexane extraction were used to remove fat and a sodium hydroxide solution was used to remove protein. The results showed that fat content in defatted coconut residue was significantly decreased ($p \leq 0.05$) when increasing the number of extractions. The fat content in coconut residue decreased from 36.22 to 4.84% after a process of wet milling followed by two hexane extractions of 6 h each. Protein content also decreased from 4.10 to 1.46% by mixing it with a 10% solution of sodium hydroxide for 1 h. Additionally, coconut residue was wet milled, fat content decreased, beginning at 36.22% and ultimately reduced to 4.06% on the fourth milling. Therefore, these two methods were utilized to prepare coconut residue with high dietary fiber contents (98.16-99.42%) for further chemical modification or use in food products.

Key Words: coconut residue, dietary fiber, fat content, chemical method, physical method

* Corresponding author; e-mail address: mook_mok@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900.

คำนำ

มะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจประเภทพืชน้ำมัน ผลิตภัณฑ์มะพร้าวที่มีการส่งออกเป็นหลักในประเทศไทย คือ มะพร้าวสด (Fresh Coconut) มะพร้าวแห้ง (Desiccated coconut and Copra) น้ำมันมะพร้าว (Coconut Oil) เส้นใยกาบมะพร้าว (Coir fiber) และกากเนื้อมะพร้าว (Coconut Cake) จากอุตสาหกรรมแปรรูปต่อเนื่อง ได้แก่ อุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันมะพร้าวและกะทิ เป็นต้น (สำนักงานยุทธศาสตร์พาณิชย์, 2553) เนื้อมะพร้าวก่อนสกัดกะทิมีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 65.5 ในขณะที่กากเนื้อมะพร้าวที่ผ่านการสกัดกะทิ มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 42.6 ของน้ำหนักแห้ง (Yalegama *et al.*, 2013) โดยทั่วไปกากเนื้อมะพร้าวเป็นผลพลอยได้จากโรงงานผลิตน้ำกะทิ มักนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ (Sulaiman *et al.*, 2013) ซึ่งองค์ประกอบที่สำคัญอย่างหนึ่งในกากเนื้อมะพร้าว คือ ใยอาหาร แต่กากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิยังคงมีไขมันเหลืออยู่ในปริมาณสูง เนื่องจากขั้นตอนการสกัดกะทิด้วยน้ำ ทำให้ไขมันไม่สามารถถูกสกัดออกได้ทั้งหมด ส่งผลให้กากเนื้อมะพร้าวมีปริมาณไขมันสูงและมีสมบัติไม่เหมาะสมต่อการใช้เป็นแหล่งของใยอาหาร ซึ่งแหล่งของใยอาหารที่ดีควรมีใยอาหารทั้งหมดไม่ต่ำกว่าร้อยละ 50 มีไขมันปริมาณต่ำ ไม่มีกลิ่นและรส (Yalegama *et al.*, 2013)

กระบวนการผลิตน้ำมันมะพร้าวจากกากเนื้อมะพร้าวแห้งที่สกัดน้ำมัน สามารถสกัดน้ำมันได้ร้อยละ 90 ทำให้ปริมาณไขมันในกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดน้ำมันมีน้อยกว่ากากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิ ซึ่งวิธีที่ใช้ในการสกัดน้ำมันจากกากมะพร้าว ได้แก่ การใช้แรงกดเชิงกลหรือการสกัดของเหลวจากของแข็งด้วยตัวทำละลาย (solid liquid extraction) เช่น เฮกเซน หรือปิโตรเลียมอีเธอร์ เป็นวิธีการทางเคมีที่ใช้สกัดน้ำมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sulaiman *et al.*, 2013) และเป็นวิธีการผลิตน้ำมันมะพร้าวที่มีความบริสุทธิ์สูง (refined grade) นอกจากนี้วิธีการอื่นๆ ที่ใช้ในการลดปริมาณไขมันในวัตถุดิบทางการเกษตรเพื่อเตรียมใยอาหาร ได้แก่ วิธีทางกายภาพ เช่น การบดลดขนาด การสกัดไขมันด้วยน้ำร้อน เป็นต้น (Raghavendra *et al.*, 2006)

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดไขมัน ได้แก่ อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อของแข็ง ชนิดของตัวทำละลาย และขนาดอนุภาค เป็นต้น วิธีการสกัดทางกายภาพเป็นการใช้แรงทางกล และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาคของพืชน้ำมัน ปริมาณน้ำมันจึงถูกถ่ายจากภายในอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ไปยังตัวทำละลายที่อยู่รอบๆ และทำให้การแพร่ผ่านรูพรุนระหว่างของแข็งและของเหลวเพิ่มขึ้น (Sulaiman *et al.*, 2013) การสกัดน้ำมันด้วยวิธีการทางกายภาพ ได้แก่ การบีบน้ำมันด้วยเครื่องบีบอัดแบบเย็น (cold press) แบบไฮโดรลิก (hydraulic press) แบบเกลียวอัด (screw press) กระบวนการเอกซ์ทรูชันและการบดลดขนาด เป็นต้น ซึ่งงานวิจัยของ Raghavendra *et al.* (2006) ที่ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการลดปริมาณไขมันในกากมะพร้าวหลังการสกัดกะทิด้วยการล้างไขมันในกากมะพร้าวโดยใช้น้ำเดือด พบว่าสามารถลดปริมาณไขมันจากร้อยละ 62 เหลือร้อยละ 45 ในขณะที่การสกัดไขมันด้วยเฮกเซนเป็นเวลา 9 ชั่วโมงที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1 ต่อ 5 ด้วยเครื่องสกัดไขมัน (percolator type solvent extractor) สามารถลดปริมาณไขมันจากร้อยละ 48.1 เหลือร้อยละ 2 นอกจากนี้การศึกษาของ Sulaiman *et al.* (2013) พบว่าการลดขนาดอนุภาคมีผลต่อการลดลงของปริมาณไขมันในกากมะพร้าวหลังการสกัดกะทิด้วยการใช้เฮกเซน โดยกากมะพร้าวที่มีขนาดอนุภาคต่ำกว่า 0.5 มิลลิเมตร สามารถสกัดน้ำมันได้มากกว่ากากมะพร้าวที่มีขนาดใหญ่กว่า (0.7 และ 1.2 มิลลิเมตร) เท่ากับร้อยละ 23.6

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีจึงวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมกากมะพร้าวหลังการสกัดกะทิ ให้มีไขมันและโปรตีนต่ำ เพื่อนำไปสังเคราะห์เป็นคาร์บอกซีเมทิลพอลิแซ็กคาไรด์ โดยการกำจัดไขมันด้วยการบดลดขนาดแบบเปียกร่วมกับการใช้ตัวทำละลายชนิดเฮกเซน รวมทั้งการใช้สารละลายด่างในการลดปริมาณโปรตีน เพื่อให้ได้กากมะพร้าวที่บริสุทธิ์ และมีองค์ประกอบเป็นใยอาหารมากขึ้น อีกทั้งป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างไขมันและด่างในระหว่างการดัดแปรด้วยวิธีทางเคมี และศึกษาวิธีการเตรียมกากมะพร้าวหลังการสกัดกะทิให้มีปริมาณไขมันลดลง เพื่อนำไปใช้เสริมในผลิตภัณฑ์อาหารด้วยวิธีการบดลดขนาดแบบเปียก

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

กากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิจากบริษัทอำพลฟูดส์ โพรเซสซิ่ง จำกัด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. การเตรียมกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิเพื่อดัดแปรทางเคมี

1.1 การกำจัดน้ำมันจากกากเนื้อมะพร้าว

1.1.1 การบดลดขนาดอนุภาค

ชั่งกากเนื้อมะพร้าวสดหลังการสกัดกะทิจำนวน 25 กรัม (อัตราส่วนของกากเนื้อมะพร้าวต่อน้ำเท่ากับ 1:10) บดลดขนาดด้วยโถปั่นอาหาร (แบบเปียก) เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 1 ครั้ง และกรองผ่านตะแกรงขนาด 200 เมช จากนั้นนำตัวอย่างที่ไม่ผ่านตะแกรงมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง บดลดขนาดด้วยเครื่องบดแห้ง (Pin mill)

1.1.2 การกำจัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย

ชั่งกากเนื้อมะพร้าวแห้ง (จากข้อ 1.1.1) เติมเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:10 ทำการสกัดด้วยเครื่องกวนสารละลายแบบใบกวนที่ความเร็วรอบ 500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 และ 9 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง เหวี่ยงแยกตัวทำละลายออกจากกากมะพร้าว จากนั้นระเหยเฮกเซนออกจากกากมะพร้าวในตู้ดูดควัน และอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (Raghavendra *et al.*, 2006)

1.2 การกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำกากเนื้อมะพร้าวหลังผ่านการกำจัดไขมันจากข้อ 1.1 มาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:20 ปรับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 11.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ 10) พร้อมคนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นล้างกากเนื้อมะพร้าวด้วยน้ำกลั่น นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง บดลดขนาดด้วยเครื่องบดแห้ง (Rotor mill) และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช (Gupta *et al.*, 2004)

2. การเตรียมกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิเพื่อการเสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร

การกำจัดน้ำมันจากกากมะพร้าวด้วยการบดลดขนาดอนุภาคร่วมกับการใช้น้ำ

ชั่งกากเนื้อมะพร้าวสดหลังการสกัดกะทิจำนวน 25 กรัม (อัตราส่วนของกากเนื้อมะพร้าวต่อน้ำเท่ากับ 1: 40) จากนั้นบดลดขนาดด้วยโถปั่นอาหาร (แบบเปียก) เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเปลี่ยนน้ำที่ใช้สกัดและทำซ้ำอีก 3 ครั้ง โดยกรองผ่านตะแกรงขนาด 200 เมชทุกครั้งที่เปลี่ยนน้ำและเก็บกากเนื้อมะพร้าว นำกากมะพร้าวที่ไม่ผ่านตะแกรงไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง บดลดขนาดด้วยเครื่องบดแห้ง (Rotor mill) และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช (Gupta *et al.*, 2004)

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์ความชื้น โปรตีนและเถ้าตามวิธีการของ AOAC (2005) ปริมาณไขมันตามวิธี AOAC (2006) Method 2003.06 วิเคราะห์เยื่อใยตามวิธีการของ AOAC Method 991.43

วิเคราะห์มอนอแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบตามวิธีการของ Ghosh *et al.* (2015) ในกากมะพร้าวที่ผ่านการการกำจัดไขมันจากข้อ 1.1 และกากมะพร้าวที่ผ่านการกำจัดไขมันและโปรตีนจากข้อ1.2 ด้วยเครื่อง High Performance Anion Exchange Chromatography ร่วมกับ Pulsed Amperometric Detector (HPAEC-PAD)

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Randomized Complete Designs) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติเพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิเพื่อดัดแปรทางเคมี

ผลของวิธีการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิต่อปริมาณการลดลงของไขมัน (%) เพื่อนำไปดัดแปรทางเคมีแสดงดัง Figure 1 โดยกากเนื้อมะพร้าวถูกบดลดขนาดแบบเปียกด้วยน้ำ 1 ครั้ง เพื่อลดขนาดอนุภาคและไขมันเริ่มต้น จากนั้นจึงใช้เฮกเซนในการกำจัดไขมัน โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดไขมันจากกากเนื้อมะพร้าว ได้แก่ จำนวนครั้งในการสกัด (1 หรือ 2 ครั้ง) และระยะเวลาในการสกัด (6 หรือ 9 ชั่วโมง) ผลของระยะเวลาในการสกัดต่อการลดลงของปริมาณไขมัน โดยการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดไขมันจาก 6 ชั่วโมงเป็น 9 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดไขมันไม่มีผลต่อปริมาณไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่การเพิ่มจำนวนครั้งของการสกัดไขมันจาก 1 ครั้งเป็น 2 ครั้ง สามารถกำจัดไขมันออกจากกากเนื้อมะพร้าวได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) จากร้อยละ 11.02 เป็น 4.84 และ ร้อยละ 11.37 เป็น 5.12 ที่เวลา 6 และ 9 ชั่วโมง ตามลำดับ เพราะตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์มากกว่าสามารถ

ละลายไขมันอิสระที่ผิวของอนุภาคได้ดีกว่า เนื่องจากความเข้มข้นของไขมันที่ละลายในตัวทำละลายมีปริมาณต่ำ ทำให้การแพร่ของไขมันจากกากมะพร้าวไปยังตัวทำละลายเกิดขึ้นได้เร็ว และเมื่อถึงปริมาณสูงสุดที่ตัวทำละลายสามารถสกัดไขมันได้แล้ว ทำให้ปริมาณไขมันที่สกัดได้จึงเท่าเดิมแม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาในการสกัด (Sulaiman *et al*., 2013) สอดคล้องกับผลการศึกษาของมาลี (2543) พบว่าการเพิ่มจำนวนครั้งในการสกัดไขมันด้วยเฮกเซนจาก 1 เป็น 3 ครั้ง สามารถสกัดไขมันในกากมะพร้าวได้เพิ่มขึ้น ดังนั้นในการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิเพื่อนำไปกำจัดโปรตีน จึงใช้วิธีการบดลดขนาดแบบเปียกร่วมกับวิธีการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายชนิดเฮก-เซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง เนื่องจากการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดเป็น 9 ชั่วโมง ไม่ทำให้ปริมาณไขมันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

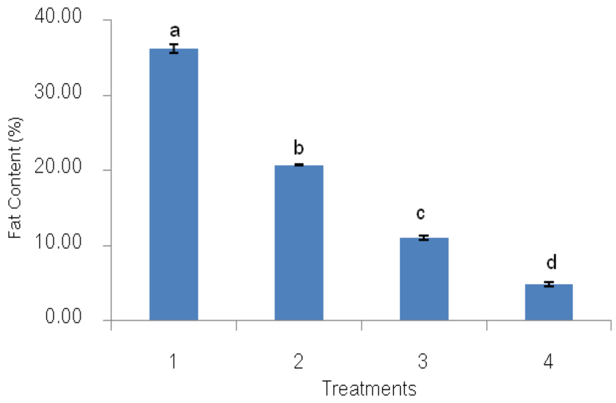


Figure 1 Fat content (%) of coconut residue, before fat removal (1), after fat removal by hexane 1 time for 6 h (2), by hexane 1 time for 9 h (3), by hexane 2 times for 6 h each (4) and by hexane 2 time for 9 h each (5).

Data are expressed as mean±SD. Bars with different superscript letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

นอกจากนี้การเพิ่มขั้นตอนการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สามารถลดปริมาณโปรตีนจากร้อยละ 4.10 เป็น 1.46 กากเนื้อมะพร้าวหลังการกำจัดไขมันอย่างเดียว และหลังการกำจัดไขมันและโปรตีนมีปริมาณใยอาหารสูง (ร้อยละ 94.36-99.42) และมีมอนอแซ็กคาไรด์ชนิดแมนโนสเป็นองค์ประกอบหลัก (ร้อยละ 90.80-91.07) ส่วนกลูโคส (ร้อยละ 6.12-6.28) และกาแลกโตส (ร้อยละ 2.32-2.37) เป็นองค์ประกอบรอง สอดคล้องกับรายงานของ Khuwijitjaru *et al.* (2014) ที่พบว่ากากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิมีแมนโนสเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 79.8 และมีกลูโคส (ร้อยละ 12.8) กาแลกโตส (ร้อยละ 6.1) และอะราบิโนส (ร้อย-ละ 1.3) เป็นองค์ประกอบรอง

Table 1 Chemical composition of coconut residue (dry basis %)

Chemical composition (%)	Treatments		
	Coconut residue	Defatted coconut residue	Defatted and deproteined coconut residue
Moisture	8.13 ± 0.41[a]	7.50 ± 0.44[a]	8.35 ± 1.19[a]
Protein	4.07 ± 0.03[a]	4.10 ± 0.07[a]	1.46 ± 0.03[b]
Ash	0.73 ± 0.00[a]	0.48 ± 0.03[b]	0.38 ± 0.01[c]
Fat	36.22 ± 0.59[a]	4.84 ± 0.36[b]	4.46 ± 0.04[b]
Fiber	72.61 ± 0.83[c]	94.36 ± 0.73[b]	99.42 ± 0.34[a]

Data are expressed as mean±SD.

Mean values within the same row with different superscripts are significantly different ($p \leq 0.05$).

2. การเตรียมกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิเพื่อการเสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร

ผลของจำนวนครั้งในการบดต่อการลดลงของปริมาณไขมันด้วยการลดขนาดแบบเปียก ในการเตรียมกากมะพร้าวเพื่อเสริมในผลิตภัณฑ์อาหารแสดงดัง Figure 2 พบว่าการเพิ่มจำนวนครั้งในการบดร่วมกับการเปลี่ยนถ่ายน้ำ สามารถลดปริมาณไขมันได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากร้อยละ 36.22 เป็น 4.06 คิดเป็นการสูญเสียของผลผลิตหลังการบด 4 ครั้งเท่ากับร้อยละ 20 เพราะการเพิ่มจำนวนครั้งในการบด เป็นการทำลายโครงสร้างเมทริกซ์ของใยอาหารที่มีลักษณะคล้ายรังผึ้ง และทำให้โครงสร้างยุบตัว ไขมันจึงถูกจับไว้ในเมทริกซ์ของใยอาหาร (Raghavendra *et al*., 2006) จึงถูกปล่อยออกมา ในขณะที่การเปลี่ยนถ่ายน้ำช่วยชะล้างไขมันในกากมะพร้าว ทำให้ปริมาณไขมันจึงลดลง และทำให้กากมะพร้าวที่ได้มีใยอาหารที่เป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง (ร้อยละ 98.16) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Raghavendra *et al*. (2004) พบว่าการล้างกากมะพร้าวด้วยน้ำเดือด สามารถลดปริมาณไขมันในกากมะพร้าวจากร้อยละ 62 เหลือ 45

การบดลดขนาดกากเนื้อมะพร้าวด้วยน้ำร่วมกับการกำจัดไขมันด้วยเฮกเซน และการบดลดขนาดแบบเปียกด้วยน้ำ ทำให้ได้กากมะพร้าวที่มีปริมาณใยอาหารสูง (ร้อยละ 94.36-99.42) และมีปริมาณไขมันต่ำ (ร้อยละ 4.46-4.84) ซึ่งวิธีการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวทั้งสองวิธี เป็นวิธีในการกำจัดไขมันในกากเนื้อมะพร้าวที่มีประสิทธิภาพ แต่การเตรียมกากเนื้อมะพร้าวโดยการบดลดขนาดด้วยน้ำเป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยไม่ใช้สารเคมี กากเนื้อมะพร้าวจึงสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งของใยอาหารในผลิตภัณฑ์อาหารได้ แตกต่างงานวิจัยของ Thongsook and Chaijamrus (2013) ทำการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิ โดยกำจัดไขมันในกากเนื้อมะพร้าวด้วยเฮกเซน เพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับการดัดแปรทางเคมี โดยการย่อยด้วยกรด เพื่อทำให้กากเนื้อมะพร้าวดูดซับน้ำลดลง และรายงานผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าว ซึ่งประกอบด้วยไขมัน

ร้อยละ 8.04 โปรตีนร้อยละ 9.56 และใยอาหารร้อยละ 77 ซึ่งกากมะพร้าวมีความบริสุทธิ์ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับงานวิจัยนี้

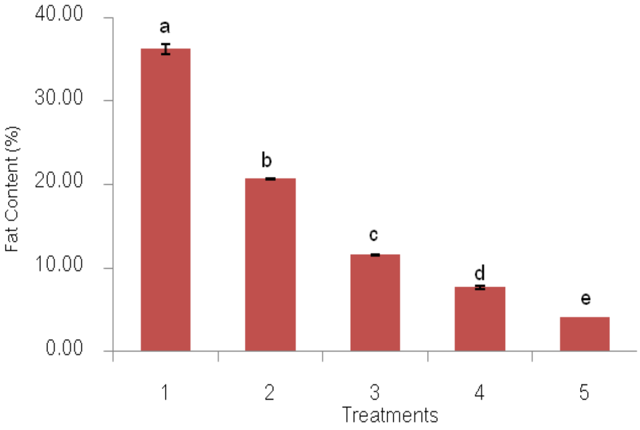


Figure 2 Fat content (%) of coconut residue; before grinding with water (1), after grinding and rinsing with water 1 time (2), 2 times (3), 3 times (4) and 4 times (5).

Data are expressed as mean±SD. Bars with different superscript letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

สรุป

วิธีการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวที่สามารถกำจัดไขมันให้มีปริมาณต่ำ เพื่อเหมาะแก่การนำไปดัดแปรทางเคมี คือ การบดลดขนาดแบบเปียกด้วยน้ำ จำนวน 1 ครั้งร่วมกับการสกัดเฮกเซนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้งที่อุณหภูมิห้อง และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 10 ซึ่งสามารถลดปริมาณไขมันจากร้อยละ 36.22 เป็น 4.84 ส่วนการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำให้ได้กากเนื้อมะพร้าวมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นและมีมอนอแซ็กคาไรด์ชนิดแมนโนสเป็นองค์ประกอบหลัก ในขณะที่สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวเพื่อเสริมในผลิตภัณฑ์ คือ การลดขนาดด้วยการปั่นแบบเปียกร่วมกับการเปลี่ยนถ่ายน้ำจำนวน 4 ครั้งที่อุณหภูมิห้อง และอัตราส่วนกากเนื้อมะพร้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 40 ซึ่งสามารถลดปริมาณไขมันจากร้อยละ 36.22 เป็น 4.06 ดังนั้นวิธีการเตรียมกากเนื้อมะพร้าวทั้งสองวิธี เป็นวิธีในการกำจัดไขมันในกากเนื้อมะพร้าวที่มีประสิทธิภาพ ทำให้ใยอาหารที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงและมีปริมาณไขมันต่ำ สามารถนำไปดัดแปรทางเคมีหรือเสริมในผลิตภัณฑ์อาหารได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัทอำพลฟูดส์ โพรเซสซิ่ง จำกัด ผู้สนับสนุนวัตถุดิบกากเนื้อมะพร้าวหลังการสกัดกะทิ และบัณฑิตวิทยาลัยที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยเศรษฐกิจการค้าการลงทุน สำนักงานยุทธศาสตร์การพาณิชย์. 2553. มะพร้าว. **แหล่งที่มา**: http://www.tpso.moc.go.th., 3 มีนาคม 2555.

มาลี ซิ้มศรีสกุล. 2543. การศึกษาการเตรียมแป้งมะพร้าวจากกากมะพร้าวส่วนเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป. **ในรายงานประจำปีงบประมาณ 2543 ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.** 45 หน้า.

AOAC. 2005. Official Method of Analysis. 17^{th} ed., The Association of Official Analysis Chemists, South Dakota State.

AOAC. 2006. Official Method of Analysis. 18^{th} ed., The Association of Official Analysis Chemists, Washington DC.

Ghosh, A., A. K. Verma, J. R. Tingirikari, R. Shukla and A. Goyal. 2015. Recovery and purification of oligosaccharides from copra meal by recombinant endo-β-mannanase and deciphering molecular mechanism involved and its role as potent therapeutic agent. Molecular Biotechnology 57: 111-127.

Gupta, S., P. Sharma and P. L. Soni. 2004. Carboxymethylation of Cassia occidentalis Seed Gum. Journal of Applied Polymer Science 94: 1606-1611.

Khuwijitjaru, P., A. Pokpong, K. Klinchongkon and S. Adachi. 2014. Production of oligosaccharides from coconut meal by subcritical water treatment. International Journal of Food Science and Technology 49: 1946-1952.

Raghavendra, S.N., N. K. Rastogi, K. S. M. S. Raghavarao and R.N. Tharanathan. 2004. Dietary fiber from coconut residue: effects of different treatments and particle size on the hydration properties. European Food Research and Technology 218: 563-567.

Raghavendra, S.N., S.R. Ramachandra Swamy, N.K. Rastogi, K.S.M.S. Raghavarao, S. Kumar and R.N. Tharanathan. 2006. Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. Journal of Food Engineering (72): 281-286.

Sulaiman, S., A.R. Abdul Aziz and M. K. Aroua. Optimization and modeling of extraction of solid coconut waste oil. 2012. Journal of Food Engineering (114): 228-234.

Thongsook, T. and S. Chaijamrus (2013). Modification of physiochemical properties of copra meal by dilute acid hydrolysis. International Journal of Food Science and Technology 49 (6): 1461-1469.

Yalegama, L.L.W.C., D. Nedra Karunaratne, R. Sivakanesanc and C. Jayasekara 2013. Chemical and functional properties of fibre concentrates obtained from byproducts of coconut kernel. Food Chemistry 141: 124-130.

ผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่อสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของพลับฝาด *(Diospyros kaki)*

The Effect of Fruit Harvesting Stages on the Phytochemical Compounds and Bioactivities of Astringent Persimmons *(Diospyros kaki)*

ลลิตา คชารัตน์[1] อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ[1*] ประภัสสร รักถาวร[1] เกสรี กลิ่นสุคนธ์[1] และ วีระศรี เมฆตรง[2]

Lalita Khacharat[1], Udomlak Sukatta[1*], Prapasson Rukthaworn[1], Ketsaree Klinsuknon[1] and Weerasri Mektrong[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดปริมาณสารพฤกษเคมี การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ในสารสกัดพลับด้วยตัวทำละลาย 70 % เอทานอลจากเปลือกและเนื้อผลของพลับพันธุ์ซิชู และหงเหม่ยที่ระยะการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 2, 3, 4 และ 5 เดือน หลังดอกติดผล พบว่า สารสกัดจากเปลือกมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด สารแทนนิน และสารฟลาโวนอยด์ สูงกว่าในเนื้อผล และพลับพันธุ์ซิชู มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด สารแทนนิน และสารฟลาโวนอยด์สูงกว่า พันธุ์หงเหม่ย ในการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH , ABTS และ FRAP พบว่า สารสกัดพลับฝาดพันธุ์ซิชู และ หงเหม่ยที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี สารสกัดจากส่วนเนื้อผลของพลับพันธุ์ซิชูเก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 27.218 เปอร์เซ็นต์ และ พบว่า สารสกัดจากส่วนเปลือกและเนื้อผลของพลับพันธุ์ซิชูที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุด โดยสามารถยับยั้งได้ 76.180 และ 71.297 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าพลับที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน เหมาะที่จะนำไปใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางและอาหาร

ABSTRACT

The main aim of this study was to determine phytochemical compounds, free radical scavenging, tyrosinase and α-gucosidase inhibitory activities of 70% ethanol extracts from peel and pulp of persimmon fruits varieties: Xichu and Hongmoey at different harvesting stage. Persimmon peel extract contained higher content of total phenolics, tannin and flavonoid than pulp extracts; Xichu variety contained higher content of total phenolics, tannin and flavonoid than Hongmoey variety. Free radical scavenging activities of the extracts were determined using DPPH, ABTS and FRAP assay showed that extracts from astringent persimmon fruits varieties: Xichu and Hongmoey at harvest period of 2 months after fruit set exhibited high effective radical scavenging activity. The pulp extract from Xichu harvested at 2 months after fruit set exhibited the highest tyrosinase inhibitory activity (27.218 %). Moreover, the extracts from peel and pulp of Xichu harvested at 2 months after fruit set showed excellent α-gucosidase inhibitory activity with 76.180 and 71.297 % , respectively. On the basis of the results obtained, the persimmon fruits extracts at harvest period of 2 months after fruit set could be used as active ingredient in food and cosmetic product.

Key Words: persimmon, phytochemical, anti-oxidant activities, tyrosinase inhibitory activity, alpha-glucosidase inhibition, Harvesting stags

* Corresponding author; e-mail address: aapuls@ku.ac.th

[1]สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University, Bangkok, 10900

[2]ศูนย์วิจัยระบบนิเวศเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[2]Agro-Ecological System Research Center, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, 10900

คำนำ

พลับมีถิ่นกำเนิดในประเทศจีน อยู่ในวงศ์ Ebenaceace มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Diospyros kaki* ในทางพืชสวนแบ่งพลับออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ พลับฝาด (Astringent) และพลับหวาน (Non-astringent) (โอฬาร, 2544) พลับฝาดที่นิยมปลูกในประเทศไทยได้แก่ พันธุ์ ซือโจ หรือ ซิชู หรือ พี 2 และพันธุ์หงเหม่ยหรือ พี1 ซึ่งเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ในประเทศไทยและปลูกมากที่สุดในประเทศไทย พลับพันธุ์นี้มีทั้งดอกที่เป็นเพศผู้และเพศเมีย และดอกสมบูรณ์เพศอยู่ในต้นเดียวกัน ซึ่งมีข้อดีคือเป็นแหล่งให้ละอองเกสรแก่พลับพันธุ์อื่นๆ ที่ไม่ค่อยมีดอกเพศผู้ พลับพันธุ์นี้มีคุณภาพการรับประทานผลสดไม่ดี เนื่องจากขจัดความฝาดยาก อีกทั้งกลีบเลี้ยงมักเป็นร่องเปิด ส่งผลให้เชื้อโรคเข้าทำลายง่าย ทำให้เป็นสีดำไม่น่ารับประทานและเมื่อผลสุกเต็มที่ขั้วผลจะหลุดออกได้ง่าย ไม่เป็นที่นิยมของตลาด แต่นิยมแปรรูปเป็นพลับแห้งจำหน่าย (วัชรพล, 2548)

สารที่ทำให้ผลพลับฝาด คือ แทนนินที่ละลายในน้ำได้ (Soluble tannin) โดยปกติผลพลับฝาดจะมีแทนนินอยู่ร้อยละ 0.80 – 1.94 ของน้ำหนักผล (Ito,1980) พลับฝาดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าพลับหวาน ส่วนประกอบหลักในผลพลับคือ น้ำ น้ำตาล แพคติน แทนนิน แคโรทีนอยด์ กรดแอสคอร์บิค และกรดอะมิโน โดยมีส่วนของใบทำหน้าที่สร้างอาหารแล้วส่งมาเก็บสะสมไว้ที่ผล (สุรินทร์, 2543) จากข้อมูลข้างต้นชี้ให้เห็นถึงความน่าสนใจของพลับฝาดในการศึกษาศักยภาพของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อเป็นแนวทางในการนำพลับฝาดมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารสำคัญในพลับฝาดที่ระยะการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 2, 3, 4 และ 5 เดือน หลังดอกติดผล เพื่อศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกและเนื้อผลเพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารเสริมสุขภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส รวมถึงฤทธิ์ยับยั้งแอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างพลับฝาด

1.1 การเตรียมตัวอย่างพลับฝาด

นำตัวอย่างพลับฝาด 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ซิชูและหงเหม่ย จากสถานีวิจัย ดอยปุย จังหวัดเชียงใหม่ โดยเริ่มเก็บผลตั้งแต่อายุ 2, 3, 4 และ 5 เดือน หลังดอกติดผล และแยกศึกษาระหว่างเปลือกและเนื้อผล รวม 16 ตัวอย่าง โดยนำผลพลับฝาดล้างน้ำให้สะอาดตัดขั้วทิ้ง ปอกเปลือกแยกจากเนื้อผล หั่นเป็นชิ้นบางๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบด เก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

1.2 การสกัดสารจากพลับฝาด

ทำการสกัดสารโดยนำผงพลับฝาดมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ (ในอัตราส่วน 1 ต่อ10) แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน แล้วกรองแยกด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.4) ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบสุญญากาศจะได้สารสกัดหยาบ (crude extract)

2. การวิเคราะห์สารพฤกษเคมีที่สำคัญในเปลือกและเนื้อผลพลับฝาด

2.1 วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ตามวิธีของ Wolfe *et al*. (2003) นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยแสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในสารสกัดหนัก 1 กรัม (mg GAE/g crude extract)

2.2 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Wolfe *et al*. (2003) นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของแคททิคินคำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมสมมูลของสารแคททิคินในสารสกัดหนัก 1 กรัม (mg GAE/g crude extract)

2.3 วิเคราะห์ปริมาณสารแทนนิน

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนินจากปริมาณโพลีฟีนอล ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Megat and Azrina (2012) วิเคราะห์ปริมาณสารแทนนิน จาก : Total phenolics – Non-tannin phenolics = tannin

นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก คำนวณค่าเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด (mg GAE/ crude extract)

3. การตรวจคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ทำการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH Radical Scavenging Capacity Assay) ตามวิธีของ (Zhu *et al*, 2006) โดยนำสารสกัดแต่ละความเข้มข้น 1 มิลลิลิตร เติม DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 โมล 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/VIS Spectrophotometer (Genesys 20, Thermo scientific, USA) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณเป็น % DPPH radical scavenging activity ดังสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [(A_0 - A_1)/ A_0] \times 100$$

A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

นำค่า % radical scavenging activity มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} เมื่อค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารทดสอบที่ทำให้อนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT, Vitamin C และ α-tocopherol

3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

ทำการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ (ABTS radical cation: $ABTS^{\bullet+}$) โดยดัดแปลงจาก (Re *et al*, 1999) โดยนำสารละลายของสารสกัดจำนวน 20 ไมโครลิตร เติม ABTS solution 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาทีในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรด้วยเครื่องUV/VIS Spectrophotometer นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณเป็น % $ABTS^{+\bullet}$ radical scavenging activity ดังสมการ

$$\% \, ABTS^{+\bullet} \text{ radical scavenging activity} = [(A_0 - A_1)/ A_0] \times 100$$

A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างควบคุม

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

นำค่า % $ABTS^{+\bullet}$ radical scavenging activity ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารทดสอบที่ทำให้อนุมูลอิสระ ABTS+• ลดลงร้อยละ 50 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT, Vitamin C และ α-tocopherol

3.3 การตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ทำการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ (Ferric reducing/antioxidant power assay) ตามวิธีของ (Kubola and Siriamornpun, 2008) โดยนำสารละลายของสารสกัดแต่ละชนิดจำนวน 60 ไมโครลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสาร

FRAP reagent 1,800 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 180 ไมโครลิตร ทิ้งไว้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV/VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร โดยค่าการต้านอนุมูลอิสระคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน Ferrous sulfate ($FeSo_4.7H_2O$) ในช่วง 0.10-1.00 มิลลิโมล โดยรายงานผลเป็นมิลลิโมลเหล็กเฟอรัสต่อ 1 กรัมผงพลับแห้ง (µmol of Fe (II)/1g sample) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT, Vitamin C และ α-tocopherol

4. การตรวจคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ทำการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase inhibition activity) โดยดัดแปลงวิธีการจาก (Kubo *et al*, 2000) โดยเติมโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ที่ความเข้มข้น 0.1 โมล ปริมาณ 1,800 ไมโครลิตร ผสมกับสาร L-DOPA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล 1,000 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารสกัด 100 ไมโครลิตร และเติมเอนไซม์ไทโรซิเนส (138 units) 100 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 10 นาที วัดปฏิกิริยาโดยวัดการเกิดสาร dopachrome โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาค่า % Tyrosinase inhibition จากสูตรคำนวณดังนี้

% Tyrosinase inhibition = [A- (B-C)]/A * 100

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมสารทดสอบ)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ (เติมเอนไซม์ไทโรซิเนส)

C = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ (ไม่เติมเอนไซม์ไทโรซิเนส)

5. การตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ทำการตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสโดยดัดแปลงวิธีของ Kazeem *et al.* (2013) และ Feng *et al.* (2014) โดยปิเปตสารสกัด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม 0.1M Phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน เติมเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส(0.05 U/ml) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทำการผสมโดยการเขย่าเบาๆ แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 3 mM p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอด ทำการผสมโดยการเขย่าเบาๆ และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลาย 0.2 M Na_2CO_3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตรเพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นวัด *p*-nitrophenol ที่เกิดขึ้น โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาค่า % α-glucosidase inhibition จากสูตรคำนวณดังนี้

% α-glucosidase inhibition = [A- (B-C)]/A x 100

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมสารทดสอบ)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ (เติมเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส)

C = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ (ไม่เติมเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส)

6. การประเมินผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) แบบ Complete Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์สารพฤกษเคมีที่สำคัญในเปลือกและเนื้อผลพลับฝาด

ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของพลับมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิก ผลไม้ที่มีรสฝาดจะมีปริมาณฟีนอลิกมากทั้งในเปลือกและเนื้อผล (Gorinstein *et al.*,2000; Lee *et al.*, 2007) โดยปกติเปลือกผลจะมีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่าในเนื้อผล เช่น แอปเปิ้ล (Wolfe and Liu, 2003) ลูกแพร์ (Sanchez *et al.*, 2003) องุ่น (Palomino *et al.*, 2000) ซึ่งจากการศึกษาปริมาณฟีนอลิกจากเปลือกและเนื้อผลพลับพันธุ์ซิชู และหงเหม่ยที่อายุการเก็บเกี่ยว 2, 3, 4 และ 5 เดือน หลังดอกติดผล ทำการสกัดเย็นด้วยตัวทำละลายเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าพลับที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือนให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า พลับที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 3, 4 และ 5 เดือน โดยส่วนเปลือกให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเนื้อผล และพันธุ์ซิชูให้ปริมาณสูงกว่าพันธุ์หงเหม่ย จากการศึกษาจะพบว่าพันธุ์ซิชูที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน ส่วนเปลือกผลมีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดและปริมาณฟีนอลิกจะลดลงเมื่อเก็บเกี่ยวหลังดอกติดผลนานขึ้น การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารแทนนิน พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์และปริมาณสารแทนนิน ในพลับมีแนวโน้มเช่นเดียวกับปริมาณฟีนอลิก สอดคล้อง Fatemeh (2012) ที่กล่าวว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะพบในเปลือกมากกว่าเนื้อ และผลดิบมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าผลสุก (Table 1)

Table 1 The Phytochemical compositions of peel and pulp persimmon extracts at different harvesting stages.

Varieties / Harvesting stage	Total phenolic content (mg GAE/1 g crude extract)		Flavonoid content (mg CE/ g crude extract)		Tannin content (mg GAE/1 g crude extract)	
	Peel	Pulp	Peel	Pulp	Peel	Pulp
Xichu $2^{1/}$	42.248^{a}(±1.905)	24.815^{a}(±2.202)	13.577^{a}(±0.145)	6.174^{a}(±0.082)	36.633^{a}(±1.721)	19.541^{a}(±1.353)
Xichu $3^{2/}$	20.295^{c}(±0.292)	14.046^{cd}(±0.255)	8.498^{d}(±0.046)	2.597^{d}(±0.066)	17.117^{c}(±0.488)	11.395^{cd}(±0.276)
Xichu $4^{3/}$	19.644^{c}(±0.139)	15.084^{c}(±0.456)	4.193^{f}(±0.019)	2.946^{c}(±0.040)	16.107^{c}(±0.382)	12.139^{c}(±0.492)
Xichu $5^{4/}$	7.833^{e}(±0.897)	4.423^{f}(±0.160)	3.298^{g}(±0.057)	1.211^{f}(±0.031)	6.227^{e}(±0.905)	3.303^{f}(±0.169)
Hongmoey $2^{1/}$	37.311^{b}(±0.688)	21.250^{b}(±0.492)	13.055^{b}(±0.175)	6.068^{b}(±0.057)	32.986^{b}(±0.524)	16.983^{b}(±0.442)
Hongmoey $3^{2/}$	19.164^{c}(±0.260)	12.713^{d}(±0.356)	9.005^{c}(±0.230)	2.062^{e}(±0.020)	16.192^{c}(±0.075)	10.430^{d}(±0.384)
Hongmoey $4^{3/}$	13.576^{d}(±0.360)	9.068^{e}(±0.464)	5.785^{e}(±0.084)	1.169^{f}(±0.003)	10.942^{d}(±0.414)	7.543^{e}(±0.469)
Hongmoey $5^{4/}$	3.976^{f}(±0.361)	3.660^{f}(±0.011)	1.578^{h}(±0.038)	0.946^{g}(±0.011)	2.989^{f}(±0.345)	2.832^{f}(±0.006)

$^{a\text{-}h}$ Mean values followed by different superscripts within a column are significantly different using Duncan's multiple range test.($p \leq 0.05$)

$2^{1/}$ = 2 months after fruit set, $3^{2/}$ = 3 months after fruit set, $4^{3/}$ = 4 months after fruit set, $5^{4/}$ = 5 months after fruit set

2. การตรวจคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP โดยเทียบกับสารมาตรฐาน α-Tocopherol, BHT และ Vitamin C พบว่า สารสกัดจากพลับพันธุ์หงเหม่ยส่วนเปลือกที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน มีค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) น้อยที่สุด คือ 0.103 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สารสกัดจากพลับพันธุ์ซิชูส่วนเปลือกที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน มีค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) น้อยที่สุด คือ 2.605 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดจากพลับพันธุ์หงเหม่ยส่วนเปลือกที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 502.467 ไมโครโมลของ Fe(II) ต่อกรัมสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับ Wills (1984) ที่ศึกษาระยะ ของกล้วย 'Cavendish' (AAA Group) สายพันธุ์ 'Williams' พบว่าใน ระยะดิบจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า

ระยะสุก และ Andersen and Markham (2006) ที่กล่าวว่าสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีกลไกการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นและทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระให้สิ้นสุดลง (Table 2)

Table 2 Anti-oxidant activities of peel and pulp persimmon extracts at different harvesting stages.

Varieties / Harvesting stage	DPPH assay IC_{50} (mg/ml)		ABTS assay IC_{50} (mg/ml)		FRAP Value (µmol(Fe(II)/g extract)	
	Peel	Pulp	Peel	Pulp	Peel	Pulp
Xichu 2$^{1/}$	0.195±0.008^{b}	0.119±0.001^{a}	2.605±0.013^{a}	3.255±0.022^{a}	480.800±6.929^{b}	371.938±10.584^{a}
Xichu 3$^{2/}$	0.235±0.004^{c}	0.227±0.008^{c}	5.833±0.024^{c}	6.055±0.028^{b}	206.632±1.746^{d}	240.651±4.164^{c}
Xichu 4$^{3/}$	0.376±0.020^{e}	0.266±0.009^{c}	5.862±0.037^{c}	6.521±0.046^{bc}	189.493±0.873^{e}	202.097±4.365^{d}
Xichu 5$^{4/}$	0.614±0.008^{f}	0.835±0.010^{g}	14.704±0.095^{e}	30.582±1.945^{f}	67.282±3.000^{f}	37.673±0.157^{f}
Hongmoey 2$^{1/}$	0.103±0.001^{a}	0.174±0.001^{b}	2.801±0.044^{b}	4.319±0.093^{a}	502.467±16.994^{a}	323.810±12.244^{b}
Hongmoey 3$^{2/}$	0.329±0.002^{d}	0.305±0.005^{d}	5.755±0.072^{c}	7.539±0.047^{c}	232.839±3.024^{c}	193.529±13.116^{d}
Hongmoey 4$^{3/}$	0.346±0.005^{d}	0.467±0.008^{f}	6.906±0.158^{d}	10.233±0.154^{d}	182.441^{e}±3.805	143.383±3.805^{e}
Hongmoey 5$^{4/}$	1.277±0.028^{g}	1.013±0.009^{h}	32.279±0.205^{f}	27.974±0.360^{e}	44.476±2.517^{g}	46.669±1.304^{f}
BHT	0.098(±0.008)		0.455(±0.006)		1366.08(±0.007)	
α-Tocopherol	0.013(±0.001)		0.529(±0.004)		6489.53(±0.005)	
Vitamin C	0.004(±0.004)		0.186(±0.001)		9428.34(±0.004)	

$^{a-h}$ Mean values followed by different superscripts within a column are significantly different using Duncan's multiple range test.($p \leq 0.05$)

2$^{1/}$ = 2 months after fruit set, 3$^{2/}$ = 3 months after fruit set, 4$^{3/}$ = 4 months after fruit set, 5$^{4/}$ = 5 months after fruit set

3. การตรวจคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในขบวนการผลิตเมลานิน ดังนั้นการวัดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้อาจเป็นตัวบ่งชี้ว่าสารทดสอบสามารถยับยั้งการสร้างเมลานินได้ จากการศึกษาคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากพลับฝาด พบว่าสารสกัดจากพลับมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยพลับพันธุ์ซิชูส่วนของเนื้อผลที่เก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือนมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุด เท่ากับ 27.218 เปอร์เซ็นต์ (Table 3)

4. การตรวจคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

เอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ซึ่งอยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้จะทำหน้าที่ย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ภายหลังการรับประทานอาหาร (Johnston, 1994) การลดปริมาณน้ำตาลในเลือด โดยการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส เป็นกลไกหนึ่งที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน จากการนำสารสกัดจากเปลือกและเนื้อพลับพันธุ์ซิชู และหงเหม่ย ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกันไปตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดโดยตรวจวัดกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสนั้น พบว่าสารสกัดจากพลับทุกตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีความฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส และพบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สารสกัดจากส่วนเปลือกและเนื้อของพลับพันธุ์ซิชูที่อายุการเก็บ 2 เดือน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุด โดยที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งได้ 76.180 และ 71.297 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Acarbose ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม แอลฟา-กลูโคซิเดส ได้ 79.83 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่สารสกัดจากเปลือกและเนื้อผลของพลับพันธุ์หงเหม่ยที่อายุการเก็บ 2 เดือน และพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากพลับมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่ออายุการเก็บเกี่ยวหลังดอกติดผลเพิ่มขึ้น (Table 3)

Table 3 The percentage of tyrosinase inhibition and α-Glucosidase inhibition of pulp and peel persimmon extracts at different harvesting stages

Varieties / Harvesting stage	Tyrosinase inhibition (%)		α-Glucosidase inhibition (%)*	
	Peel	Pulp	Peel	Pulp
Xichu 2 months after fruit set	16.434±1.295 ^{a}	27.218±1.703 ^{a}	76.180±3.056 ^{a}	71.297±0.855 ^{a}
Xichu 3 months after fruit set	14.238±1.626 ^{a}	11.274±0.987 ^{c}	33.205±1.145 ^{d}	13.784±0.810 ^{d}
Xichu 4 months after fruit set	14.438±2.480 ^{a}	21.281±0.811 ^{b}	45.749±3.940 ^{c}	37.363±2.091 ^{c}
Xichu 5 months after fruit set	8.715±2.106 ^{b}	10.607±0.899 ^{c}	2.251±0.001 ^{g}	1.233±0.001 ^{e}
Hongmoey 2 months after fruit set	13.706±0.458 ^{a}	17.145±1.003 ^{b}	49.942±2.522 ^{b}	41.650±1.494 ^{b}
Hongmoey 3 months after fruit set	14.504±0.306 ^{a}	20.881±1.529 ^{b}	27.596±2.222 ^{e}	11.797±0.001 ^{d}
Hongmoey 4 months after fruit set	11.709±0.305 ^{ab}	9.473±1.816 ^{c}	22.002±2.544 ^{f}	14.303±2.542 ^{d}
Hongmoey 5 months after fruit set	8.016±0.582 ^{b}	9.200±1.728 ^{c}	1.108±1.590 ^{g}	1.108±0.001 ^{e}
Acarbose	-		79.83 ± 0.47	

$^{a-c}$ Mean values followed by different superscripts within a column are significantly different using Duncan's multiple range test.($p \leq 0.05$)

* Sample were tested at the concentration of 20 mg/ml.

สรุป

สารสกัดพลับที่อายุการเก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือนทั้งพันธุ์ซิชูและหงเหม่ยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนินด้วย และเมื่ออายุการเก็บเกี่ยวหลังดอกติดผลเพิ่มขึ้น (หลังติดดอก 3, 4 และ 5 เดือน) ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส รวมถึงปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนินจะลดลง แสดงว่าสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนินจะสะสมในระยะที่พลับดิบและลดลงเมื่อสุกงอม ซึ่งปกติพลับฝาด เมื่อผลแก่ยังคงมีรสฝาดและความฝาดจะหายไปเมื่อผลสุกงอม ทำให้มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่ออายุการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพลับฝาด พบว่าพลับที่อายุการเก็บเกี่ยวหลังดอกติดผล 2 เดือน มีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอาหารได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

วัชรพล เสถียรคช. 2548. **การเข้ากันได้และการเจริญเติบโตในระยะแรกของพันธุ์** "Fuyu" **บนต้นตอเพาะเมล็ดชนิดต่าง ๆ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรินทร์ นิลสำราญจิต. 2543. **เอกสารคำสอนวิชา 359945ไม้ผลเขตหนาว**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โอฬาร ตัณฑวิรุฬห์. 2544. **การผลิตพลับในประเทศไทย.** สถาบันค้นคว้าและพัฒนาระบบเกษตรในเขตวิกฤต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. โรงพิมพ์ชนารักษ์. กรุงเทพฯ. 35 หน้า.

Andersen, M.Q. and Markham, R.K. 2006. Flavonoids Chemistry, **Biochemistry and Applications**. Florida: CRC Press Taylor and Francis Group.

FAO. 2003. FAOSTAT statistics database agriculture. Rome. Fatemeh, S.R., Saifullah, R., Abbas, F.M.A. and Azhar, M.E., 2012. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of banana pulp and peel flours: influence of variety and stage of ripeness. **International Food Research Journal** 19: 1041-1046.

Feng, J., , X. YangW. and R. F., Wang (2011). Bio-assay guided isolation and identification of α-glucosidase inhibitors from the leaves of Aquilaria sinensis. **Phytochemistry**. 72, 242–247.

Gorinstein, S., Kulasek, G.W., Bartnikowska, E., Leontowicz, M., Zemser, M., Morawiec, M., Trakhtenberg, S., 2000. The effects of diets, supplemented with either whole persimmon or phenol-free persimmon, on rats fed cholesterol. **Food Chem**. 70, 303–308.

Ito, S. 1980. **In Tropical and Subtropical Fruit; composition, properties and uses**: AVI Publishing, Inc.

Kazeem, M. I., J. O. Adamson, and I. A. Ogunwande. 2013. Modes of inhibition of α-amylase and α-glucosidase by aqueous extract of Morinda lucida Benth leaf. **BioMed Research International**. Volume 2013 Article ID 527570, 6 pages. doi:10.1155/2013/527570.

Kubola, J. and Siriamornpun, S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (Momordica charantia L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. **Food Chemistry**. 110: 881–890.

Lee, Y.A., Cho, E.J., Tanaka, T., Yokozawa, T., 2007. Inhibitory activities of proanthocyanidins from persimmon against oxidative stress and digestive enzymes related to diabetes. J. Nutr. **Sci. Vitaminol.** 53, 287–292.

Megat Rusydi, M.R. and Azrina, A. 2012. Effect of germination on total phenolic, tannin and phytic acid contents in soy bean and peanut. **International Food Research Journal**. 19: 673-677.

Palomino, O., Gomez-Serranillos, M.P., Slowing, K., Carretero, E., Villar, A., 2000.Study of polyphenols in grape berries by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. **Chromatogr**. A 870, 449–451.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine.** 26: 1231-1237.

Sanchez, A.C.G., Gil-Izquierdo, A., Gil, M.I., 2003. Comparative study of six pear cultivars in terms of their phenolic and vitamin C contents and antioxidant capacity.J. Sci. **Food Agric.** 83, 995–1003.

Wolfe, K., X. Wu and R. H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 51: 609-614.

Wills, R.B.H. 1984. Changes in chemical composition of “Cavendish” banana (Musa acuminata) during ripening. **Journal of Food Biochemistry** 8: 69 - 77.

Zhu, K., H. Zhou, H. Qian. 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. **Process Biochemistry.** 41:1296–1302.

ปริมาณที่เหมาะสมของข้าวไรซ์เบอร์รี่ เห็ด และความชื้นสำหรับส่วนผสมหลักในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปผลิตด้วยกระบวนการเอ็กซ์ทรูชั่น

The Optimal amount of Riceberry Rice, Mushroom and Feed Moisture for the Main Ingredients in Instant Porridge Using Extrusion Process

ทศพล ลิมศรีเพชร[1] กมลวรรณ แจ้งชัด[1*] อนุวัตร แจ้งชัด[1] และ จุฬาลักษณ์ จารุนุช[2]

Thotsaphol Limsriphet[1], Kamolwan Jangchud[1*], Anuvat Jangchud[1] and Chulaluck charunuch[2]

บทคัดย่อ

ข้าว เป็นส่วนผสมหลักในผลิตภัณฑ์โจ๊ก และมีการเติมผัก หรือเนื้อสัตว์เพื่อช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหาร โดยเห็ด เป็นอีกวัตถุดิบหนึ่งที่ให้โปรตีน และใยอาหาร งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยใช้ปริมาณเห็ดนางฟ้าร้อยละ 0, 10, 20 และ 30 ทดแทนในแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ และความชื้นของส่วนผสมร้อยละ 14, 16 และ 18 สำหรับศึกษาการผลิตเป็นเอ็กซ์ทรูเดต ก่อนจะนำมาบด และนำไปเตรียมตัวอย่างเป็นโจ๊ก เพื่อวิเคราะห์ความแน่นเนื้อ ความคงตัว และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มเห็ดนางฟ้าทำให้ความแน่นเนื้อ ความคงตัว คะแนนความชอบด้านสี กลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ดลดลง ขณะที่การเพิ่มความชื้นของส่วนผสมทำให้ความแน่นเนื้อ และความคงตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่คุณภาพทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่า R^2 ของค่าความแน่นเนื้อ ความคงตัว กลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ด คือ 0.853, 0.937, 0.786 และ 0.879 ตามลำดับ และสภาวะเหมาะสมสำหรับการผลิต คือปริมาณเห็ดร้อยละ 10–15 และความชื้นของส่วนผสมร้อยละ 14–16

ABSTRACT

Rice is the main ingredient in porridge. Vegetable or meat can be added to improve nutrition. Mushroom is one of raw materials providing protein and fiber. The objective of this research was to optimize the condition for instant nutritious porridge production. The pleurotus sajor-caju mushroom contents at 0, 10, 20 and 30% were replaced in the riceberry rice mixture and feed moisture contents at 14, 16 and 18% were studied to produce extrudate. The obtained extrudate were crushed and prepared as a porridge. The porridge samples were analyzed the firmness, consistency and sensory evaluation. The result showed that the addition of pleurotus sajor-caju mushroom levels decreased the firmness consistency liking score of color mushroom aroma and mushroom flavor. The addition of feed moisture content decreased the firmness and consistency but no significant effect was found in sensory evaluation. R^2 values of firmness, consistency and liking score of mushroom aroma and mushroom flavor were 0.853, 0.937, 0.786 and 0.879, respectively. The optimum conditions to produce extrudate were 10–15% mushroom content and 14–16% feed moisture content.

Key Words: Rice porridge, Riceberry rice, Pleurotus sajor-caju mushroom, Extrusion

[*]Corresponding author; e-mail address: fagikwj@ku.ac.th

[1]ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Product Development, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

[2]สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Bangkok, 10900

คำนำ

โจ๊ก เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีข้าวเป็นส่วนผสมหลัก เป็นอาหารที่รับประทานได้ง่าย เหมาะสมกับผู้บริโภคทุกเพศ ทุกวัย รวมถึงผู้ป่วยก็สามารถรับประทานโจ๊กเป็นอาหารในช่วงพักฟื้นได้เป็นอย่างดี เนื่องจากทานได้ง่ายคล่องคอ และไม่อืดท้อง (ต้องตา, 2548) โดยอาจมีการเติมเนื้อสัตว์ หรือผักชนิดต่างๆ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และทำให้ดูน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น การนำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งเป็นข้าวที่กำลังเป็นที่นิยม และได้รับการสนับสนุนให้แปรรูปไปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น มีสารต้านอนุมูลอิสระ และยังเป็นแหล่งของ แกมม่าโอรีซานอล ไนอาซิน ไทอะมิน วิตามิน บี2 แอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิก (ปัจจยา และคณะ, 2556) อีกทั้งยังมีสีม่วง และกลิ่นหอมเฉพาะตัวชวนรับประทาน ซึ่งข้าวที่มีสี เช่น ข้าวหอมนิล ข้าวมันปู ข้าวไรซ์เบอรี่ และข้าวเหนียวดำ มีสารแอนโทไซยานิน ที่มีคุณประโยชน์ต่อร่างกายมากกว่าข้าวขาว (พัชราภรณ์ และคณะ, 2556) จึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่คุณค่าทางโภชนาการ มีสี หรือกลิ่นที่น่ารับประทานมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังได้เพิ่มเห็ดนางฟ้าลงในส่วนผสมหลัก เพื่อช่วยปรับปรุงคุณภาพให้ดียิ่งขึ้น

เห็ด เป็นวัตถุดิบที่มีกรดอะมิโนชนิดกลูตามิกสูง และยังมีสารกัวไนเลต (สารในกลุ่มไรโบนิวคลีโอไทด์) ที่จะช่วยในการเกิดรสชาติอร่อยโดยธรรมชาติ (เนตรนภิส, 2549) นอกจากนี้เห็ดยังมีปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโนที่สำคัญอื่นๆ อยู่มาก (Garcha *et al.*, 1993) ในบางประเทศ เช่น จีน ญี่ปุ่น และเกาหลี มีการใช้เห็ดในการประกอบอาหาร และทางการแพทย์ โดยเห็ดมีพอลิแซ็คคาไรด์ซึ่งมีคุณสมบัติเด่นทางเภสัชวิทยาช่วยด้านระบบภูมิคุ้มกัน และการยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (Vincent, 2008) นอกจากนี้เห็ดยังมีศักยภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลในเห็ด สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันได้ (Chueng, 2008) เห็ดจึงเป็นวัตถุดิบที่สามารถนำมาเป็นส่วนผสมในโจ๊ก เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการได้ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีน และเส้นใยในเห็ด รวมถึงเป็นการเพิ่มคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสให้กับผลิตภัณฑ์ด้วย นอกจากนี้ ชีรีน (2557) พบว่า การเพิ่มปริมาณเห็ดนางรมทอง ทำให้ปริมาณแป้งในวัตถุดิบลดลง อัตราการพองตัวของเอ็กซ์ทรูเดตจึงลดลง และมีความแข็ง และความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น ด้วยเหตุนี้จะทำให้การละลาย และการดูดซึมน้ำของเอ็กซ์ทรูเดตลดลง ซึ่งจะส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์โจ๊กได้

นอกจากนี้กรรมวิธีการผลิตยังมีส่วนสำคัญที่จะช่วยปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้ ซึ่งกระบวนการเอ็กซ์ทรูชั่น เป็นกระบวนการหนึ่งที่ใช้อุณหภูมิสูงในระยะเวลาสั้นในการผลิต โดยวัตถุดิบจะถูกแรงเฉือนจากสกรู ความร้อนจากบาเรล วัตถุดิบจะได้รับความร้อนจนถึงจุดหลอมละลาย และเคลื่อนที่ภายใต้ความดันสูงผ่านหน้าได ทำให้เกิดการพองตัว และรูปร่างตามลักษณะของหน้าได (Moscicki and Zuilichem, 2011) โดยผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะพองกรอบ เมื่อนำมาบดจะมีการละลาย การดูดน้ำ และลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี Pelembe (2002) ได้ศึกษาการผลิตโจ๊กข้าวฟ่างกึ่งสำเร็จรูปด้วยกระบวนการเอ็กซ์ทรูชั่น และได้โจ๊กที่มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์โจ๊กในท้องตลาด ดังนั้น การพัฒนาโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่มีส่วนผสมของข้าวไรซ์เบอร์รี่ และเห็ด จึงเป็นวิธีการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้แก่ผลิตภัณฑ์อีกทางหนึ่งวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษา ปริมาณเห็ด ปริมาณข้าวไรซ์เบอร์รี่ และสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเอกซ์ทรูเดต ที่จะนำไปใช้เป็นส่วนผสมหลักในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำข้าวไรซ์เบอร์รี่จากกลุ่มนาแปลงใหญ่โนนกระสัง บ้านโนนกระสัง จังหวัดนครราชสีมาเตรียมโดยนำข้าวไรซ์เบอร์รี่มาบดด้วยเครื่อง Fitz mill รุ่น M5, The Fitzpatrick Company, สหรัฐอเมริกา ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 60 เมช เห็ดนางฟ้า (Pleurotus sajor-caju mushroom) จากฟาร์มเห็ดในพื้นที่จังหวัดราชบุรี เตรียมโดยนำเห็ดนางฟ้ามาล้างทำความสะอาด ตัดให้มีความยาวประมาณ 2 × 1 นิ้ว ผึ่งให้หมาดที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนรุ่น FD115 บริษัท ไซแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด, ประเทศไทย ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาบดละเอียดด้วยเครื่อง Fitz mill ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 60 เมช

2. ศึกษาผลของปริมาณข้าวไรซ์เบอร์รี่ เห็ดนางฟ้า และความชื้นของส่วนผสมต่อคุณภาพเอ็กซ์ทรูเดต

จัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล ในแผนการสุ่มแบบสมบูรณ์ CRD (Completely Randomized Design) โดยศึกษา 2 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณเห็ดนางฟ้าที่ร้อยละ 0, 10, 20 และ 30 และปริมาณความชื้นของส่วนผสมร้อยละ 14, 16 และ 18 แปรรูปด้วยเครื่องเอ็กซ์ทรูเดอร์ชนิดสกรูคู่หมุนไปทางเดียวกัน (รุ่น ZE 25x33D, Hermann Berstorff Laboratory, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) โดยกำหนดอุณหภูมิทั้งหมด 8 โซน จากส่วนป้อนวัตถุดิบไปยังส่วนของหน้าได ดังนี้ 30, 45, 55, 120, 130, 140, 130 และ 120 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ความเร็วรอบของสกรูเท่ากับ 350 รอบต่อนาที และอัตราการป้อนวัตถุดิบเท่ากับ 7 ± 1 กิโลกรัมต่อชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ

3. การวิเคราะห์คุณภาพ

3.1 การเตรียมตัวอย่างเอ็กซ์ทรูเดตสำหรับวิเคราะห์คุณภาพ

ทำการบดตัวอย่างด้วยเครื่องบดอัดแบบลูกกลิ้งคู่ (Roller mill, บริษัท เวลเดอร์ แอนด์ โกลด์ เอ็นจิเนียริ่ง จำกัด) ให้มีขนาดอย่างน้อย 2 ขนาด คือ ต่ำกว่า 20 และ สูงกว่า 20 เมช แล้วจึงนำตัวอย่างในแต่ละขนาดมาผสมกันในอัตราส่วน 3 : 1 และนำตัวอย่างเอ็กซ์ทรูเดตที่บดได้ มาผสมน้ำร้อนอุณหภูมิ 90 ± 3 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนระหว่างฟลาวเอกซ์ทรูเดต และน้ำร้อนเท่ากับ 1 : 5 คนผสมให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 2 นาที จนตัวอย่างมีอุณหภูมิประมาณ 52 ± 2 องศาเซลเซียส คนอีกครั้งจึงได้ตัวอย่างที่มีลักษณะเหมือนโจ๊ก ในงานวิจัยนี้เรียกว่า Extrudate paste ก่อนจะนำไปวิเคราะห์คุณภาพ

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพ

1) การวิเคราะห์ความแน่นเนื้อ วิธีวิเคราะห์ค่าความแน่นเนื้อดัดแปลงจาก Pelembe *et al.* (2002) นำตัวอย่างที่เตรียมดังข้อ 2.1 มาวัดความแน่นเนื้อด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer รุ่น TA.XT. plus, Stable Micro Systems Texture Analyser, สหราชอาณาจักร) โดยใช้หัววัดทรงกระบอก (SMS P/36R) และถ้วยใส่ตัวอย่างทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตร สูง 75 มิลลิเมตร ใส่ตัวอย่างปริมาณ 50 มิลลิลิตร หัววัดเคลื่อนที่ลงด้วยความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที และมีระยะกดลงในตัวอย่าง 8 มิลลิเมตร ของปริมาณตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ วิเคราะห์จำนวน 5 ซ้ำ

2) การวิเคราะห์ความคงตัว วิธีวิเคราะห์ความคงตัว ดัดแปลงจาก Black *et al.* (2009) นำตัวอย่างที่เตรียมดังข้อ 2.1 มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Bostwick Consistometer (CSC Scientific Company, Inc.,

สหรัฐอเมริกา) บรรจุตัวอย่างจนเต็มช่องใส่ตัวอย่าง เริ่มจับเวลา 30 วินาทีทันทีที่ดึงสลักกั้นประตูออก ทำการอ่านค่าระยะทางที่ตัวอย่างเคลื่อนที่ไปได้ในหน่วยเซนติเมตรเมื่อครบเวลาที่กำหนด วิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ

3) การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 – point hedonic scale ทางคุณลักษณะต่างๆ เตรียมตัวอย่างดังข้อ 2.1 ก่อนให้ผู้ทดสอบทำการทดสอบตัวอย่าง และประเมินโดยผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface methodology) โดยใช้แบบจำลองอันดับที่ 2 ($Y=B_0+B_1x_1+B_2x_2+B_3x_1x_2+B_4x_1^2+B_5x_2^2$) ด้วยโปรแกรม SPSS v.12.0 และโปรแกรม Statisticav.7 ในการสร้างแผนภาพแบบคอนทัวร์ (Contour plot)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของปริมาณข้าวไรซ์เบอร์รี่ เห็ดนางฟ้า และความชื้นของส่วนผสมต่อคุณภาพของเอ็กซ์ทรูเดต

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพด้านความแน่นเนื้อ และความคงตัว (Table 1) พบว่า การเพิ่มปริมาณเห็ดนางฟ้าส่งผลให้ค่าความแน่นเนื้อ และความคงตัวลดลง ขณะที่การเพิ่มปริมาณความชื้นของส่วนผสมส่งผลให้ค่าความแน่นเนื้อ และค่าความคงตัวมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย โดยความแน่นเนื้อ และระยะทางที่ตัวอย่างสามารถไหลไปได้มีค่าอยู่ในช่วง 18.52 – 34.02 กรัมเซนติเมตร และ 5.83 – 15.45 เซนติเมตร ตามลำดับ ค่าความคงตัวสามารถวิเคราะห์ได้จากระยะทางที่ตัวอย่างเคลื่อนที่ไปได้ ซึ่งการมีระยะทางที่เคลื่อนที่ไปได้ไกลมากขึ้น แสดงถึงการมีค่าความคงตัวต่ำลง ขณะที่การมีระยะทางที่เคลื่อนที่ไปได้สั้นลง แสดงได้ถึงการมีค่าความคงตัวสูงขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มปริมาณเห็ดนางฟ้าทำให้เป็นการเพิ่มปริมาณใยอาหารในส่วนผสม เช่น ไคทิน และ เบต้ากลูแคน ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่พบได้ในเห็ด (Singdevsachan, 2016) ส่งผลให้การดูดน้ำของแป้งลดลง เนื่องจากใยอาหารเข้าไปแย่งดูดน้ำจากส่วนประกอบของแป้ง ทำให้ความแน่นเนื้อและความคงตัวลดลงด้วย สอดคล้องกับ Gandh and Singh (2015) ที่ได้ศึกษาผลของกระบวนการเอ็กซ์ทรูชั่นต่อคุณภาพของโจ๊กที่มีส่วนผสมของข้าวสาลีและฝรั่ง พบว่าการเพิ่มปริมาณเนื้อฝรั่งส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่าการดูดน้ำลดลง เนื่องจากเมื่อมีปริมาณเนื้อฝรั่งเพิ่มขึ้นใยอาหารจากฝรั่งจะเข้าไปแย่งจับกับน้ำจากส่วนประกอบที่เป็นแป้ง

และการเพิ่มความชื้นของส่วนผสมจากร้อยละ 14 ถึง 18 ทำให้ความแน่นเนื้อ และความคงตัวลดลง อาจเกิดจากการเพิ่มความชื้นทำให้ตัวอย่างมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการละลายลดลง ตัวอย่างจึงมีความแน่นเนื้อ และความคงตัวลดลงด้วย โดย ชีรีน (2557) พบว่า เมื่อปริมาณความชื้นของวัตถุดิบเพิ่มขึ้น อัตราการพองตัวของเอ็กซ์ทรูเดตจากข้าวผสมเห็ดนางรมทองลดลงทำให้ความหนาแน่นเพิ่มขึ้น จากการที่วัตถุดิบมีความชื้นสูงขึ้น รวมถึงทำให้ผนังโครงสร้างของโพรงอากาศหนาขึ้น ซึ่งอาจทำให้ยากต่อการละลาย ขณะที่ตัวอย่างที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 14 (ปริมาณความชื้นต่ำสุดที่ศึกษา) และไม่มีเห็ดนางฟ้า พบว่าตัวอย่างมีค่าความแน่นเนื้อต่ำ และความคงตัวสูง ซึ่งให้ผลการทดลองที่ไม่สอดคล้องกับตัวอย่างที่ระดับความชื้นอื่นๆ น่าจะเป็นผลมาจากการลดปริมาณความชื้นทำให้ความหนืดของส่วนผสมของโดในเครื่องเพิ่มขึ้น ส่งผลให้แรงเสียดทานที่เกิดขึ้นระหว่างแป้ง และสกรูเพิ่มขึ้น ดังนั้นส่วนผสมที่ใช้ความชื้นต่ำในการผลิต จึงเกิดการเดกซ์ทริไนเซชั่นของแป้งมากกว่าส่วนผสมที่ใช้ความชื้นสูงกว่า โดยพลังงานกลทำให้โมเลกุลของแป้งมีสายสั้นลง และสามารถละลายน้ำได้ดี (Forte and Yang, 2016 ; Riaz, 2000)

Table 1 Physical properties and sensory properties of extrudate paste.

FM (%)	MC (%)	Firmness (g·cm)	Bostwick flow (cm)	Sensory properties			
				Color liking	Appearance	Mushroom aroma	Mushroom flavor
14	0	26.06±1.20^{e}	6.66±0.58^{h}	6.0±1.4^{ab}	6.3±1.7^{ab}	6.1±1.5^{ab}	5.8±1.9^{ab}
	10	34.02±1.85^{a}	6.00±0.58^{hi}	5.5±1.5^{bcd}	5.6±1.3^{ab}	5.3±1.3^{bc}	5.2±1.4^{bc}
	20	26.13±1.58^{e}	7.77±0.36^{g}	5.0±1.6^{cde}	5.7±1.6^{ab}	5.5±1.4^{bc}	5.3±1.8^{bc}
	30	19.30±0.58^{g}	11.46±0.23^{d}	4.5±1.9^{e}	5.8±1.8^{ab}	5.4±1.7^{bc}	4.8±1.9^{cd}
16	0	33.25±1.38^{ab}	5.83±0.50^{i}	6.5±1.7^{a}	6.3±1.3^{a}	6.4±1.2^{a}	6.2±1.5^{a}
	10	32.13±1.27^{b}	5.94±0.31^{hi}	6.0±1.3^{ab}	6.0±1.2^{ab}	5.9±1.3^{abc}	5.8±1.3^{ab}
	20	24.98±1.02^{e}	8.48±0.30^{f}	5.4±1.5^{bcd}	5.8±1.2^{ab}	5.6±1.4^{bc}	5.3±1.8^{bc}
	30	18.52±0.34^{g}	12.64±0.27^{c}	4.4±1.7^{e}	5.5±1.7^{ab}	5.2±1.7^{c}	4.2±1.8^{d}
18	0	30.58±1.16^{c}	6.33±0.50^{hi}	6.4±1.6^{a}	6.0±1.3^{a}	5.8±1.5^{abc}	6.0±1.2^{ab}
	10	28.22±0.25^{d}	10.67±0.50^{e}	5.8±1.3^{ab}	5.5±1.5^{b}	5.8±1.2^{abc}	5.4±1.6^{abc}
	20	23.65±0.76^{f}	14.00±0.58^{b}	5.6±1.3^{abc}	5.8±1.1^{ab}	5.5±1.6^{bc}	5.3±1.9^{bc}
	30	18.99±0.77^{g}	15.45±0.52^{a}	4.8±1.6^{de}	5.6±1.3^{ab}	5.3±1.3^{bc}	4.6±1.6^{cd}

a – i Means within the same column with different letter are significantly different ($p \leq 0.05$).

FM and MC are feed moisture and mushroom content of ingredient.

คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9 – point hedonic scale ด้านความชอบด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ดแสดงใน Table 1 พบว่า การเพิ่มปริมาณเห็ดนางฟ้าทำให้คะแนนความชอบด้านสี กลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ดลดลง ขณะที่การเพิ่มปริมาณความชื้นไม่มีอิทธิพลต่อคะแนนความชอบในทุกๆ ด้านอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยเห็ดนางฟ้าอบแห้งที่ใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นมีสีเหลืองอ่อน และมีกลิ่นรสเฉพาะตัว การเพิ่มปริมาณเห็ดนางฟ้าจึงทำให้ตัวอย่างมีสีเหลือง และกลิ่นเห็ดสูงขึ้นอีกทั้งยังทำให้เกิดรสขม ซึ่งน่าจะเป็นผลจากกรดอะมิโนบางชนิดภายในเห็ดนางฟ้า โดยเมื่อเพิ่มปริมาณเห็ดนางฟ้า ส่งผลให้ปริมาณกรดอะมิโนในส่วนผสมสูงขึ้น Chueng (2008) รายงานว่า รสขมในเห็ดเกิดจากมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่มีรสขม เช่น อาร์จีนีน ลิวซีน เมไทโอนีน ฟีนิลอะลานิน ทริปโตเฟน และ วาลีน อยู่ในปริมาณสูง จึงอาจทำให้คะแนนความชอบในด้านความชอบด้านสี กลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ดลดลง ซึ่งตัวอย่างที่มีคะแนนความชอบเฉลี่ยในทุกๆ ด้านสูงสุดคือตัวอย่างที่ใช้ปริมาณความชื้นร้อยละ 16 และไม่มีการเพิ่มเห็ดนางฟ้า แต่จากวัตถุประสงค์ของการศึกษา เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมเห็ดนางฟ้า จึงพิจารณาตัวอย่างที่มีส่วนผสมของเห็ดนางฟ้าร้อยละ 10, 20 และ 30 และพิจารณาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่มีอิทธิพลต่อผลิตภัณฑ์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตในหัวข้อถัดไป

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตด้วยกระบวนการเอ็กซ์ทรูชั่น

พิจารณาจากค่าความแน่นเนื้อ และความคงตัว เพราะเป็นคุณภาพที่สำคัญของโจ๊ก ความชอบด้านสีและลักษณะปรากฏ ไม่ถูกนำมาพิจารณา เนื่องจากความชอบด้านสีสามารถปรับปรุงได้ จากการผสมวัตถุดิบต่างๆ สำหรับความชอบด้านลักษณะปรากฏ พบว่า มีคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จึงเลือกคะแนนความชอบด้านกลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ด มาวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมเนื่องจากการเพิ่มปริมาณเห็ดมีผลต่อคะแนนความชอบด้านกลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ด

จากการวิเคราะห์แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ลำดับที่ 2 ($Z_i = B_0 + B_1X + B_2Y + B_3X*Y + B_4X^2 + B_5Y^2$) และแผนภาพแบบคอนทัวร์ (Contour plot) โดย Z_i คือ ค่าคุณภาพที่ได้ศึกษา X คือ ปริมาณเห็ดนางฟ้า และ Y คือ ปริมาณความชื้นของส่วนผสมดังแสดงใน Figure 1 พบว่า แบบจำลองอธิบายความแปรปรวนที่เกิดขึ้นได้ โดยค่า R^2 ของความแน่นเนื้อ ความคงตัว กลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ด คือ 0.853, 0.937, 0.786 และ 0.879 ตามลำดับ โดยมีสมการความสัมพันธ์แสดงใน Table 2 การพิจารณาคัดเลือกพื้นที่ที่เหมาะสม จากค่าความแน่นเนื้อ และความคงตัว ต้องมีค่าอยู่ระหว่างช่วงของผลิตภัณฑ์ในเชิงการค้าซึ่งวัดค่าจาก 3 ยี่ห้อ มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 21.99–30.44 กรัมเซนติเมตร และ 7.31–9.37 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับความชอบด้านกลิ่นเห็ดและกลิ่นรสเห็ด เนื่องจากวัตถุประสงค์ต้องการพัฒนาโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ และเห็ดนางฟ้า เพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหาร และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่การเพิ่มปริมาณเห็ดสูงไปอาจทำให้เกิดรสขมในผลิตภัณฑ์ได้ จึงกำหนดให้คะแนนความชอบในด้านกลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ดตั้งแต่ 5.5 คะแนน และพิจารณาปริมาณเห็ดนางฟ้าเฉพาะในส่วนที่มากกว่า หรือเท่ากับร้อยละ 10 เนื่องจากเป็นปริมาณเห็ดต่ำสุดที่ทำการศึกษา และยังทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้นจากตัวอย่างที่ไม่มีเห็ดนางฟ้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ข้อมูลไม่ได้แสดง) ซึ่งมีส่วนช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้น

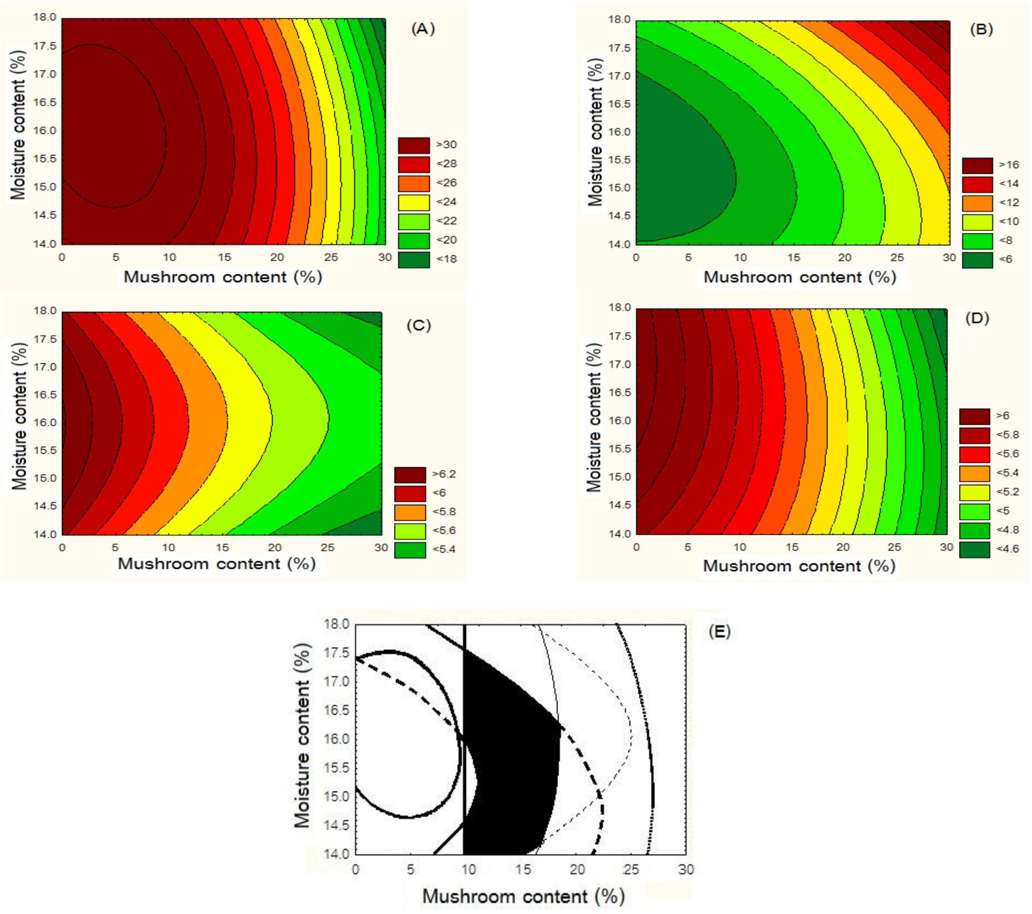


Figure 1 Contour plot for firmness (A), bostwick flow (B), mushroom aroma liking (C), mushroom flavor liking (D) and optimum areas (E) of extrudate paste.

จากการศึกษา พบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต คือ มีปริมาณความชื้นของส่วนผสมระหว่างร้อยละ 14–16 และปริมาณเห็ดนางฟ้าระหว่างร้อยละ 10–15 (Figure 1) สำหรับการพัฒนาในขั้นต่อไปจะมี

การศึกษาปริมาณส่วนผสมอื่นๆ เช่น ผัก และเครื่องปรุงรส เพื่อพัฒนาเป็นโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

Table 2 The regression models for product properties

Response	Model	R^2	RMSE
Firmness	Z_1 = -47.6107+0.5853*x+9.7045*y-0.0182*x^2-0.0279*x*y-0.2981*y^2	0.853	2.01
Bostwick flow	Z_2 = 110.3252-0.5017*x-13.5225*y+0.0051*x^2+0.0363*x*y+0.434*y^2	0.937	0.85
Mushroom aroma	Z_3 = -6.3565-0.0457*x+1.5715*y+0.0005*x^2+0.0003*x*y-0.0491*y^2	0.786	0.17
Mushroom flavor	Z_4 = -1.147+0.0219*x+0.8407*y-0.0006*x^2-0.0032*x*y-0.0245*y^2	0.879	0.21

x = Sajor-caju mushroom content, y = Moisture content, z_i = Response

สรุป

จากการศึกษาผลของปริมาณข้าวไรซ์เบอร์รี่และเห็ดนางฟ้า และความชื้นของส่วนผสมต่อคุณภาพของเอ็กซ์ทรูเดต เพื่อนำไปพัฒนาเป็นส่วนผสมหลักในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป โดยใช้ปริมาณเห็ดนางฟ้าร้อยละ 0, 10, 20 และ 30 และปริมาณความชื้นของส่วนผสมร้อยละ 14 16 และ 18 พบว่า การเพิ่มเห็ดนางฟ้า ทำให้ค่าความแน่นเนื้อ ความคงตัว คะแนนความชอบด้านกลิ่นเห็ด และกลิ่นรสเห็ดลดลง และการเพิ่มปริมาณความชื้นของส่วนผสมทำให้ค่าความแน่นเนื้อ และความคงตัวลดลง จากการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต พบว่า ต้องใช้ปริมาณเห็ดนางฟ้าร้อยละ 10 – 15 และมีปริมาณความชื้นของส่วนผสมร้อยละ 14 – 16 โดยจะนำสภาวะการผลิตที่เหมาะสม ไปผลิตเอ็กซ์ทรูเดต เพื่อเป็นส่วนประกอบหลักในโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป และศึกษาการเพิ่มปริมาณผักอบแห้ง รวมถึงการปรับรสชาติ สำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนเงินทุนสำหรับการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ซีรีน อะหมะดี พีรซะหีด. 2557. **การพัฒนาขนมขบเคี้ยวจากข้าวผสมเห็ดนางรมทองและสาหร่ายเกลียวทองโดยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ต้องตา คงคาเขตร. 2548. **โจ๊ก**. บริษัท สำนักพิมพ์แม่บ้าน จำกัด, กรุงเทพฯ.

เนตรนภิส ธนนิเวศน์กุล. 2549. “เห็ดคุณค่าทางอาหาร.” **หมอชาวบ้าน**. 28 (327): 25-30.

ปัจจยา ตันติวีรสุต, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, อุทัยวรรณ สุทธิศันสนีย์, ฉัตรภา หัตถโกศล และ พร้อมลักษณ์ สมบูรณ์ปัญญากุล. 2556. ผลของการเอกซ์ทรูชันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติทางกายภาพของแป้งข้าวไรซ์เบอรี่พรีเจลาทิไนซ์. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 42 (2) (พิเศษ): 205–208.

พัชราภรณ์ รัตนธรรม, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และ อรพิน เกิดชูชื่น. 2556. สารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานินและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องสีงอก. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 44 (2) (พิเศษ): 441–444.

Black, C.T., H.F. Pahulu and M.L. Dunn. 2009. Effect of preparation method on viscosity and energy density of fortified humanitarian food-aid commodities. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. 60: 219–228.

Cheung, P.C.K. 2008. **Mushrooms as functional foods**. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.

Forte, D and G. Young. 2016. **Food and feed extrusion technology**. n.p.

Garcha, H.S., P.K. Khanna and G.L. Soni. 1993. Nutritional importance of mushrooms, P. 227–236. *In* **International conference on mushroom biology and mushroom products**. The Chinese university of Hong Kong, Hong Kong.

Gandhi, N. and B. Singh. 2015. Study of extrusion behaviour and porridgemaking characteristicsof wheat and guava blends. **Journal of Food Science and Technology**. 52 (5): 3030–3036.

Moscicki, L. and D.J. van Zuilichem. 2011. Extrusion-cooking and related technique. P. 1 – 24. *In* Moscicki, L. **Extrusion-cooking technique**. Fabulous Printers Pte Ltd, Singapore

Pelembe, L. A. M., C. Erasmus and J. R. N. Taylor. 2002. Development of a Protein-rich Composite Sorghum–Cowpea Instant Porridge by Extrusion Cooking Process. **LWT - Food Science and Technology**. 35: 120–127.

Riaz, M.N. 2000. **Extruders in food applications**.Technomic Publishing Company, Inc., Pennsylvania.

Singdevsachan, S.K., P. Auroshree, J. Mishra, B.Baliyarsingh, K.Tayung and H.Thatoi. 2016. Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunemodulating properties: A review. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**. 7: 1–14.

Vincent E.C. Ooi. 2008. Antitumor and Immunomodulatory activities of mushroom polysaccharides. *In* Cheung, P.C.K. **Mushrooms as functional foods**. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.

การสกัดสีธรรมชาติจากฝักคูนและประยุกต์ใช้ในการย้อมบนผ้าไหม

Extraction of Eco-friendly Natural Dyes from Golden Shower Pods and their Application on Silk Fabric

นวรัตน์ ชาติวิวัฒน์พรชัย[1] ณัฐนิช ดิษฐถาพร[1] ขนิษฐา วัชราภรณ์[1] นิตยา ทับทิมทัย[1] และ **ณัฐดนย์ รุ่งเรืองกิจไกร**[1*]

Nawarat Chartvivatpornchai[1], Nuttanit Ditthapon[1], Kanitta Watcharaporn[1],

Nitaya Tubtimthai[1] and **Nattadon Rungruangkijkrai**[1*]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ เป็นการวิจัยและการนำไปใช้ของฝักที่ได้จากต้นคูนเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตสีธรรมชาติ โดยเน้นการสกัดสี จะทำการศึกษาผลของความอ่อน/แก่ของฝักคูน อุณหภูมิในการสกัด เวลาในการสกัด และอัตราส่วนระหว่างน้ำกับตัวฝักคูน สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดคูนอ่อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนระหว่างพืชกับน้ำ 1:10 เป็นเวลา 60 นาที ส่วนฝักแก่ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราส่วนระหว่างพืชกับน้ำ 1:20 เป็นเวลา 60 นาที จากผลการศึกษาพบว่า ฝักแก่จะให้ปริมาณความเข้มข้นของสีดีกว่าฝักอ่อน จากนั้นนำไปย้อมบนผ้าไหม จากผลการทดลองสามารถแสดงได้ว่า ฝักแก่มีศักยภาพในการนำมาย้อมผ้าไหม

ABSTRACT

This study was to explore and utilize the fresh pods of golden shower tree pods as an upcoming raw material for the production of natural dyes. Focusing on extraction, the effect of maturity of raw material (green and ripe pods), extraction temperature, extraction time and liquor ratio to material (L:R) was investigated. The optimum dye extraction conditions for green pods i.e., the temperature, time, and material-to-liquor ratio were found to be 100 °C, 60 min, and 1: 10, respectively. For the ripe pods, the optimum dye extraction conditions found to be 100 °C, 60 min, and 1:20, respectively. As a result, the ripe pods of golden shower tree gave a better result when compared with the green pods. Then, dyeing was also carried out with the optimized dye extract on woven silk fabrics. It can also be said that ripe golden shower tree pods have good potentiality for dyeing of silk fabric.

Key Words: natural dyes, golden shower, extraction

* Corresponding author; e-mail address: nattadon.r@ku.ac.th

[1]ภาควิชาวิทยาการสิ่งทอ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Textile Science, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ปัจจุบันไม่ว่าจะเป็นเสื้อผ้า เครื่องนุ่งห่ม อุปกรณ์เครื่องใช้ต่างๆ ปริมาณการใช้สีในการผลิตสินค้ามีมากขึ้น สีจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้ผู้บริโภคสนใจสินค้า สีที่ใช้มีทั้งสีสังเคราะห์และสีธรรมชาติ โดยทั่วไปจะเห็นว่าสีสังเคราะห์เป็นสีที่นิยมใช้เป็นจำนวนมาก เนื่องจากให้ความคงทนที่ดี สามารถควบคุมเฉดสีได้ตามต้องการและอายุการใช้งานของสีสังเคราะห์สามารถเก็บรักษาได้นาน เป็นต้น แต่ในปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญกับการเลือกใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น กระแสความต้องการอนุรักษ์และสืบทอดภูมิปัญญาท้องถิ่น ปัญหาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ปัญหาความไม่ปลอดภัย และผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ปฏิบัติงานฟอกย้อม การให้ความสนใจต่อความปลอดภัยและอันตรายของสารเคมีตกค้างบนผลิตภัณฑ์สิ่งทออันเนื่องมาจากสารสังเคราะห์ เป็นสารก่อมะเร็ง เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม สลายตัวได้ยาก ทำให้มีกฎหมายควบคุมการใช้สีสิ่งทอ เช่น ห้ามจำหน่ายผลิตภัณฑ์ที่มีสีเอโซบางชนิด เพราะเป็นสารก่อมะเร็ง(เกษมบุญญากร, 2555) ตรงกันข้ามกับสีธรรมชาติที่ส่วนใหญ่จะเป็นสีที่ปลอดภัย ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของมนุษย์ ดังนั้นการเลือกใช้สีจากธรรมชาติต่างๆ จึงกลับมาได้รับความสนใจจากผู้ผลิตอีกครั้ง (Mongkholrattanasit et al., 2015)

ในการวิจัยและพัฒนาสีย้อมธรรมชาติมุ่งเน้นในการผลิตและพัฒนาสีย้อมธรรมชาติเพื่อใช้เป็นสีย้อมเชิงพาณิชย์ได้ การนำต้นคูนมาทำการสกัดสีจึงเป็นการเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์ และเป็นการตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในการเลือกซื้อสินค้าที่ใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ คูน หรือ ราชพฤกษ์ เป็นไม้ยืนต้นที่พบได้ทั่วไปในทุกจังหวัดของประเทศไทย (Chewchinda, Sithisarn, & Gritsanapan, 2014; Sakulpanich, Chewchinda, Sithisarn, & Gritsanapan, 2012) เนื่องจากเป็นไม้ประดับในพื้นที่เขตร้อนและกึ่งเขตร้อน เป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ง่ายและทนต่อสภาพอากาศได้ดี สามารถปลูกได้ทั้งในดินร่วนซุย ดินร่วนปนทรายและดินร่วนเหนียว ส่วนประกอบต่างๆของต้นคูนสามารถนำมาใช้ในการสกัดเป็นสีธรรมชาติได้แตกต่างกัน ซึ่งในการย้อมสีธรรมชาตินั้นเราสามารถนำส่วนต่างๆของต้นคูน มาใช้ย้อมบนวัสดุสิ่งทอได้ เช่น เปลือกไม้ ดอก ใบและฝัก ส่วนที่ให้สีที่ดีที่สุดนั้นคือฝักคูนเพราะเนื่องจากสกัดออกมาแล้วให้ความเข้มสีที่สูง โดยสีที่ได้จากฝักคูนจะเป็นเฉดสีออกน้ำตาล เมื่อนำไปทำการย้อม สีจะคงทนต่อแสงและการซักได้ในระดับดี (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2552) เนื่องจากต้นคูนมีปริมาณที่ค่อนข้างมาก หาได้ง่าย เป็นการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อลดการใช้สารเคมีที่ก่อให้เกิดพิษต่อร่างกาย ในเรื่องของความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงเหมาะแก่การนำมาศึกษา

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาการสกัดสีจากธรรมชาติโดยใช้ฝักคูนอ่อนและแก่ พร้อมทั้งศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมจากการกำหนดตัวแปรตาม ได้แก่ อุณหภูมิของการสกัด อัตราส่วนและระยะเวลา จากการกำหนดสภาวะที่แตกต่างกันจะทำให้สารสีที่สกัดมาได้ปริมาณสีที่แตกต่างกันด้วย ซึ่งสภาวะที่ดีที่สุดจะทำให้สารสีที่ได้ มีปริมาณสีที่เข้มข้น เหมาะแก่การนำไปใช้ต่อในกระบวนการอื่นๆ ต่อไป และศึกษาการย้อมผ้าฝ้ายด้วยสีย้อมธรรมชาติจากฝักคูน เพื่อศึกษาเปรียบเทียบแต่ละสภาวะเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการย้อมผ้าจากฝักคูณโดยให้ความสำคัญในเรื่องเวลาในการย้อมเป็นหลัก

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ผ้าไหมทอ โครงสร้างลายขัด มีจำนวนเส้นด้ายต่อนิ้ว ด้ายพุ่ง 153 เส้นต่อนิ้ว ด้ายยืน 94 เส้นต่อนิ้ว (มาตรฐานการทดสอบ ISO 7211/2:1980) น้ำหนักผ้า 67.8 กรัมต่อตารางเมตร (มาตรฐานการทดสอบ ISO 3801-1997)
2. เครื่อง UV/Vis Spectrophotometer รุ่น specord 250
3. เครื่องวัดสี spectrophotometer รุ่น Macbeth color-eye 7000
4. เครื่องย้อมขนาดห้องปฏิบัติการ ชนิด Infrared รุ่น starlet-3

วิธีการ

<u>การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฝักคูนแก่และฝักคูนอ่อน</u>

การศึกษาการทำกราฟมาตรฐานเพื่อเทียบสำหรับการสกัดสีจากฝักคูณ

สกัดฝักคูนอ่อนและฝักคูนแก่ โดยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อัตราส่วนระหว่างพืชและน้ำ (Liquor Ratio, L:R) เท่ากับ 1:20 โดยใช้ตัวทำละลายคือ น้ำกลั่น และทำการกรองเพื่อเอากากออก ให้ความร้อนต่อเพื่อให้น้ำสีระเหยเพื่อให้ได้น้ำสีสกัดที่เข้มข้น จากนั้น นำไปทำเป็นผงโดยการอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้งสนิท นำผงที่ได้มาเตรียมน้ำสี โดยกำหนดความเข้มข้น 5 ความเข้มข้น ฝักอ่อนกำหนดความเข้มข้นที่ 0.1, 0.075, 0.05, 0.025, 0.02 กรัมต่อลิตร ฝักแก่กำหนดความเข้มข้นที่ 0.3, 0.24, 0.21, 0.15, 0.12 กรัมต่อลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer บันทึกค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี ในแต่ละค่าความเข้มข้นที่กำหนดไว้ ที่ความยาวคลื่นที่มีพีคสูงสุด โดยกำหนดที่ความยาวคลื่นเดียว แล้วนำไปทำการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อเทียบสำหรับการสกัดสี ให้แกน Y เป็นค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี และแกน X เป็นค่าความเข้มข้นที่กำหนด

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

ศึกษาผลของการสกัดฝักคูนแก่และฝักคูนอ่อนในเวลาที่แตกต่างกัน เวลาที่ใช้ในการสกัดแบ่งออกเป็น 4 ช่วงเวลา คือ 30, 60, 90 และ 120 นาที โดยทำการต้มด้วยเครื่องย้อมอินฟราเรด และกำหนดอัตราส่วนพืชต่อน้ำเป็น 1:20 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จากนั้นนำน้ำสกัดที่ได้มาทำการกรองกากออกด้วยผ้ากรอง ทำการเจือจางน้ำสีและนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี ตามความยาวคลื่นของกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของสีย้อมจากกราฟมาตรฐาน (standard calibration curve)

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด

ศึกษาผลของการสกัดฝักคูนแก่และฝักคูนอ่อนในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังนี้ 30, 50, 70 และ 100 องศาเซลเซียส โดยทำการต้มในเครื่องย้อมอินฟราเรด และกำหนดอัตราส่วนพืชต่อน้ำเป็น 1:20 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำสกัดที่ได้มาทำการกรองกากออกด้วยผ้ากรอง ทำการเจือจางน้ำสีและนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี ตามความยาวคลื่นของกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของสีย้อมจากกราฟมาตรฐาน (standard calibration curve)

การศึกษาอัตราส่วนระหว่างพืชกับน้ำที่เหมาะสมในการสกัด

การศึกษาผลของการสกัดฝักคูนแก่และฝักคูนอ่อนในอัตราส่วนระหว่างพืชกับน้ำที่แตกต่างกัน สัดส่วนที่ใช้ในการสกัดแบ่งออกเป็นทั้งหมด 3 อัตราส่วน คือ 1:10, 1:20, 1:30 โดยทำการสกัดด้วยเครื่องย้อมอินฟราเรด ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำน้ำสกัดที่ได้มาทำการกรองกากออกด้วยผ้ากรอง ทำการเจือจางน้ำสีและนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี ตามความยาวคลื่นของกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของสีย้อมจากกราฟมาตรฐาน (standard calibration curve)

<u>การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย้อมผ้าไหมด้วยฝักคูน</u>

ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการย้อมผ้าไหมด้วยฝักคูน

การศึกษาผลของการย้อมฝักคูนโดยใช้ฝักคูนแก่ กำหนดความเข้มข้นสี 13.59 กรัมต่อลิตร ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ช่วงเวลาที่ใช้ในการย้อมคือ 5, 10, 15, 30, 45, 60 และ 90 นาที ทำการเตรียมผ้าไหมหนัก 2 กรัม ที่อัตราส่วนพืชต่อน้ำเป็น 1:30 โดยย้อมด้วยเครื่อง IR ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส (Punrattanasin et al., 2013) จากนั้นหลังการย้อม นำผ้าที่ตากแห้งแล้วไปวัดค่าความเข้มสีบนผ้าโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer และทำการบันทึกผลค่าความเข้มสีในแต่ละช่วงเวลา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สมบัติการดูดกลืนแสงและกราฟมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสี

จากการศึกษาการสกัดสีจากฝักคูนเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่จะได้ปริมาณผงสีออกมามากที่สุดโดยมีปัจจัย 3 ชนิด คือ เวลา อุณหภูมิ และอัตราส่วนพืชต่อน้ำ ทำการสกัดที่สภาวะควบคุมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และ อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:20 เพื่อนำมาทำ calibration curve โดยนำน้ำสีที่สกัดได้มาเตรียมให้มีความเข้มข้นที่แน่นอน เจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน แล้วทำการวัดค่า การดูดกลืนคลื่นยูวีด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer จะได้กราฟการดูดกลืนคลื่นยูวีของแต่ละความเข้มข้นที่กำหนดไว้

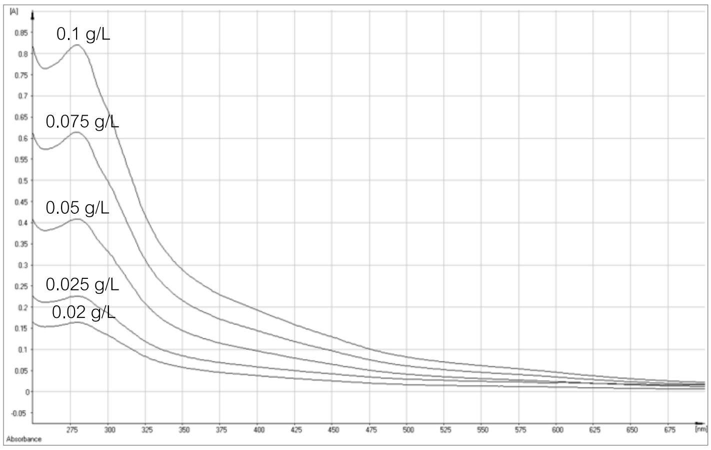


Figure 1 At level absorbance of golden shower from green pods

Figure 1 จะพบว่ามีน้ำสีจากฝักคูนอ่อนที่เตรียมขึ้นมามีการดูดกลืนคลื่นยูวีอยู่ที่ 280 นาโนเมตร โดยดูจากพีคที่ขึ้นสูงสุด จึงเลือกค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร นำมาใช้สร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อเป็นประโยชน์ในการหาความเข้มข้นของน้ำสีที่ไม่ทราบค่าที่แน่นอน

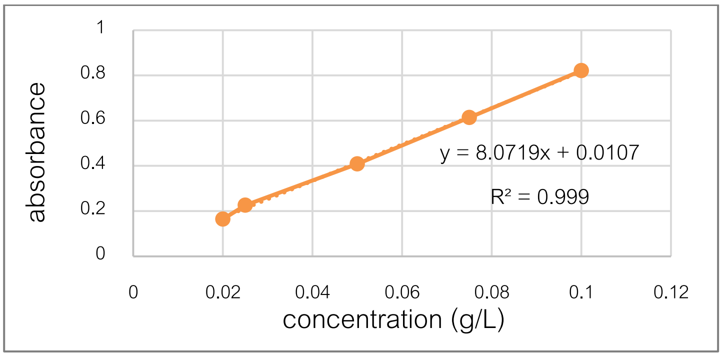


Figure 2 Calibration curve of extracted from green pods at 280 nm

Figure 2 กราฟความเข้มข้นมาตรฐานของน้ำสีที่สกัดได้จากฝักคูนอ่อนกราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่เตรียมไว้กับค่าการดูดกลืนแสง และสมการเชิงเส้นของกราฟ เพื่อนำสมการที่ได้ไปใช้คำนวณย้อนกลับหาความเข้มข้นของน้ำสีที่สกัดได้จากฝักคูนอ่อนในสภาวะต่างๆ ที่ยังไม่ทราบความเข้มข้นแน่นอน

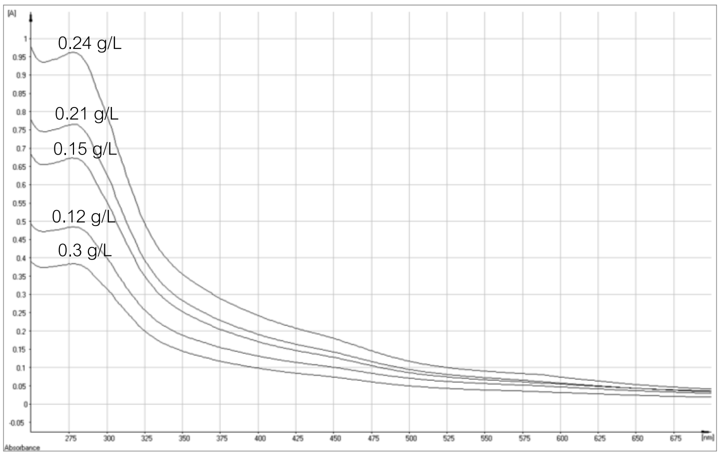


Figure 3 Absorbance of golden shower from ripe pods at level concentrations

Figure 3 จะพบว่ามีน้ำสีจากฝักคูนแก่ที่เตรียมขึ้นมามีการดูดกลืนคลื่นยูวีอยู่ที่ 278 นาโนเมตร โดยดูจากพีคที่ขึ้นสูงสุด จึงเลือกค่าการดูดกลืนคลื่นยูวี ที่ความยาวคลื่น 278 นาโนเมตร เพื่อนำมาใช้สร้าง calibration curve

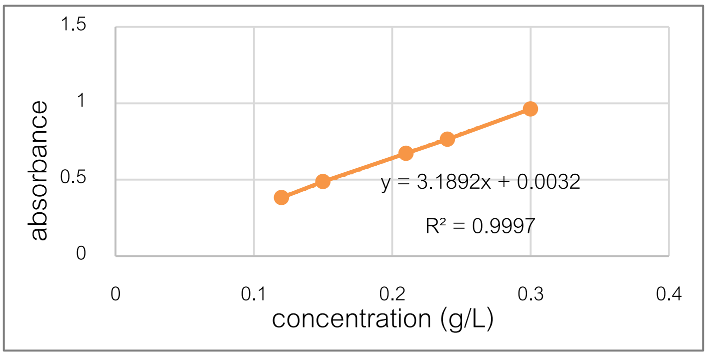


Figure 4 Calibration curve of extracted from ripe pods at 278 nm

Figure 4 กราฟความเข้มข้นมาตรฐานของน้ำสีที่สกัดได้จากฝักคูนแก่ จะได้เป็นกราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่เตรียมไว้กับค่าการดูดกลืนแสง และสมการเชิงเส้นของกราฟ เพื่อนำสมการที่ได้ไปใช้คำนวณย้อนกลับหาความเข้มข้นของน้ำสีที่สกัดได้จากฝักคูนอ่อนในสภาวะต่างๆ ที่ยังไม่ทราบความเข้มข้นแน่นอน

ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

การสกัดสีย้อมธรรมชาติจากฝักคูนอ่อน ที่ใช้เวลาในการสกัด 120 นาที ได้ปริมาณความเข้มข้นของสีมากที่สุดคือ 2.5294 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีน้อยที่สุดคือ 2.1925 กรัมต่อลิตร การสกัดสีย้อมธรรมชาติจากฝักคูนแก่ ที่ใช้เวลาในการสกัด 60 นาที จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีมากที่สุด คือ 13.5968 กรัมต่อลิตร ส่วนที่ใช้เวลาในการสกัด 90 นาที จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีน้อยที่สุดคือ 10.8855 กรัมต่อลิตร ซึ่งเวลาที่เหมาะสมของฝักอ่อน คือ 60 นาที เพราะว่าใช้เวลานานกว่านี้ก็ได้ปริมาณสีไม่มากไปกว่าเดิม ส่วนฝักแก่ใช้เวลา 60 นาที จะได้สีออกมามากที่สุด

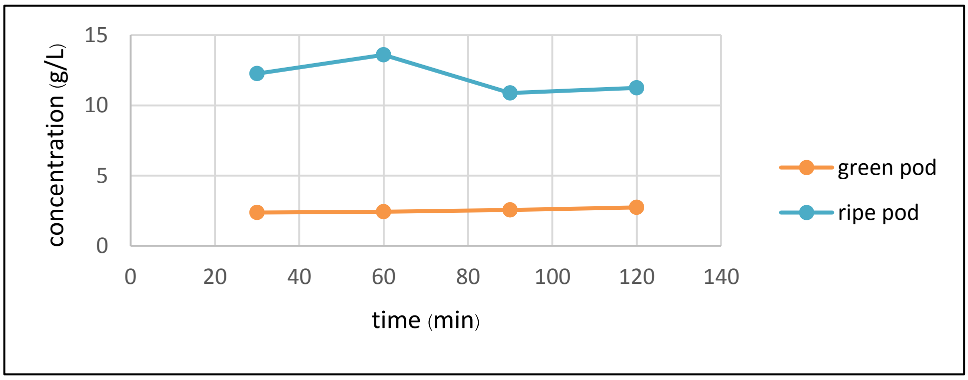


Figure 5 Relation between time of extraction and concentration of dye

Figure 5 จะเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดฝักคูนกับความเข้มข้นของสี ได้ทำการเปรียบเทียบกราฟของการสกัดฝักคูนอ่อนและฝักคูนแก่พบว่า ค่าที่ได้จากการสกัดฝักคูนแก่ในแต่ละช่วงเวลาที่ใช้ ได้ความเข้มข้นสีออกมามีค่ามากกว่าการสกัดสีด้วยฝักคูนอ่อนทุกช่วงเวลา

ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด

การสกัดสีย้อมธรรมชาติจากฝักคูนอ่อน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณความเข้มข้นของสีมากที่สุดคือ 2.2472 กรัมต่อลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีน้อยที่สุดคือ 0.7944 กรัมต่อลิตร การสกัดสีย้อมธรรมชาติจากฝักคูนแก่ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีมากที่สุด คือ 13.5968 g/L ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีน้อยที่สุดคือ 4.7074 กรัมต่อลิตร โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดทั้งฝักอ่อนและฝักแก่ คือ 100 องศาเซลเซียส

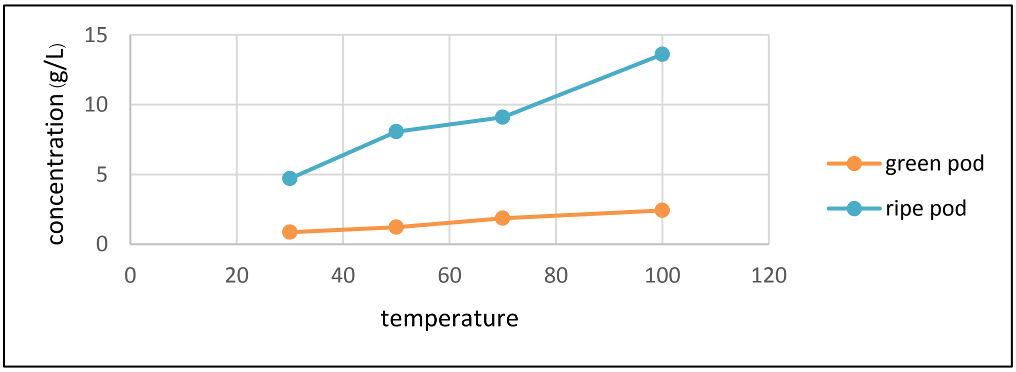


Figure 6 Relation between temperature of extraction and concentration of dye

Figure 6 จะเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดฝักคูนกับความเข้มข้นของสี ได้ทำการเปรียบเทียบกราฟของการสกัดฝักคูนอ่อนและฝักคูนแก่พบว่า ค่าที่ได้จากการสกัดฝักคูนแก่ในแต่ละอุณหภูมิ ได้ความเข้มข้นสีออกมามีค่ามากกว่าการสกัดสีด้วยฝักคูนอ่อนทุกอุณหภูมิ

ผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำและพืชที่เหมาะสมในการสกัด

การสกัดสีย้อมธรรมชาติจากฝักคูนอ่อน ที่ อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:10 ได้ปริมาณความเข้มข้นของสีมากที่สุดคือ 4.5851 กรัมต่อลิตร ส่วนที่อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:30 จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีน้อยที่สุดคือ 1.5305 กรัมต่อลิตร การสกัดสีย้อมธรรมชาติจากฝักคูนแก่ ที่อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:10 จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีมากที่สุด คือ 23.1467 กรัมต่อลิตร ส่วนที่อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:30 จะได้ปริมาณความเข้มข้นของสีน้อยที่สุดคือ 8.0308 g/L ซึ่งความเข้มข้นไม่สามารถเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมได้ จึงนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักสีที่สกัด พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัด คือ ฝักอ่อนที่อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:10 และ ฝักแก่ที่อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:20 มีเนื้อสีมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ

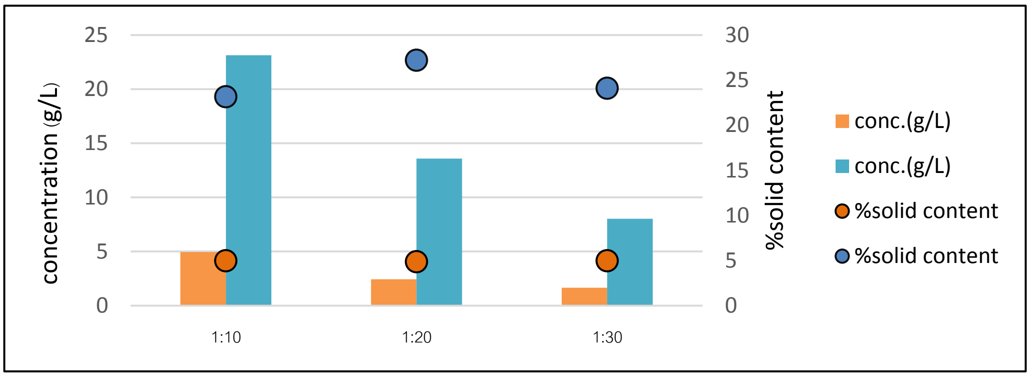


Figure 7 Relation between L:R of extraction and concentration of dye, relation between L:R of extraction and %solid content

Figure 7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนระหว่างฝักคูนกับน้ำที่ใช้ในการสกัดฝักคูน (L:R) กับความเข้มข้นของสารที่สกัดได้ (g/L) และ ร้อยละของปริมาณสารที่สกัดได้ต่อน้ำหนักของฝักคูนสด จากกราฟ เมื่อทำการคำนวณน้ำหนักสารที่สกัดได้ %solid content เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด พบว่า ในฝักอ่อนอัตราส่วนพืชต่อน้ำที่เหมาะสมคือ 1:10 ในขณะที่ ฝักแก่อัตราส่วนพืชต่อน้ำที่เหมาะสมคือ 1:20 ซึ่งเป็นสภาวะที่จะเลือกใช้เพราะมีความคุ้มค่าและได้น้ำหนักสีออกมามากที่สุด

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย้อมไหมด้วยฝักคูน

ทำการย้อมผ้าไหมหนัก 2 กรัม ในน้ำสีที่สกัดจากฝักคูน ด้วยเครื่องย้อมอินฟราเรด โดยใช้อัตราส่วนพืชต่อน้ำ 1:30 น้ำย้อมรวม 60 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าความเข้มสี K/S ที่ช่วงความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ซึ่งค่าความเข้มสีของผ้าไหมก่อนย้อมที่ 400 นาโนเมตร คือ 0.3

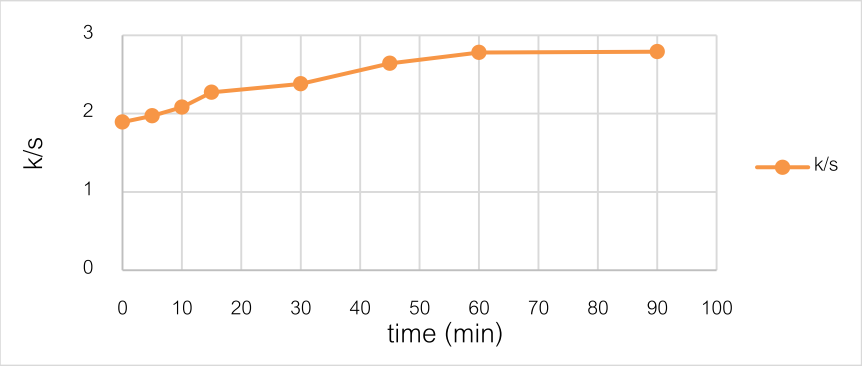


Figure 8 Relation between time of dyeing at 95°C and K/S

Figure 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ย้อมทีอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส กับความเข้มของสี พบว่าเฉดสีที่ได้จากการย้อมได้เฉดสีน้ำตาล ส่วนเส้นกราฟเมื่อใช้เวลานานขึ้นความเข้มสีจะสูงและที่ 60 นาทีความเข้มสีเริ่มจะคงที่จนถึง 90 นาที ซึ่งมีความเข้มสีบนผ้าไหมไม่แตกต่างกันมากนัก ที่ 60 นาทีจึงเป็นเวลาที่มีความเหมาะสมและคุ้มค่าในการนำมาใช้ย้อมสีจากฝักคูน

สรุป

การสกัดสีธรรมชาติจากฝักคูนทั้งฝักคูนอ่อนและฝักคูนแก่พบว่า ผลปริมาณผงสีที่สกัดจากฝักคูนแก่ได้ปริมาณมากกว่าฝักคูนอ่อนในทุกสภาวะที่ทำการสกัด จึงมีความเหมาะสมที่จะเลือกฝักแก่มาเป็นวัตถุดิบในการสกัดสีย้อมธรรมชาติเพื่อใช้ในกระบวนการย้อม และการสกัดฝักคูนแก่โดยการต้มแบบระบบปิด สภาวะที่เหมาะสมมากที่สุดในการทำการสกัดคืออัตราส่วนพืชต่อน้ำคือ 1:20 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้ปริมาณผงสีออกมา คือ 13.5968 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นสภาวะทีมีความคุ้มค่ามากที่สุด การศึกษาการย้อมสีเมื่อทำการย้อมในสภาวะต่างๆ โดยให้เวลาในการย้อมตั้งแต่ 5 นาที ไปจนถึง 90 นาที ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ก็พบว่าผ้ามีค่าความเข้มสีสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แต่ที่เวลา 60 นาทีค่าความเข้มของสีเริ่มคงที่ไปจนถึง 90 นาที ดังนั้น เวลาที่เหมาะสมในการย้อมสีจากฝักคูนและเกิดความคุ้มค่ามากที่สุดจึงควรทำการย้อมที่เวลา 60 นาที

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.รัตนพล มงคลรัตนาสิทธิ์ ที่ให้คำปรึกษาและให้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องและเป็นประโยชน์กับงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Chewchinda, S., Sithisarn, P., & Gritsanapan, W. (2014). COMPARISON OF HPLC AND TLC DENSITOMETRIC METHODS FOR THE QUANTIFICATION OF RHEIN IN CASSIA FISTULA POD PULP EXTRACT. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences,* 38, 45-47.

Mongkholrattanasit, R., Saiwan, C., Rungruangkitkrai, N., Punrattanasin, N., Sriharuksa, K., Klaichoi, C., & Nakpathom, M. (2015). Ecological dyeing of silk fabric with lac dye by using padding techniques. *The Journal of The Textile Institute,* 106(10), 1106-1114. doi: 10.1080/00405000.2014. 976957.

Punrattanasin, N., Nakpathom, M., Somboon, B., Narumol, N., Rungruangkitkrai, N., & Mongkholrattanasit, R. (2013). Silk fabric dyeing with natural dye from mangrove bark (Rhizophora apiculata Blume) extract. *Industrial Crops and Products,* 49, 122-129.

Sakulpanich, A., Chewchinda, S., Sithisarn, P., & Gritsanapan, W. (2012). Standardization and toxicity evaluation of Cassia fistula pod pulp extract for alternative source of herbal laxative drug. *Pharmacognosy Journal,* 4(28), 6-12. doi:10.5530/pj.2012.28.2.

เกษมบุญญากร, ศ. (2555). สีธรรมชาติ : ความเคลื่อนไหวของสิ่งทอเชิงอนุรักษ์. วารสารคหเศรษฐศาสตร์*,* 55(1), 9-17.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2552, 28 กุมภาพันธ์ 2552). ไหมย้อมสีธรรมชาติ. Retrieved from http://www.ku.ac.th/e-magazine/feb52/agri/agri2.htm.

ระยะการสุกของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

Fruit Ripening Stages of *Carissa carandas* Linn. on Antioxidant and α- Glucosidase Inhibition Activities

เกสรี กลิ่นสุคนธ์[1] อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ[1*] ประภัสสร รักถาวร[1] ลลิตา คชารัตน์[1] เวธนี สุรวณิชนิรชร[1] และเพ็ญศรี เนียมยิ้ม[1]

Ketsaree Klinsukhon[1], Udomlak Sukatta[1*], Prapasson Rukthaworn[1], Lalita Khacharat[1], Wetanee Suravanichnirachorn[1] and Pensri Neumyem[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะการสุกต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS radical scavenging และ FRAP assay และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ระยะการสุกแตกต่างกัน 3 ระยะ คือ ผลดิบ ผลกึ่งสุก และผลสุก เมื่อสกัดด้วยอะซีโตนความเข้มข้นร้อยละ 70 ได้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 58.050±3.83, 60.567±3.43 และ 63.970±1.88 ตามลำดับ พบว่าสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะผลสุกมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและสารแอนโทไซยานิน สูงที่สุด 1,461.749±21.26 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ100กรัมสารสกัดและ 149.480±25.42 มิลลิกรัมของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อ 100 กรัมสารสกัด ตามลำดับ การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัดจากผลสุก สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (IC_{50}เท่ากับ 0.441±0.01 และ 20.22±0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบด้วยวิธี FRAP assay พบว่าสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะสุกมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเช่นกัน โดยมีค่า FRAP เท่ากับ 126.682±0.84 ไมโครโมลของเฟอรัส(II)ต่อกรัมสารสกัด การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส พบว่าสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะดิบมีประสิทธิภาพยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟากลูซิเดสได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 41.29±0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ABSTRACT

The main objective of this research was to evaluate the effect of fruit ripening stage on total phenolic content, anthocyanin content, free radical scavenging (DPPH, ABTS radical scavenging and FRAP assay) and α-glucosidase inhibitory activities. The study of performed on three stages of fruit ripening (unripened, half-ripened and fully-ripened) of *Carissa carandas* Linn. The karanda fruits were extracted by 70% acetone, yielding crude extracts at 58.050%±3.83, 60.567%±3.43 and 63.970%±1.88 from unripened, half-ripened and fully-ripened respectively. The highest total phenolic and anthocyanin contents were found in fully-ripened fruit 1,461.749±21.26 GAE/100g extract and 149.480±25.42 mg Cyanidin-3-Glucoside/100g extract respectively. The determination by DPPH and ABTS assay showed that the crude extract of fully-ripened fruit gave the highest radical scavenging activities (IC_{50} value 0.441±0.01 and 20.22±0.17 mg/ml) correlating with the FRAP assay which was found that the fully-ripened fruit gave the highest FRAP value of 126.682±0.84 µmol/g extract. Interestingly, the highest α-glucosidase inhibition activity at IC_{50} 41.29±0.42 mg/ml was obtained from the unripened fruit.

Key Words: Karanda, *Carissa carandas* Linn., Antioxidant, DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay and Alpha-glucosidase.

*Corresponding author; e-mail address: **aapuls@ku.ac.th**

[1]สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University, Bangkok, 10900

คำนำ

มะม่วงหาวมะนาวโห่ หรือ หนามแดง เป็นผลไม้พื้นบ้านของไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Carissa carandas* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Apocyanaceae เป็นไม้พุ่มสูง 2-4 เมตร มีหนามแหลมยาวตามกิ่ง น้ำยางสีขาว ผลดิบมีสีขาวอมชมพู ผลสุกมีแดงจนม่วงเข้ม มีถิ่นกำเนิดจากประเทศอินเดีย รู้จักในชื่อว่า Karanda พบมากในประเทศไทย กัมพูชา เวียดนาม และแอฟริกาใต้ (Singh and Gursimran, 2015) ในผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่ มีธาตุเหล็ก วิตามินซี เพกติน และแอนโทไซยานินในปริมาณสูง โดยสารแอนโทไซยานินที่พบมากในผลคือ cyanidin-3-O-rhamnoside, pelargonidin-3-Oglucoside และ cyanidin-3-O-glucoside ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่จึงจัดเป็นแหล่งของแอนโทไซยานินที่สำคัญ และยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งสามารถยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดส เพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ และมีการวิจัยพบว่า *C. carandas* L.Folium และ *C. carandas* L.Cortex มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดส ได้ดีกว่าสาร Acarbose ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน (Elya *et al.*, 2012) และพบว่าผลดิบที่สกัดด้วยเมทานอลและเอทิลอะซิเตรท ที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถลดระดับน้ำตาลลงถึงร้อยละ 48 และ 64.5 ตามลำดับ (Itankar *et al.*, 2011) ผลจากสรรพคุณที่หลากหลายทำให้มะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นที่รู้จักมากขึ้น มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในแต่ละช่วงของระยะการสุกของผล เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกระยะการสุกให้ถูกต้อง เพื่อนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบ

1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ใช้ในการทดลองเก็บจากสวนจังหวัดสมุทรสงคราม โดยคัดแยกผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ออกเป็น 3 กลุ่ม ตามระยะการสุก คือ ดิบ (unripened) กึ่งสุก (half-ripened) และสุก (fully-ripened) ล้างทำความสะอาดผ่าเมล็ดออก หั่นส่วนเนื้อผลเป็นชิ้นเล็ก ส่วนที่ 1 นำผลสดหั่นให้ละเอียดนำไปวัดความชื้นตามวิธี (A.O.A.C., 2000) และวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสีรุ่น PFX195 Series (Lovibond, UK) ส่วนที่2 เข้าอบในตู้อบลมร้อน (Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งผลมะม่วงหาวมะนาวโห่แห้งสนิท จึงนำไปบดด้วยเครื่องบดรุ่น DMF-2A (บริษัทโง้วฮวดหยู, ประเทศไทย) เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

1.2 การสกัดสารจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

นำมะม่วงหาวมะนาวโห่ ทั้ง 3 ระยะ มาทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอะซีโตนร้อยละ70 จำนวน 3 ซ้ำ การสกัดทำโดยนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ในข้อ 1.1 ใส่ลงในขวดลูกชมพู่ ตัวอย่างละ 30 กรัม เติมตัวทำละลายอะซีโตนร้อยละ 70 ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ลงให้ท่วมตัวอย่าง เขย่าอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองแยกสารละลายที่สกัดได้ด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) ทำการสกัดซ้ำ จนครบ 3 ครั้ง และนำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะข้นหนืด นำสารสกัดเก็บในขวดสีชาทึบแสงมาเก็บไว้ในโถดูดความชื้น

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) โดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ตามวิธีของ Wolfe *et al.* (2003) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานและรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 100 กรัม (mg GAE/100g of crude extract)

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ วิธี pH differential ตามวิธีของ Giusti และ Worsltad (2005) โดยเจือจางตัวอย่างด้วยบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างกันดังนี้ Sodium acetate buffer ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.5 และ Potassium chloride buffer ค่าความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 1.0 เก็บในที่มืด 15 นาที วัดค่าด้วยเครื่องวัดปริมาณการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Genesys 20, Thermo scientific, USA) ที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร ตามลำดับ

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon \times l}$$

โดยที่ $A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH\ 4.5}$

MW = น้ำหนักโมเลกุลของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 449.2

ε = โมลาร์แอบซอร์บติวิตีของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 26,900

l = ระยะทางที่แสงเดินทางผ่านตัวอย่าง (เซนติเมตร)

DF = Dilution factor ของสารละลายตัวอย่าง

3. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(DPPH ABTS and FRAP radical scavenging activities)

3.1 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical scavenging activity) โดยวิธีของ Zhu *et al* (2006) นำตัวอย่างสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตรและเติมสาร DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณค่า % radical scavenging activity ดังสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [(A_0 - A_1)/ A_0] \times 100$$

โดยที่ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

นำค่า % radical scavenging activity ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารทดสอบที่ทำให้อนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT, Vitamin C และ α-tocopherol

3.2 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ABTS radical cation: ABTS) โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Re *et al*. (1999) โดยนำตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมสารละลาย ABTS 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาทีในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณเป็น % ABTS radical scavenging activity และสร้างกราฟเพื่อคำนวณหาค่า IC_{50} ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT, Vitamin C และ α-tocopherol

3.3 การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระFerric reducing/antioxidant power (FRAP) assay โดยวิธีของ Kubola and Siriamornpun (2008) ทำการเจือจางตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำกลั่น ให้มีระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายของสารสกัดปริมาตร 60 ไมโครลิตรใส่ลงในหลอดทดสอบ เติมสาร FRAP ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร180 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ทิ้งไว้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ค่าการต้านออกซิเดชันคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน Ferrous sulfate ($FeSo_4.7H_2O$) โดยรายงานเป็น (ไมโครโมลเฟอรัส (II)/1กรัมสารสกัด)

4. การตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ตามวิธีของ Kazeem *et al.* (2013) และ Feng *et al.* (2014) โดยเติมสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามด้วย สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดด่าง 6.8 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส 0.05 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที เติม *p*-nitrophenyl α-D-glucopyranoside (PNP-G) 3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่วัดได้มาคำนวณ % α-Glucosidase inhibition ดังสมการ

$$\alpha\text{-Glucosidase inhibition (\%)} = [A-(B-C)/A] \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (ไม่เติมสารทดสอบ)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (เติม α-Glucosidase)

C = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (ไม่เติม α-Glucosidase)

นำค่า % α-Glucosidase inhibition มาสร้างกราฟเพื่อคำนวณค่า IC_{50} โดยใช้สาร Acarbose เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

5. การประเมินผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบ

1.1 ตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบผลสดมะม่วงหาวมะนาวโห่ 3 ระยะการสุก คือ ผลดิบ ผลกึ่งสุก และผลสุก พบว่าระยะผลดิบมีความชื้นร้อยละ 88.55 ผลกึ่งสุกร้อยละ 88.21 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) และผลสุกมีปริมาณความชื้นต่ำสุดร้อยละ 85.27 ระยะการสุกของผลดิบที่มีลักษณะเป็นสีขาวผสมแดงจะมีค่าความสว่าง L* มากที่สุด 42.88 และเมื่อผลเริ่มสุกมากขึ้น ค่า L* จะลดน้อยลง ค่า a* คือค่าสีแดงจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้น เมื่อผลเปลี่ยนจากสีขาวผสมแดงเป็นผลสีแดง และเมื่อผลสุกจนเป็นสีม่วง ค่า a* จะมีแนวโน้มลดลง ค่า b* คือค่าสีเหลือง จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อผลสุกมากขึ้น Table 1 สอดคล้องกับงานวิจัยของ อดิศักดิ์ (2557) พบว่า ค่า L* และ ค่า b* มีค่าลดลงตามระยะการเก็บเกี่ยว ส่วนค่า a* เพิ่มขึ้นตามสีผลสีขาวชมพู และสีแดง คือ 25.32 และ 34.26 ตามลำดับ แต่จะลดลงในระยะผลสีดำ คือ 14.75 แสดงว่าผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของรงควัตถุในผลเพิ่มขึ้นทำให้มีสีเข้มขึ้นตามระยะความแก่ของผล เมื่อนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายอะซีโตนร้อยละ70 พบว่าได้ผลผลิตร้อยละ 58.050, 60.567 และ 63.970 จากผลในระยะผลดิบ ผลกึ่งสุก และผลสุก ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 2

Table 1 Chemical and physical properties of *Carissa carandas* L.

Fruit ripening stages	Moisture (%)	Color L*	Color a*	Color b*
Unripened	88.55± 0.24a	42.88±1.28a	4.45±0.32b	1.03±0.04a
Half-ripened	88.21±0.38a	34.38±1.26b	9.46±0.43a	0.83±0.08b
Fully-ripened	85.27±0.17b	22.30±0.70c	3.02±0.13c	-0.93±0.21c

Means ± standard deviation (SD). Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ทั้ง 3 ระยะการสุก คำนวณได้จาก linear regression equation ของกราฟสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Y=197.92X - 4.1022, R^2=0.9996) พบว่าสารสกัดผลทั้ง 3 ระยะ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยผลสุกพบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดคือ 1,461.749±21.26 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมสารสกัด รองลงมาคือผลกึ่งสุก และผลดิบ ดังแสดงใน Table 2

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในรูปไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ ของสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ทั้ง 3 ระยะ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงใน Table 2 โดยผลสุกพบปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงที่สุด 149.480±25.42มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ ต่อ 100 กรัมสารสกัด รองลงมาคือผลกึ่งสุก และผลดิบ ดังแสดงใน Table 2

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าระยะการสุกของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและสารแอนโทไซยานิน โดยให้ผลสอดคล้องไปในแนวทางเดียวกันคือ ผลมะม่วงหาวนาวโห่ระยะผลสุกมีปริมาณสารสำคัญทั้งสองสูงที่สุด แสดงว่าระยะการสุกที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มมากขึ้นด้วย สอดคล้องกับการทดลองของ สกุลกานต์ และคณะ (2556) ซึ่งทำการประเมินปริมาณ สารพฤกษเคมีและฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่มีระยะการสุกแตกต่างกัน 3 ระยะ คือ ผลดิบ (ผลสีแดง) ผลห่าม (ผลสีแดงอมดำ) และผลสุก (ผลสีดำ) พบว่าผลสุกมีปริมาณฟีนอลิก และแอนโทไซยานินสูงกว่าผลดิบ จะเห็นได้ว่าเมื่อผลมีระยะการสุกเพิ่มมากขึ้น จะ มีปริมาณสารสำคัญเพิ่มมากขึ้นโดยในระยะผลสุกเป็นระยะที่มีปริมาณสารสำคัญมากที่สุด

Table 2 The effect of fruit ripening stages on percentage yield, total phenolic compound and anthocyanins of *Carissa carandas* L.

Fruit ripening stages	% Yield	Phenolic compounds (mg GAE/100g extract)	Anthocyanin (mg cyanidin-3-glucoside/100g extract)
Unripened	58.050±3.83b	810.584±5.62b	1.783±0.10c
Half-ripened	60.567±3.43ab	966.567±6.98b	36.41±31.97b
Fully-ripened	63.970±1.88a	1,461.749±21.26a	149.480±25.42a

Means ± standard deviation (SD). Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$)

3. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH ABTS and FRAP radical scavenging activities)

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH assay และ ABTS assay พบว่าสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ทั้ง 3 ระยะ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยผลสุกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด (IC_{50}= 0.441$\pm$0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือผลกึ่งสุก และผลดิบ (IC_{50}= 0.699$\pm$0.01 และ 0.807$\pm$0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ดังแสดงใน Table 3

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS พบว่าสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และมีความสอดคล้องกับผลการทดลองการต้านอนุมูลอิสระ DPPH คือผลสุกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีที่สุด (IC_{50}= 20.220$\pm$0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือผลกึ่งสุก และผลดิบ (IC_{50}= 33.606$\pm$0.36 และ 43.716$\pm$0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ดังแสดงใน Table 3

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการวิเคราะห์ Ferric Reducing Ability Power (FRAP) พบว่าสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะผลสุกมีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระโดยการวิเคราะห์ FRAP ได้สูงสุด โดยมีค่า FRAP เท่ากับ 126.682±0.84 ไมโครโมลเฟอรัส (II)/1กรัมสารทดสอบ รองลงมาคือ ผลกึ่งสุก และผลดิบ (ค่า FRAP = 76.643±0.17 และ 62.279±1.02 ไมโครโมลเฟอรัส (II)/1กรัมสารสกัด) ตามลำดับ โดยพบว่าสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ทั้ง 3 ระยะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ทั้งวิธี DPPH, ABTS และ FRAP น้อยกว่าสารมาตรฐาน Vitamin C, BHT และ α-Tocopherol ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Efficacy of fruit ripening stage on radical scavenging activities (DPPH, ABTS and FRAP assay).

Fruit ripening stages	DPPH assay IC_{50} (mg/ml)	ABTS assay IC_{50} (mg/ml)	FRAP assay (µmol/g extract)
Unripened	0.807±0.01c	43.716±0.17c	62.279±1.02c
Half-ripened	0.699±0.01b	33.606±0.36b	76.643±0.17b
Fully-ripened	0.441±0.01a	20.220±0.17a	126.682±0.84a
BHT	0.129±1.98	0.463±0.02	3,377.28±34.92
Vitamin C	0.004±0.03	0.187±0.01	13,175.07±23.10
α-Tocopherol	0.010±0.13	0.580±0.01	6,004.18±15.12

Means ± standard deviation (SD). Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

จากการศึกษาผลของระยะการสุกของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี ให้ผลสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันคือระยะผลสุกมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าผลกึ่งสุก และผลดิบ ซึ่งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ วชิราภรณ์ และคณะ (2556) ที่ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ใน 3 ระยะ คือ ผลดิบ ผลกึ่งสุก และผลสุก ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 แล้วทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าผลสุกมีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารแอนโทไซยานิน คือระยะการสุกของผลตั้งแต่ผลดิบจนผลสุก มีการเจริญเติบโตของผลเพิ่มขึ้นมีการสะสมและพัฒนาของสารก็จะส่งผลให้ปริมาณ.ฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับผลของ มนต์วดี และ ศศิธร (2552) รายงานว่าผลหม่อนทั้ง 4 ระยะการเจริญเติบโต มีปริมาณสารฟีนอลิก ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น และสูงที่สุดเมื่อผลเจริญเติบโตเต็มที่

4.การตรวจสอบคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส โดยการติดตามปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ของสารตั้งต้น *p*-nitrophenyl-α-*D*-glucopyranoside (PNP-G) ซึ่งเป็นสารละลายไม่มีสี เมื่อมีเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส PNP-G จะถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็น *p*-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายใสสีเหลือง ในกรณีที่สารทดสอบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสสารละลายสีเหลืองจะจางลง ตรวจสอบได้โดยใช้เทคนิคสเปกโตรโฟโตมิทรี โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร การยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส จะรบกวนกระบวนการย่อยแป้งและคาร์โบไฮเดรต ทำให้ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมกุลเดี่ยวเช่น กลูโคส ส่งผลให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมน้ำตาลได้ เป็นการลดระดับน้ำตาลในร่างกายทางอ้อมหรือชั่วคราว ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้วัดความสามารถในการลดระดับน้ำตาลทางอ้อมของสารสกัดต่างๆ

การทดลองรายงานผลเป็นค่า IC_{50} โดยพิจารณาจากค่าที่มีค่าน้อยจะมีความสามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ดี พบว่าสารสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ทั้ง 3 ระยะ สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ สารสกัดระยะผลดิบมีความสามารถใน

การยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ดีที่สุด (IC_{50}= 41.290±0.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือระยะผลกึ่งสุก และผลสุก (IC_{50}= 47.749±0.21 และ 51.053±0.61 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) และพบว่าระยะการสุกของผลทั้ง 3 ระยะ มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ดีน้อยกว่าสารมาตรฐาน Acarbose ซึ่งเป็นตัวยาที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ดังแสดงใน Table 4 ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cheplick *et al*, (2015) ที่พบว่า สารสกัดจากผลดิบของ highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) ที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ดีกว่าระยะผลกึ่งสุก และผลสุก ในทางตรงกันข้าม สารสกัดจาก highbush blueberry ด้วยน้ำ ระยะผลสุกจะมีประสิทธิภาพดีกว่าระยะผลกึ่งสุก และระยะผลดิบ สารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในทุกระยะการสุก มีประสิทธิภาพน้อยกว่า สารสกัดใบมะรุมที่สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ใกล้เคียงกับ Acarbose (วิมลพรรณ, 2552)

Table 4 The efficacy of fruit ripening stages on alpha glucosidase inhibitory activity.

Fruit ripening stages	Alpha glucosidase Inhibitory activity IC_{50} (mg/ml)
Unripened	41.290±0.42a
Half-ripened	47.749±0.21b
Fully-ripened	51.053±0.61c
Acarbose	33.048±0.88

Means ± standard deviation (SD). Different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

จากผลการทดลองทำให้สามารถเลือกระยะการสุกของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สามารถลดระดับน้ำตาลที่เหมาะสม คือ ระยะผลดิบจะมีประสิทธิภาพดีกว่าระยะผลกึ่งสุก และผลสุกเพื่อเป็นแนวทางในการบริโภคและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่อไป

สรุป

จากการศึกษาสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยอะซีโตนร้อยละ 70 ทั้ง 3 ระยะ คือ ผลดิบ ผลกึ่งสุก และผลสุก พบว่าผลสุกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานิน และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และ FRAP สูงที่สุด ส่วนในผลดิบมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสดีที่สุด ดังนั้นการนำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ไปใช้ประโยชน์ในด้านการลดระดับน้ำตาลควรเลือกระยะผลดิบ แต่ถ้าใช้คุณประโยชน์ด้านการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณแอนโทไซยานิน ระยะผลสุกเป็นระยะที่มีศักยภาพนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาด้านผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

กิตติกรรมประกาศ

คณะนักวิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการสนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

มนต์วดี หุ่นเจริญ และ ศศิธร ตรงจิตภักดี. 2552. ผลของระยะการเจริญเติบโตต่อแอนโธไซยานินส์และความสามารถต้านออกซิเดชันของผลหม่อนสายพันธุ์กำแพงแสน-เอ็มบี-42-1. เรื่องเต็มประชุมวิชาของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิมลพรรณ รุ่งพรหม, ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล และ สมฤดี เลี่ยมทอง. 2552. สารยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสจากมะรุม. **วิทยาศาสตร์เกษตร**. 40(3)พิเศษ: 49-52.

วชิราภรณ์ ผิวล่อง, สุรศักดิ์ สัจจบุตร, ศิริลักษณ์ สิงห์เพชร และ จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ. 2556. อิทธิพลของระยะเวลาสุกต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะม่วงหาวมะนาวโห่. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 44(2) (พิเศษ): 337-340.

สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และ พัชรี สิริตระกูลศักดิ์. 2556. การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประการและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระใน *Carissa carandas* L. **แก่นเกษตร**. 41(1):602-606

อดิศักดิ์ จูมวงษ์. 2557. ผลของความแก่ต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีของผลหนามแดง. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 45 : 3/1 (พิเศษ) : 229-232

A.O.A.C. 2000. Offical Methods of the Association of Official Analytical Chemists. **Association of Official Analytical Chemists.** Washington D.C.

Cheplick, S. , D. Sarkar , P. Bhowmik , K. Shetty. 2015. Phenolic bioactives from developmental stages of highbush blueberry (Vaccinium corymbosum) for hyperglycemia management using in vitro models. **Can. J. Plant Sci.** (2015) 95: 653-662

Elya B., K. Basah, A. Mun'im, W. Yuliastuti, A. Bangun and E. K. Septiana. 2012. Screening of α-Glucosidase Inhibitory Activity from Some Plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. **Journal of Biomedicine and Biotechnology.** 2012: 1-6

Feng Y, D. Franceschi G, A. Kahraman, M. Soste, A. Melnik, P. J. Boersema, P. P. de Laureto, Y. Nikolaev, A. P. Oliveira and P. Picotti. 2014. Global analysis of protein structural changes in complex proteomes. **Nat Biotechnol**. 32(10): 1036-44.

Giusti, M. M. and R.E Worsltad. 2005. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York.

Itankar, P.R., S.J. Lokhande, P.R. Verma, S.K. Arora, R.A. Sahu, and A.T. Patil. 2011. Antidiabetic potential of unripe *Carissa carandas* Linn. fruit extract. **J. Ethnopharmacol.** 135: 430-433.

Kazeem M. I., J. O. Adamson and I. A. Ogunwande. 2013. Modes of Inhibition of α-Amylase and α-Glucosidase by Aqueous Extract of Morinda lucida Benth Leaf. **BioMed Research International.** 2013: 1-6

Kubola, J. and Siriamornpun S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (Momordica charantia L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro. **Food Chemistry.** 110: 881–890.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M & Rice-Evans, C. 1999. .Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine.** 26: 1231-1237.

Singh A. and Gursimran K. U. 2015. A review on *Carissa carandas* L. phytochemistry, ethno-pharmacology, and micropropagation as conservation strategy. **Asian journal of Pharmaceutical and Clinical research.** 8(3): 26-30.

Wolfe, K., X. Wu and R. H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels. **J. Agric. Food Chem.** 51: 609-614.

Zhu K., H. Zhou and H. Qian. 2006. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. **Process Biochemistry**. 4: 1296–1302.

การประยุกต์วิธีตรวจวัดไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ในกระดาษสัมผัสอาหารด้วย TENAX®

The Application of Formaldehyde Migration for Food Contact Papers by Using TENAX®

วีภาภรณ์ เฉลยจิตต์กุล[1*] สุรันยา จารุภูมิ[1] และ งามทิพย์ ภู่วโรดม[1]

Weepaporn Chaloeijitkul[1*], Suranya Charubhum[1] and Ngamtip Poovarodom[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาวิธีการตรวจวัดไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยอาหารจำลอง TENAX® เพื่อแก้ไขปัญหาการตรวจไม่พบไมเกรชันเนื่องจากสภาพความมีขั้วที่แตกต่างกันระหว่างสารแพร่และสารดูดซับ นำตัวอย่างกระดาษเติมสารฟอร์มาลดีไฮด์ให้มีความเข้มข้น 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร ซึ่งเป็นระดับ 1 และ 5 เท่าของค่าจำกัดที่สหภาพยุโรปกำหนด และตรวจวัดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่จากกระดาษมาสู่อาหารจำลองในสภาวะทดสอบที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ผลการวิจัยพบว่าต้องปรับลดสภาพมีขั้วของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยการใช้เอทานอลแทนน้ำ และต้องเจือจางสารสกัด TENAX® ด้วยน้ำกลั่น 5 และ10 เท่าของระดับความเข้มข้นฟอร์มาลดีไฮด์ที่เติมลงในกระดาษตามลำดับ จึงจะสามารถวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายได้ ตรวจพบไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ 0.5444 และ 2.3669 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร ผลงานวิจัยนี้เป็นประโยชน์ในการนำไปปรับปรุงวิธีการหาไมเกรชันของสารที่มีขั้วและต้องใช้อาหารจำลองที่ไม่มีขั้วต่อไป

ABSTRACT

The objective of this study was to develop an appropriate method to determine the migration of formaldehyde in TENAX® with the aim of solving non-compatibility between migrant and simulant in terms of polarity. This issue could lead to not detected migration. Paper samples were incorporated with predetermined amounts of formaldehyde, 1 fold and 5 folds of its limit applied in the European Union. Migration tests were carried out at 70°C for 30 minutes. It appeared that formaldehyde solution has to be prepared in ethanol, instead of water; and appropriate level of dilution must be applied to solution obtained from the extraction of TENAX® after exposing to the paper samples. It was found that the quantities of formaldehyde migrating into TENAX® from those paper samples were 0.5444 and 2.3669 mg/dm^2. It is worth noting the benefit of these findings which could help improve the migration study of polar substances while using non-polar simulant.

Key Words: food contact, formaldehyde, migration, papers, TENAX®

*Corresponding author; e-mail address: toeitoei@hotmail.com

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุและวัสดุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Packaging and Materials Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

กระดาษเป็นวัสดุที่ใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรมการบรรจุอาหาร มีทั้งใช้บรรจุหรือสัมผัสอาหารโดยตรง และใช้เป็นภาชนะบรรจุชั้นนอก การผลิตกระดาษส่วนใหญ่มีการนำเยื่อรีไซเคิลมาใช้เป็นวัตถุดิบบางส่วนหรือทั้งหมด ซึ่งเยื่อรีไซเคิลนี้มักมีสารเคมีปนเปื้อนมาด้วย มีรายงานการศึกษาไมเกรชันของสารเคมีจากกระดาษไปสู่อาหารโดยเฉพาะกระดาษรีไซเคิล พบสารหลายชนิดที่เป็นสารอันตราย สารก่อมะเร็ง หรือสารที่ทำให้อาหารมีกลิ่นรสผิดปกติ และพบไมเกรชันของสารเหล่านี้ในอาหารเกือบทุกชนิด รวมถึงอาหารแห้งและอาหารแช่แข็ง ทำให้ผู้บริโภคกังวลเรื่องความปลอดภัยของการใช้กระดาษสัมผัสอาหาร

การตรวจสอบความปลอดภัยของกระดาษสัมผัสอาหารเป็นงานที่มีขอบเขตกว้าง เนื่องจากมีปัจจัยเกี่ยวข้องมากและควบคุมยาก ตั้งแต่ที่มาของเยื่อกระดาษ สารเคมีที่ใช้ทั้งชนิดและปริมาณ โครงสร้างกระดาษ และสภาวะการใช้งานของกระดาษ ได้แก่ ชนิดอาหาร ระยะเวลาและอุณหภูมิ นอกจากนี้ กฎระเบียบที่ใช้กำกับดูแลความปลอดภัยของกระดาษสัมผัสอาหารในหลาย ๆ ประเทศรวมทั้งสหรัฐอเมริกาและสหภาพยุโรปยังไม่สมบูรณ์ และมาตรฐานการทดสอบหาสารเคมีในกระดาษยังไม่ชัดเจน นักวิจัยส่วนใหญ่จึงให้ความสนใจศึกษาสารที่อาจเป็นพิษต่อผู้บริโภคและมีแนวโน้มแพร่ออกมาปนเปื้อนอาหาร โดยสารเหล่านี้มักมาจากสารเติมแต่งที่ใช้ในการผลิตกระดาษ หมึกพิมพ์ กาว และสารเคลือบ เช่น ฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde), เพนตะคลอโรฟีนอล (Pentachlorophenol), ไดไอโซโพรพิลเนฟแทลีน (Diisopropylnaphthalene หรือ DIPN), เบนโซฟีโนน (Benzophenone), สารเพิ่มความขาวฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent whitening agents), แทเลต (Phthalates) และสารสีประเภทอะโซ (Azo dyes) เป็นต้น

ฟอร์มาลดีไฮด์ พบในสารเติมแต่งกระดาษ ได้แก่ สารเพิ่มความแข็งแรงขณะเปียก (Wet strength agents) สารยึดติด (Fixating agents) สารกันซึม (Sizing agents) นอกจากนี้ยังพบในสารเชื่อมหรือตัวพา (Binder or Vehicle) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของหมึกพิมพ์ ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารอันตรายและอยู่ในกลุ่มสารก่อมะเร็ง สหภาพยุโรปควบคุมฟอร์มาลดีไฮด์ในกระดาษตามข้อกำหนดใน DGCCRF Note d’informations ของสาธารณรัฐฝรั่งเศส (DGCCRF, 2004), BfR Recommendations ของสาธารณรัฐเยอรมนี (BfR, 2007) และ Resolution ของ Council of Europe (CoE, 2002) ซึ่งกำหนดค่าจำกัด (Limit) ของฟอร์มาลดีไฮด์ในกระดาษสัมผัสอาหารต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร การตรวจไมเกรชันของสารเคมีในกระดาษใช้อาหารจำลองชนิดพอลิ(2,6-ไดฟีนิล-พารา-ฟีนิลีนออกไซด์) (poly(2,6 diphenyl-*p*-phenylene oxide)) นิยมเรียกว่า TENAX® ซึ่งเป็นชื่อทางการค้า

เนื่องจากสภาพความมีขั้วของสารเคมีอ้างอิงตามค่าคงที่ไดอิเล็คตริก (ε) ซึ่งเป็นสมบัติทางไฟฟ้าของวัสดุ สามารถบ่งบอกถึงสภาพความมีขั้วของวัสดุนั้นๆได้ โดยฟอร์มาลดีไฮด์มีค่า 23 และ สารในกลุ่มพอลิฟีนิลีนออกไซด์ (PPO) หรือ TENAX® มีค่าอยู่ในช่วง 2.81-2.90 (Banerjee, 2015) ซึ่งมีความแตกต่างกันมาก จึงเป็นอุปสรรคของการตรวจหาไมเกรชัน ซึ่งผลวิเคราะห์ส่วนใหญ่มักไม่พบฟอร์มาลดีไฮด์แพร่จากกระดาษไปสู่ TENAX® ทำให้การสรุปผลอาจไม่สอดคล้องกับสภาพการณ์จริงที่เกิดกับอาหาร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาหาวิธีการตรวจวัดไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยอาหารจำลอง TENAX® เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์อาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างฟอร์มาลดีไฮด์กับเพนเทน-2,4-ไดออน (pentane-2,4-dione) อ้างอิงตามมาตรฐาน EN 1541 (CEN, 2001)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์เริ่มต้นของกระดาษตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ใช้กระดาษแข็งผลิตจากเยื่อบริสุทธิ์ น้ำหนักมาตรฐาน 235 กรัมต่อตารางเมตร เป็นตัวอย่างทดสอบ นำตัวอย่างมาสกัดด้วยน้ำร้อน ตามมาตรฐาน EN 647 (CEN, 1994) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์เริ่มต้นในตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก ขนาด 1x1 เซนติเมตร น้ำหนัก 10±0.1 กรัม ใส่ถุงมือขณะสัมผัสตัวอย่าง ใส่ตัวอย่างลงในขวดรูปกรวยเติมน้ำเดือดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดแล้วนำไปแช่ในเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 80±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง±5 นาที กรองสารละลายที่ได้จากการสกัดและทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ ตามมาตรฐาน EN 1541 (CEN, 2001) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องยูวีสเปกโทรมิเตอร์ (UV-Vis Spectrometer, Biochrom Libra S22, England). ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ทดลองกับตัวอย่าง 5 ซ้ำ

2. การเตรียมตัวอย่างด้วยการเติมฟอร์มาลดีไฮด์ที่กำหนดปริมาณ

นำตัวอย่างมาเติมฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยวิธีหยดสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ให้กระจายสม่ำเสมอในตัวอย่างและให้มีปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร ซึ่งเป็นระดับ 1 และ 5 เท่าของค่าจำกัดที่สหภาพยุโรปกำหนด หลังจากหยดสารละลายเสร็จทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำตัวอย่างไปตรวจหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ทีมีทั้งหมดในตัวอย่าง ตามวิธีการข้อ 1 ทดลองกับตัวอย่าง 5 ซ้ำ

3. การหาไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยอาหารจำลอง TENAX®

นำตัวอย่างที่เติมฟอร์มาลดีไฮด์ระดับ 1 และ 5 เท่าของค่าจำกัด ตามที่เตรียมตามข้อ 2 มาทดสอบไมเกรชัน โดยวางตัวอย่างในชุดทดสอบไมเกรชัน (Migration test cell) แล้ววางอาหารจำลอง TENAX® ลงบนกระดาษปริมาณ 4 กรัมต่อตารางเดซิเมตร เกลี่ยให้สม่ำเสมอ นำชุดทดสอบใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แยกอาหารจำลองออกจากตัวอย่างเพื่อนำไปสกัดหาปริมาณสารที่แพร่จากกระดาษสู่อาหารจำลองที่ดูดซับไว้ วิธีการสกัดอ้างอิงมาตรฐาน EN 14338 (CEN, 2003) โดยเติมเอทานอลปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในหลอดที่มีอาหารจำลอง เขย่าโดยใช้คลื่นอัลทราโซนิกส์ เป็นเวลา 1 นาที กรองสารสกัดผ่านตัวกรองชนิดไนลอน และนำอาหารจำลองมาสกัดซ้ำอีกครั้ง โดยใช้เอทานอลใหม่ นำสารสกัดที่ได้แต่ละครั้งแยกกันไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ ตามมาตรฐาน EN 1541 (CEN, 2001)

4. การปรับปรุงวิธีการตรวจไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยอาหารจำลอง TENAX®

4.1 การปรับสภาพความมีขั้วของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์

สารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่เตรียมในน้ำมีสภาพมีขั้วสูง ในขณะที่ TENAX® มีสภาพความมีขั้วต่ำจึงไม่สามารถดูดซับฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่จากกระดาษได้ จึงมีแนวคิดปรับลดสภาพความมีขั้วของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่จะใช้เติมลงในตัวอย่าง ด้วยการเตรียมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในเอทานอลแทน ทดสอบเบื้องต้นการเข้ากันได้ (Compatibility) ด้วยการหยดสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์บน TENAX® ตรวจพินิจด้วยตาเปล่าสังเกตการรวมตัวกันของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์กับ TENAX®

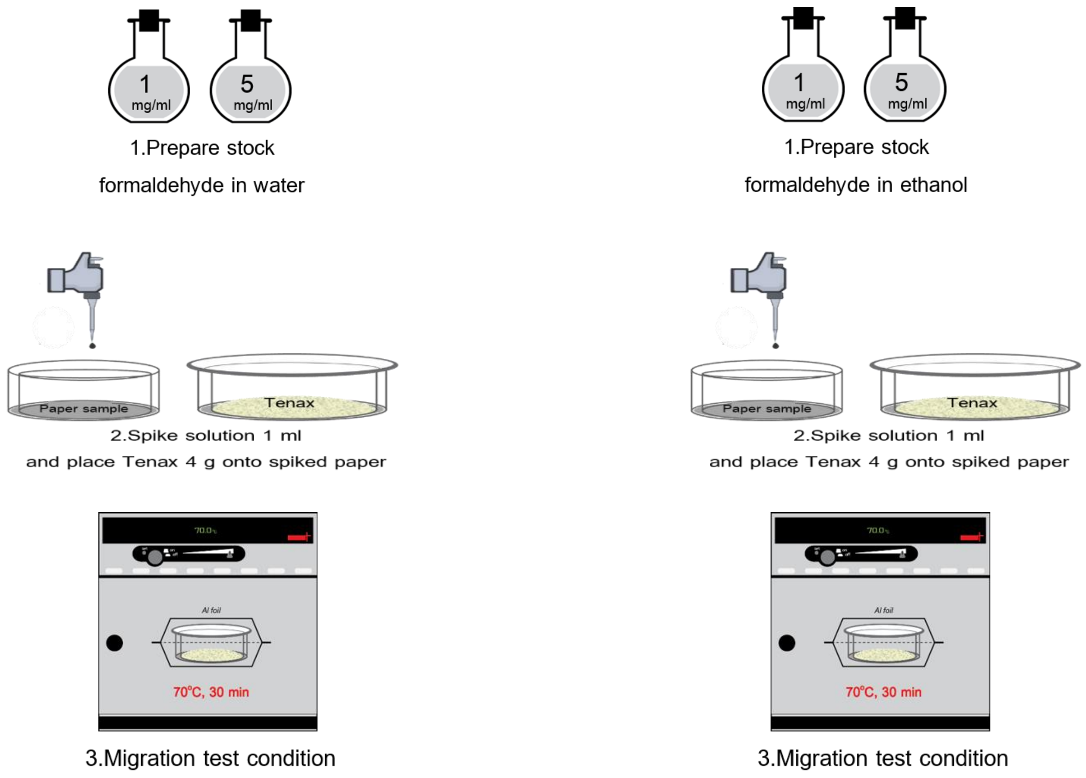
4.2 การปรับสภาพความมีขั้วของสารสกัด TENAX® หลังจากทดสอบไมเกรชัน

การวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ใช้หลักการวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสีเหลืองอ่อนเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างฟอร์มาลดีไฮด์กับเพนเทน ในสภาพที่มีแอมโมเนียมแอซีเทต (Ammonium acetate) และน้ำอยู่ด้วย เนื่องจาก EN 14338 กำหนดให้ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายเพื่อสกัดสารที่ TENAX® ดูดซับไว้ในระหว่างการทดสอบไมเกรชัน เมื่อนำสารสกัดนี้มาทำปฏิกิริยากับเพนเทน จึงไม่เกิดการเปลี่ยนสี ทำให้วัดค่าดูดกลืนแสงไม่ได้ จึงจำเป็นต้องหาสภาวะการเจือจางสารสกัดนี้ให้มีปริมาณน้ำเหมาะสมกับการเกิดปฏิกิริยาและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด

เตรียมตัวอย่างตามข้อ 3 ยกเว้นให้ใช้สารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในเอทานอลแทน ทดสอบไมเกรชันเหมือนเดิม นำเอทานอลที่ได้จากการสกัด หลังจากทดสอบไมเกรชันมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 0, 1, 5, 10 และ 20 เท่า นำไป ด้วยการวัดการดูดกลืนแสง พิจารณาระดับการเจือจางที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้สูงสุดมาใช้ในการปรับวิธีวิเคราะห์ต่อไป

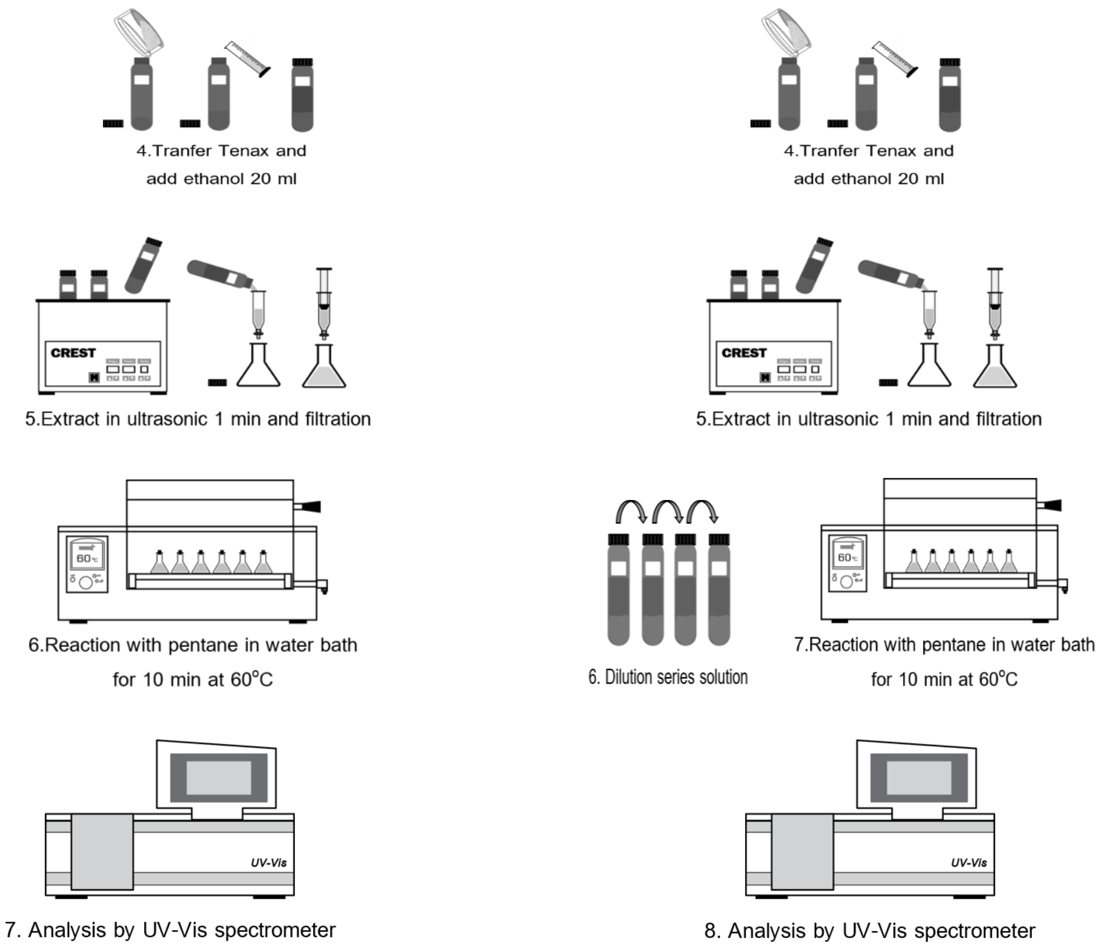
5. ทวนสอบวิธีการวิเคราะห์ที่ปรับปรุง

ทดลองซ้ำตามข้อ 3 โดยใช้สารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในเอทานอลเติมตัวอย่างให้มีปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ ระดับ 1 และ 5 เท่าของค่าจำกัดดังแสดงในภาพที่ 1 ทดสอบไมเกรชันเหมือนเดิมและเจือจางสารสกัด TENAX® ก่อนวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ ตามมาตรฐาน EN 1541 (CEN, 2001) ตามสัดส่วนที่ได้จากข้อ 4.2



(a) According to standard procedure (b) Adopted procedure

Figure 1 Exposure set – up for migration test with TENAX®



(a) According to standard procedure (b) Adopted procedure

Figure 1 (Continued).

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์เริ่มต้นของกระดาษตัวอย่าง

กระดาษตัวอย่างผลิตจากเยื่อบริสุทธิ์ และได้รับอนุเคราะห์ตัวอย่างจากผู้ผลิตในสาธารณรัฐเยอรมนี ตรวจพบปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างกระดาษเพียง 0.0004 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร ซึ่งต่ำกว่าค่ากำหนดในสหภาพยุโรป (ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร) การหาปริมาณสารเคมีเริ่มต้นในตัวอย่างเพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของกระดาษที่ใช้ในงานวิจัยต่อไป และตัวอย่างที่ได้รับมานี้มีความเหมาะสมสำหรับการทดสอบไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์

2. การหาไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยอาหารจำลอง TENAX®

ผลการตรวจหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างที่เติมฟอร์มาลดีไฮด์ระดับ 1 และ 5 เท่าของค่าจำกัดดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าวิธีการสกัดที่ใช้สามารถสกัดฟอร์มาลดีไฮด์ออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ค่าที่ได้สอดคล้องกับปริมาณที่กำหนดไว้เริ่มต้น

Table 1 Amount of formaldehyde in paper at different spiking concentrations.

Replication	1 fold^{1mgdm2}		5 folds$^{5mg/dm2}$	
	Amount of formaldehyde[a] (mg/dm2)	%Recovery	Amount of formaldehyde[a] (mg/dm2)	%Recovery
1	0.9125	91.25	5.3353	106.71
2	1.2733	127.33	6.0687	121.37
3	1.2632	126.32	5.4070	108.14
4	0.8670	86.70	5.5503	111.01
5	1.1173	111.73	5.7990	115.98
Ave	1.0867	108.67	5.6321	112.64
SD	0.1907	19.07	0.3016	6.03
CV	17.5485	17.55	5.3550	5.36

[a] LOD = 0.0064 mg/ml and LOQ = 0.0118 mg/ml

การทดสอบไมเกรชันของกระดาษข้างต้น พบว่าตรวจไม่พบฟอร์มาลดีไฮด์แพร่ไปสู่ TENAX® ซึ่งเป็นผลจากสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่เตรียมในน้ำมีสภาพมีขั้วสูงโดยอ้างอิงตามค่าคงที่ไดอิเล็คตริก (ε) มีค่า 80.4 ในขณะที่ TENAX® มีค่าในช่วง 2.81-2.90 แสดงถึงสภาพความมีขั้วต่ำ จึงไม่สามารถดูดซับฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่จากกระดาษได้ หากสภาพการณ์นี้พบในการทดสอบไมเกรชันจากกระดาษทั่วไปที่ไม่ทราบปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีอยู่เดิมในกระดาษ อาจนำไปสู่การสรุปที่ผิดพลาดว่าตรวจ ไม่พบไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์และกระดาษนี้ผ่านเกณฑ์ค่าจำกัดของฟอร์มาลดีไฮด์ ผลการทดลองนี้ทำให้มีความจำเป็นต้องปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์ เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่กล่าวข้างต้น

3. การปรับปรุงวิธีการตรวจไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยอาหารจำลอง TENAX®

3.1 ผลการปรับสภาพความมีขั้วของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์

การปรับลดสภาพความมีขั้วของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยเตรียมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในเอทานอล แล้วนำมาทดสอบเบื้องต้นเพื่อประเมินการเข้ากันได้ ด้วยการหยดสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ลงบน TENAX® พบว่า TENAX® สามารถดูดซับและมีการรวมตัวกับสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่ละลายในเอทานอลได้ดีกว่าสารละลายในน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 2

(a) solution in water (b) solution in ethanol

Figure 2 Compatibility between TENAX® and formaldehyde solutions.

3.2 ผลการปรับสภาพความมีขั้วของสารสกัด TENAX® หลังจากทดสอบไมเกรชัน

เมื่อปรับสภาพความมีขั้วของสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์แล้ว การหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่แพร่จากตัวอย่างไปสู่ TENAX® ใช้เอทานอลสกัดฟอร์มาลดีไฮด์ออกจาก TENAX® ตามมาตรฐาน EN 14338 เมื่อนำสารสกัดมาวิเคราะห์ตาม EN 1541 (CEN, 2001) พบว่าฟอร์มาลดีไฮด์ที่ละลายในเอทานอลไม่สามารถปฏิกิริยากับเพนเทนและเกิดการเปลี่ยนสี ทำให้ไม่สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้ เนื่องจากฟอร์มาลดีไฮด์มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีมากกว่าในเอทานอล เป็นสาเหตุให้สารสกัดที่มีระดับการเจือจางด้วยน้ำเป็นส่วนประกอบนั้นมีปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ละลายออกมาในสารสกัดเพิ่มมากขึ้นและประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยากับเพนเทนได้ การเกิดปฏิกิริยานี้ต้องมีปริมาณน้ำเหมาะสม จึงเจือจางสารสกัดด้วยน้ำกลั่น ทั้งสิ้น 5 ระดับ คือ 0, 1, 5, 10 และ 20 เท่า พบว่าสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ ดังแสดงในตารางที่ 2 การเลือกระดับการเจือจางที่เหมาะสมพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้สูงสุด และนำมาใช้ปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์ต่อไป

Table 2 Absorbance of formaldehyde at spiking concentration of 1 and 5 folds in TENAX®

Extraction	Dilution level	Absorbance of sample											
		1 fold of spike concentration						5 folds of spike concentration					
		1	2	3	4	5	Ave	1	2	3	4	5	Ave
1st extraction	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	1	0.013	0.009	0.012	0.007	0.008	0.010	0.033	0.029	0.043	0.038	0.048	0.038
	5	0.114	0.108	0.107	0.096	0.100	0.105	0.087	0.084	0.093	0.088	0.092	0.089
	10	0.034	0.039	0.041	0.043	0.032	0.038	0.188	0.172	0.275	0.265	0.287	0.237
	20	0.008	0.005	0.007	0.010	0.004	0.007	0.062	0.074	0.065	0.073	0.069	0.069
2nd extraction	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	1	0.004	0.002	0.005	0.002	0.003	0.003	0.017	0.019	0.020	0.021	0.025	0.020
	5	0.044	0.038	0.037	0.046	0.032	0.039	0.034	0.036	0.042	0.044	0.047	0.041
	10	0.015	0.011	0.014	0.013	0.011	0.013	0.054	0.053	0.071	0.071	0.084	0.067
	20	0.002	0.003	0.004	0.001	0.002	0.002	0.021	0.025	0.032	0.035	0.040	0.031

ผลการทดลองพบว่าระดับการเจือจางที่เหมาะสมมีค่า 5 เท่า และ10 เท่า สำหรับตัวอย่างที่เติมฟอร์มาลดีไฮด์ 1 และ 5 เท่าของค่าจำกัด ตามลำดับ โดยนำผลการทดลองไปเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 พบว่าที่ระดับการเจือจางที่เลือกมาใช้นั้นในการตรวจวัดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารจำลอง TENAX® มีคามแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการเตรียมกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์กับค่าการดูดกลืนแสงจำเป็นต้องนำค่าการเจือจางนี้มาใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานของฟอร์มาลดีไฮด์ด้วย เนื่องจากสภาพความมีขั้วของน้ำนั้นมีค่าสูงกว่าเอทานอล ทำให้ฟอร์มาลดีไฮด์ซึ่งมีคุณสมบัติละลายได้ดีในน้ำโดยมีความชอบน้ำร้อยละ 100 (100% hydrophilic) เพื่อหาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่ละลายในสารสกัดได้อย่างถูกต้อง

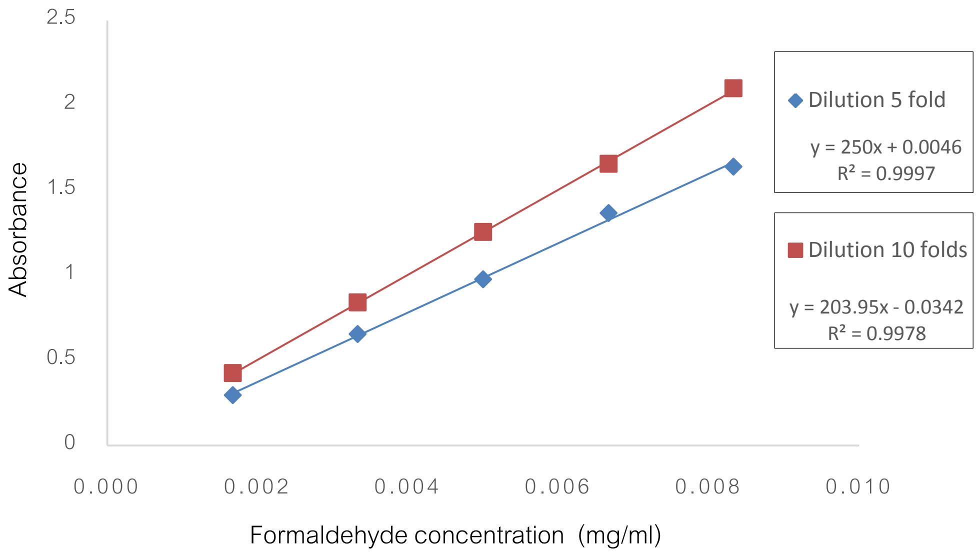


Figure 3 Calibration curve of formaldehyde in water series dilution.

4. ทวนสอบวิธีการวิเคราะห์ที่ปรับปรุง

การตรวจวัดปริมาณไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์ที่สามารถแพร่ผ่านจากกระดาษมาสู่อาหาร ปรับวิธีการทดลองด้วยการเตรียมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ในเอทานอล และเพิ่มขั้นตอนการเจือจางสารสกัดด้วยน้ำกลั่นในระดับที่เหมาะสมตามข้อ 3.2 ผลการวิเคราะห์ไมเกรชันของฟอร์มาลดีไฮด์พบว่าฟอร์มาดีไฮด์สามารถแพร่มาสู่อาหารจำลองในการทดสอบร้อยละ 40-52 และอีกส่วนยังคงค้างอยู่ในเนื้อกระดาษ เนื่องจากโครงสร้างของกระดาษมีลักษณะเป็นรูพรุนทำให้สารโมเลกุลขนาดเล็กอย่างฟอร์มาลดีไฮด์อาจติดหรือตกค้างในโครงสร้างของเนื้อกระดาษได้ ทำให้มีความแตกต่างกันของของการเกิดไมเกรชันในแต่ละระดับความเข้มข้นที่เจตนาเติมลงไปแสดงในตารางที่ 3

Table 3 Amount of migrating formaldehyde at different spiking concentrations.

Replication	Spiking concentration					
	1 fold			5 folds		
	Amount of formaldehyde in Paper (mg/dm2)	Amount of formaldehyde in Tenax (mg/dm2)	% Migration of formaldehyde	Amount of formaldehyde in Paper (mg/dm2)	Amount of formaldehyde in Tenax (mg/dm2)	% Migration of formaldehyde
1	0.6255	0.5792	52.30	3.9028	2.5181	44.71
2	0.6988	0.5476	50.39	3.9028	2.3810	42.28
3	0.6979	0.5434	50.00	3.5993	2.3624	41.95
4	0.6979	0.5391	49.61	3.5824	2.3439	41.62
5	0.7072	0.5127	47.18	3.8817	2.2289	39.58
Ave	0.6855	0.5444	50.10	3.7738	2.3669	42.02
SD	0.0338	0.0237	2.19	0.1673	0.1033	1.83

สรุป

จากการศึกษาเพื่อปรับปรุงวิธีการใช้ TENAX® สำหรับดูดซับสารฟอร์มาลดีไฮด์ในระหว่างการทดสอบไมเกรชันต้องทำการปรับความมีขั้วที่แตกต่างกันระหว่างสารที่สนใจและอาหารจำลอง โดยการลดความมีขั้วในตัวทำละลายของสาร และใช้สภาวะการเจือจางของสารสกัดตัวอย่างให้อัตราส่วนของน้ำและเอทานอลที่เหมาะสมสำหรับการเกิดปฏิกิริยาของฟอร์มาลดีไฮด์และเพนเทน-2,4-ไดออน (pentane-2,4-dione) ในสภาวะที่มีแอมโมเนียมแอซีเตตเพื่อตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ดีที่สุดและวิเคราะห์ปริมาณไมแกรนท์ของสารที่แพร่จากกระดาษมาสู่อาหารได้ ผลงานวิจัยนี้เป็นประโยชน์ในการนำไปปรับปรุงวิธีการหาไมเกรชันของสารที่มีขั้วและต้องใช้อาหารจำลองที่ไม่มีขั้ว

เอกสารอ้างอิง

CEN. 2001. **Paper and board intended to come into contact with foodstuffs – Determination of formaldehyde in an aqueous extract.** EN 1541.

CEN. 2003. **Paper and board intended to come into contact with foodstuffs- Conditions for determination of migration from paper and board using modified polyphenylene oxide (MPPO) as a simulant.** EN 14338.

Council of Europe (CoE). 2002. Resolution ResAP 1 **on paper and board materials and articles intended to come into contact with foodstuffs.** Adopted by the Committee of Ministers on 18 September 2002. Version 4 – 12.02.2009. Available Source: www.coe.int, April 4, 2011.

Direction Générale de la Concurrence, **de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) Note d'information n°2004-64: Matériaux au contact des denrées alimentaires. Paris**, le 06 Mai 2004. Available Source:http://www.contactalimentaire.com/fileadmin/ImageFichier_Archive/contact_alimentaire/Fichiers_Documents/Brochure_JO/Note_2004_64_anglaise/NI2004-64-Version_anglaise_corrigee.pdf, November 20, 2009.

Federal Institute for Risk Assessment (BfR). 2007. **XXXVI. Paper and board for food contact. As of 01.06.2007.** Available Source: http://bfr.zadi.de/kse/faces/DBEmpfehlung_en.jsp, May 12, 2008.

Regulation (EC) No 1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004 **on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC.** Official Journal of the European Union. OJ L 338, 13.11.2004: 14-16.

Susanta Banerjee. 2015. **Handbook of Specialty Fluorinated Polymers Preparation Properties and Applications.** New York: William Andrew Publication.

ผลของการบรรจุแบบแอ็กทิฟต่อคุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์

Effect of Active Packaging on Quality of Flavor-shredded Straw Mushroom (*Volvarilla volvacea*)

จรรยา วังนิยม[1] นันทนา ศรีจันทึก[1] และ **จุฬารัตน์ หงส์วลีรัตน์**[1*]

Chanya Wangniyom[1], Nanthana Srichanthuek[1] and Chularat Hongvaleerat[1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และสารดูดซับออกซิเจนต่อคุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์ โดยผ่าแบ่งครึ่งเห็ดฟางบานตามความยาว ต้มในน้ำปรุงรส 15 นาที และผ่าตามความยาวอีกครั้งก่อนนำไปทอดแบบน้ำมันท่วมที่ 160 องศาเซลเซียส 5 นาที อบที่ 50 องศาเซลเซียสจนมีความชื้นร้อยละ 5-6 (จรรยา วังนิยม, นันทนา ศรีจันทึก และจุฬารัตน์ หงส์วลีรัตน์, 2555) บรรจุในถุงโพลิโพรพิลีน (OPP) และถุงโพลีเอธิลีนความหนาแน่นสูง (HPDE) ร่วมกับสารดูดซับออกซิเจน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและคุณภาพด้านจุลินทรีย์ พบว่าเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุง OPP มีค่า TBARs ค่า a_w และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราต่ำกว่าเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุง HDPE และการใช้สารดูดซับออกซิเจนร่วมกับบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด ช่วยทำให้ค่า TBARs ค่า a_w จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรามีค่าต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับบรรจุภัณฑ์ที่ไม่ได้ใช้สารดูดซับออกซิเจน

ABSTRACT

The objective of this research was to study the effects of packaging type and oxygen absorber on the quality of flavor-shredded straw mushroom and the consumer preference. The straw mushroom was cut into half and boiled in a flavored sauce for 1 5 min. After boiling, the flavored mushroom was cut into half again, deep fried at 160 °C for 5 min and dried at 50°C until the moisture content of flavor-shredded straw mushroom was 5-6 % (Chanya Wangniyom, Nanthana Srichanthuek, and Chularat Hongvaleerat). Two type of plastic bags: oriented polypropylene (OPP) and high density polyethylene (HPDE) were used, and also cooperated with oxygen absorber. All products were kept at room temperature for 4 weeks and taken out at the specified period for chemical analysis and microbial count. The results showed that the products packed in OPP resulted in lower TBARs, a_w, and microbial count than those packed in HDPE. Using oxygen absorber resulted in the decrease of TBARs, a_w, and microbial count of flavor-shredded straw mushroom packed in both packages.

Key Words: flavor-shredded straw mushroom, active packaging, oxygen absorber

* Corresponding author; e-mail address: chularat@buu.ac.th

[1] ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

[1] Department of Food Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

คำนำ

เห็ดฟาง (Straw mushroom) ที่ดอกยังตูมหรือในระยะรูปไข่ (egg stage) มีราคาสูงเนื่องจากมีลักษณะเหมาะสมต่อการบริโภค ส่วนเห็ดฟางในระยะดอกบานเต็มที่ (mature stage) ราคาจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งหรือต่ำกว่า จึงมีการนำเห็ดฟางมาแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่เห็ดฟางในระยะดอกบานเต็มที่ (ประสาน ยิ้มอ่อน, 2549) เช่น เห็ดฟางสวรรค์ (จรรยา วังนิยม, นันทนา ศรีจันทึก และจุฬารัตน์ หงส์วลีรัตน์, 2555)

เห็ดสวรรค์เป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้เห็ดนางฟ้าในการแปรรูป มีลักษณะเป็นเส้นเล็กยาวประมาณ 5-6 เซนติเมตร รสชาติหวานและเค็ม อย่างไรก็ตามพบว่าผลิตภัณฑ์เห็ดสวรรค์ที่วางจำหน่ายทั่วไปเก็บรักษาได้ไม่นานเนื่องจากเกิดกลิ่นหืน ซึ่งสาเหตุหนึ่งมาจากการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์และวิธีการบรรจุที่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และสารดูดซับออกซิเจนต่อคุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์ในระหว่างการเก็บรักษา

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเห็ดฟางสวรรค์

นำเห็ดฟางที่อยู่ในระยะบานเต็มที่ ความยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตรและเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-2 เซนติเมตร มาล้างทำความสะอาดและผ่าครึ่งตามยาว จากนั้นนำเห็ดฟางมา 2,000 กรัม ต้มในน้ำปรุงรสแบบไม่ปิดฝาหม้อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที น้ำปรุงรสประกอบด้วยน้ำตาลทรายขาว 180 กรัม พริกไทยขาวป่น 10 กรัม กระเทียมสับ 50 กรัม ซีอิ๊วขาว 35 กรัม เกลือ 3 กรัม และน้ำ 600 กรัม (นุดี เปาทอง , 2544) จากนั้นนำเห็ดฟางครึ่งซีกที่ปรุงรสแล้วมาสะเด็ดน้ำก่อนประมาณ 1 นาที โดยพักไว้บนตะแกรง ผ่าครึ่งตามยาวอีกครั้งแล้วนำไปทอดในเครื่องทอดควบคุมอุณหภูมิที่ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที อัตราส่วนของน้ำมันปาล์มต่อเห็ดฟางปรุงรส คือ 3:1 (จริยา สุขจันทรา และกามีละห์ หะมะ, 2551) เปลี่ยนน้ำมันใหม่ทุกครั้ง หลังจากทอดแล้วซับด้วยกระดาษซับน้ำมันให้แห้ง และนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนให้เหลือปริมาณความชื้นประมาณ 5-6 เปอร์เซ็นต์ (สำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) โดยใช้อุณหภูมิในการอบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส

การศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และสารดูดซับออกซิเจนต่อคุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomize Design; CRD) โดยนำเห็ดฟางสวรรค์มาบรรจุในถุงพลาสติก 2 ชนิด คือ ถุงโพลีเอธิลีนชนิดความหนาแน่นสูง (High Density Polyethylene: HDPE) และถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน (Oreinted Polypropylene: OPP) ขนาด 6*9 นิ้ว โดยนำถุงโพลีเอธิลีนชนิดความหนาแน่นสูง (HDPE) และถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน (OPP) บรรจุเห็ดฟางสวรรค์ 200 กรัม พร้อมถาดพลาสติกและสารดูดซับออกซิเจน และถุงโพลีเอธิลีนชนิดความหนาแน่นสูง (HDPE) และถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน (OPP) บรรจุเห็ดฟางสวรรค์ 200 กรัม พร้อมถาดพลาสติกแต่ไม่ต้องบรรจุสารดูดซับออกซิเจนเป็นตัวอย่างควบคุม ปิดผนึกถุงด้วยความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สุ่มตัวอย่างตรวจทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

การวิเคราะห์คุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์ระหว่างการเก็บรักษา

วิเคราะห์ค่ากรดไทโอบาร์บิทิวริก (TBARs) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Jayasingh และ Cornforth (2003) ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่า a_w (Novasina, Thermoconstanter TH 200) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา (AOAC, 1990) และทดสอบความชอบของผู้บริโภคด้วย 9-point hedonic scale โดยมีผู้ทดสอบจำนวน 30 คน

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomize Design; CRD) วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของบรรจุภัณฑ์และสารดูดซับออกซิเจน (Oxygen Absorber) **ต่อคุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์ในระหว่างการเก็บรักษา**

ค่ากรดไทโอบาร์บิทิวริก (TBARs)

จากการวิเคราะห์ค่ากรดไทโอบาร์บิทิวริก (TBARs) ของผลิตภัณฑ์เห็ดฟางสวรรค์ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังแสดงใน Table 1 พบว่า ชนิดของบรรจุภัณฑ์ร่วมกับการใช้สารดูดซับออกซิเจนมีผลต่อค่ากรดไทโอบาร์บิทิวริก (TBARs) ของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Table 1 TBARs of flavor-shredded straw mushroom packed in PP bags and HDPE bags with or without oxygen absorber and stored at room temperature during 4 weeks

Packaging types	TBARs (mg malonaldehyde)			
weeks	1	2	3	4
OPP	0.90 ± 0.02^{b}	1.03 ± 0.01^{b}	1.11 ± 0.02^{b}	1.30 ± 0.02^{bc}
HDPE	0.95 ± 0.02^{a}	1.07 ± 0.02^{a}	1.15 ± 0.02^{a}	1.35 ± 0.01^{a}
OPP+O_2 absorber	0.90 ± 0.01^{b}	1.02 ± 0.02^{b}	1.10 ± 0.02^{b}	1.28 ± 0.01^{c}
HDPE+O_2 absorber	0.92 ± 0.02^{ab}	1.04 ± 0.02^{b}	1.13 ± 0.01^{ab}	1.31 ± 0.02^{b}

$^{a-d}$ Values within a column followed by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงชนิดโพลิโพรพิลีน (OPP) ร่วมกับการใช้สารดูดซับออกซิเจน มีค่า TBARs ต่ำที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และค่า TBARs เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา นอกจากนั้นยังพบว่าเห็ดฟางสวรรค์ในถุงทั้งสองชนิดที่มีการใช้สารดูดซับออกซิเจนมีค่า TBARs น้อยกว่าถุงที่ไม่ใช้สารดูดซับออกซิเจนร่วมด้วย เนื่องจากกลิ่นหืนเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันซึ่งมีความชื้นและออกซิเจนเป็นปัจจัยเร่ง การใช้สารดูดซับออกซิเจนร่วมด้วยจึงช่วยดูดซับออกซิเจนไปบางส่วน เมื่อปริมาณออกซิเจนในถุงลดลงปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจึงเกิดขึ้นได้ช้า ทำให้ชะลอการเกิดกลิ่นหืนได้ (งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2550; Kochhar, 1996)

ค่า Water activity (a_w)

จากการวิเคราะห์ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์เห็ดฟางสวรรค์ซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังแสดงใน Table 2 พบว่า ชนิดของบรรจุภัณฑ์ร่วมกับการใช้สารดูดซับออกซิเจนมีผลต่อค่า a_w ของผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

Table 2 a_w of flavor-shredded straw mushroom packed in PP bags and HDPE bags with or without oxygen absorber and stored at room temperature during 4 weeks

Packaging types		a_w			
	weeks	1	2	3	4
OPP		0.43 ± 0.01^{c}	0.56 ± 0.01^{b}	0.56 ± 0.01^{c}	0.63 ± 0.01^{b}
HDPE		0.49 ± 0.01^{b}	0.60 ± 0.00^{a}	0.63 ± 0.00^{a}	0.66 ± 0.01^{a}
OPP+O_2 absorber		0.49 ± 0.01^{b}	0.53 ± 0.00^{c}	0.53 ± 0.01^{d}	0.54 ± 0.01^{d}
HDPE+O_2 absorber		0.51 ± 0.01^{a}	0.57 ± 0.01^{b}	0.60 ± 0.00^{b}	0.60 ± 0.00^{c}

$^{a-d}$ Values within a column followed by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงโพลิโพรพิลีน (OPP) ถุงโพลีเอธิลีนความหนาแน่นสูง (HPDE) และถุงทั้งสองชนิดที่มีการใช้สารดูดซับออกซิเจนร่วมด้วย มีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.43 – 0.66 โดยพบว่า ในสัปดาห์ที่ 1 ของการเก็บรักษามีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.43 – 0.51 ในสัปดาห์ที่ 2 มีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.56 – 0.60 ในสัปดาห์ที่ 3 มีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.53 – 0.63 และในสัปดาห์ที่ 4 มีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.54 – 0.66 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่า a_w เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงโพลิโพรพิลีน (OPP) ร่วมกับการใช้สารดูดซับออกซิเจนมีค่า a_w เพิ่มขึ้นน้อยกว่าเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงชนิดอื่นและมีค่า a_w ต่ำกว่าร้อยละ 0.6 ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดให้ผลิตภัณฑ์มีค่า a_w ไม่เกินร้อยละ 0.6 เนื่องจากถุงชนิดโพลิโพรพิลีน (OPP) มีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีกว่าถุงชนิดโพลี เอธิลีนความหนาแน่นสูง (HPDE) จึงส่งผลให้ค่า a_w มีค่าต่ำกว่า (สุภาวิณี แสนทวีสุข และอรทิชา สอนสุภาพ, 2545)

การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์และรา

จากผลการทดลอง (Table 3 และ 4) แสดงให้เห็นว่าเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงชนิดโพลิโพรพิลีน (OPP) มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์และราน้อยกว่าเห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงชนิดโพลีเอธิลีนความหนาแน่นสูง (HDPE) เนื่องจากถุงชนิดโพลิโพรพิลีน (OPP) มีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดีกว่าถุงชนิดโพลีเอธิลีนความหนาแน่นสูง (HDPE) ซึ่งทำให้ภายในถุงมีสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์และรา นอกจากนั้นยังพบว่าเมื่อใช้ถุงทั้ง 2 ชนิดร่วมกับสารดูดซับออกซิเจนพบว่า มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์และราน้อยกว่าถุงที่ไม่ได้ใช้ร่วมกับสารดูดซับออกซิเจน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าถุงที่ใช้ร่วมกับสารดูดซับออกซิเจนมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ยีสต์และราเพิ่มขึ้นช้ากว่าถุงที่ไม่ได้ใช้สารดูดซับออกซิเจนร่วมด้วย โดยสามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของความชื้นและค่า a_w ภายในถุงได้ ซึ่งทั้งออกซิเจนและความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร (งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2550) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงทุกชนิดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มเป็น 3.01-3.18 log cfu.g^{-1} ซึ่งมากกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (เห็ด

ปรุงรสพร้อมบริโภค) ที่กำหนดให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 3 log $cfu.g^{-1}$ และมีจำนวนยีสต์และราเกินมาตรฐาน ซึ่งกำหนดให้ต้องไม่เกิน 2 log $cfu.g^{-1}$ (สำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์เห็ดฟางสวรรค์มีอายุการเก็บรักษา 2 สัปดาห์

Table 3 Total plate count of flavor-shredded straw mushroom packed in PP bags and HDPE bags with or without oxygen absorber and stored at room temperature during 4 weeks

Packaging types	Total plate count (log $cfu.g^{-1}$)			
weeks	1	2	3	4
OPP	2.29	2.48	2.70	3.17
HDPE	2.52	2.69	2.78	3.18
OPP+O_2 absorber	2.12	2.37	2.37	3.01
HDPE+O_2 absorber	2.12	2.38	2.38	3.10

Table 4 Yeast and mold counts of flavor-shredded straw mushroom packed in PP bags and HDPE bags with or without oxygen absorber and stored at room temperature during 4 weeks

Packaging types	Yeast and mold counts (log $cfu.g^{-1}$)		
weeks	1	2	3
OPP	0	0	2.17
HDPE	0	0	2.19
OPP+O_2 absorber	0	0	2.16
HDPE+O_2 absorber	0	0	2.17

สรุป

ผลิตภัณฑ์เห็ดฟางสวรรค์ที่บรรจุในถุงชนิดโพลิโพรพิลีน (OPP) ร่วมกับสารดูดซับออกซิเจนเกิดกลิ่นหืนน้อยที่สุด (ค่า TBA ต่ำที่สุด) อย่างไรก็ตามเห็ดสวรรค์ทุกทรีตเมนต์สามารถเก็บรักษาได้เป็นเวลาเท่ากันคือ 2 สัปดาห์เมื่อพิจารณาจากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา

เอกสารอ้างอิง

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2550. **การบรรจุอาหาร.** เอส.พี.เอ็ม.การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

จริยา สุขจันทรา และกามีละห์ หะมะ. 2551. ผลของน้ำมันที่ใช้ทอดต่อคุณภาพของกล้วยหินฉาบ. **วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา** 3(1): 11-18.

จรรยา วังนิยม, นันทนา ศรีจันทึก และจุฬารัตน์ หงส์วลีรัตน์. 2555. ผลของเวลาในการต้มและอุณหภูมิในการทอดต่อคุณภาพของเห็ดฟางสวรรค์, น.216-223. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร).** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นุดี เปาทอง. 2544. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์เห็ดหยองจากเห็ดนางฟ้า.** ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประสาน ยิ้มอ่อน. 2549. **การเพาะเห็ด.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์.

สุภาวิณี แสนทวีสุข และ อรทิชา สอนสุภาพ. 2545. **การพัฒนาบรรจุภัณฑ์เพื่อรักษาคุณภาพข้าวเกรียบมันเทศทอด.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเห็ดปรุงรสพร้อมบริโภค เลขที่ มผช.303/2547.** เข้าถึงได้จาก http://app.tisi.go.th/otop/pdf_file/tcps303_47.pd

AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis.** 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Jayasingh P. and Cornforth D.P. 2003: Comparison of antioxidant effects of milk mineral, butylated hydroxytoluene and sodium tripolyphosphate in raw and cooked ground pork. **Meat Science**, 66: 83–89

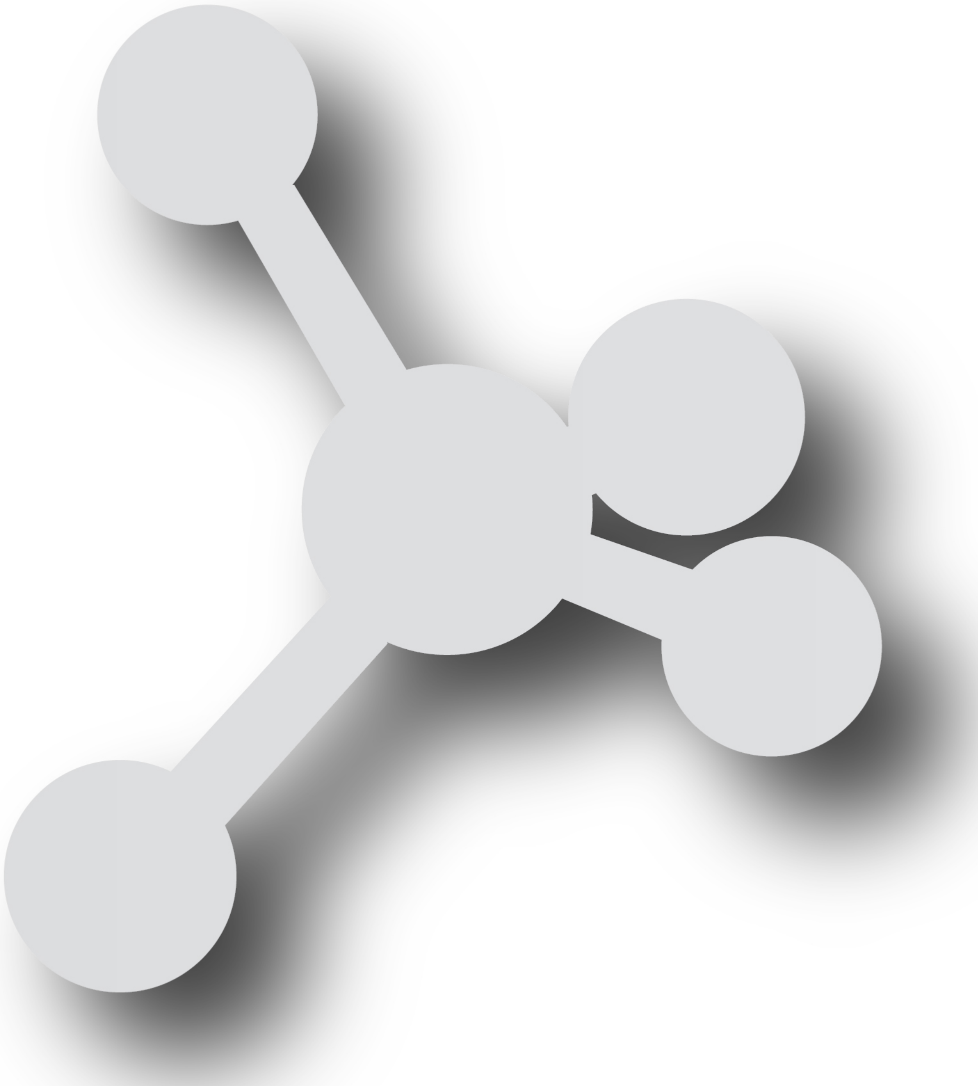
Kochhar, S.P. 1996. Oxidative pathway to the formation of off-flavours. In: Saxby MJ, editor. **Food taints and off-flavours.** Blackie academic and professional, Glasgow.

สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

Subject: Natural Resources and Environment

ภาคบรรยาย

Oral Presentation



ความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นและรูปแบบการใช้ประโยชน์แต่ละสังคมพืช ป่าชุมชนบ้านต้นต้อง ตำบลพิชัย อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง

Tree Species Diversity and Utilization Pattern of Each Plant Community in Ban Ton Tong Community Forest, Tambon Phichai, Amphur Mueang, Lampang Province

ราวิน รักนา[1*] พสุธา สุนทรห้าว[1] และ นิตยา เมี้ยนมิตร[1]

Rawin Rakna[1*], Pasuta Sunthornhao[1] and Nittaya Mianmit[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นและรูปแบบการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้นพร้อมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของสังคมพืชบางประการต่อการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้นของชุมชน โดยใช้แปลงตัวอย่างขนาด 40 x 40 ตารางเมตร จำนวน 12 แปลง เพื่อศึกษาลักษณะสังคมพืช

จากการศึกษา พบไม้ยืนต้น 91 ชนิด จาก 47 วงศ์ ความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 181 ต้นต่อไร่ ดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์เฉลี่ยเท่ากับ 3.27 ปริมาตรไม้ทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 16.77 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ ชนิดพรรณไม้ที่มีความโดดเด่น 5 อันดับแรก ได้แก่ รัง ยมหิน ประดู่ป่า เต็ง และกระพี้จั่น โดยมีค่าดัชนีความสำคัญทางนิเวศ เท่ากับ ร้อยละ 33.05, 29.79, 21.66,14.01 และ13.33 ตามลำดับ และพบการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้นเพื่อยังชีพ 5 รูปแบบหลักได้แก่ ไม้ใช้สอย ไม้ฟืน พืชอาหาร สมุนไพร และเส้นใย และพบว่าพื้นที่ตอนล่างมีการใช้ประโยชน์มากที่สุด สืบเนื่องมาจากปัจจัยด้านระยะทางที่ไม่ห่างจากชุมชน และผลการทดสอบความสัมพันธ์ พบว่าค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นมีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกกับการใช้ประโยชน์รูปแบบไม้ฟืน (r =0.871) และรูปแบบไม้ใช้สอย(r =0.864)

ABSTRACT

This study aimed to investigate the diversity of species and woody perennials utilization patterns and study the relationship between the characteristics of plant some perennials to take full advantage of the community. The sample size of 40 x 40 square meter plot of 12 to study vegetation.

The study found 91 tree species from 47 families at an average density of 181 trees per rai. Species diversity index average of 3.27 and an average volume of 16.77 cubic meters of per rai. The finding indicated 5 pattern of tree utilization such as instructing wood, fuel wood, food, medicinal plants, and fiber which their highest utilization in lower area site due to the distance not far from the village. The correlation test indicated the tree species diversity were correlated positively with fuel wood (r = 0.871) and constructing wood (r = 0.864).

Key words: tree species diversity, community forest, forest utilization

*Corresponding author; e-mail address: Rawin.khongbang@gmail.com

[1]ภาควิชาการจัดการป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Forest Management, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนส่งผลให้พื้นที่ส่วนใหญ่ของประเทศมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ปัจจุบันประชากรบางส่วนของประเทศมีการตั้งถิ่นฐานอยู่รอบพื้นที่ป่าเพื่ออาศัยทรัพยากรป่าไม้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตปัจจัยพื้นฐานเพื่อการดำรงชีพ ความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการพึ่งพิงของชุมชน ดังนั้นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของสังคมพืชต่อรูปแบบการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้นของชุมชนจึงมีความสำคัญในการวางแผนบริหารจัดการทรัพยากรป่าไม้ในป่าชุมชนที่มีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ เช่น องค์ประกอบของชนิดพันธุ์ไม้ ความหนาแน่นของหมู่ไม้ และปริมาตรไม้ เป็นต้น โดยอาศัยข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้เป็นฐานข้อมูลในการกำหนดแนวการบริหารจัดการร่วมกับชุมชน

โดยผู้ศึกษามีความคาดหวังว่าผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการดูแลรักษาปลูกเสริมด้วยชนิดพันธุ์ไม้ที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่และความต้องการของชุมชน ตลอดทั้งพัฒนาแผนบริหารจัดการป่าชุมชนอย่างยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่ศึกษา

ดำเนินการศึกษาในพื้นที่ป่าชุมชนบ้านต้นต้อง ตำบลพิชัย อำเภอเมือง จังหวัดลำปางตั้งอยู่ในเขตป่าสงวนแห่งชาติแม่ยางและป่าแม่อาย มีลักษณะทางด้านนิเวศเป็นป่าผสมผลัดใบ ครอบคลุมพื้นที่ 1,500 ไร่ มีลักษณะภูมิประเทศเป็นที่ราบสลับกับเนินเขาที่มีความลาดชันเล็กน้อย

การเก็บรวบรวมข้อมูล

1. สำรวจชุมชนโดยใช้แบบสอบถาม (questionnaire) เพื่อเก็บข้อมูลพื้นฐานด้านเศรษฐกิจสังคมและการใช้ประโยชน์ทรัพยากรป่าไม้ มีขั้นตอนดังนี้

1.1 สร้างแบบสอบถามโดยศึกษาจากตำรา เอกสาร และวิทยานิพนธ์ที่เกี่ยวข้อง นำแบบสอบถามที่สร้างขึ้นไปปรึกษาผู้เชี่ยวชาญและคณาจารย์ ที่ปรึกษา และปรับปรุงแก้ไข เพื่อความสมบูรณ์และถูกต้อง

1.2 ทำการสัมภาษณ์ประชากรที่ใช้ประโยชน์จากป่าโดยตรง จำนวน 98 ครัวเรือน จากจำนวนประชากรทั้งหมด 348 ครัวเรือน ซึ่งถือว่าเป็นผู้ให้ข้อมูลหลัก (key informants) โดยการเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (purposive sampling)

2. การศึกษาลักษณะนิเวศบางประการในป่าชุมชน โดยทำการสำรวจป่าอย่างมีส่วนร่วมกับสมาชิกภายในชุมชน (participatory forest inventory) มีขั้นตอนดังนี้

2.1 คัดเลือกพื้นที่วางแปลงตัวอย่าง โดยการประชุมกลุ่มกับคณะกรรมการป่าชุมชน มีข้อมูลการศึกษาเบื้องต้นและภาพถ่ายดาวเทียมที่ครอบคลุมพื้นที่ศึกษา แล้วทำการแบ่งพื้นที่จุดสำรวจโดยใช้ลักษณะภูมิประเทศตามชั้นความสูงของระดับน้ำทะเล แบ่งพื้นที่ป่าชุมชนออกเป็น 3 ชั้น คือ ตอนล่าง (lower basin) ความสูงประมาณ 300-400 เมตร ตอนกลาง (middle basin) ความสูงประมาณ 401-500 เมตร และตอนบน (upper basin) ความสูงประมาณ 501-600 เมตร และทำการวางแปลงตัวอย่างถาวรขนาด 40x40 เมตร จำนวนชั้นละ 4 แปลงทั้งสามพื้นที่ ดังใน Figure 1

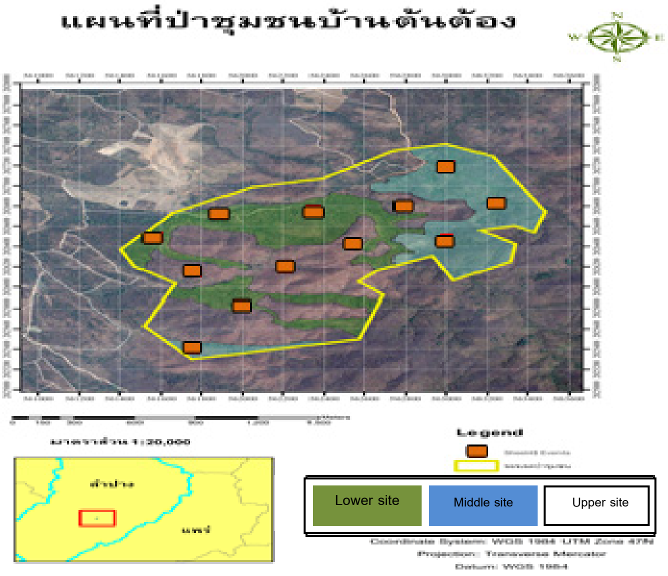


Figure 1 Ban Ton Tong community forest as study area categorize site by elevation.

2.2 เก็บข้อมูลในแปลงตัวอย่างถาวรขนาด 40 x 40 ตารางเมตร โดยแต่ละแปลงได้ทำการแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 10x10 ตารางเมตร ทำการวัดขนาดความโตที่ระดับความสูงเพียงอกของไม้ยืนต้นที่มีขนาดความโตตั้งแต่ 15 เซนติเมตรขึ้นไป และวัดความสูงโดยเครื่องมือวัดความสูงของต้นไม้ (Suunto Tandem) พร้อมทั้งบันทึกชนิดพันธุ์และเก็บตัวอย่างพืชที่ไม่ทราบชนิดเพื่อนำมาจำแนก โดยเทียบกับตัวอย่างที่หอพรรณไม้ กรมป่าไม้

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์สภาพเศรษฐกิจสังคม และข้อมูลพื้นฐานด้วยวิธีการพรรณา

2. วิเคราะห์รูปแบบการใช้ประโยชน์ป่าชุมชน ด้วยวิธีการแจกแจงความถี่ และการจัดเรียงลำดับ (grouping and ranking) ตามความเหมือนและต่าง โดยการจัดอันตรภาคชั้นค่าความสำคัญในแต่ละรูปแบบการใช้ประโยชน์ ทั้งสามพื้นที่

3. การวิเคราะห์ลักษณะนิเวศบางประการของสังคม และดัชนีความสำคัญของพันธุ์ไม้ (important value index: IVI) (Krebs, 1985)

4. วิเคราะห์ความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ โดยใช้สูตรการคำนวณ (Shannon and Weaver, 1949) ดัชนีความสำคัญ = ค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ + ค่าความถี่สัมพัทธ์ + ค่าความเด่นสัมพัทธ์

5. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นกับรูปแบบการใช้ประโยชน์ด้วยการทดสอบค่าความสัมพันธ์ทางสถิติ โดยใช้การวิเคราะห์ด้วยวิธี Pearson Correlation

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลักษณะทางนิเวศบางประการและรูปแบบการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้น

จากการศึกษาพบว่า ป่าชุมชนบ้านต้นต้องมีชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้น 91 ชนิด จำแนกเป็น 47 วงศ์ มีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 181 ต้นต่อไร่ ชนิดพรรณไม้ที่มีความโดดเด่น 5 อันดับแรก ได้แก่ รัง ยมหิน ประดู่ป่า เต็ง และกระพี้จั่น โดยมีค่าดัชนีความสำคัญทางนิเวศ เท่ากับ ร้อยละ 33.05, 29.79, 21.66, 14.01, และ13.33 ตามลำดับ

การใช้ประโยชน์ป่าของชุมชน พบว่ามีการใช้ประโยชน์ 5 รูปแบบหลัก โดยมีการใช้ประโยชน์ด้านพลังงานหรือไม้ฟืนมากที่สุด เป็นจำนวน 85 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 93.40 ของจำนวนชนิดไม้ที่พบในพื้นที่ทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ การใช้ประโยชน์ด้านไม้ใช้สอยเพื่อซ่อมแซมบ้านเรือนและอุปกรณ์เครื่องใช้ จำนวน 76 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 83.50 ด้านพืชสมุนไพร จำนวน 38 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 41.75 ด้านอาหาร จำนวน 37 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 40.65 และด้านเส้นใยหรือสิ่งทอ จำนวน 6 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 6.59 ตามลำดับ และสามารถจำแนกลักษณะการใช้ประโยชน์ตามส่วนประกอบของไม้ยืนต้นได้แก่ ใบ ดอก ผล ลำต้น เปลือก ราก พบว่ามีการใช้ประโยชน์จากลำต้นของไม้ยืนต้นมากที่สุด เป็นจำนวน 88 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 96.70 รองลงมา ได้แก่ การใช้ประโยชน์ส่วน ผล ใบ ดอก เปลือก และราก โดยมีจำนวน 21, 14, 14, 10 และ 4 ชนิดตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 23.07, 15.38, 15.38, 10.98 และ 4.39 ตามลำดับ

การศึกษาลักษณะของสังคมพืชในพื้นที่ตอนล่างพบว่าพันธุ์ไม้ยืนต้น 68 ชนิดพันธุ์ไม้ที่มีค่าดัชนีความสำคัญ 3 อันดับแรกได้แก่ สาธร (*Millettia leucantha*) มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 29.05 รองลงมาได้แก่ กระพี้จั่น (*Dalbergia paniculata* Roxb.) มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 20.50 และประดู่ป่า (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz.)มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 18.78 ตามลำดับ โดยมีการใช้ประโยชน์ด้านพลังงานหรือไม้ฟืนมากที่สุด เป็นจำนวน 62 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 91.18 ของจำนวนชนิดไม้ที่พบในพื้นตอนล่าง

พื้นที่ตอนกลางพบพันธุ์ไม้ยืนต้น 53 ชนิด พันธุ์ไม้ที่มีค่าดัชนีความสำคัญ 5 อันดับแรก ได้แก่ รัง (*Shorea siamensis* Miq.) มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 57.12 รองลงมาได้แก่ ประดู่ป่า (*Pterocarpus macrocarpus* Kurz.) มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 27.47 และยมหิน (*Chukrasia velutina* Wight & Am.)มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 25.62 ตามลำดับ โดยมีการใช้ประโยชน์ด้านไม้ใช้สอยเพื่อซ่อมแซมบ้านเรือน และด้านพลังงานหรือไม้ฟืนมากที่สุด เป็นจำนวน 48 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 90.57 ของจำนวนชนิดไม้ที่พบในพื้นตอนกลาง

พื้นที่ตอนบนพบพันธุ์ไม้ยืนต้น 53 ชนิด พันธุ์ไม้ที่มีค่าดัชนีความสำคัญ 3 อันดับแรกได้แก่ ยมหิน (*Chukrasia velutina* Wight & Am.) มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 65.07รองลงมา ได้แก่ กระพี้จั่น (*Dalbergia paniculata* Roxb.) มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 45.08 และมะกอกป่า (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz) มีค่าค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 17.77 ตามลำดับ โดยมีการใช้ประโยชน์ด้านพลังงานหรือไม้ฟืนมากที่สุด เป็นจำนวน 49 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 92.45 ของจำนวนชนิดไม้ที่พบในพื้นตอนบน ดัง Table 1

Table 1 Tree species diversity and utilization patterns of Ban Ton Tong community forest.

Utilization pattern	Study area	Number of species	Shannon -Wiener index (H)	Utilization
Wood	lower basin	54	3.42	79.41 %
	middle basin	48	2.76	90.57 %
	upper basin	46	2.87	86.79 %
	average	49	3.02	85.59 %
Fuelwood	lower basin	62	3.42	91.18 %
	middle basin	48	2.76	90.57 %
	upper basin	49	2.87	92.45 %
	average	53	3.02	91.18 %
Food	lower basin	28	3.42	41.18 %
	middle basin	24	2.76	45.28 %
	upper basin	22	2.87	41.51 %
	average	24	3.02	42.66 %
Herb	lower basin	29	3.42	42.65 %
	middle basin	24	2.76	45.28 %
	upper basin	22	2.87	41.51 %
	average	25	3.02	43.15 %
Fiber	lower basin	5	3.42	7.35 %
	middle basin	4	2.76	7.55 %
	upper basin	4	2.87	7.55 %
	average	4	3.02	7.48 %
Average Total		**31**	**3.02**	**54.06%**

จากผลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นในประเด็นดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ ซึ่งเป็นค่าที่มีความสัมพันธ์กับความเด่นของพันธุ์พืชในสังคมนั้น จากการคำนวณค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์โดยวิธี Shannon-Weaner’s index (H) พบว่า พื้นที่ศึกษาตอนล่าง มีค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ ในแปลงตัวอย่างมากที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นที่ศึกษาตอนกลาง และตอนบน โดยมีค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้เท่ากับ 3.42, 2.76 และ 2.87 ตามลำดับสอดคล้องกับการศึกษา Thanakorn (2012) ในพื้นที่หน่วยจัดการต้นน้ำขุนน้ำพริก อำเภอสองแคว จังหวัดน่าน พบว่า พื้นที่ตอนล่างของลุ่มน้ำมีค่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์สูงกว่าพื้นที่ตอนกลาง และพื้นที่ตอนบนของลุ่มน้ำ ตามแนวคิด ที่ว่าชนิดและความหลากหลายของพันธุ์พืชในระบบนิเวศสังคมพืชที่ใดที่หนึ่งนั้นมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องอยู่หลายประการ ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์พืชธรรมชาติประจำถิ่น และปัจจัยแวดล้อม (environmental factor) ที่มีอิทธิพลต่อพืช เช่น ปัจจัยทางอากาศ (climatic factor)

ปัจจัยดิน (edaphic factor) ปัจจัยทางภูมิประเทศ (topographic factor) และปัจจัยสิ่งมีชีวิต (biotic factor) ล้วนแล้วมีผลกระทบต่อพืชพันธุ์ที่ปกคลุมพื้นที่โดยตรง ซึ่งทำให้โครงสร้างสังคมพืชในแต่ละแห่งเปลี่ยนแปลงไป (U-tis, 1998)

กำลังผลิตและลักษณะทางนิเวศของป่าชุมชน

พบว่า ป่าชุมชนบ้านต้นต้องมีผลผลิตในส่วนของปริมาตรไม้ เฉลี่ยเท่ากับ 16.77 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ โดยในจำนวนนี้จำแนกออกเป็นไม้ใช้สอยเพื่อซ่อมแซมบ้านเรือนและอุปกรณ์เครื่องใช้เท่ากับ 11.57 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่และไม้ฟืนเท่ากับ 5.20 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ ของปริมาตรไม้ทั้งหมด และมีพื้นที่หน้าตัด เท่ากับ 2.69 ตารางเมตรต่อไร่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 12.17 เซนติเมตร และความสูงต้นไม้เฉลี่ยเท่ากับ 11.83 เมตร

เมื่อพิจารณาปริมาตรไม้โดยจำแนกตามพื้นที่ศึกษาพบว่า พื้นที่ศึกษาตอนบนมีปริมาตรไม้ในแปลงตัวอย่างมากที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นที่ศึกษาตอนกลาง และพื้นที่ตอนล่างของป่าชุมชนโดยมีปริมาตรไม้เท่ากับ 18.74, 15.76 และ 15.81 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ ตามลำดับ ในส่วนของขนาดความโตเฉลี่ยที่ความสูงเพียงอก (1.30 เมตร) และพื้นที่หน้าตัดเฉลี่ย พบว่า พื้นที่ศึกษาตอนบนมีขนาดความโต (DBH) เฉลี่ย มากที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นที่ศึกษาตอนล่าง และพื้นที่ตอนกลางของป่าชุมชน โดยมีค่า เท่ากับ 13.20, 11.40 และ 11.90 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีพื้นที่หน้าตัดเฉลี่ย เท่ากับ 2.99, 2.39 และ 2.67 ตารางเมตรต่อไร่ตามลำดับ ดังใน Table 2 ดังนั้นพื้นที่ตอนบนมีความเหมาะสมในการใช้ประโยชน์ด้านไม้ใช้สอยเพื่อซ่อมแซมบ้านเรือนและอุปกรณ์เครื่องใช้ มากที่สุดอันเนื่องมาจากในพื้นที่มีปริมาตรไม้สำรองสูงที่สุดพร้อมทั้งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์เฉลี่ยสูงที่สุด เนื่องจากชุมชนมีความต้องการไม้ยืนต้นขนาดเส้นผ่าศูนย์ระหว่าง 30-35 เซนติเมตรในการใช้ประโยชน์ด้านไม้ใช้สอย

Table 2 Yield and ecology characteristic of Ban Ton Tong Community Forest.

List	lower basin	middle basin	upper basin	Average
Volume(m^3/rai)	15.81	15.76	18.74	16.77
Average diameter (cm)	11.40	11.90	13.20	12.17
Average height (m)	10.50	13.00	12.00	11.83
Density (Trees/rai)	175.30	192.00	174.80	180.70
Basal Area (m^2/rai)	2.39	2.67	2.99	2.69

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นกับรูปแบบการใช้ประโยชน์

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ต่อรูปแบบการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้น ผลการศึกษาสามารถเรียงลำดับความสัมพันธ์จากมากไปน้อยดังนี้ ลำดับที่ 1 การใช้ประโยชน์ไม้ฟืนในครัวเรือนมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับรูปแบบการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้นในแต่ละด้าน ที่ระดับ 0.871 ในทิศทางบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.01 หรือ มีระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ในป่าชุมชน จะส่งผลให้การใช้ประโยชน์ไม้ฟืนในครัวเรือนของ

ชุมชนเพิ่มขึ้น ลำดับที่ 2 ได้แก่ ด้านไม้ใช้สอย ที่ระดับ 0.864 ลำดับที่ 3 ได้แก่ ด้านอาหาร ที่ระดับ 0.628 ลำดับที่ 4 ได้แก่ ด้านสมุนไพร ที่ระดับ 0.549 และลำดับที่ 5 ด้านเส้นใย ที่ระดับ 0.509 ดัง Table3 ทั้งนี้จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้ทราบอย่างชัดเจนว่าความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการใช้ประโยชน์ไม้ฟืนและไม้ใช้สอยเป็นหลัก และเพื่อความยั่งยืนของการใช้ประโยชน์ทั้งสองรูปแบบชุมชนควรมีการปลูกเสริมด้วยพันธุ์ไม้ ประดู่ป่า สัก ชิงชัน มะค่าโมง เก็ดดำ เก็ดแดง เต็ง และรัง ซึ่งเป็นพันธุ์ไม้ท้องถิ่นดั้งเดิมที่ตอบสนองตามต้องการของชุมชน และมีความเหมาะสมกับระบบนิเวศดั้งเดิมของป่าชุมชนบ้านต้นต้อง

Table 3 The correlation between utilization pattern tree species diversity.

Utilization pattern	Correlation	
Firewood	Pearson Correlation	0.871
	Sig. (2-tailed)	0**
Wood	Pearson Correlation	0.864
	Sig. (2-tailed)	0**
Food	Pearson Correlation	0.628
	Sig. (2-tailed)	0.029*
Herb	Pearson Correlation	0.549
	Sig. (2-tailed)	0.064
Fiber	Pearson Correlation	0.509
	Sig. (2-tailed)	0.091

* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

** Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

สรุป

จากการศึกษาความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้น และรูปแบบการใช้ประโยชน์แต่ละสังคมพืชในป่าชุมชนบ้านต้นต้อง พบว่า ความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้น บริเวณพื้นที่ศึกษาตอนล่างมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นที่ศึกษาตอนกลาง และพื้นที่ตอนบนของป่าชุมชน ส่งผลให้ชุมชนมีการใช้ประโยชน์จากไม้ยืนต้นในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกันตามลักษณะของสังคมพืช และพบว่าชุมชนมีการใช้ประโยชน์ ด้านไม้ฟืนมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 93.40 ของจำนวนชนิดพันธุ์ไม้ทั้งหมดในพื้นที่ป่าชุมชน และพิจารณาในแต่ละพื้นที่พบว่าพื้นที่ตอนล่างมีความเหมาะสมในการใช้ประโยชน์ด้านอาหารและสมุนไพรมากที่สุดอันเนื่องมาจากระยะทางในการเก็บหาที่ใกล้ชุมชน และจำนวนชนิดพันธุ์ไม้ที่ชุมชนมีความต้องการ พื้นที่ตอนกลางมีความเหมาะสมในการใช้ประโยชน์ด้านพลังงานหรือไม้ฟืนมากที่สุดอันเนื่องมาจาก พื้นที่ตอนกลางมีความหนาแน่นของหมู่ไม้ที่ชุมชนต้องการ ได้แก่ เก็ดดำ และกระพี้จั่น เพราะชนิดไม้ดังกล่าว มีความหนาแน่นของเนื้อไม้สูงส่งผลต่อระยะเวลาการเผาไหม้และให้ค่าความร้อนสูง และพื้นที่ตอนบนมีความเหมาะสมในการใช้ประโยชน์ด้านไม้ใช้สอยเพื่อซ่อมแซมบ้านเรือนและอุปกรณ์เครื่องใช้ มากที่สุดอันเนื่องมาจากในพื้นที่มีปริมาตรไม้สำรองสูงที่สุดพร้อมทั้งมีความหนาแน่นของหมู่ไม้ที่ชุมชนต้องการสูง ได้แก่ ประดู่ป่า เต็ง และรัง เพราะเนื้อไม้มีคุณภาพดี และพบว่าชุมชนมี

ความต้องการใช้ประโยชน์ไม้ยืนต้นขนาดเส้นผ่าศูนย์ระหว่าง 30-35 เซนติเมตร ซึ่งพบว่ามีจำนวนน้อยในพื้นที่ศึกษา ดั้งนั้นควรปลูกเสริมชนิดพันธุ์ไม้ที่ชุมชนมีความต้องการในบริเวณที่มีความหลากหลาย และความหนาแน่นของหมู่ไม้ต่ำ โดยยึดหลักการใช้พันธุ์ไม้ท้องถิ่น และพันธุ์ไม้ที่ชุมชนมีความต้องการใช้ประโยชน์ มาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกชนิดพันธุ์ไม้ในการปลูกเสริมในพื้นที่ป่าชุมชน เช่น พื้นที่ตอนกลาง และตอนบน ที่มีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้ต่ำโดยเฉพาะชนิดพันธุ์ไม้ที่มีการใช้ประโยชน์ ด้านอาหาร สมุนไพร และเส้นใย ควรมีการปลูกพันธุ์ไม้เสริมในพื้นที่ ได้แก่ พฤกษ์, ติ้ว, มะเกลือ และอ้อยช้าง ส่วนพื้นที่ตอนล่างที่มีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ไม้สูงแต่มีความหนาแน่นของพันธุ์ไม้ที่ชุมชนมีการใช้ประโยชน์ ด้านไม้ใช้สอยต่ำ ควรมีการปลูกพันธุ์ไม้ที่ชุมชนมีความต้องการ เช่น สัก ประดู่ป่า และมะค่า เป็นต้น ในพื้นที่ตอนล่างของป่าชุมชน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะกรรมการป่าชุมชนบ้านต้นต้อง ตำบลพิชัย อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง ห้องปฏิบัติการจัดการภูมิปัญญาป่าไม้ ภาควิชาการจัดการป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Krebs, C.J. 1985. **Ecology:Experimental Analysis of Distribution and Abundance.** 2rd ed. New York.

Thanakorn, L. 2012. **The Project of Forest Structure Characteristic and Plants Biodiversity at Head Watershed area Khun Nan Prik Watershed Management unit Song Kwae District, Nan Province**, Head Watershed area Khun Nan Prik Watershed Management unit, Protected Areas Regional Office 3, Phrae.

U-tis, K. 1998. **The basis of ecological forestry**, Faculty of forestry, Department of Forest Biology, Kasetsart University, Bangkok.

Shannon, C.E. and W.Weaner, 1949. **The Mathematical Theory of Communication Univ**, p. 50. Illinois Press, Urbana.

สังคมพืชไม้ป่าระยะเริ่มต้นพัฒนา ในพื้นที่ป่าชุมชนอนุรักษ์ 3 แห่ง จังหวัดปราจีนบุรีและจังหวัดสระแก้ว

Forest Plant Community in the Initiative Stage of Development at the Three Conserved-Community Forest Areas in Prachinburi Province and Sa Kaeo Province, Thailand

ปารีณา ธนโรจนกุล[1*] พฤทธิ์ ราชรักษ์[2] และ วิรงรอง ดวงใจ[1]

Pareena Thanarojanakul[1*], Phruet Racharak[2] and Wirongrong Duangjai[1]

บทคัดย่อ

พื้นที่ป่าชุมชนในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นสังคมป่าขั้นทุติยภูมิ ซึ่งเป็นป่าใหม่ที่มีการฟื้นตัวหลังจากถูกรบกวนทั้งภัยพิบัติทางธรรมชาติและกิจกรรมการใช้ประโยชน์ของมนุษย์ โดยเฉพาะป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้ง อำเภอประจันตคาม ป่าชุมชนบ้านท่าข่อย อำเภอกบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี และป่าชุมชนบ้านพร้าว อำเภอวัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว ซึ่งเป็นพื้นที่ตัวแทนในการศึกษาโครงสร้างและองค์ประกอบสังคมพืชไม้ป่าระยะเริ่มต้นพัฒนา ผลการสำรวจชี้ให้เห็นว่าป่าชุมชนอนุรักษ์ทั้ง 3 แห่ง มีโครงสร้างป่า 2 ชั้นเรือนยอด โดยมีความแตกต่างขององค์ประกอบสังคมพืชไม้ป่า ป่าชุมชนบ้านท่าข่อยมีความหลากหลายของชนิดไม้ทั้งหมู่ไม้หนุ่มและหมู่ไม้ใหญ่มากที่สุด ค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 2.41 และ 3.05 ตามลำดับ และพบว่าหมู่ไม้ใหญ่ในป่าชุมชนบ้านท่าข่อยและป่าชุมชนบ้านพร้าวมีความคล้ายคลึงของชนิดไม้มากที่สุด 32.48 %

ABSTRACT

Most of community forests in Thailand are covered by secondary forests, recovering after disturbances from natural disaster and human utilization activities. Especially, Ban Non Hin Phuang Community Forest in Prachanthakham District, Ban Tha Koi Community Forest in Kabinburi District of Prachiburi Province, and Ban Prao Community Forest in Wattananakorn District, Sakeaw Province were selected as the study areas to examine the structure and species composition of forest plant community in the initiative stage of development. Results of the survey indicated the two layered plant community structure with a different variety of plant species composition. Ban Tha Koi Community forest has the most diversity of plant species in both sapling stand and matured tree stand as 2.41 and 3.05, respectively. Regarding the similarity index, matured tree species between Ban Prao community forest and Ban Tha Koi Community forest are the most similar to each other with 32.48 percent.

Key words: forest plant community, secondary forest, conserved-community forest

*Corresponding author; e-mail address: ritkung11@gmail.com

[1]คณะวัฒนธรรมสิ่งแวดล้อมและการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ 10110

[1]Faculty of Environmental Culture and Ecotourism, Srinakharinwirot University, Bangkok 10110

[2]คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Faculty of Forestry, Kasetsart University Bangkok 10900

คำนำ

สังคมพืชเบิกนำคือ พรรณพืชกลุ่มแรกๆ ที่เข้ามายึดครองในพื้นที่ที่เกิดขึ้นมาใหม่หรือในพื้นที่เปิดโล่งที่เกิดขึ้นหลังจากถูกรบกวน เป็นพืชที่มีการเจริญได้เร็วกว่าพืชชนิดอื่นๆ มีช่วงอายุสั้นและต้องการแสงในการเจริญเติบโต สังคมพืชเบิกนำพบได้ตั้งแต่พืชล้มลุก เช่น หญ้า, พืชคลุมดิน, ไม้พุ่ม และไม้ต้น (ดอกรัก, 2555) พื้นที่ป่าในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นสังคมป่าขั้นทุติยภูมิ (Fukushima *et al.*, 2008) ซึ่งเป็นป่าใหม่ที่มีการฟื้นตัวหลังจากถูกรบกวนทั้งทางธรรมชาติและกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินของมนุษย์ โดยเฉพาะป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้ง อำเภอประจันตคาม และป่าชุมชนบ้านท่าข่อย อำเภอกบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี และป่าชุมชนบ้านพร้าว อำเภอวัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว ปัจจุบันจะพบพืชเบิกนำเป็นพืชกลุ่มแรกที่เข้ามายึดครองในพื้นที่ป่า (Uromi *et al.*, 2012) นอกจากนี้ยังเป็นตัวชักนำพันธุ์พืชชนิดอื่นๆ ทำให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติ และมีส่วนช่วยในการฟื้นตัวของป่าหลังจากพื้นที่ป่าถูกรบกวน ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาโครงสร้างและองค์ประกอบของสังคมพืชไม้ป่าชุมชนในระยะเริ่มต้นพัฒนาในพื้นที่ป่าชุมชนอนุรักษ์ที่เคยถูกรบกวน และวิเคราะห์เปรียบเทียบความหลากหลายของสังคมพืชในป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้ง ป่าชุมชนบ้านท่าข่อย จังหวัดปราจีนบุรี และป่าชุมชนบ้านพร้าว จังหวัดสระแก้ว ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจในครั้งนี้จะทำให้สามารถเข้าใจกระบวนการทดแทนของสังคมพืช โครงสร้างและองค์ประกอบของป่า ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในแง่ของการนำไปพัฒนาใช้ในการจัดการการใช้ประโยชน์ที่ดินในอนาคตได้ และยังสามารถนำไปเป็นข้อมูลสำหรับการปลูกป่าฟื้นฟูแบบผสมผสาน ซึ่งการฟื้นฟูที่ถูกวิธีจะต้องคำนึงถึงหลักการทดแทนตามธรรมชาติของพืชด้วย (แหลมไทย และคณะ, 2555)

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่ศึกษา

การคัดเลือกพื้นที่ได้พิจารณาพื้นที่ป่าชุมชนที่ในอดีตเคยถูกรบกวนจากมนุษย์และธรรมชาติ เป็นพื้นที่ป่าที่อยู่ในเส้นทางเศรษฐกิจประชาคมอาเซียน ทั้ง 3 แห่ง คือ 1) ป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้ง ตั้งอยู่ใน 3 หมู่บ้านคือ หมู่ที่ 3 บ้านนา หมู่ที่ 4 บ้านหัวหิน (บ้านโนน) และหมู่ที่ 5 บ้านสวนผึ้ง ต.ดงบัง อ.ประจันตคาม จ.ปราจีนบุรี (Figure 1) มีเนื้อที่ 447 ไร่ 3 งาน 30 ตารางวา ลักษณะป่าเป็นป่าเบญจพรรณ บางส่วนมีสภาพเป็นป่าดิบแล้ง (Figure 2A) ในอดีตเคยถูกรบกวนจากการปลูกถั่วลิสงและมัน 2) ป่าชุมชนบ้านท่าข่อย ตั้งอยู่หมู่ที่ 14 ต.เมืองเก่า อ.กบินทร์บุรี จ.ปราจีนบุรี (Figure 1) มีเนื้อที่ 70 ไร่ 1 งาน 52 ตารางวา ลักษณะสภาพป่าเป็นป่าเบญจพรรณ (Figure 2B) ในอดีตเคยถูกรบกวนจากการ ปลูกข้าว มันเทศ ข้าวโพด และ เกิดไฟป่า และ 3) ป่าชุมชนบ้านพร้าว ตั้งอยู่ใน หมู่ที่ 1 ตำบลวัฒนานคร อ.วัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว (Figure 1) มีเนื้อที่ 1,026 ไร่ สภาพภูมิประเทศ พื้นที่เป็นที่ดอนและมีที่ราบลุ่มเป็นบางแห่ง ลักษณะป่าเป็นป่าดิบแล้ง (Figure 2C) ในอดีตเคยถูกรบกวนจากการ เลี้ยงสัตว์ และ เกิดไฟป่า

ทำการวางแปลงสำรวจชั่วคราวขนาด 40x40 ตารางเมตร สำหรับสำรวจไม้ใหญ่ตามแนวเส้นสำรวจ (base line) ในพื้นที่เปิดโล่งไปจนถึงขอบชายป่าชั้นใน จำนวน 3 แปลง วางแปลงย่อยขนาด 10x10 ตารางเมตร สำหรับสำรวจไม้หนุ่ม และวางแปลงย่อยขนาด 0.5x0.5 ตารางเมตร สำหรับสำรวจพืชพื้นล่าง พร้อมทั้งจดบันทึกชนิด จำนวน และข้อมูลพืชในแต่ละแปลง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ 1) วัดไม้ใหญ่ (tree) ที่มีความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางระดับอกที่ความสูง 1.30 ม. (DBH, Diameter at Breast Height) มากกว่า 4.5 ซม. และมีความสูงมากกว่า 2 ม. 2) วัดไม้หนุ่ม (sapling) ที่มีความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางระดับอกที่ความสูง 1.30 ม. น้อยกว่า

4.5 ซม. และมีความสูงมากกว่า 2 ม. 3) นับจำนวนพืชคลุมดินหรือหญ้า ที่อยู่ในควอตแดรต พร้อมทั้งระบุชนิด ซึ่งการระบุชนิดพืชกระทำโดยผู้เชี่ยวชาญ และปราชญ์ชุมชน หากไม่ทราบชนิดจะทำการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปเปรียบเทียบกับหอพรรณไม้

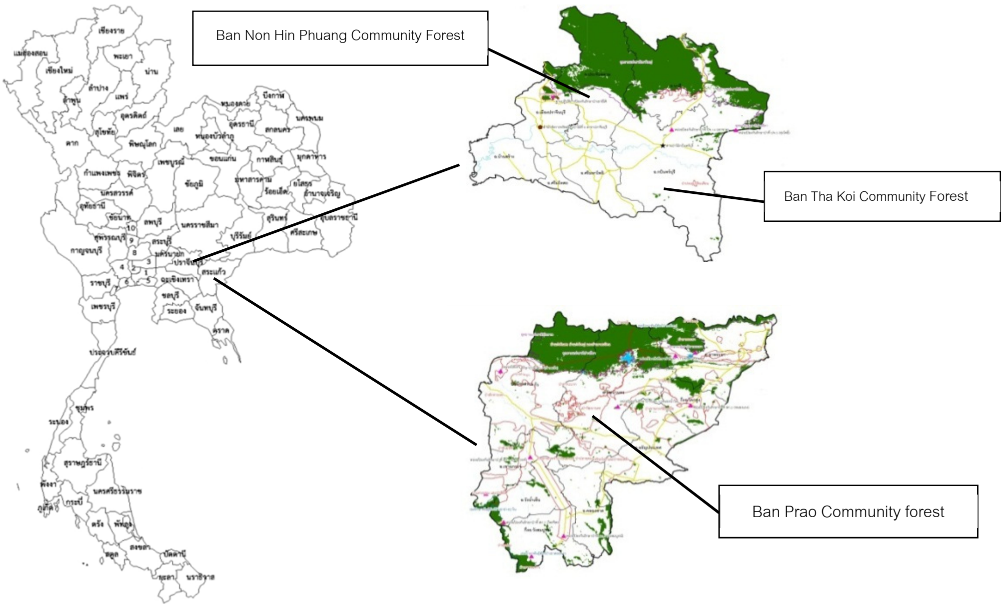


Figure 1 A map shows Ban Non Hin Phuang Community Forest in Prachanthakham District, Ban Tha Koi Community Forest in Kabinburi District of Prachiburi Province, and Ban Prao Community forest in Wattananakorn District, Sakeaw Province.

A B C

Figure 2 A Ban Non Hin Phuang Community Forest , B Ban Tha Koi Community Forest and C Ban Prao Community Fores

วิเคราะห์ข้อมูล

1. ความถี่สัมพัทธ์ (relative frequency) สามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ความถี่สัมพัทธ์} = \frac{\text{ความถี่ของพืชชนิด A}}{\text{ผลรวมของค่าความถี่ของพืชทุกชนิด}} \times 100$$

2. ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (relative density) สามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ความหนาแน่นสัมพัทธ์} = \frac{\text{ความหนาแน่นของพืชชนิด A}}{\text{ผลรวมของค่าความหนาแน่นของพืชชนิด}} \text{ x } 100$$

3. ความเด่นสัมพัทธ์ (relative dominance) คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{ความเด่นสัมพัทธ์} = \frac{\text{ผลรวมของพื้นที่หน้าตัดของพืชชนิด A}}{\text{ผลรวมของพื้นที่หน้าตัดของพืชทุกชนิด}} \text{ x } 100$$

4. ค่าความสำคัญของชนิดไม้ (Importance value index : IVI) โดยใช้สูตร

   ค่าความสำคัญของชนิดไม้ = ความหนาแน่นสัมพัทธ์ + ความถี่สัมพัทธ์ + ความเด่นสัมพัทธ์

5. ดัชนีความคล้ายคลึง (Similarity index) สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{IS (\%)} = \frac{2\text{w}}{\text{A} + \text{B}} \text{ x } 100$$

เมื่อ IS = ค่าดัชนีความคล้ายคลึงของ Sorensen

W = จำนวนชนิดที่ปรากฏทั้งในสังคม A และ B

A = จำนวนชนิดที่ปรากฏทั้งหมดในสังคม A

B = จำนวนชนิดที่ปรากฏทั้งหมดในสังคม B

6. ดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ (Shanon-Wiener's Index)

   โดยใช้สูตร

$$\text{H}' = -\sum_{\text{i}=1}^{\text{s}} (\text{Pi In Pi})$$

เมื่อ H' = ค่าดัชนีของ Shanon-Wiener

S = จำนวนชนิดพันธุ์

Pi = สัดส่วนระหว่างจำนวนของพรรณไม้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

โครงสร้าง และองค์ประกอบของสังคมพืช

1. **ป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้ง**

จากการสำรวจ พบไม้หนุ่ม (sapling) จำนวน 11 ชนิด 7 วงศ์ พรรณไม้ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ยาง Dipterocarpaceae, วงศ์โคลงเคลง Melastomataceae และวงศ์มะพอก Chrysobalanaceae พรรณไม้เด่น 5 ชนิด (Table 1) ประกอบด้วย พันจำ, เหมือดแอ, ยางเหียง, ยางนา และมะพอก มีค่าดัชนีความสำคัญร้อยละ 175.44, 25.48, 18.50, 16.24 และ 11.23 ตามลำดับ พื้นที่ป่าด้านในพบ ไม้ใหญ่ (tree) จำนวน 22 ชนิด 15 วงศ์ ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ยาง Dipterocarpaceae, วงศ์ก่อ Fagaceae และวงศ์มะพอก Chrysobalanaceae พรรณไม้เด่น 5 ชนิด (Table 2) ประกอบด้วย พันจำ, ก่อด่าง, มะพอก, ยางนา และยางกราด มีค่าดัชนีความสำคัญร้อยละ 100.70, 28.34, 27.46, 26.96 และ 22.11 ตามลำดับ

2. **ป่าชุมชนบ้านท่าข่อย**

พื้นที่เปิดโล่งของป่าชุมชนบ้านท่าข่อย ปกคลุมด้วยหญ้าขนตาช้าง *Aporosa octandra* (Buch.-Ham ex D. Don) Vickery var. octandra บริเวณพื้นที่ขอบชายป่าด้านนอกพบไม้หนุ่ม จำนวน 20 ชนิด 15 วงศ์ ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์โคลงเคลง Melastomataceae, วงศ์ยาง Dipterocarpaceae, วงศ์ถั่ว Fabaceae และวงศ์กระดังงา Annonaceae พรรณไม้เด่น 5 ชนิด (Table 1) ประกอบด้วย เหมือดแอ, พะยูง, พะยอม, ประดู่ป่า, สะทางน้อย มีค่าดัชนีความสำคัญร้อยละ 71.68, 25.77, 25.12, 22.47 และ 20.87 ตามลำดับ พื้นที่ป่าด้านในพบไม้ใหญ่ จำนวน 61 ชนิด 32 วงศ์ ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ยาง Dipterocarpaceae , วงศ์โคลงเคลง Melastomataceae, วงศ์อบเชย Lauraceae และวงศ์ถั่ว Fabaceae พรรณไม้เด่น 5 ชนิด (Table 2) ประกอบด้วย พะยอม, เหมือดแอ, หมีเหม็น, ฝีหมอบ และประดู่ป่า มีค่าดัชนีความสำคัญร้อยละ 56.21, 26.99, 19.61, 15.84 และ 11.87 ตามลำดับ

3. **ป่าชุมชนบ้านพร้าว**

บริเวณพื้นที่เปิดโล่งป่าชุมชนบ้านพร้าว พบหญ้า 2 ชนิด ได้แก่ หญ้าแฝก *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty และหญ้าเพ็ก *Vietnamosasa pusilla* (Chevlier a.Camus) ในขณะที่พื้นที่ขอบชายป่าด้านนอกพบไม้หนุ่ม จำนวน 2 ชนิด 2 วงศ์ (Table 1) ได้แก่ วงศ์หว้า Myrtaceae และวงศ์มะม่วง Anacardiaceae ประกอบด้วย หว้าขี้แพะ และอ้อยช้าง มีค่าดัชนีความสำคัญร้อยละ 165.29 และ 134.72 ตามลำดับ พื้นที่ป่าด้านในพบไม้ใหญ่ จำนวน 56 ชนิด จาก 27 วงศ์ ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ถั่ว Fabaceae, วงศ์ยาง Dipterocarpaceae และวงศ์มะแฟน Burseraceae พรรณไม้เด่น 5 ชนิด (Table 2) ประกอบด้วย ประดู่ป่า, เต็ง, มะกอกเกลื้อน, มะค่าแต้ และแดง มีค่าดัชนีความสำคัญร้อยละ 40.29, 38.25, 25.87, 15.59 และ 15.56 ตามลำดับ

Table 1 Importance value index (IVI) of saplings in Ban Non Hin Phuang Community Forest, Ban Tha Koi Community Forest, and Ban Prao Community Forest.

Community forest	Family	Saplings						
		Scientific Name	Local name	Among (tree)	RF	RD	Rdo	IVI
Ban Non Hin Phuang	Dipterocarpaceae	*Vatica odorata* (Griff.) Symington	Phan cham	125	14.29	81.17	79.98	175.44
	Melastomataceae	*Memecylon pauciflorum* Blume	Meuad air	7	14.29	4.55	6.65	25.48
	Dipterocarpaceae	*Dipterocarpus obtusifolius* Teijsm. ex Miq.	Yang hiang	3	14.29	1.95	2.27	18.50
	Dipterocarpaceae	*Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G. Don	Yang na	7	7.14	4.55	4.56	16.24
	Chrysobalanaceae	*Parinari anamensis* Hance	Ma phok	3	7.14	1.95	1.94	11.03
Ban Prao	Myrtaceae	*Syzygium cumini* (L.) Skeels	Waa khee phae	2	50	66.67	48.63	165.29
	Anacardiaceae	*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.	Aoi chang	1	50	33.33	51.39	134.72

Ban Tha Koi	Melastomataceae	*Memecylon pauciflorum* Blume	Meuad air	33	7.41	31.73	32.54	71.68
	Fabaceae	*Dalbergia cochinchinensis* Pierre	Pha yung	13	3.70	12.50	9.57	25.77
	Dipterocarpaceae	*Shorea roxburghii* G.Don	Pha yom	9	7.41	8.65	9.06	25.12
	Fabaceae	*Pterocarpus macrocarpus* Kurz	Pradoo pa	6	11.11	5.77	5.59	22.47
	Annonaceae	*Xylopia vielana* Pierre	Satang noi	8	7.41	7.69	5.77	20.87

Table 2 Importance value index (IVI) of trees in Ban Non Hin Phuang Community Forest, Ban Tha Koi Community Forest, and Ban Prao Community Forest.

Community forest	Family	Tree						
		Scientific Name	Local name	Among (tree)	RF	RD	Rdo	IVI
Ban Non Hin Phuang	Dipterocarpaceae	*Vatica odorata* (Griff.) Symington	Phan cham	557	7.50	65.67	27.52	100.70
	Fagaceae	*Castanopsis argyrophylla* King ex Hook. f.	Kor dang	66	7.50	7.78	13.06	28.34
	Chrysobalanaceae	*Parinari anamensis* Hance	Ma phok	73	7.50	8.61	11.35	27.46
	Dipterocarpaceae	*Dipterocarpus alatus* Roxb. ex G. Don	Yangna	26	7.50	3.07	16.4	26.96
	Dipterocarpaceae	*Dipterocarpus intricatus* Dyer	Yang krad	28	5.00	3.30	13.81	22.11
Ban Prao	Fabaceae	*Pterocarpus macrocarpus* Kurz	Pradoo pa	82	3.23	14.75	22.32	40.29
	Dipterocarpaceae	*Shorea obtusa* Wall. ex Blume	Teng	112	3.23	20.14	14.88	38.25
	Burseraceae	*Canarium subulatum* Guillaumin	Makok kleuan	67	3.23	12.05	10.59	25.87
	Fabaceae	*Sindora siamensis* Teijsm. ex Miq. var. *siamensis*	Makha tae	23	3.23	4.14	8.23	15.59
	Fabaceae	*Xylia xylocarpa* (Roxb.) Jaub. Var. *kerrii* (Craib & Hutch.) Nielsen	Dang	47	3.23	8.45	3.91	15.58
Ban Tha Koi	Dipterocarpaceae	*Shorea roxburghii* G.Don	Pha yom	181	2.80	23.42	29.99	56.21
	Melastomataceae	*Memecylon pauciflorum* Blume	Meuad air	102	2.80	13.20	10.99	26.99
	Lauraceae	*Litsea glutinosa* (Lour.) C. B. Rob.	Mee men	71	2.80	9.18	7.62	19.61
	Lauraceae	*Beilschmiedia roxburghiana* Nees	Fee mob	56	2.80	7.24	5.79	15.84
	Fabaceae	*Pterocarpus macrocarpus* Kurz	Pradoo pa	39	2.80	5.05	4.02	11.87

วิเคราะห์สังคมพืชพื้นล่าง

ผลการสำรวจสังคมพืชพื้นล่างพบว่า ป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้งและป่าชุมชนบ้านท่าข่อย พบหญ้าเพียง 1 ชนิดคือ หญ้าขนตาช้าง *Aporosa octandra* (Buch.-Ham ex D. Don) Vickery var. octandra และป่าชุมชนบ้านพร้าว พบหญ้า 2 ชนิดคือ หญ้าแฝก *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty และหญ้าเพ็ก *Vietnamosasa pusilla* (Chevlier a.Camus) Nguyen ซึ่งปริมาณความหนาแน่นของพืชพื้นล่างที่พบจะแปรผันกับปริมาณแสงที่ลอดผ่านจากเรือนยอด (ดอกรัก และ อุทิศ, 2552) จากการสำรวจพบว่า ป่าชุมชนบ้านพร้าวเป็นป่าเต็งรังเป็นป่าโปร่งมีเรือนยอดแบบเปิดห่าง (สรายุทธ, 2555) ปริมาณความหนาแน่นของพืชพื้นล่างจึงมีมากกว่าป่าชุมชนทั้ง 2 แห่ง ส่วนป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้ง และป่าชุมชนบ้านท่าข่อย เป็นป่าผสมผลัดใบและป่าดิบแล้งซึ่งมีเรือนยอดค่อนข้างหนาแน่นกว่าป่าชุมชนบ้านพร้าว จึงทำให้แสงสามารถลอดผ่านได้น้อยกว่าส่งผลต่อปริมาณความหนาแน่นของพืชพื้นล่างที่พบน้อยกว่าป่าเต็งรัง

วิเคราะห์สังคมพืชไม้หนุ่ม

ป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้ง พบไม้หนุ่ม 11 ชนิด 7 วงศ์ ชนิดไม้เด่นได้แก่ พันจำ (*Vatica odorata*), เหมือดแอ (*Memecylon pauciflorum*) และยางเหียง (*Dipterocarpus obtusifolius)* ป่าชุมชนบ้านท่าข่อยพบไม้หนุ่ม 20 ชนิด 15 วงศ์ พบไม้เด่นได้แก่ เหมือดแอ (*Memecylon pauciflorum*), พะยูง (*Dalbergia cochinchinensis*) และพะยอม (*Shorea roxburghii*) ป่าชุมชนบ้านพร้าวพบไม้หนุ่มเพียง 2 ชนิด 2 วงศ์ ชนิดไม้ที่พบได้แก่ หว้าขี้แพะ (*Syzygium cumini*) และอ้อยช้าง (*Lannea coromandelica)* การศึกษาสังคมไม้หนุ่มพบว่า ป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้งและป่าชุมชนบ้านท่าข่อยมีชนิดไม้และความหนาแน่นที่คล้ายคลึงกัน ไม้หนุ่มที่พบส่วนใหญ่จะพบในบริเวณพื้นที่ขอบชายป่าชั้นนอกและขอบชายป่าชั้นใน พื้นที่เปิดโล่งจะพบในระดับน้อย ซึ่งตรงกันข้ามกับป่าชุมชนบ้านพร้าวจะพบไม้หนุ่มเฉพาะในบริเวณพื้นที่เปิดโล่งและบริเวณขอบชายป่าชั้นนอกเท่านั้นไม่พบในบริเวณขอบชายป่าชั้นใน ซึ่งชนิดของไม้และความหนาแน่นขึ้นอยู่กับประวัติการใช้พื้นที่ในอดีต ความถี่จากการรบกวนพื้นที่และความสามารถในการงอกของพืช และการแพร่กระจายพันธุ์ของพืช (McNamara *et al.*, 2012)

วิเคราะห์สังคมพืชไม้ใหญ่

ป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้งพบ พันจำ *(Vatica odorata)* ซึ่งมีค่าความถี่สัมพัทธ์และค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง (Table 2) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าไม้ป่าพันจำมีอิทธิพลต่อหมู่ไม้บริเวณพื้นที่ศึกษามากที่สุด ต่างจากป่าชุมชนบ้านท่าข่อย ชนิดไม้ที่พบมีดัชนีความสำคัญสูงที่สุด ได้แก่ พะยอม *(Shorea roxburghii*) รองลงมาคือ เหมือดแอ *(Memecylon pauciflorum)* และหมีเหม็น *(Litsea glutinosa)* ตามลำดับ ซึ่งพะยอมพบเป็นไม้ขนาดใหญ่ดั้งเดิมในพื้นที่ ส่วนเหมือดแอ และหมีเหม็นพบเป็นไม้เกิดขึ้นในพื้นที่โล่งและขอบป่าซึ่งมีลักษณะเป็นไม้ที่มีอิทธิพลในพื้นที่ ในขณะที่ป่าชุมชนบ้านพร้าวพบความหลากหลายของชนิดไม้ป่าจำนวนน้อยกว่าป่าชุมชน 2 แห่ง และพบว่าถูกรบกวนจากไฟป่าบ่อยครั้ง ชนิดไม้ที่มีดัชนีความสำคัญสูงสุดประกอบด้วย ประดู่ป่า *(Pterocarpus macrocarpus)*, เต็ง *(Shorea obtuse)* และมะกอกเกลื้อน *(Canarium subulatum)*

ความหลากหลายของพันธุ์ไม้

เมื่อเปรียบเทียบความหลากหลายของไม้หนุ่มและไม้ใหญ่ในพื้นที่ป่าชุมชนทั้ง 3 แห่ง ตาม Figure 3 พบว่า ป่าชุมชนบ้านท่าข่อยมีความหลากหลายของไม้หนุ่มและไม้ใหญ่มากที่สุด ดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 2.41 และ 3.05 ตามลำดับ แสดงว่า ป่าชุมชนบ้านท่าข่อยมีความหลากหลายมากกว่าป่าชุมชนทั้ง 2 แห่ง นอกจากนี้พบว่า ป่าชุมชนบ้านท่าข่อยในอดีตพื้นที่บริเวณนี้มีการถูกรบกวนจากการใช้ประโยชน์ของชุมชนไม่บ่อยครั้งและมีการแบ่งพื้นที่ป่านี้สำหรับเป็นป่าอนุรักษ์

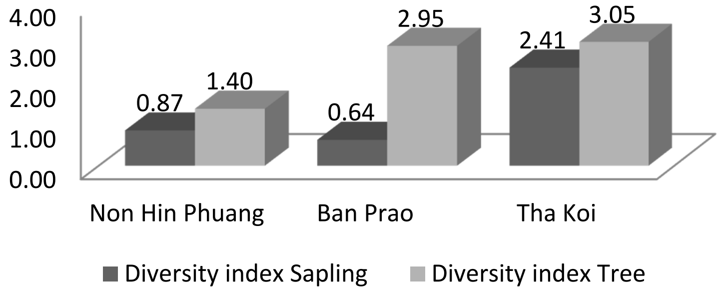


Figure 3 Diversity index of saplings and tree in Ban Non Hin Phuang Community Forest, BanTha Koi Community Forest and Ban Prao Community Forest.

ความคล้ายคลึงของป่าชุมชน

การศึกษาความคล้ายคลึงของไม้หนุ่มและไม้ใหญ่ในพื้นที่ป่าชุมชนทั้ง 3 พบว่าไม้หนุ่มในป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้งกับป่าชุมชนบ้านท่าข่อยมีความคล้ายคลึงกัน ร้อยละ 19.35 เนื่องมาจากไม้หนุ่มจะเป็นปัจจัยที่กำหนดการฟื้นตัวของป่าในอนาคตซึ่งจะพบว่า ป่าชุมชนทั้ง 2 แห่ง อยู่ในช่วงของการฟื้นตัวและกำลังเปลี่ยนผ่านจากป่าเต็งรังไปสู่ป่าผสมผลัดใบ และป่าดิบแล้งในอนาคต ส่วนความคล้ายคลึงของไม้ใหญ่จะพบว่า ป่าชุมชนบ้านท่าข่อยและป่าชุมชนบ้านพร้าวมีความคล้ายคลึงกันมากถึง ร้อยละ 32.48 เนื่องมาจากในอดีตป่าชุมชนบ้านท่าข่อยเคยถูกรบกวนจากไฟป่า แต่ในปัจจุบันมีการป้องกันการเกิดไฟป่าติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจึงทำให้สังคมพืชมีการเปลี่ยนแปลงไปสู่สังคมพืชที่มีความชื้นมากกว่าคือ สังคมป่าผสมผลัดใบ ซึ่งมักจะเชื่อมต่อกับป่าเต็งรังจึงทำให้พบไม้ใหญ่ในสังคมป่าเต็งรังผสมอยู่ (ดอกรัก และ อุทิศ, 2552) ในขณะที่ป่าชุมชนบ้านพร้าวปัจจุบันยังคงถูกรบกวนจากไฟป่า ซึ่งไฟป่าเป็นปัจจัยที่สำคัญในการกำหนดชนิดของพันธุ์ไม้ของป่าเต็งรัง

สรุป

ชนิดไม้หนุ่มและไม้ใหญ่ที่พบมากในป่าชุมชนทั้ง 3 พื้นที่คือ ชนิดไม้ในวงศ์ยาง Dipterocarpaceae แสดงว่าพืชในวงศ์นี้มีอิทธิพลต่อสังคมพืชในระยะเริ่มต้นพัฒนาทั้ง 3 พื้นที่ นอกจากนี้โครงสร้างป่ายังประกอบด้วย 2 ชั้นเรือนยอดซึ่งมีทั้งหมู่ไม้ใหญ่ที่เจริญเต็มที่และหมู่ไม้หนุ่มที่กำลังพัฒนา ป่าชุมชนบ้านโนนหินผึ้งพบไม้หนุ่ม ชนิด พันจำ (*Vatica odorata*), เหมือดแอ (*Memecylon pauciflorum*) และยางเหียง (*Dipterocarpus obtusifolius)* เป็นไม้ป่าที่มีอิทธิพล 3 ลำดับแรก โดยพบว่าหมู่ไม้ ชนิด พันจำ (*Vatica odorata*) พัฒนาเป็นชนิดหมู่ไม้ใหญ่ในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ชุมชนบ้านโนนหินผึ้งด้วย ในขณะที่พื้นที่เปิดโล่งขอบป่าด้านนอกของป่าชุมชนบ้านท่าข่อยพบหญ้า 1 ชนิด ได้แก่ หญ้าขนตาช้าง (*Aporosa octandra*) และพบไม้หนุ่มที่มีดัชนี

ความสำคัญมากที่สุดคือ เหมือดแอ (*Memecylon pauciflorum*), พะยูง (*Dalbergia cochinchinensis*) และ พะยอม (*Shorea roxburghii*) ซึ่งพบว่าหมู่ไม้ใหญ่เด่นที่สุดคือ พะยอม (*Shorea roxburghii*) พื้นที่เปิดโล่งขอบชายป่าด้านนอกของป่าชุมชนบ้านพร้าวสำรวจพบหญ้า 2 ชนิด คือ หญ้าแฝก (Chrysopogon zizanioides) และ หญ้าเพ็ก (Vietnamosasa pusilla) องค์ประกอบหมู่ไม้หนุ่มในพื้นที่มีความสำคัญ ได้แก่ หว้าขี้แพะ (*Syzygium cumini*) และในขณะที่ ไม้ใหญ่เด่นที่มีอิทธิพลในพื้นที่ป่าชุมชนอนุรักษ์บ้านพร้าว ได้แก่ ประดู่ป่า (*Pterocarpus macrocarpus*), เต็ง(*Shorea obtusa*) และมะกอกเกลื้อน (*Canarium subulatum*)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ใหญ่บ้านและองค์การบริหารส่วนตำบล ในพื้นที่ป่าชุมชนบ้านท่าข่อย อำเภอกบินทร์บุรี พื้นที่ป่าชุมชนโนนหินผึ้ง อำเภอประจันตคาม จ.ปราจีนบุรี และพื้นที่ป่าชุมชนบ้านพร้าว อำเภอวัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว ที่เอื้อเฟื้อข้อมูลและการติดต่อประสานงานเป็นอย่างดี และขอขอบคุณเงินทุนสนับสนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ งบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ.2559

เอกสารอ้างอิง

ดอกรัก มารอด. 2555. **นิเวศวิทยาป่าไม้ประยุกต์**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

ดอกรัก มารอด และอุทิศ กุฏอินทร์. 2552. **นิเวศวิทยาป่าไม้**. อักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สรายุทธ บุญยะเวชชีวิน. 2555. **โครงสร้างและพลวัตของป่าเต็งรัง**. ส่วนวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, กรุงเทพฯ.

แหลมไทย อาษานอก, ดอกรัก มารอด, อัมพร ปานมงคล. 2555. **การฟื้นฟูป่าดิบเขาในประเทศไทย: กรณีศึกษาที่อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ–ปุย**. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช, กรุงเทพฯ.

Fukushima, M., Kanzaki, M., Hara, M., Ohkubo, T., Preechapanya, P., Choocharoen, C. 2008. Secondary forest succession after the cessation of swidden cultivation in the montane forest area in Nothern Thailand. **Forest Ecology and Management** 255: 1994-2006.

McNamara, S., P.D. Erskine , D. Lamb, L. Chantalangsy and S. Boyle. 2012. Primary tree species diversity in secondary fallow forests of Laos. **Forest Ecology and Management** 28: 93-99.

Uromi M. Goodal, Mark S. Ashton, Graeme P. Berlyn, Timothy G. Gregoire, B.M.P.Singhakumara, Kushan U. Tennakoon., 2012. Disturbance and tropical pioneer species: Patterns of association across life history stages. **Forest Ecology and Management** 277: 54-66.

ความเป็นไปได้ในการใช้น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมผลิตปลาส้มระดับครัวเรือนเพื่อการปลูกผักบุ้งจีน

Utilization Possibility of Effluent from Pla Som Household Industrial Wastewater Treatment System for Growing Morning Glory (*Ipomcea aquatica* Forsk.)

อลิสา คำละออ[1*] อรอนงค์ ผิวนิล[1] และ กิตติชัย ดวงมาลย์[1]

Alisa Kumlaor[1*], Onanong Phewnil[1] and Kittichal Duangmal[1]

บทคัดย่อ

อุตสาหกรรมผลิตปลาส้มระดับครัวเรือนผลิตน้ำเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูง ระบบบำบัดน้ำเสียจากการผลิตปลาส้ม ประกอบด้วย ตะแกรงกรอง ถังดักไขมัน บ่อบำบัดแบบไร้อากาศ บ่อผึ่ง และบึงประดิษฐ์ การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียของการผลิตปลาส้มมาปลูกผักบุ้งจีน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ทำการปลูกผักบุ้งจีนในวัสดุปลูกแบบเดียวกัน ประกอบด้วย 3 ตำรับการทดลอง ได้แก่ น้ำประปาร่วมกับการใช้ปุ๋ยยูเรียอัตรา 20 กิโลกรัม/ไร่ น้ำทิ้งจากบ่อผึ่ง และน้ำทิ้งจากบึงประดิษฐ์ โดยทดลอง 3 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่า ผักบุ้งจีนทุกตำรับการทดลอง มีความเจริญเติบโตทั้งด้านความสูง จำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ผักบุ้งจีนที่ปลูกด้วยน้ำทิ้งจากบ่อผึ่งมีความสูง จำนวนใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งที่มากกว่าอีก 2 ตำรับการทดลอง เนื่องจากมีปริมาณธาตุอาหารในน้ำสูง ดังนั้นน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมผลิตปลาส้มระดับครัวเรือน สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปลูกผักบุ้งจีนได้

ABSTRACT

Pla Som household industry has produced high organic concentration wastewater. Wastewater from Pla Som production was treated by screen, oil and grease trap tank, anaerobic tanks, oxidation pond and constructed wetland. This research focused on possibility of effluent utilization from Pla Som wastewater treatment system for growing Morning Glory. Experimental design was RCBD. Morning Glory was planted in same growing media with 3 replications and 3 treatments, which were tap water with urea 20 kg/rai, oxidation pond effluent and constructed wetland effluent, respectively. The results demonstrated that height of growth, number of leaves, wet weight and dry weight of Morning Glory in 3 treatments were not statistical difference ($p> 0.05$). However, height, number of leaves, wet weight and dry weight of Morning Glory which planted with oxidation pond effluent were higher than other treatments because of high nutrient concentration.Therefore, Morning Glory could be grown by effluent from Pla Som household industrial wastewater treatment system.

Key Words: wastewater, utilization, Morning Glory (*Ipomcea aquatica* Forsk.)

*Corresponding author; e-mail address: akumlaor@yahoo.co.th

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Environment Science, Faculty of Environment, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

กว๊านพะเยา เป็นแหล่งน้ำธรรมชาติ มีชุมชนตั้งถิ่นฐานรอบกว๊านเป็นจำนวนมาก และใช้ประโยชน์จากกว๊านพะเยาทั้งอุปโภค บริโภค และการทำเกษตรกรรม เมื่อถึงฤดูฝนจะมีน้ำมาก แต่พอถึงฤดูแล้งน้ำในกว๊านพะเยาก็จะแห้งลง บางปีกว๊านพะเยาแห้งแล้งจนเห็นเนินดินตามจุดต่าง ๆ กระจายไปทั่วกว๊านพะเยาอย่างเห็นได้ชัด หากไม่มีน้ำฝนตกเติมลงมาเพิ่มระดับน้ำในกว๊านพะเยา ประชาชนที่ต้องอาศัยน้ำจากกว๊านพะเยาบริโภคและทำการเกษตร จะประสบปัญหาการขาดน้ำอย่างรุนแรง อีกทั้งปัจจุบันน้ำที่กว๊านพะเยามีปัญหาเสื่อมโทรม ปัญหาน้ำเสียจะยิ่งเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีประชากรและความต้องการใช้ทรัพยากรต่าง ๆ มากขึ้นอาจทำให้น้ำในกว๊านพะเยาไม่สามารถฟื้นฟูตัวเองได้ จนทำให้ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้อีก โดยน้ำเสียส่วนหนึ่งที่มาจากแหล่งชุมชน คือการผลิตปลาส้ม ซึ่งน้ำเสียจากกระบวนการผลิตปลาส้มนั้น มีสารอินทรีย์สูง มีการปนเปื้อนของไขมันของแข็งแขวนลอยและมีสารประกอบไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียม ไนเตรท ไนโตรเจนทั้งหมด รวมถึงฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม เมื่อมีการปล่อยลงสู่กว๊านพะเยาโดยไม่ผ่านการบำบัดก็จะทำให้เกิดน้ำเสียได้

โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ย อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ได้จัดทำระบบระบบบำบัดน้ำเสียที่อาศัยหลักการเทคโนโลยีธรรมชาติถูกนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตปลาส้ม ประกอบด้วย ตะแกรงกรอง ถังดักไขมัน บ่อบำบัดแบบไร้อากาศ บ่อผึ่ง และบึงประดิษฐ์ แต่น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วยังมีสารอินทรีย์ที่อยู่ในรูปเป็นประโยชน์ต่อพืช โดยหากมีการนำน้ำที่ผ่านการบำบัดมาใช้ประโยชน์ในการปลูกพืช ก็จะเป็นการเพิ่มธาตุอาหารให้กับพืช

การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากระบบบำบัดน้ำเสียของการผลิตปลาส้มมาปลูกผักบุ้งจีน ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจและสามารถปลูกได้ในครัวเรือน เป็นผักที่มีผู้นิยมรับประทานกันอย่างกว้างขวาง สามารถรับประทานได้ทั้งสด และนำมาประกอบอาหารได้หลายชนิด เจริญเติบโตเร็ว อายุสั้น มีคุณค่าทางอาหารสูง สามารถรับประทานได้ทั้งต้นและใบ นอกจากนี้การใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากระบบบำบัดน้ำเสียของการผลิตปลาส้มยังเป็นการลดใช้ปุ๋ยเคมี และการใช้ทดแทนน้ำประปาที่ใช้ในการทำเกษตรกรรมในหน้าแล้งอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการทดลอง

1. แผนการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomize Completely Block Design (RCBD) ทำการปลูกผักบุ้งจีน โดยปลูกในวัสดุปลูกแบบเดียวกัน ประกอบด้วย 3 ตำรับการทดลอง ได้แก่ น้ำประปาร่วมกับการใช้ปุ๋ยยูเรียอัตรา 20 กิโลกรัม/ไร่ น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบ่อผึ่ง และน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบึงประดิษฐ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
2. การเตรียมวัสดุปลูก สูตรที่เหมาะสมประกอบด้วยส่วนประสมของดินร่วน ปุ๋ยคอก ทราย และแกลบในอัตราส่วน 1:1:1:1 โดยปริมาตร นำมาผสมคลุกเคล้ากัน (สมเพียร, 2526)
3. เก็บและวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้ง 3 ชนิด และการวิเคราะห์วัสดุปลูก
4. นำเมล็ดผักบุ้งจีนแช่ในน้ำเป็นเวลา 1 คืน แล้วนำไปหว่านในวงซีเมนต์
5. การดูแลรักษา

5.1 การให้น้ำ รดน้ำประปา และน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดตาม treatment ให้น้ำตามความต้องการของพืชโดยผักบุ้งจีน มีความต้องการน้ำประมาณ 200 ลูกบาศก์เมตร/ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548)

5.2 การใส่ปุ๋ย ในการทดลองนี้จะทำการใส่ปุ๋ยใน หน่วยทดลองที่เป็น control โดยทำการใส่ปุ๋ยให้เหมาะสมและความต้องการของพืช ผักบุ้งจีน ใส่ยูเรีย ในอัตรา 20 กิโลกรัม/ไร่ โดยหว่านปุ๋ยให้กระจายทั่วแปลง แล้วรดน้ำตามทันที แบ่งใส่หลาย ๆ ครั้ง ครั้งแรกใส่เมื่อผักบุ้งเริ่มมีใบจริง (หรืออายุ 5-7 วัน หลังหว่านเมล็ด) และให้หลังจากนั้นทุกๆ 3-5 วัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548)

6. ศึกษาการเจริญเติบโตของผักบุ้งตั้งแต่เริ่มการปลูก บันทึกความสูง บันทึกจำนวนใบหลังการให้ตำรับการทดลอง แล้ว 1 สัปดาห์ และเมื่อผักบุ้งอายุ 30 วัน บันทึกน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

7. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ทดสอบความแตกต่างทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลขององค์ประกอบและสมบัติของวัสดุปลูกและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการทดลอง

1. องค์ประกอบและสมบัติของวัสดุปลูกก่อนปลูก

ผลจากการวิเคราะห์วัสดุปลูกที่ใช้ในการทดลองพบว่า เป็นเนื้อดินแบบดินร่วนปนทราย (SL) pH ระดับ เป็นกลาง มีค่าเท่ากับ 6.88 อินทรียวัตถุอยู่ในระดับสูง มีค่าเท่ากับ 4.13 เปอร์เซ็นต์ และมีธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืชอยู่ในระดับสูง โดยแบ่งเป็นธาตุอาหารหลัก คือ Total N มีค่าเท่ากับ 2,042 mg/kg NH^{+}_{4}-N มีค่าเท่ากับ 4.82 mg/kg NO^{-}_{3}-N มีค่าเท่ากับ 9.28 mg/kg Available P มีค่าเท่ากับ 591 mg/kg อยู่ในระดับที่สูงมาก และ Exchangeable K มีค่าเท่ากับ 656.67 mg/kg อยู่ในระดับที่สูงมาก ธาตุอาหารรอง Exchangeable Ca มีค่าเท่ากับ 1,119 mg/kg อยู่ในระดับที่สูง และ Exchangeable Mg มีค่าเท่ากับ 284.11 mg/kg อยู่ระดับสูง (Table 1)

Table 1 The analysis of Materials for plant.

Materials for plant	Mean ± SD	Level
Soil Texture	-	SL
pH	6.88 ± 0.14	Neutral
Organic Matter (%)	4.13 ± 0.65	high
Total N (mg/kg)	2,042 ± 131.71	-
NH^{+}_{4}-N (mg/kg)	4.82 ± 1.42	-
NO^{-}_{3}-N (mg/kg)	9.28 ± 4.49	-
Available P (mg/kg)	591 ± 49.61	Very high
Exchangeable K (mg/kg)	656.67 ± 156.78	Very high
Exchangeable Ca (mg/kg)	1,119 ± 287.71	high
Exchangeable Mg (mg/kg)	284.11 ± 87.20	high

2. คุณภาพน้ำ

จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และปริมาณธาตุอาหาร พบว่า น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบ่อผึ่ง และน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบึงประดิษฐ์ มีปริมาณธาตุอาหารที่สูง โดยมีค่า TKN เท่ากับ 184.57, 73.34 mg/L แอมโมเนียไนโตรเจน เท่ากับ 119.95, 51.63 mg/L ไนเตรต เท่ากับ 0.13, 0.05 mg/L ฟอสฟอรัสทั้งหมด เท่ากับ 35.37, 18.17 mg/L และโพแทสเซียม เท่ากับ 63.43, 49.28 mg/L ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งการที่น้ำทิ้งทั้ง 2 นั้น มีประมาณธาตุอาหารที่สูง เนื่องจากน้ำเสียจากกระบวนการผลิตปลาส้มมีสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูง คือ เศษเนื้อปลา เลือดปลา และสารซักล้างต่าง ๆ โดยในเนื้อสัตว์จะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ เมื่อเกิดการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยนเป็นสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน คือ แอมโมเนียไนโตรเจน และไนเตรตจากกระบวนการ Ammonification ซึ่งเป็นธาตุอาหารสำหรับพืช โดยธาตุไนโตรเจนพบ เป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทในการเจริญเติบโตของพืชมากที่สุด อีกทั้งเป็นองค์ประกอบในส่วนของพืชและสะสมอยู่ในพืชเป็นปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับธาตุอาหารพืชอื่น ๆ (ชัยฤกษ์, 2536)

Table 2 The analysis of Water samples.

Parameter	Water (Control) (Treatment 1)	Effluent from Oxidation Pond (Treatment 2)	Effluent from Constructed Wetland (Treatment 3)	Water Quality Standards
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	
pH	7.48 ± 0.42	7.34 ± 0.62	8.83 ± 0.85	5.5-9.0[1/], 5-9[2/]
TDS (mg/L)	445.54 ± 10.48	1187.17 ± 488.99	719.00 ± 133.10	≤ 3,000[1/]
BOD (mg/L)	1.14 ± 0.16	320.33 ± 200.38	203.54 ± 239.40	≤ 20[1/]
COD (mg/L)	7.63 ± 5.43	649.95 ±386.13	453.42 ± 148.98	≤ 120[1/]
TKN (mg/L)	8.93 ± 6.19	184.57 ± 118.82	73.34 ± 47.84	≤ 100[1/]
Ammonia Nitrogen (mg/L)	0.35 ± 0.24	119.95 ± 111.94	51.63 ± 79.57	0.5[2/]
Nitrate (mg/L)	0.35 ± 0.23	0.13 ± .18	0.05 ± 0.00	0.5[2/]
Total Phosphorus (mg/L)	0.11 ± 0.02	35.37 ± 32.35	18.17 ± 11.68	not specified
Potassium (K) (mg/L)	3.57 ± 5.88	63.43 ± 32.01	49.28 ± 18.64	not specified

Remarks: 1/ Effluent Quality Standards from Industrial and Industrial Estate

2/ Surface Water Quality Standards for Agriculture

ผลการเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน

1. ความสูง

ความสูงของผักบุ้งจีนที่อายุ 30 วันหรือสัปดาห์ที่ 4 มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 39.10 เซนติเมตร โดยปลูกด้วย ตำรับการทดลอง 2 รองลงมาคือ 35.00 และ 34.55 เซนติเมตร ปลูกด้วย ตำรับการทดลอง 3 และ ตำรับการทดลอง 1 ตามลำดับแต่ความสูงเฉลี่ยของทั้ง 3 ตำรับการทดลองนั้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Figure 1) ซึ่งสอดคล้องกับ จักรพงษ์ (2548) ที่ใช้น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเปรียบเทียบกับน้ำชลประทาน ในการปลูกข้าวโพดฝักอ่อนพบว่า ชนิดของน้ำที่ให้ไม่ทำให้ความสูงเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ตลอดอายุการเจริญเติบโต

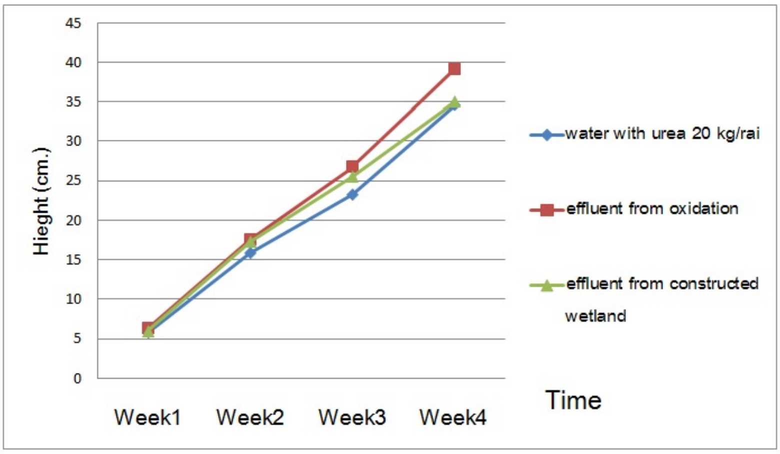


Figure 1 The height of Morning Glory during 30 days growth period.

2. จำนวนใบต่อต้น

จำนวนใบต่อต้นของผักบุ้งจีนที่อายุ 30 วันหรือสัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้นมากที่สุดคือ 9.13 ใบ โดยปลูกด้วย ตำรับการทดลอง 2 รองลงมาคือ 8.42 และ 7.90 ใบ ปลูกด้วย ตำรับการทดลอง 3 และ ตำรับการทดลอง 1 ตามลำดับแต่จำนวนใบเฉลี่ยของทั้ง 3 ตำรับการทดลองนั้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Figure 2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ จักรพงษ์ (2548) ที่ใช้น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเปรียบเทียบกับน้ำชลประทาน ในการปลูกข้าวโพดฝักอ่อนพบว่า ชนิดของน้ำที่ให้ไม่ทำให้จำนวนใบทั้งหมดเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ตลอดอายุการเจริญเติบโต

แต่จะเห็นได้ว่า ความสูงเฉลี่ยและจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย จากการปลูกด้วยน้ำของ ตำรับการทดลอง 2 สูงกว่า ตำรับการทดลอง 3 และ ตำรับการทดลอง 1 เนื่องจากคุณภาพน้ำจาก ตำรับการทดลอง 2 มีปริมาณธาตุอาหารที่สูงกว่าคือ N P และ K (Table 2) โดยเฉพาะไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่ จำเป็นในการเพิ่มจำนวนเซลล์ เซลล์พืชจะมีการขยายขนาดและปริมาณมากขึ้น ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตทางใบอ่อนและยอด (ยงยุทธ, 2552)

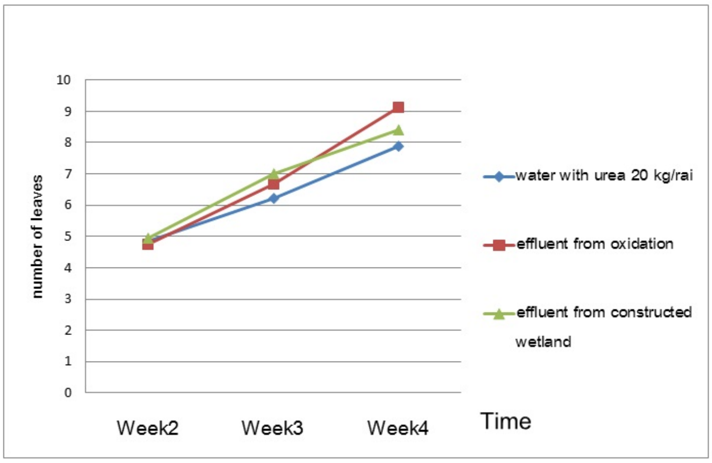


Figure 2 Morning Glory number of leaves during 30 days growth period.

3. มวลชีวภาพของผักบุ้งระยะเก็บเกี่ยว

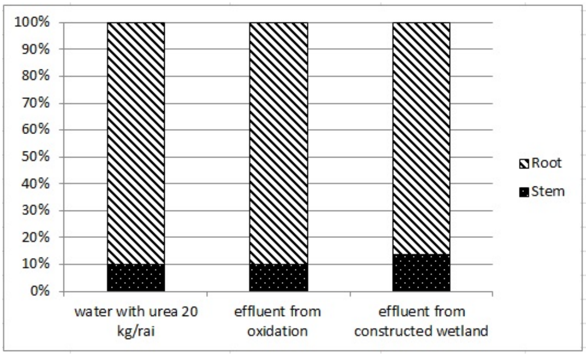
พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุดคือ ตำรับการทดลอง 2 มีค่าเท่ากับ 1,100 กรัม แบ่งเป็นส่วนเหนือดิน 1,000 กรัม คิดเป็น 90 % ของน้ำหนัก ส่วนใต้ดิน 100 กรัม คิดเป็น 10 % ของน้ำหนัก รองลงมาคือ ตำรับการทดลอง 3 มีค่าเท่ากับ 893.33 กรัม แบ่งเป็นส่วนเหนือดิน 773.33 กรัม คิดเป็น 86.57 % ของน้ำหนัก ส่วนใต้ดิน 120 กรัม คิดเป็น 13.43 % ของน้ำหนัก และสุดท้ายคือ ตำรับการทดลอง 1 มีค่าเท่ากับ 733.33 กรัม แบ่งเป็นส่วนเหนือดิน 660 กรัม คิดเป็น % ของน้ำหนัก ส่วนใต้ดิน 73.33 กรัม คิดเป็น 10 % ของน้ำหนัก น้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากที่สุด คือ ตำรับการทดลอง 2 มีค่าเท่ากับ 92.18 กรัม แบ่งเป็นส่วนเหนือดิน 70.01 กรัม คิดเป็น 75.95 % ของน้ำหนัก ส่วนใต้ดิน 22.17 กรัม คิดเป็น 24.05 % ของน้ำหนัก รองลงมาคือ ตำรับการทดลอง 3 มีค่าเท่ากับ 78.85 กรัม แบ่งเป็นส่วนเหนือดิน 56.21 กรัม คิดเป็น 71.29 % ของน้ำหนัก ส่วนใต้ดิน 22.64 กรัม คิดเป็น 28.71 % ของน้ำหนัก และสุดท้ายคือ ตำรับการทดลอง 1 มีค่าเท่ากับ 61.53 กรัม แบ่งเป็นส่วนเหนือดิน 47.53 กรัม คิดเป็น 77.25 % ของน้ำหนัก ส่วนใต้ดิน 14 กรัม คิดเป็น 22.75 % ของน้ำหนัก (Table 3, Figure 3) แต่น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย ของทั้ง 3 ตำรับการทดลอง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วรกาย (2541) ที่ปลูกผักบุ้งจีนในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน 5 ตำรับการทดลอง ได้มวลชีวภาพที่ไม่แตกต่างกันและงานของรังสรรค์ (2548) ที่ใช้น้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดแล้ว 3 ชนิดปลูกข้าวโพดฝักอ่อน พบว่าการใช้น้ำทั้ง 3 ชนิด ไม่มีอิทธิพลทำให้ผลผลิตรวมของข้าวโพดฝักอ่อนมีความแตกต่างกันทางสถิติ

ผักบุ้งจีนเป็นพืชที่เจริญเติบโตเร็ว จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง เมื่อมีการเจริญเติบโตจะทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้น เนื่องจากสังเคราะห์แสงสร้างอาหารเพื่อให้ได้เนื้อเยื่อ เส้นใยและโครงสร้างอื่นๆ และปริมาณน้ำในเซลล์ด้วย (จริงแท้, 2541) ปริมาณน้ำในเซลล์ของผักบุ้งจีนมีเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถดูได้จากเปอร์เซ็นต์ความชื้นของทั้ง 3 ตำรับการทดลอง โดย ตำรับการทดลอง 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 91.61 91.62 และ 91.17 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสดกิโลกรัมต่อไร่ ตำรับการทดลอง 1 2 และ 3 จะให้ผลผลิตน้ำหนักสดรวมเฉลี่ยเท่ากับ 3,666.65 5,000 และ 4,466.65 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ โดย Patrick (1984) รายงานว่า การใช้น้ำเสียมาใช้ในการปลูกพืชมีข้อดี คือ ให้ปุ๋ยและธาตุอาหารซึ่งทำให้เพิ่มผลผลิต และเหมาะสำหรับใช้ทางการเกษตรในช่วงหน้าร้อน การทำเกษตรกรรมที่ต้องใช้น้ำในปริมาณมาก ในพื้นที่ขาดแคลน

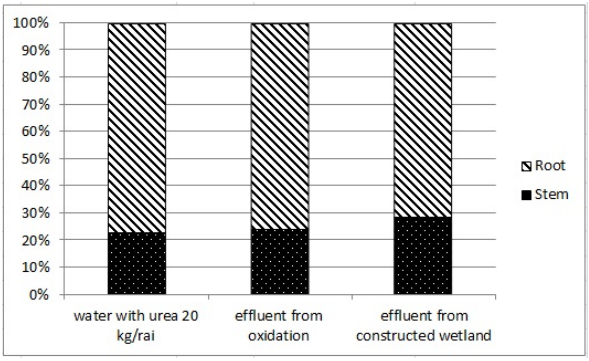
น้ำมีน้ำไม่เพียงพอต่อการอุปโภคบริโภคและการทำเกษตรกรรม และ Juwarkar (1991) รายงานว่า การนำน้ำเสียจากชุมชนซึ่งมีธาตุไนโตรเจน 52-58 มก./ล. และความเข้มข้นของโลหะหนักต่ำ มาใช้ในการปลูกธัญพืช ผัก และไม้ดอกไม้ประดับ พบว่า ให้ผลผลิตดีกว่าพืชที่ได้รับน้ำปกติ

Table 3 Biomass of Morning Glory.

Treatment	Wet Weight (g)		Dry Weight (g)		(%) Moisture
	Stem	Root	Stem	Root	
1	660.00	73.33	47.53	14.00	91.61
2	1000.00	100.00	70.01	22.17	91.62
3	773.33	120.00	56.21	22.64	91.17



(a)



(b)

Figure 3 Percent of Wet weight (a) and Percent of Dry weight (b).

สรุป

น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมผลิตปลาส้ม คือ น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบ่อผึ่ง และน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบึงประดิษฐ์สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปลูกผักบุ้งจีน ซึ่งให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้น้ำประปาร่วมกับปุ๋ยยูเรียที่เป็นหน่วยควบคุม โดยการใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบ่อผึ่ง ให้ผลผลิตมากที่สุด รองลงมาคือ การใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากบึงประดิษฐ์ และสุดท้ายคือการใช้น้ำประปาร่วมกับปุ๋ยยูเรีย การใช้น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมผลิตปลาส้ม ยังเป็นการลดการใช้ปุ๋ยเคมีและสามารถใช้แทนน้ำประปาที่ใช้ในการทำเกษตรกรรมในหน้าแล้งอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่ให้ทุนอุดหนุนการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548. **การปลูกผักบุ้งจีน.** กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)

จักรพงษ์ คงช่วย. 2548. **อิทธิพลของน้ำเสียเทศบาลเมืองเพชรบุรีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดฝักอ่อน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2541. **สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชัยฤกษ์ สุวรรณรัตน์. 2536. **ความอุดมสมบูรณ์ของดิน.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2552. **ธาตุอาหารพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ.

รังสรรค์ เกตุอ๊อต. 2548. **ผลของน้ำเสียชุมชนที่ผ่านการบำบัดแล้วต่อผลผลิตและคุณภาพข้าวโพดฝักอ่อน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรกาย อุส่าห์. 2541. **ปริมาณธาตุอาหารและโลหะหนักในพืชที่ปลูกโดยใช้วัสดุปลูกผสมระหว่างตะกอนน้ำเสียและดินในท้องที่จังหวัดเพชรบุรี.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมเพียร เกษมทรัพย์. 2526. **ไม้ดอกกระถาง.** พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Juwarkar, A.S. 1991. A Case Study on Use of Sewage for Crop Irrigation. Pers. Commn. NEERI, Nagpur, India

Patrick, M. 1984. Industrial waste spray irrigation in Taranaki, pp. 247-248. *In* Wilcock, R. J., ed. Land Treatment of Wastes part II: Proceeding of a Seminar Hamilton, 7-9 February 1984, Wellington: National water and soil conservation on authority.

การวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางการเงินของกระบวนการผลิตปลาส้มบริเวณกว๊านพะเยา

Financial Worthiness Analysis of Pla-Som Production around Phayao Lake

ทวีพร กัณณีย์[1*] สามัคคี บุณยะวัฒน์[1] ชูชีพ พิพัฒน์ศิถี[1] และ เกษม จันทร์แก้ว[1,2]

Taweeporn Kannee[1*], Samakkee Boonyawat[1], Chucheep Piputsitee[1] and Kasem Chunkao[1,2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคุ้มค่าทางการเงินของกระบวนการผลิตปลาส้ม โดยทำการเก็บข้อมูลปฐมภูมิและทุติยภูมิจากกลุ่มผู้ประกอบอาชีพผลิตปลาส้ม ในพื้นที่ตำบลบ้านสาง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 3 กลุ่ม คือ ผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐม ผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้ว และผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาในกว๊านพะเยา วิเคราะห์ต้นทุนและผลประโยชน์แบบปรับค่าเวลาด้วย 3 ตัวชี้วัด ได้แก่ มูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) และอัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (IRR) โดยมีอายุโครงการ 10 ปี และอัตราคิดลด12% จากการศึกษาพบว่า การผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐม และการผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้วมีความคุ้มค่าทางการเงิน มีเพียงการผลิตปลาส้มจากปลาในกว๊านพะเยาเท่านั้นที่ไม่มีความคุ้มค่าทางการเงิน เนื่องจากปริมาณปลาจากกว๊านพะเยาที่เป็นวัตถุดิบมีปริมาณน้อยลง และกระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมมีการปล่อยน้ำเสียที่ปนเปื้อนสารอินทรีย์สูงลงสู่กว๊านพะเยาโดยตรง ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพน้ำและระบบนิเวศแหล่งน้ำ จึงควรเพิ่มระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ เพื่อให้เกิดผลประโยชน์ทั้งในเรื่องของการเงินและสิ่งแวดล้อมที่ยั่งยืน

ABSTRACT

The research is aimed to study on financial worthiness of Pla-Som production process. Primary and secondary data collected from Pla-Som (pickled fish) group in Ban Sang Sub-district, Muang district, Phayao province, consisted of manufacturers who used fish from fish farms in Nakhon Pathom province, used fish meat plus skin and used fish from Phayao lake. The data was analyzed in term of cost and benefit discounted measures with 3 indicators: NPV, BCR and IRR in Condition of 10 years project lifetime and 12 % discounting rate. The results demonstrated that Pla-Som production from fish farms in Nakhon Pathom province and Pla-Som production from fish meat plus skin met the financial worthiness but Pla-Som production from fish in Phayao lake could not met the financial worthiness. According to fishes in Phayao lake which were raw materials had declined quantity and traditional Pla-Som production process produced high organic content in wastewater and directly discharged into Phayao Lake, therefore, it effected to water quality and aquatic ecosystem. For this reason, it should be applied nature-by nature wastewater treatment system for environment and financial sustainability.

Key Words: Financial worthiness, Pla-Som, Phayao lake

*Corresponding author; e-mail address: nang_nuu_nul@hotmail.com

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Environmental Science, Faculty of Environment, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2]โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี

[2]The King's Royally Initiated Laem Phak Bia Environmental Research and Development Project, Phetchaburi Province

คำนำ

พื้นที่ตำบลบ้านสาง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา ประชาชนส่วนใหญ่มีการประกอบอาชีพผลิตปลาส้มตั้งแต่อดีตจนมาถึงปัจจุบันถือเป็นอาชีพที่สืบต่อกันมารุ่นสู่รุ่น โดยในอดีตประชาชนมีการนำปลาจากกว๊านพะเยามาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปลาส้ม แต่ในระยะหลังปริมาณปลาในกว๊านมีไม่พอต่อความต้องการในกระบวนการผลิต ทำให้ต้องมีการนำปลาจากแหล่งใหม่นั้นคือปลาที่เลี้ยงในจังหวัดนครปฐมมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อการผลิต ทำให้รูปแบบของการผลิตปลาส้มในพื้นที่ปัจจุบันแบ่งออกเป็น 3 รูปแบบ คือ การผลิตปลาส้มจากการนำปลาเลี้ยงทั้งตัวจากจังหวัดนครปฐมมาชำแหละเอง การผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงจังหวัดนครปฐมที่มีการชำแหละเป็นชิ้นเนื้อปลามาแล้ว และการผลิตปลาส้มจากปลาในกว๊านพะเยา โดยปัญหาของปริมาณปลาในกว๊านพะเยาที่ไม่เพียงพอต่อปริมาณการผลิตปลาส้ม ทำให้รูปแบบของกระบวนการผลิตปลาส้มต่างไปจากเดิมจึงเกิดการศึกษาความคุ้มค่าทางด้านการเงินของรูปแบบการผลิตปลาส้มทั้ง 3 แบบขึ้น เพื่อให้ผลของการศึกษาดังกล่าวนำมาสู่วิธีการผลิตที่เกิดความคุ้มค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์ที่มิได้มุ่งเน้นแต่ทางด้านการเงินเท่านั้นแต่ยังรวมถึงการพิจารณาทางด้านสิ่งแวดล้อม

เนื่องจากผลการศึกษาของ โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (2558) ที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตปลาส้มบริเวณตำบลบ้านสาง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา พบว่าดัชนีที่มีความสำคัญต่อคุณภาพน้ำมีค่าไม่เป็นไปตามค่ามาตรฐาน โดยเฉพาะค่าความสกปรกในรูปบีโอดี ที่ตรวจวัดได้มีค่าสูงถึง 7,900 mg/L เกินค่ามาตรฐานน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม และมาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดินประเภทที่ 2 เพื่อการอนุรักษ์สัตว์น้ำและประมง ที่กำหนดไว้ที่ 20 และ 1.5 mg/L ตามลำดับ ค่าความสกปรกในรูปบีโอดีดังกล่าวส่งผลโดยตรงต่อค่าความสกปรกในรูปซีโอดีและปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเนื่องจากค่าความสรกปรกในรูปของบีโอดีและซีโอดีสูงจะทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์และสารเคมีในน้ำใช้ออกซิเจนอย่างรวดเร็วจนทำให้น้ำเกิดการเน่าเสีย โดยค่าความสกปรกในรูปซีโอดีตามมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งอุตสาหกรรม คือ 120 mg/L ในขณะค่าที่ตรวจวัดได้มีค่าสูงถึง 21,900 mg/L ทำให้ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำลง จากค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดินประเภทที่ 2 เพื่อการอนุรักษ์สัตว์น้ำและประมงที่มีค่ามาตรฐานเท่ากับ 6.0 mg/L แต่จากตัวอย่างน้ำที่ตรวจวัดพบเพียง 0.04 mg/L นอกจากนี้ยังพบค่าน้ำมันและไขมัน (FOG) ที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 6,917 mg/L สูงเกินค่ามาตรฐาน คือ 5.0 mg/L โดยน้ำเสียส่วนนี้จะถูกทิ้งลงกว๊านพะเยาซึ่งเป็นแหล่งของวัตถุดิบในการผลิตปลาส้ม คุณภาพน้ำที่แย่ลงทำให้ปลาในกว๊านมีปริมาณลดลงและไม่เพียงพอต่อปริมาณการผลิต

ดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงเป็นการศึกษาถึงสถานภาพความคุ้มค่าทางการเงินของรูปแบบการผลิตปลาส้มในปัจจุบันที่ดำเนินการอยู่ เพื่อส่งผลต่อการศึกษาในขั้นต่อไปที่จะแก้ไขปัญหาปริมาณปลาในกว๊านพะเยาที่ไม่เพียงพอต่อการผลิตว่าหากมีการนำระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติเข้ามาในกระบวนการผลิตเพื่อเป็นการบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่กว๊านพะเยาแล้วจะมีผลต่อคุณภาพน้ำและทำให้ปริมาณปลาในกว๊านให้กลับมาเพียงพอและเกิดความคุ้มค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์สิ่งแวดล้อมจากการผลิตหรือไม่

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลที่เกี่ยวกับค่าใช้จ่ายและรายได้ทางการเงินทั้งหมดที่นำมาวิเคราะห์ มาจากการสัมภาษณ์ผู้ที่ประกอบอาชีพผลิตปลาส้มบริเวณตำบลบ้านสาง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา โดยตัวอย่างของผู้ที่สัมภาษณ์จะใช้วิธีสุ่มตัวอย่างแบบแบ่งชั้น (Stratified random sampling) เป็นการสุ่มตัวอย่างประชากรแบบจัดประชากรออกเป็นพวกหรือชั้น (Stratum) การแบ่งประชากรเป็นพวกหรือชั้น ยึดหลักให้มีลักษณะภายในคล้ายกันหรือเป็นเอกพันธ์ (Homogeneous) มากที่สุด แต่จะแตกต่างระหว่างชั้นกันมากที่สุด (ศิริชัย, 2545) โดยการแบ่งชั้นในการศึกษาครั้งนี้ใช้รูปแบบของกระบวนการในการผลิตปลาส้มเป็นตัวแบ่ง จากการศึกษาผู้ผลิตในพื้นที่มีทั้งหมด 19 ราย แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่มแรกผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐม 6 ราย โดยในกลุ่มนี้ผู้ผลิตจะรับปลาทั้งตัวมาจากจังหวัดนครปฐมแล้วนำมาชำแหละเป็นชิ้น ๆ เอง กลุ่มที่สองผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้ว 7 ราย ผู้ผลิตกลุ่มนี้จะรับปลาจากที่ผ่านการชำแหละเรียบร้อยแล้วมาผลิตโดยปลาดังกล่าวเป็นปลาจากนครปฐมเช่นกัน และผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาในกว๊านพะเยา 6 ราย แล้วทำการสุ่มตัวอย่างของแต่ละกลุ่มโดยกำหนดให้กลุ่มตัวอย่างกลุ่มละไม่เกินร้อยละ 50 ของประชากร ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม กลุ่มละ 3 รายเท่า ๆ กัน

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลความคุ้มค่าทางด้านการเงินของกระบวนการผลิตปลาส้ม

1. การวิเคราะห์เชิงปริมาณ เป็นการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบความคุ้มค่าทางด้านการเงินของกระบวนการผลิตปลาส้ม โดยใช้ต้นทุนและผลประโยชน์ที่เก็บรวบรวมได้ข้างต้นนำมาคำนวณความคุ้มค่าของโครงการใช้ตัวชี้วัด 3 ตัว คือ NPV, BCR และ IRR (ชูชีพ, 2544)

1.1 มูลค่าปัจจุบันสุทธิ (Net present value: NPV) มูลค่าปัจจุบันสุทธิ เป็นตัวบ่งชี้ถึงจำนวนผลประโยชน์สุทธิที่ได้รับตลอดระยะเวลาของโครงการ ซึ่งอาจมีค่าเป็นลบ เป็นศูนย์ หรือบวกก็ได้ขึ้นอยู่กับขนาดของมูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์รวม (Present value of benefit: PVB) หักออกจากมูลค่าปัจจุบันของต้นทุนรวม (Present value of cost: PVC) ของโครงการนั้น โดยโครงการมีความเหมาะสมและคุ้มค่าทางการเงินเมื่อ NPV มากกว่า 0

1.2 อัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (Benefit - cost ratio: BCR) คือ มูลค่าปัจจุบันของผลประโยชน์รวมหารด้วยมูลค่าปัจจุบันของต้นทุนรวม โดยโครงการมีความเหมาะสมและคุ้มค่าทางการเงินเมื่อ BCR = 1 หรือมีค่ามากกว่า 1

1.3 อัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (Internal rate of return: IRR) คือ ผลตอบแทนเป็นร้อยละต่อโครงการ หรือหมายถึงอัตราดอกเบี้ยในกระบวนการคิดลดที่ทำให้มูลค่าปัจจุบันสุทธิของโครงการมีค่าเท่ากับศูนย์ โดยโครงการมีความเหมาะสมและคุ้มค่าทางการเงินเมื่อ IRR มีค่าสูงและต้องสูงกว่า อัตราคิดลดหรือค่าเสียโอกาสของทุน (Opportunity cost of capital) ในที่นี้อัตราคิดลดที่นำมาวิเคราะห์มูลค่าคิดที่อัตราร้อยละ 12 และกำหนดอายุโครงการ 10 ปี

2. การวิเคราะห์เชิงพรรณนา เป็นการวิเคราะห์รวบรวมข้อมูลต่าง ๆ คือ สภาพแวดล้อมที่ส่งผลกระทบกับปลาที่เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตปลาส้มบริเวณกว๊านพะเยา เพื่อให้ทราบภาพรวมของผลที่ได้จากการศึกษา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูลความคุ้มค่าทางด้านการเงินของกระบวนการผลิตปลาส้ม

จากการวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางการเงินของกระบวนการผลิตปลาส้มทั้ง 3 กลุ่มด้วยกัน คือ ผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐม ผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้ว และผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาในกว๊านพะเยาโดยข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ประกอบด้วยส่วนของกระแสต้นทุนรวมอันเกิดจากต้นทุนคงที่และต้นทุนดำเนินงานกับกระแสผลประโยชน์รวมที่ได้จากการกระบวนการผลิต อธิบายแต่ละกลุ่มได้ดังนี้

ผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐมได้ผลการวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางด้านการเงินดัง Table 1 โดยกำหนดให้โครงการดังกล่าวมีอายุโครงการ 10 ปี พบว่าโครงการนี้ มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) 4,952,335.90 บาท มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) 1.13 และมีค่าอัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (IRR) เท่ากับร้อยละ 31.07 แสดงว่าการผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐมมีความคุ้มค่าทางด้านการเงินเนื่องจากโครงการที่ความคุ้มค่านั้นเมื่อ NPV มากกว่า 0, BCR = 1 หรือมากกว่า 1 และ IRR มีค่าสูงกว่า อัตราคิดลดหรือค่าเสียโอกาสของทุน ในที่นี้อัตราคิดลดที่นำมาวิเคราะห์มูลค่าคิดที่อัตราร้อยละ 12

Table 1 Cost and benefit stream of Pla-Som production from fish farms in Nakhon Pathom province.

(Unit: Baht)

No.	Year	Total cost stream	Total benefit stream	Discount factor (r=12 %)	Present value of cost	Present value of benefit
1	2558	6,812,804.21	-	0.8929	6,083,152.88	0.00
2	2559	6,812,804.21	9,132,500.00	0.7972	5,431,167.52	7,280,429.00
3	2560	6,812,804.21	9,132,500.00	0.7118	4,849,354.04	6,500,513.50
4	2561	6,812,804.21	9,132,500.00	0.6355	4,329,537.08	5,803,703.75
5	2562	6,812,804.21	9,132,500.00	0.5674	3,865,585.11	5,181,780.50
6	2563	6,812,804.21	9,132,500.00	0.5066	3,451,366.61	4,626,524.50
7	2564	6,812,804.21	9,132,500.00	0.4523	3,081,431.34	4,130,629.75
8	2565	6,812,804.21	9,132,500.00	0.4039	2,751,691.62	3,688,616.75
9	2566	6,812,804.21	9,132,500.00	0.3606	2,456,697.20	3,293,179.50
10	2567	6,812,804.21	9,132,500.00	0.3220	2,193,722.96	2,940,665.00
	Total	68,128,042.10	82,192,500.00		38,493,706.35	43,446,042.25
	NPV					4,952,335.90
	BCR					1.13
	IRR					31.07 %

กลุ่มผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้วได้ผลวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางด้านการเงิน ดังTable 2 พบว่าโครงการนี้ มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) 27,714,921.46 บาท มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) 1.35 และมีค่าอัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (IRR) เท่ากับร้อยละ 58.94 แสดงว่าการผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้วมีความคุ้มค่าทางด้านการเงินเช่นกัน

Table 2 Cost and benefit stream of Pla-Som production from the fish meat plus skin.

(Unit: Baht)

No.	Year	Total cost stream	Total benefit stream	Discount factor (r=12 %)	Present value of cost	Present value of benefit
1	2558	14,176,729.73	-	0.8929	12,658,401.98	0.00
2	2559	14,176,729.73	22,663,334.20	0.7972	11,301,688.94	18,067,210.02
3	2560	14,176,729.73	22,663,334.20	0.7118	10,090,996.22	16,131,761.28
4	2561	14,176,729.73	22,663,334.20	0.6355	9,009,311.74	14,402,548.88
5	2562	14,176,729.73	22,663,334.20	0.5674	8,043,876.45	12,859,175.83
6	2563	14,176,729.73	22,663,334.20	0.5066	7,181,931.28	11,481,245.11
7	2564	14,176,729.73	22,663,334.20	0.4523	6,412,134.86	10,250,626.06
8	2565	14,176,729.73	22,663,334.20	0.4039	5,725,981.14	9,153,720.68
9	2566	14,176,729.73	22,663,334.20	0.3606	5,112,128.74	8,172,398.31
10	2567	14,176,729.73	22,663,334.20	0.3220	4,564,906.97	7,297,593.61
Total		141,767,297.30	203,970,007.80		80,101,358.32	107,816,279.78
NPV						27,714,921.46
BCR						1.35
IRR						58.94%

กลุ่มผู้ผลิตปลาส้มจากปลากว๊านพะเยาได้ผลวิเคราะห์ดัง Table 3 พบว่าโครงการนี้ มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) -25,751.63 บาท มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) 0.99 และมีค่าอัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (IRR) เท่ากับร้อยละ 9.51 สรุปได้ว่าการผลิตปลาส้มจากปลากว๊านพะเยาไม่คุ้มค่าทางการเงิน เนื่องจากปริมาณปลาที่มีอยู่ในกว๊านที่เป็นวัตถุดิบในการผลิตมีปริมาณลดลง ทำให้รายได้จากการผลิตน้อยลงตามไปด้วย นอกจากนี้จากการสัมภาษณ์ผู้ประกอบอาชีพผลิตปลาส้มจากปลาในกว๊านพะเยายังพบอีกว่ามิใช่แค่ปริมาณปลาที่ลดลงแต่ขนาดของปลาก็เล็กลงด้วยซึ่งส่งผลโดยตรงต่อรายได้ทำให้เกิดความไม่คุ้มค่าทางการเงินดังกล่าว

เนื่องจากปริมาณและขนาดของปลาในกว๊านพะเยามีความสัมพันธ์กับรายได้ซึ่งจะนำมาสู่ความคุ้มค่าทางการเงิน โดยการเจริญเติบโตของปลาบริเวณกว๊านพะเยาขึ้นอยู่กับคุณภาพน้ำเป็นสำคัญจากการสัมภาษณ์ผู้

ประกอบอาชีพผลิตปลาส้มพบว่า มีการปล่อยน้ำเสียจากกระบวนการผลิตลงสู่กว๊านพะเยาโดยตรงสอดคล้อง การศึกษาของ (ศรัญญา, 2545) ที่ทำการศึกษาเรื่องปัจจัยที่มีผลต่อการจัดการสิ่งแวดล้อมในการผลิตปลาส้ม ของกลุ่มแม่บ้านสันเวียงใหม่ ตำบลบ้านสาง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา พบว่า กลุ่มแม่บ้านส่วนใหญ่ ความคาดหวังทางสังคมไม่มีความสัมพันธ์กับทัศนคติในการจัดการปัญหาสิ่งแวดล้อมจากการผลิตปลาส้มทำให้ผู้ผลิตปลาส้มได้มีการปล่อยน้ำเสียลงสู่กว๊านพะเยามาเป็นเวลานาน ด้วยเหตุนี้จึงทำให้คุณภาพน้ำในกว๊านพะเยาแย่ลง ปริมาณปลาซึ่งนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตจึงลดลง ทำให้รายได้ลงลงตามไปด้วยนั้นเอง

Table 3 Cost and benefit Stream of Pla-Som production from fish in Kwan Phayao lake

(Unit: Baht)

No.	Year	Total cost stream	Total benefit stream	Discount factor (r=12 %)	Present value of cost	Present value of Benefit
1	2558	311,034.80	-	0.8929	277,722.97	0.00
2	2559	311,034.80	364,000.00	0.7972	247,956.94	290,180.80
3	2560	311,034.80	364,000.00	0.7118	221,394.57	259,095.20
4	2561	311,034.80	364,000.00	0.6355	197,662.62	231,322.00
5	2562	311,034.80	364,000.00	0.5674	176,481.15	206,533.60
6	2563	311,034.80	364,000.00	0.5066	157,570.23	184,402.40
7	2564	311,034.80	364,000.00	0.4523	140,681.04	164,637.20
8	2565	311,034.80	364,000.00	0.4039	125,626.96	147,019.60
9	2566	311,034.80	364,000.00	0.3606	112,159.15	131,258.40
10	2567	311,034.80	364,000.00	0.3220	100,153.21	117,208.00
	Total	3,110,348.00	3,276,000		1,757,408.83	1,731,657.20
	NPV					-25,751.63
	BCR					0.99
	IRR					9.51%

สรุป

จากการวิเคราะห์ความคุ้มค่าทางด้านการเงินของการผลิตปลาส้มทั้ง 3 กลุ่มด้วยกัน คือ ผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐม ผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้ว และผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาในกว๊านพะเยา พบว่าในกลุ่มของผู้ผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐมและผู้ที่ผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้วผลการวิเคราะห์มีความคุ้มค่าทางด้านการเงิน โดยการผลิตปลาส้มจากปลาที่ชำแหละแล้วมีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) 27,714,921.46 บาท มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) 1.35 และมีค่าอัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (IRR) เท่ากับร้อยละ 58.94 การผลิตปลาส้มจากปลาเลี้ยงทั้งตัวจังหวัดนครปฐมมีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) 4,952,335.90 บาท มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) 1.13 และมีค่า

อัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (IRR) เท่ากับร้อยละ 31.07

ในขณะที่การผลิตปลาส้มจากปลากว๊านพะเยาพบว่าไม่มีความคุ้มค่าด้านการเงินโดยมีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) -25,751.63 บาท มีค่าอัตราส่วนผลประโยชน์ต่อต้นทุน (BCR) 0.99 และมีค่าอัตราผลตอบแทนภายในของโครงการ (IRR) เท่ากับร้อยละ 9.51 เนื่องจากปริมาณและขนาดของปลาในกว๊านที่ลดลงทำให้เกิดความลดลงของรายได้ในการประกอบอาชีพ อันเป็นผลกระทบมาจากคุณภาพน้ำในกว๊านพะเยาที่เกิดจากการปล่อยน้ำเสียจากกระบวนการผลิตปลาส้มลงสู่กว๊านพะเยา ทำให้การเจริญเติบโตของปลาในกว๊านที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตของกลุ่มนี้ลดลงหากคิดในระยะเวลาโครงการ 10 ปี จึงทำให้ผู้ผลิตกลุ่มนี้เกิดความไม่คุ้มค่าหากยังคงมีการปล่อยน้ำเสียเช่นนี้ต่อไป

จากการศึกษาดังกล่าวจึงควรมีการต่อยอดในการศึกษาเพื่อที่จะแก้ไขปัญหาปริมาณของปลาในกว๊านพะเยาที่ไม่เพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเพื่อให้ผู้ผลิตเกิดความคุ้มค่าทางด้านการเงินโดยหากมีการนำระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติมาใช้ก่อนปล่อยน้ำเสียจากกระบวนการผลิตลงสู่กว๊านพะเยาจะทำให้คุณภาพน้ำดีขึ้นและปริมาณปลาเพิ่มขึ้นเพียงพอต่อความต้องการของผู้ผลิตรวมถึงการเพิ่มขึ้นของรายได้อันจะนำมาสู่ความคุ้มค่าทั้งทางเศรษฐศาสตร์และสิ่งแวดล้อมในลำดับต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่ให้ทุนอุดหนุนการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2558. **รายงานบริการวิชาการ การจัดการน้ำเสียจากกระบวนการผลิตปลาส้มด้วยเทคโนโลยีธรรมชาติตามแนวพระราชดำริ**. โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ย อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลแหลมบักเบี้ย อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 16 น.

ชูชีพ พิพัฒน์ศิถี. 2544. **เศรษฐศาสตร์การวิเคราะห์โครงการ**. พิมพ์ครั้งที่ 4. บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.

ศรัญญา สว่างทิตย์. 2545. **ปัจจัยที่มีผลต่อการจัดการสิ่งแวดล้อมในการผลิตปลาส้มของกลุ่มแม่บ้านสันเวียงใหม่ ตำบลบ้านสาง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศิริชัย กาญจนวาสี. 2545. **สถิติประยุกต์สำหรับการวิจัย**. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

องค์ประกอบของพรรณพืชในป่าทุ่งธรรมชาติและที่จัดการเพื่อการใช้ประโยชน์ของสัตว์ป่า ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ จังหวัดกาญจนบุรี

Floristic Composition in Natural and Managed Savannah for Wildlife Utilization in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province

ยามีรา นันลา[1*] และ ดวงใจ ศุขเฉลิม[1]

Yameera Nanla[1*] and Duangchai Sookchaloem[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาองค์ประกอบของพรรณพืชในป่าทุ่งธรรมชาติและที่จัดการเพื่อการใช้ประโยชน์ของสัตว์ป่า ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ ได้ทำการศึกษาในปี พ.ศ. 2558 โดยการวางแปลงตัวอย่างชั่วคราวเพื่อศึกษาสังคมพืชใน 2 พื้นที่ แปลงขนาด 1 ตารางเมตร ทุก ๆ ระยะห่าง 10 เมตร ไปตามเส้นแนวแปลงออกจาก base line จำนวน 120 แปลง จากผลการศึกษาพบว่าพื้นที่ป่าทุ่งเป็นป่าทุ่งจัดการที่มีไม้ต้นและป่าทุ่งธรรมชาติไม้พุ่ม พบความหลากชนิดทั้งหมด 42 ชนิด 40 สกุล 18 วงศ์ วงศ์ที่พบมากที่สุด คือ พืชวงศ์หญ้า Poaceae และวงศ์ถั่ว Fabaceae จำนวนวงศ์ละ 8 ชนิด ชนิดพืชที่มีค่าดัชนีความสำคัญมากที่สุดคือ หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) (IVI = 65.507) ชนิดพืชเด่นเมื่อพิจารณาจากค่าดัชนีความสำคัญและค่ามวลชีวภาพมีค่าสูงสุดของทั้งสองพื้นที่ ได้แก่ หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) หญ้าตีนกา (*Brachiaria distachya*) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris*) และหญ้าขัด (*Sida rhombifolia*) เป็นต้น มีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของชนิดพรรณพืชระหว่างสองพื้นที่เท่ากับร้อยละ 61.02 ในที่เกิดจากการเปิดพื้นที่สำหรับเป็นแหล่งอาหารสัตว์ป่า พบว่ามีความหลากชนิดสูงกว่าในพื้นที่ป่าทุ่งธรรมชาติ

ABSTRACT

The study on floristic composition in natural and managed savannahs for wildlife utilization in Salakpra wildlife sanctuary was carried out in 2015. Plant data were collected from 1x1 m. temporary sample plots, of every 10 m. from each plot for natural and managed savannah plant community areas. The results showed totally 42 species, 40 genera, 18 families of plants were found in both areas. Fabaceae and Poaceae were the families with the largest number of plant species (8 species in each family). The most dominant plant species is *Cynodon dactylon* (IVI = 65.507). Dominant plant species based on Importance Value Index (IVI) and the highest biomass in both areas, were *Cynodon dactylon, Brachiaria distachya, Digitaria ciliaris* and *Sida rhombifolia.* Similarity index of plant species between both areas, were 61.02%, Plant species diversity in managed savannah as open area was higher than natural savannah.

Key Words: Savannah, Species Composition, Salakpra Wildlife Sanctuary

*Corresponding author; e-mail address: **yameenutty@hotmail.com**

[1]ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Forest Biology, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ป่าทุ่งมีระบบนิเวศที่ไม่ซับซ้อน เป็นพื้นที่ที่ประกอบไปด้วยพืชวงศ์หญ้าและพืชขนาดเล็กขึ้นเป็นหลัก บริเวณช่องว่างหรือพื้นที่โล่งของป่า จึงเป็นแหล่งผลิตมวลชีวภาพที่สำคัญเพื่อใช้ถ่ายทอดพลังงานและหมุนเวียนธาตุอาหารทั้งพืชและสัตว์ สัตว์กินพืช (Herbivore) และสัตว์ผู้ล่าหรือสัตว์กินเนื้อ (Carnivores) รวมถึงแหล่งที่อยู่อาศัย ในประเทศไทยมีป่าทุ่งกระจายน้อย แต่ปัจจุบันมีการขยายตัวมากขึ้นที่ได้รับอิทธิพลจากกิจกรรมของมนุษย์ เกิดขึ้นจากการทดแทน ขาดการจัดการที่มีประสิทธิภาพ และไม่เหมาะสม ส่งผลต่อสมดุลของการไหลเวียนพลังงานและผลผลิตในระบบนิเวศป่าทุ่ง จนขาดความสมดุล สัตว์ป่าที่เคยใช้ประโยชน์ก็ได้รับผลกระทบทั้งจากการขาดแคลนพืชอาหารและแหล่งอาศัย

ความหมายทางนิเวศวิทยาป่าไม้ (Forest Ecology) การศึกษาป่าไม้กับสิ่งแวดล้อมของป่านั้น ๆ เป็นศาสตร์สำหรับการจัดการป่าเพื่อผลผลิตหลากหลายและการจัดการป่าในเชิงระบบนิเวศ นิเวศวิทยาถือว่าเป็นการศึกษาที่เป็นพื้นฐานของการจัดการทรัพยากรธรรมชาติในทุกด้าน เพื่อการประยุกต์ใช้หลักนิเวศวิทยาซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของพื้นฐานงานด้านวิทยาศาสตร์ทุ่งหญ้า เพราะ พืช สัตว์ ดิน น้ำและสภาพลมฟ้าอากาศ ล้วนมีความสัมพันธ์ระหว่างกันและกันในโครงสร้างของระบบนิเวศทุ่งหญ้า โดยเฉพาะเรื่องพืชที่เป็นผู้ผลิตขั้นแรก (primary production) ของทุ่งหญ้าความรู้ทางด้านพืชนั้น ไม่ว่าเรื่องสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา เป็นรากฐานที่สำคัญ ที่จะทำให้เกิดความเข้าใจกับการเจริญเติบโตและนิเวศที่สัมพันธ์โดยตรงกับปัจจัยทางด้านนิเวศ ทั้งปัจจัยธรรมชาติและปัจจัยของการจัดการโดยมนุษย์

เขตรักษาพันธุ์สัตว์สลักพระ ตั้งขึ้นในปี พ.ศ. 2508 เป็นเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าแห่งแรกในประเทศไทย อุดมสมบูรณ์ด้วยพรรณพืชป่านานาชนิดทำให้พื้นที่แห่งนี้ชุกชุมด้วยสัตว์ป่าหลายชนิดที่ได้เข้ามาใช้ประโยชน์จากพื้นที่ป่าทุ่ง ผลกระทบที่ผลผลิตในพื้นที่ลดลงอันเนื่องมาจากปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ส่งผลให้เกิดการขาดแคลนพืชอาหารและแหล่งอาศัย และการแก่งแย่งขึ้นในประชากรสัตว์ป่าด้วยกันเอง ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างและความสัมพันธ์ของห่วงโซ่อาหารและระบบนิเวศ สำหรับการศึกษาครั้งนี้เพื่อหาองค์ประกอบพรรณพืชในป่าทุ่ง เพื่อหาความสัมพันธ์ของการใช้ประโยชน์จากสัตว์ป่ากับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เพื่อผลดังกล่าวมาช่วยในของการจัดการพื้นที่ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ เพื่อการใช้ประโยชน์ได้อย่างยั่งยืนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

เลือกพื้นที่ศึกษาจำนวน 2 พื้นที่ ได้แก่ 1)ป่าที่มีการจัดการเปิดพื้นที่ให้เป็นป่าทุ่งโดยมนุษย์เพื่อใช้เป็นแหล่งพืชอาหารสัตว์ป่า และ 2)ป่าทุ่งธรรมชาติบริเวณหน่วยพิทักษ์ป่าสลักพระ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ จังหวัดกาญจนบุรี โดยพื้นที่ทั้งสองแห่งมีระยะทางห่างกันประมาณ 5 กิโลเมตร วางแปลงตัวอย่าง (Plot techniques) เพื่อเก็บข้อมูลชนิดพืช ความถี่การปรากฏ มวลชีวภาพ และข้อมูลปัจจัยแวดล้อม มีขั้นตอนดังนี้

1.1 วางแปลงตัวอย่างในพื้นที่ศึกษา โดยกำหนดเส้นเพื่อเป็น base line

1.2 วางเส้นสำรวจไปทางทิศเหนือ 90 องศา ออกจากเส้น base line ไปจนสุดแนวขอบของป่าทุ่งแต่ละเส้นที่วางห่างกัน 20 เมตรวางแปลงขนาด 1 x 1 ตารางเมตร ทุก ๆ ระยะ10 เมตร ไปตามเส้นแนวที่วางออกจาก base line ได้จำนวนแปลง 60 แปลงในป่าทุ่งธรรมชาติและ 60 แปลงในป่าทุ่งจัดการ

1.3 ทำการเก็บตัวอย่างชนิดพรรณพืชในแปลงขนาด 1 x 1 ตารางเมตร ได้แก่พืชที่มีเนื้อไม้ ไม้ล้มลุก รวมทั้งหญ้า ทั้งหมดที่ปรากฏในแปลง และตรวจนับร้อยละของการปกคลุมของพืชแต่ล่ะชนิด

1.4 ศึกษามวลชีวภาพในแปลงตัวอย่างขนาด 1 x 1 ตารางเมตร วางแปลงขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร ตัดชิ้นส่วนที่อยู่เหนือผิวดินต้นพืชทั้งหมดจนชิดระดับผิวดิน เพื่อนำมาชั่งหาน้ำหนักสดที่อุณหภูมิห้อง และนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วทำการชั่งน้ำหนักแห้ง นำมาคำนวณหาร้อยละความชื้น เพื่อคำนวณหาค่ามวลชีวภาพ จากนั้นนำมาคำนวณค่า Important Value Index (IVI) ซึ่งได้มาจากค่า เปอร์เซ็นความถี่ และเปอร์เซ็นความเด่น ที่มีค่าสูงสุดเท่ากับ 200

1.5 ในแต่ละพื้นที่ (ป่าทุ่งธรรมชาติและป่าทุ่งจัดการ) ทำการวางแปลงและเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกัน

1.6 เก็บตัวอย่างดินในแต่ละจุด โดยทำการสุ่มเก็บในแปลงขนาด 1 x 1 ตารางเมตร จำนวน 3 จุด ทั้ง 2 พื้นที่ เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-15 และ 16-30 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของดิน ได้แก่ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง, ปริมาณอินทรียวัตถุ (organic matter), ฟอสฟอรัส (P), โปแตสเซียม (K) แคลเซียม (Ca), โซเดียม (Na), ซัลเฟอร์ (S) และแมกนีเซียม (Mg)

วิธีคำนวณค่าที่ใช้ในการวิเคราะห์

การหาดัชนีค่าความสำคัญ (Important Value Index (IVI)) คือผลรวมของค่าความสัมพัทธ์ความถี่ ความเด่น ความหนาแน่น ของชนิดพรรณพืชนั้นในสังคมในการคำนวณหาค่า IVI ซึ่งเป็นค่าที่ใช้แสดงถึงความสำเร็จทางนิเวศวิทยาของพรรณไม้ในการครอบครองพื้นที่นั้น กล่าวคือชนิดพืชใดที่มีดัชนีค่า IVI สูงแสดงว่าพืชชนิดนั้นเป็นชนิดพืชเด่นมีความสำคัญในพื้นที่นั้น โดยดัชนีค่า IVI ของชนิดพืชหนึ่ง ๆ มีค่าตั้งแต่ 0-300 ในกรณีหาดัชนีค่า IVI ของพืชพื้นล่าง ซึ่งไม่สามารถหาค่าพื้นที่หน้าตัดได้แต่สามารถใช้มวลชีวภาพของชนิดได้ ในการศึกษาครั้งนี้หาดัชนีความสำคัญได้จากผลรวมของค่าความถี่สัมพัทธ์ และค่าความเด่นสัมพัทธ์ (มวลชีวภาพ) มีค่า IVI ตั้งแต่ 0-200 และวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (index of similarity, IS) (Krebs, 1989) จากการนำข้อมูลชนิดพืชในสองพื้นที่เปรียบเทียบกัน

ผลและวิจารณ์

ชนิดและโครงสร้างของสังคมพืช

ผลการศึกษาโครงสร้างสังคมพืชและความหลากชนิดพืชในพื้นที่ป่าทุ่ง เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ ทั้ง 2 รูปแบบ คือป่าทุ่งธรรมชาติและป่าทุ่งที่เกิดจากการเปิดพื้นที่เพื่อการจัดการสำหรับเป็นแหล่งอาหารสัตว์ป่า พบพรรณพืชทั้งหมด 42 ชนิด 40 สกุล 18 วงศ์ และ 3 วงศ์ย่อย วงศ์ที่พบจำนวนชนิดมากที่สุด คือ วงศ์หญ้า (Poaceae) และ พืชวงศ์ถั่ว (Fabaceae) วงศ์ละ 8 ชนิด รองลงมาคือ พืชวงศ์สาบเสือ (Asteraceae) 5 ชนิด และวงศ์ขิงข่า (Zingiberaceae) 3 ชนิด วงศ์ที่พบจำนวนชนิดน้อยที่สุด ทั้งหมด 11 วงศ์ ได้แก่ Amaranthaceae Aristolochiaceae Costaceae Colchicaceae Commelinaceae Dioscoreaceae Rubiaceae Schizaeaceae Simaroubaceae Selaginellaceae และ Verbenaceae พบในแต่ละวงศ์มีเพียงชนิดเดียว (Figure 1)

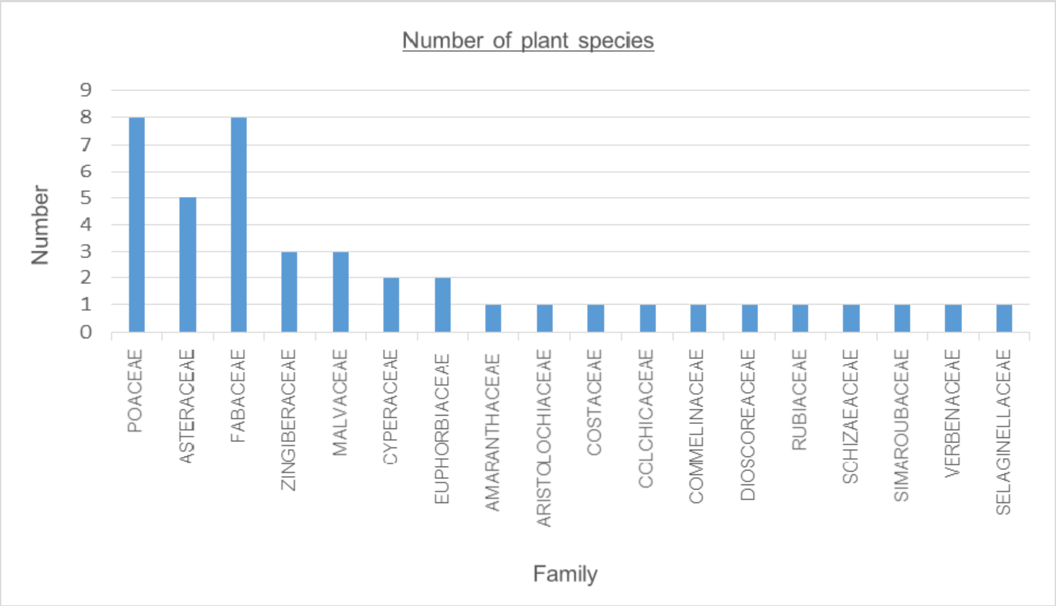


Figure 1 Number of plant species in each family, for two studied areas (Natural area and Managed area) at Salakphra wildlife ranger station, Salakpra Wildlife Sanctuary

ผลการสำรวจความหลากชนิดของแปลงป่าทุ่งที่เกิดจากการเปิดพื้นที่เพื่อการจัดการสำหรับเป็นแหล่งอาหารสัตว์ป่า พบจำนวนชนิดของพรรณพืชทั้งหมด 35 ชนิด 33 สกุล 16 วงศ์ มีไม้ต้นกระจายอยู่เป็นกลุ่ม ๆ ซึ่งเป็นไม้ต้นดั้งเดิมในพื้นที่ก่อนมีการจัดการ ชนิดที่พบได้แก่ ตะคร้ำ (*Garuga pinnata* Roxb.) งิ้วป่า (*Bombax anceps* Pierre.) กระท่อมหมู (*Mitragyna rotundifolia* (Roxb.) Kuntze) กลุ่มไม้พุ่มเช่น เล็บเหยี่ยว (*Ziziphus oenoplia* (L.) Mill.) เม่าไข่ปลา (*Antidesma ghaesembilla* Gaertn.) ฯลฯ ซึ่งลักษณะพื้นที่แปลงศึกษาดังกล่าวจัดเป็น ป่าทุ่งไม้ต้น (Tree savannah) คือป่าทุ่งที่มีหญ้าเด่นแต่มีไม้ต้นขึ้นอยู่ห่าง ๆ ตาม อุทิศ,(2537) ชนิดพรรณพืชหลักเป็น สังคมหญ้าตีนกา ขึ้นกระจายอยู่ทั่วพื้นที่ มีชนิดพืชอื่นขึ้นปะปนอยู่บ้าง และเมื่อพิจารณาจากค่า IVI พบว่า หญ้าตีนกา (*Brachiaria distachya*) มีค่าสูงสุด หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) หญ้าตีนนก (*Digitaria cilliaris*) ผักแครด (*Synedrella nodiflora*) หญ้าขัด (*Sida rhombifolia*) มีค่าเท่ากับ 57.37, 42.38, 32.84, 12.53 และ7.14 ตามลำดับ และมะขามเบี้ย (*Chamaecrista pumila*) มีค่าดัชนีความสำคัญน้อยสุดเท่ากับ 0.57

ในขณะที่แปลงป่าทุ่งธรรมชาติ พบจำนวนชนิดพืชทั้งหมด 24 ชนิด 22 สกุล 10 วงศ์ ประกอบไปด้วยพืชวงศ์หญ้า และกลุ่มพืชที่มีวิสัยไม้พุ่มบ้างเล็กน้อย เช่น เสี้ยวป่า (*Bauhinia saccocalyx* Pierre) และปอแก่นเทา (*Grewia eriocarpa* Juss.) ลักษณะพื้นที่แปลงศึกษาดังกล่าว จัดเป็น ป่าทุ่งไม้พุ่ม (Shrub savannah) คือป่าทุ่งที่มีหญ้าขึ้นหนาแน่นและมีไม้พุ่มขึ้นห่าง ๆ ตาม อุทิศ,(2537) ชนิดพืชเด่นจากค่า IVI คือ หญ้าแพรก(*Cynodon dactylon*) หญ้าตีนกา (*Brachiaria distachya*) หญ้าตีนนก (*Digitaria cilliaris*) หญ้าขัด (*Sida rhombifolia)* และหญ้าคา (*Imperata cylindrica*) มีค่าเท่ากับ 65.51, 53.62, 13.75, 13.28 และ10.12 ตามลำดับ ชนิดที่มีค่า IVI น้อยที่สุดคือ หญ้าไข่เหา (*Cyrtococcum patens*) และเอื้องหมายนา (*Cheilocostus speciosus*) มีค่าเท่ากันคือ 0.54 (Figure 2)

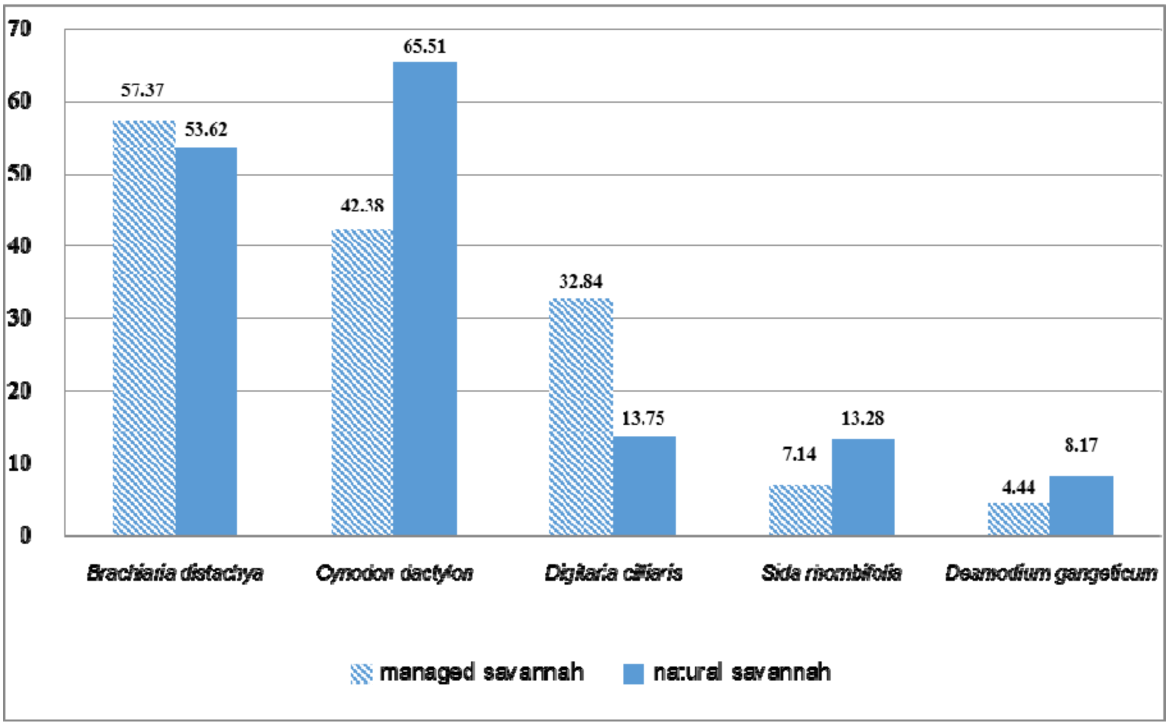


Figure 2 Important Value Index comparison between two savannah types at Salakphra wildlife ranger station, Salakpra Wildlife Sanctuary

โดยสรุปพรรณพืชในพื้นที่แปลงตัวอย่างโดยพิจารณาจากค่ามวลชีวภาพและค่า IVI จากผลรวมของค่าความถี่สัมพัทธ์ และค่าความเด่นสัมพัทธ์(มวลชีวภาพ) พบว่า ชนิดพรรณพืชที่มีค่า IVI สูงสุดของทั้งสองแปลงตัวอย่าง คือ หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) หญ้าตีนกา (*Brachiaria distachya*) และหญ้าตีนนก (*Digitaria cilliaris*) ตามลำดับ

จากการศึกษาความหลากชนิดของพรรณพืชในทั้งสองพื้นที่พบว่า แปลงป่าทุ่งที่เกิดจากการเปิดพื้นที่สำหรับเป็นแหล่งอาหารสัตว์ป่า มีจำนวนชนิดพืชมากกว่าแปลงป่าทุ่งธรรมชาติ เนื่องจากเป็นสังคมที่อยู่ในระหว่างการทดแทน (middle successional stage) (Transley, 1939) ซึ่งเป็นกระบวนการทดแทนที่เกิดขึ้นในที่โล่งที่เคยมีพรรณพืชยึดครองมาก่อน จึงยังมีส่วนสืบพันธุ์ของพืชในสังคมเดิมตกค้างอยู่บ้าง เช่น เมล็ด หรือ ตอที่สามารถแตกหน่อได้ และ รากในดิน เป็นต้น (ดอกรัก และอุทิศ, 2552) นอกจากนี้เนื่องจากพื้นที่แปลงตั้งอยู่

ใกล้เคียงกับถนนตรวจการณ์ซึ่งมีเจ้าหน้าที่และรถยนต์ลาดตระเวนผ่านเข้าออกอย่างสม่ำเสมอ จึงอาจมีโอกาสที่ส่วนสืบพันธุ์ เช่น เมล็ด หรือ สปอร์ของพืชต่างถิ่นจะอพยพเข้ามาในพื้นที่โดยผ่านทางมนุษย์ หรือ ยานพาหนะ รวมทั้งมีการจัดการโดยตัดไม้ต้นขนาดใหญ่ และหญ้าเป็นประจำ จึงอาจส่งผลให้แปลงป่าทุ่งที่เกิดจากการเปิดพื้นที่สำหรับเป็นแหล่งอาหารสัตว์ป่ามีความหลากชนิดของพรรณพืชมากกว่าแปลงป่าทุ่งธรรมชาติที่เป็นสังคมถาวรตามสภาพปัจจัยแวดล้อมและไม่มีการจัดการใด ๆ ทั้งสิ้น

เมื่อทำการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของชนิดพรรณพืชในทั้งสองพื้นที่ศึกษา พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง เท่ากับร้อยละ 61.02 แสดงว่าสังคมพืชในทั้งสองแปลงมีความคล้ายคลึงกันสูง ทั้งนี้เนื่องจากสังคมพืชโดยรอบป่าทุ่งธรรมชาติและสังคมพืชเดิมของป่าทุ่งที่ทำการเปิดพื้นที่นั้นเป็นป่าเบญจพรรณเช่นเดียวกัน รวมทั้งชนิดพรรณพืชที่พบโดยส่วนใหญ่เป็นชนิดเดียวกัน ถึงแม้ว่าในแปลงป่าทุ่งที่เกิดจากการเปิดพื้นที่สำหรับเป็นแหล่งอาหารสัตว์ป่า จะมีจำนวนชนิดมากกว่า 11 ชนิดก็ตามแต่ก็เป็นจำนวนที่น้อยและไม่แตกต่างกันมาก จึงสรุปได้ว่าแปลงป่าทุ่งทั้งสองมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันสูง (Table 1)

Table 1 Index of similarity between Natural Savannah and Managed Savannah plots at Salakphra wildlife ranger station, Salakpra Wildlife Sanctuary

Plot condition	Natural Savannah	Managed Savannah
Natural Savannah	-	61.02%
Managed Savannah	61.02%	-

พื้นที่แปลงป่าทุ่งที่เกิดจากการเปิดพื้นที่สำหรับเป็นแหล่งอาหารสัตว์ป่า พบการปกคลุมของพรรณพืชพื้นล่างประมาณร้อยละ 60 สภาพพื้นที่มีภูมิประเทศที่มีแนวเชื่อมต่อกับเนินเขาหินปูน สังคมพืชที่เกิดขึ้นเกิดจากการทดแทนหลังการถูกเปิดโล่ง มีหญ้าแพรกขึ้นเป็นหลัก พบสาบเสือขึ้นแทรกปะปน สภาพดินเป็นดินร่วน (loam) สีแดงปนดำ ปฏิกิริยาของดินเป็นกรดอ่อน มีค่า pH 5.5 - 6.9 ในดินชั้นบน (0-15 เซนติเมตร) มีปริมาณอินทรียวัตถุ (organic matter) ฟอสฟอรัส (P) โปแตสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) โซเดียม (Na) และแมกนีเซียม (Mg) สูงสุดประมาณร้อยละ 6.63, 17, 302, 8,567, 128 และ145 ppm ตามลำดับ ในส่วนของดินชั้นลึก (16-30 เซนติเมตร) ซัลเฟอร์ (S) มีค่าสูงสุดประมาณ 10 ppm

พื้นที่แปลงป่าทุ่งธรรมชาติ พบการปกคลุมของพรรณพืชพื้นล่างหนาแน่นประมาณร้อยละ 85 ของพื้นที่ที่ศึกษา สภาพดินเป็นดินร่วน (loam) สีดำ ปฏิกิริยาของดินเป็นกรดอ่อน มีค่า pH 5.1 - 6.3 ในดินชั้นบน (0-15 เซนติเมตร) มีปริมาณอินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แคลเซียม โซเดียม และแมกนีเซียม สูงสุดประมาณร้อยละ 4.47, 4, 276, 2,630, 69 และ254 ppm ตามลำดับ ในส่วนของดินชั้นลึก (16-30 เซนติเมตร) ซัลเฟอร์ มีค่าสูงสุดประมาณ 8 ppm

ตามปกติลักษณะของสังคมพืชในเชิงปริมาณ ความเด่นของแต่ละสังคมจะถูกควบคุมด้วยปัจจัยแวดล้อมแต่ล่ะปัจจัย ในสังคมที่มีพืชล้มลุกบางชนิดและหญ้าขึ้นนั้น ลักษณะดินเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ก่อให้เกิดและคงสภาพอยู่ของทุ่งหญ้า (อุทิศ, 2537) เหล่านั้น ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชอย่างน้อย

ที่สุดมีอยู่ 16 ธาตุด้วยกัน เพียง 3 ธาตุเท่านั้นคือ คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน และออกซิเจนที่พืชได้มาจากน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ส่วนธาตุที่เหลือพืชจะได้มาจากดิน (สรสิทธิ์, 2518) ซึ่งการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาปัจจัยแวดล้อมคือ คุณสมบัติทางเคมีของดิน จากปริมาณธาตุอาหารที่ปรากฏในดิน ในดินทั้งสองพื้นที่แปลงตัวอย่างจะเห็นว่าค่าแคลเซียม มีปริมาณสูงมาก ซึ่งเนื่องมาจากสภาพพื้นที่มีเขาหินปูนปรากฏอยู่ จากการศึกษาของสุระ (2531) พบว่า มวลชีวภาพจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณแคลเซียม โดยเฉพาะพืชพวกหญ้าซึ่งจะมีการสะสมแคลเซียมไว้ได้มากกว่าธาตุอื่น ๆ ในช่วงฤดูกาลเจริญเติบโต (สมนึก และนิวัติ, 2527) รวมถึงค่าฟอสฟอรัส โปตัสเซียม และโซเดียม ก็เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และในแปลงป่าทุ่งที่ทำการเปิดพื้นที่ฯ พบค่าฟอสฟอรัสที่ค่อนข้างสูงและสูงกว่าแปลงป่าทุ่งธรรมชาติ ซึ่งจากการการศึกษาของ Janssens *et al.* (1998) พบว่าฟอสฟอรัส (P) มีอิทธิพลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของพืชที่ปรากฏในระบบนิเวศทุ่งหญ้า ซึ่งในการศึกษาในป่าทุ่งที่มีการจัดการมีความหลากหลายของพรรณพืชสูงกว่าป่าทุ่งธรรมชาติ ในขณะที่ปัจจัยอื่น เช่น ค่า pH ไม่แสดงความสัมพันธ์อย่างชัดเจนต่อความหลายหลากที่ปรากฏ แต่พบว่ามีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของชนิดพรรณพืช (Priscilla and Batalha, 2007)

สรุป

ความหลากพรรณพืชรวม 42 ชนิด 40 สกุล 18 วงศ์ ชนิดพืชเด่นได้แก่ หญ้าแพรก หญ้าตีนกา หญ้าคา หญ้าขัด ผักแครด อีเหนียว ขางคันนา เป็นต้น แปลงที่ 1 (พื้นที่ป่าทุ่งที่เกิดจากการจัดการ) จัดเป็นป่าทุ่งไม้ต้น (Tree savannah) มีพรรณพืชทั้งหมด 35 ชนิด 33 สกุล 42 วงศ์ แปลงป่าทุ่งธรรมชาติ จัดเป็นป่าทุ่งไม้พุ่ม พบจำนวนชนิดของพืชทั้งหมด 24 ชนิด 22 สกุล 10 วงศ์ ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงของชนิดพืชระหว่างสองพื้นที่ เท่ากับร้อยละ 61.02 ในแปลงที่เกิดจากการจัดการพบว่ามีความหลากหลายของชนิดพืชสูงกว่า เนื่องจากปัจจัยของระยะจากห้วยและระยะจากถนนหลัก ซึ่ง มีระยะที่ใกล้ รวมถึงเป็นพื้นที่ที่จัดการให้เปิดโล่ง เกิดการทดแทนของสังคมพืช วัชพืชเริ่มเข้ามาทดแทนในช่วงแรก จากร่องรอยสัตว์ป่ามีการใช้ประโยชน์น้อยกว่าป่าทุ่งธรรมชาติ แม้จะมีความหลากหลายของชนิดพืชสูงกว่า แต่เนื่องจากสภาพพื้นที่ที่ติดถนนดินหลักที่ใช้ในการสัญจรเข้าออกในหน่วยพิทักษ์ป่าต่าง ๆ ทำให้สัตว์ถูกรบกวนได้ง่าย ทั้งนี้การจัดการจัดทำพื้นที่ป่าทุ่งเพื่อการใช้ประโยชน์ของสัตว์ป่าโดยตรง แม้จะใกล้แหล่งน้ำแต่ควรคำนึงถึงระยะจากเส้นทางเดินศึกษาทางธรรมชาติและถนนตรวจการณ์ เพื่อลดสิ่งรบกวนต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ป่าด้วยอีกทางหนึ่ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาในการเก็บข้อมูล ขอขอบคุณอาจารย์และนิสิตภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ที่ช่วยสนับสนุนงานครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีและขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนวิจัยประจำปี พ.ศ. 2558

เอกสารอ้างอิง

ดอกรัก มารอด และอุทิศ กุฏอินทร์. 2552. **นิเวศวิทยาป่าไม้.** ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิวัติ เรืองพาณิช. 2537. **วิทยาศาสตร์ทุ่งหญ้า.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

สุระ พัฒนเกียรติ. 2531. **ความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการกระจายของพันธุ์พืชกับดินในทุ่งหญ้าของอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมนึก ผ่องอำไผ และนิวัติ เรืองพานิช. 2527. การสะสมธาตุอาหารของหญ้าเพ็คในป่าเต็งรัง. **วารสารวนศาสตร์** 3 (3): 179-196 .

สรสิทธิ์ วัชโรทยาน. 2518. **ความอุดมสมบูรณ์ของดิน**. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

อุทิศ กุฏอินทร์. 2537. **นิเวศวิทยาป่าไม้**. ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Janssens, F, A. Peeters, J.R.B. Tallowin, J.P. Bakker, R.M. Bekker, F. Fillat and M.J.M. Oomes, 1998. Relationship between soil chemical factors and grassland diversity. **Plant and Soil** 202: 69–78

Krebs, C.J. 1989. **Ecological Methodology**. Harper Collins Publishers. New York.

Priscilla, K.A. and M. A. Batalha. 2007. **Soil chemical factors and grassland species density in Emas National Park (Central Brazil)**. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasi.

Transley, A. G. 1939. The plant community and the ecosystem. **Journal of Ecology** 27: 513-530.

การใช้ประโยชน์จากน้ำมันที่ใช้แล้วเพื่อผลิตสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า

The Utilization of Oil Used to Produce a Herbal Foot Deodorant Soap

สุธีรา สุนทรารักษ์[1*]

Suteera Suntararak[1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตสบู่ระงับกลิ่นเท้าจากน้ำมันที่ใช้แล้วร่วมกับสารสกัดจากใบมะกรูดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus sedentarius* ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อโดยวิธี agar diffusion พบว่า สารสกัดหยาบของใบมะกรูดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล สารสกัดส่วนที่ละลายในเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตทและน้ำสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 18.50, 8.20, 14.00, 21.30และ 14.15 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ *Micrococcus sedentarius* ขนาดของโซนใสมีค่า 12.60, 8.15, 9.40, 18.20 และ 9.60 มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้น จึงนำสารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตทซึ่งมีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาเตรียมสบู่ก้อนที่อัตราส่วนน้ำมันใช้แล้ว : น้ำมันปาล์ม อัตราส่วนเท่ากับ 750 : 250 มิลลิลิตร โดยผสมสารสกัดใบมะกรูดที่ 0, 75, 100 และ 150 มิลลิลิตร ตามลำดับ และทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ พบว่า อัตราส่วนต่ำสุดที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ มอก. 29-2545 คือ อัตราส่วนผสมระหว่างน้ำมันผลิตสบู่ : สารสกัดใบมะกรูดอัตราส่วนเท่ากับ 1,000 : 75 มิลลิลิตร

ABSTRACT

The objective of this research is to develop the herbal foot deodorant soap from used oil containing extracts of bergamot leaves that showed antibacterial activity against *S. aureus* and *M. sedentarius*. Using agar diffusion method. The 95% ethanol crude extract, hexane, chloroform, ethyl acetate and water soluble fractions exhibited antibacterial activity against *S. aureus* with clear zone diameter of 18.50,8.20,14.00,21.30 and 14.15 mm., respectively, and against *M. sedentarius*. with clear zone diameter of 12.60, 8.15, 9.40, 18.20 and 9.60 mm. respectively. Consequently, the ethyl acetate fraction which showed the highest antibacterial activity, was subjected to formulate soap at the ratio of used oil : palm oil = 750 : 250 milliliter by mixed extracts of bergamot leaves of 0, 75, 100 and 150 milliliter respectively. The results show that the lowest ratio between the soap formula and extracts of bergamot leaves that pass TIS.29-2545 standard is 1,000 : 75 milliliter.

Key Words : used oil, foot deodorant, herbal soap

*Corresponding author; e-mail address : **tangmay-jaa@hotmail.com**

[1]สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ 31000

[1]Department of Environmental Science, Faculty of Science Rajabhat Buriram University 3100

คำนำ

สบู่ผลิตจากกระบวนการแซพอนิฟิเคชัน (Saponification) เป็นผลผลิตที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของไขมันกับด่าง มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ทั้งในไขมันและน้ำ จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมนำมาใช้ในการทำความสะอาดร่างกาย เพื่อชำระล้างคราบสกปรกออกจากผิวหนัง ทำให้รางกายสะอาดมากขึ้น มีการค้นพบการทำสบู่โดยบังเอิญในยุคโรมัน โดยการนำสัตว์มาบูชายัญบนเนินเขาโดยมีการฆ่าและเผา ทำให้น้ำมันจากสัตว์ที่เผาผสมกับขี้เถ้าเกิดก้อนสีขาว และเมื่อฝนตกก้อนสีขาวจะหลุดไหลไปตามลำธาร ทำให้ชาวบ้านนำก้อนสีขาวดังกล่าวมาซักผ้า และสังเกตว่าทำให้เสื้อผ้าสะอาดยิ่งขึ้น นับตั้งแต่นั้นมาก็มีการผลิตสบู่เพื่อนำมาใช้กันมากขึ้น การผลิตสบู่สามารถผลิตได้ด้วยตนเอง เพื่อใช้ในครัวเรือนไปจนถึงระดับอุตสาหกรรม การผลิตสบู่ในทางการค้านิยมใช้สารเคมีสังเคราะห์เพิ่มคุณลักษณะที่ต้องการมากขึ้น เช่น สารแต่งกลิ่นหรือน้ำหอม สารกันหืน กลีเซอรีน เพื่อเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิว (จรัญญา, 2544)

ภายในครัวเรือนหรือตามร้านอาหาร น้ำมันพืชหรือสัตว์ถูกใช้ในการประกอบอาหารเป็นจำนวนมาก และก็ถูกกำจัดทิ้งเป็นจำนวนมากเช่นกัน โดยทั่วไปจะถูกทิ้งผ่านท่อระบายน้ำทำให้แหล่งน้ำในบริเวณชุมชนเกิดการเน่าเสีย เนื่องจากไขมันเมื่อมีการแพร่กระจายลงสู่แหล่งน้ำก็จะไม่ย่อยสลายอีกทั้งยังเพิ่มปริมาณมากขึ้นจนเกิดการสะสมและลอยตัวอยู่บริเวณผิวน้ำ ปิดกั้นการถ่ายเทของออกซิเจน และทำลายระบบการย่อยสลายของสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ในน้ำ ซึ่งเป็นต้นเหตุของการเน่าเสียของแหล่งน้ำตามธรรมชาติในที่สุด (เกรียงศักดิ์, 2542)

จากเหตุผลดังกล่าวคณะวิจัยจึงเกิดความสนใจศึกษาเพื่อนำเอาน้ำมันที่ใช้แล้วมาผลิตเป็นสบู่ด้วยเหตุผลที่สำคัญ คือ วัตถุดิบหลักของสบู่ที่เป็นไขมันนั่นเอง (ศริศักดิ์, 2551) ทั้งนี้มีงานวิจัยของวิไลพร (2554) ซึ่งสนับสนุนแนวความคิดดังกล่าว โดยผลจากการศึกษาพบว่าน้ำมันทอดที่ใช้สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์อีกโดยสามารถนำมาผลิตเป็นสารทำความสะอาด เทียนและสบู่ขุ่นได้ รวมถึงสุมาลัย (2543) ได้ทำการศึกษาผลิตภัณฑ์จากน้ำมันพืชที่ใช้แล้วเพื่อผลิตครีมล้างจาน พบว่า มีประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรกได้ในเกณฑ์ที่ดี ละลายน้ำและล้างออกง่าย อีกทั้งยังมีปริมาณฟองมาก ซึ่งเป็นที่ยอมรับในระดับเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในท้องตลาดเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังนั้นการนำน้ำมันที่ใช้แล้วเพื่อมาผลิตเป็นเป็นสบู่จึงมีความเป็นไปได้ และหากมีการประยุกต์โดยนำมาพัฒนาเป็นสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าซึ่งเกิดจากการหมักหมมบริเวณเท้าจากเชื้อแบคทีเรียได้ ด้วยการใช้มะกรูด (*Citrus hystrix.* DC.) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายรวมทั้งฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้าง (Mourey and Canillac, 2002) ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบสารสกัดหยาบจากใบมะกรูดมาใช้ในการควบคุมการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Micrococcus Sedentarius* ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคเท้าเหม็น (Pitted Keratolysis) ที่พบมากในเขตร้อนได้ ตลอดจนพัฒนาผลิตภัณฑ์สบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าจากน้ำมันที่ใช้แล้วเพื่อเป็นการสร้างทางเลือกในการจัดการกากของเสีย (waste) อย่างน้ำมันที่ใช้แล้วควบคู่กับการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์สบู่จากน้ำมันที่ใช้แล้วได้อีกทางหนึ่งด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมน้ำมันที่ใช้แล้วเพื่อผลิตเป็นสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า

ขั้นตอนการทำความสะอาดน้ำมันที่ใช้แล้ว คณะผู้วิจัยได้นำน้ำมันที่ใช้แล้วซึ่งรวบรวมมาจากร้านขายลูกชิ้นทอดภายในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ มาทำความสะอาด ด้วยการการกรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อนำเอาตะกอนออก ทำซ้ำประมาณ 2-3 ครั้ง แล้วนำไปต้มพออุ่นอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยการใส่ใบเตยและตะไคร้สดอย่างละ 500 กรัมต่อน้ำมันที่ใช้แล้ว 10 ลิตร พักไว้ให้เย็นนำกากใบเตยและตะไคร้สดออกแล้วนำไปหมักด้วยน้ำส้มสายชู : น้ำมันที่ใช้แล้ว เท่ากับ 1 : 1 เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อเป็นการดับกลิ่นเหม็นหืนรวมถึงแต่งกลิ่นของน้ำมันที่ใช้แล้ว

การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบมะกรูด

นำใบมะกรูดมาทำความสะอาดและอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาบดเป็นผงหยาบ จากนั้นสกัดต่อเนื่องจนสารละลายใสโดยวิธีการหมักด้วยตัวทำละลาย 95 % เอทานอล (อัตราส่วนระหว่างใบมะกรูด : สารละลาย เท่ากับ 1 : 2) กรองเก็บสารละลายและระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความดัน 175 มิลลิบาร์ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาสกัดแยกส่วนด้วยตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตทและน้ำ ตามลำดับ ทดสอบประสิทธิภาพของส่วนสกัดที่เตรียมได้ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus sedentarius* ด้วยวิธี agar diffusion (Benkeblia (2004); CLSI (2006)) เปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อของส่วนสกัดแต่ละชนิดโดยดูจากค่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (ทดลอง 3 ซ้ำ)

ขั้นตอนและวิธีการผลิตสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า

นำสารสกัดส่วนที่มีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาเตรียมสบู่ก้อน โดยขั้นตอนการผลิตสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้า เตรียมน้ำด่างผสมหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำได้โดยตวงน้ำ 350 มิลลิลิตร ใส่ลงในชามแก้วแล้วเติมผลึกโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 32.65 กรัม แล้วปล่อยให้น้ำด่างผสมเย็นลงจนเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วนำน้ำมันใช้แล้วกับน้ำมันปาล์ม มาผสมกันที่อัตราส่วนน้ำมันใช้แล้ว : น้ำมันปาล์ม เท่ากับ 750 : 250 มิลลิลิตร ตั้งบนเตาไฟให้ได้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เติมน้ำด่างผสมลงไปในน้ำมันที่ใช้แล้วที่เตรียมไว้ขณะที่เติมนี้ต้องกวนส่วนผสมทั้งหมดด้วยเครื่องกวนผสมสบู่อย่างสม่ำเสมอในทิศทางเดียวกันจนกว่าส่วนผสมจะข้น แล้วทำการผสมสารสกัดใบมะกรูดที่ 0, 75, 100 และ 150 มิลลิลิตรเมตร ตามลำดับ แล้วจึงเทลงในแบบพิมพ์ที่เตรียมโดยการหล่อซิลิโคนให้มีขนาดและรูปร่างตามที่กำหนด โดยงานวิจัยกำหนดรูปแบบของสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าเป็นรูปเท้า เพื่อสื่อถึงประโยชน์การใช้งานเฉพาะที่และกระตุ้นความสนใจต่อผู้บริโภค และเมื่อสบู่แข็งตัวดีแล้วประมาณ 24 ชั่วโมง จึงนำออกจากแบบพิมพ์

การทดสอบคุณสมบัติของสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่พัฒนาจากน้ำมันที่ใช้แล้ว

นำสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าฯ มาประเมินลักษณะทางกายภาพ (สี กลิ่น ทดสอบปริมาณฟอง ลักษณะของเนื้อสบู่และการทดสอบอัตราสึกกร่อนของสบู่) คุณภาพทางเคมี (ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)) ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการเดียวกับการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัด โดยใช้สารละลาย 4% sodium stearate เป็นตัวควบคุม โดยใช้เกณฑ์การประเมินผลของสบู่ที่เติมสารระงับเชื้อตาม มอก.29-2545 ค่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ zone of inhibition ของสบู่ก้อนต้องมีค่ามากกว่าของตัวควบคุมตั้งแต่ 2.0 มิลลิเมตรขึ้นไป (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2545)

การประเมินค่าความพึงพอใจในการยอมรับของผู้บริโภคของสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าจากน้ำมันที่ใช้แล้ว

ประเมินความพึงพอใจของการยอมรับของผู้บริโภค จำนวน 50 คน ด้วยวิธี Home Use Test โดยใช้ผู้บริโภคที่เป็นอาสาสมัครประเมินความชอบต่อผลิตภัณฑ์สบู่ในด้านสี กลิ่น ความสวยงามและความพึงพอใจหลังการใช้งาน โดยใช้ 9-Point Hedonic Scale

ผลการทดลอง

การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบมะกรูด

จากผลการทดลองที่ได้ (Table 1) เมื่อเปรียบเทียบผลของการยับยั้งเชื้อจากค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (zone of inhibition) ของสารสกัดหยาบใบมะกรูด พบว่า ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ส่วนสกัด เอทิลอะซิเตท > สารสกัดหยาบ > ส่วนสกัดน้ำ > คลอโรฟอร์ม > เฮกเซน สำหรับผลการยับยั้งเชื้อ *M. sedentarius* เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ส่วนสกัด เอทิลอะซิเตท > สารสกัดหยาบ > ส่วนสกัดน้ำ > คลอโรฟอร์ม > เฮกเซน ส่วนสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้มากที่สุด คือ ส่วนสกัดด้วยสารละลายเอทิลอะซิเตท โดยมีค่าเท่ากับ 21.30 มิลลิเมตร (*S. aureus*) และ 18.20 มิลลิเมตร (*M. sedentarius*)

Table 1 The antibacterial activities of bergamot leaves extracts.

Extracts	Mean diameter of zone of inhibition (mm.)	
	Staphylococcus aureus	*Micrococcus sedentarius*
Crude extract	18.50ab	12.60ab
Hexane soluble fraction	8.20c	8.15 c
Chloroform soluble fraction	14.00b	9.40b
Ethyl acetate soluble fraction	21.30a	18.20a
Water soluble fraction	14.15b	9.60b

Note : a - c mean within column followed by different letters are significantly different ($p<0.05$)

ทดสอบคุณสมบัติของสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่พัฒนาจากน้ำมันที่ใช้แล้ว

เมื่อนำส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทซึ่งมีฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมาเตรียมเป็นสบู่ก้อนที่อัตราส่วนน้ำมันใช้แล้ว : น้ำมันปาล์ม อัตราส่วนเท่ากับ 750 : 250 มิลลิลิตร โดยผสมสารสกัดใบมะกรูดที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่า สบู่ก้อนที่มีส่วนผสมของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท 75 มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และเชื้อ *M. sedentarius* ในอัตราส่วนต่ำสุดที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ มอก. 29-2545 (Table 2)

ทั้งนี้จากผลการทดสอบผลิตภัณฑ์สบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าฯ โดยการประเมินลักษณะทางกายภาพ (สี กลิ่น ทดสอบปริมาณฟอง ลักษณะของเนื้อสบู่และการทดสอบอัตราสึกกร่อนของสบู่) คุณภาพทางเคมี (ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)) แสดงรายละเอียดใน Table 3

Table 2 The antibacterial activities of deodorant soaps containing ethyl acetate fraction of bergamot leaves soluble fraction.

The formula of herbal foot deodorant soap bergamot leaves extracts : soap formula (grams)	The different value between diameters of inhibition zone of herbal foot deodorant soap and control (mm.)	
	Staphylococcus aureus	*Micrococcus sedentarius*
0 : 1,000	< 0c	< 0c
75 : 1,000	5.50a	7.00a
100 : 1,000	10.20b	11.70b
150 : 1,000	12.50b	14.30b

Note : 1) a - c mean within column followed by different letters are significantly different ($p<0.05$)

2) meet the requirement of TIS.29-2545 (the different value more than 2.00 mm.)

3) Control soap containing 4% sodium stearate

Table 3 The properties and consumer liking scores of of herbal foot deodorant soap.

The formula of herbal foot deodorant soap bergamot leaves extracts : research soap formula (ml.)	Properties of soap				The average satisfaction			
	pH Values	Flash foam (ml.)	Foam drainage (ml.)	The amount of erosion (%)	Color	Odor	Beatifulness	Performance after use
T1 = 0 : 1,000	8.42c	43.16c	29.7b	2.03a	7.79a	8.20c	6.79c	8.10b
T2 =75 : 1,000	8.15a	43.23b	30.20a	2.32b	7.81a	8.60b	7.10a	8.20a
T3 =100 : 1,000	8.30b	43.26b	27.65c	2.35b	6.79b	8.10c	7.00b	8.00c
T4 =150 : 1,000	8.31b	43.40a	30.86a	2.01a	6.80b	8.80a	6.90b	8.15b

Note : 1) research soap formula mean oil used : palm oil = 750 : 250 milliliter

2) a - c mean within column followed by different letters are significantly different ($p<0.05$)

จาก Table 3 จะเห็นได้ว่าสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าที่พัฒนาจากน้ำมันที่ใช้แล้วมีลักษณะของเนื้อสบู่ที่แข็ง ไม่มีสิ่งแปลกปลอม ไม่มีชิ้นส่วนที่ไม่เกี่ยวข้องกับวัตถุดิบในการผลิตอยู่ และมีค่าความเป็นกรด-ด่างในทุกสูตรการทดลองเป็นด่าง โดยมีค่าระหว่าง 8.15 – 8.42 และปริมาณฟองแบบ Flash foam ระหว่าง 43.16 – 43.40 มิลลิลิตร และแบบ Foam drainage มีค่าระหว่าง 27.65 – 30.86 มิลลิลิตร ส่วนเปอร์เซ็นต์การกัดกร่อนของก้อนสบู่ อยู่ระหว่าง 2.10 – 2.35 เปอร์เซ็นต์ และทั้งนี้หากพิจารณาในทุกสูตรทดลองจะเห็นได้ว่าสบู่จากน้ำมันที่ใช้แล้ว เป็นสบู่ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นผลิตภัณฑ์สบู่ก้อนที่ดี เนื่องจากมีสีและกลิ่นที่น่าใช้ อีกทั้งยังมีความแข็งและปริมาณฟองที่พอเหมาะ สำหรับการประเมินความพึงพอใจในการยอมรับของผู้บริโภค ทำการทดสอบความชอบด้วยวิธี 9-point Hedonic Scale พบว่า ในทุกสูตรทดลองมีระดับความพึงพอใจที่ค่อนข้างสูง โดยจะเห็นได้ว่าในสูตรที่ T 2 ซึ่งเป็นสูตรของสารสกัดใบมะกรูด : น้ำมันใช้แล้ว อัตราส่วนเท่ากับ 75 : 1,000 มิลลิลิตร มีระดับความพึงพอที่สูงที่สุดทั้งในด้านสี ความสวยงามและความพึงพอใจหลังการใช้งาน

วิจารณ์

เมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งเชื้อจาก ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (zone of inhibition) ของสารสกัดหยาบจากใบมะกรูดและส่วนสกัดต่างๆ พบว่า ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ส่วนสกัด ethyl acetate > สารสกัดหยาบ > ส่วนสกัดน้ำ > คลอโรฟอร์ม > เฮกเซน สำหรับผลการยับยั้งเชื้อ *M. sedentarius* เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ส่วนสกัด ethyl acetate > สารสกัดหยาบ > ส่วนสกัดน้ำ > คลอโรฟอร์ม > เฮกเซน ส่วนสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้มากที่สุด คือ ส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท โดยมีค่าเท่ากับ 21.30 มิลลิเมตร (*S. aureus*) และ 18.20 มิลลิเมตร (*M. sedentarius*) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณา (2550) ที่พบว่า มะกรูดอบแห้งแล้วบดให้เป็นผงผสมกับน้ำกลั่น ที่ระดับความเข้มข้น 300,000 ppm มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในรองเท้าได้ และงานวิจัยของสุมลรัตน์ (2550) ซึ่งทำการศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะกรูดและพืชตระกูลส้ม ด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตด และวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่า ผิวมะกรูดให้ผลยับยั้ง *S. cerevisiae*

สำหรับอัตราส่วนของการผลิตสบู่จากน้ำมันที่ใช้แล้วต่อน้ำมันปาล์ม พบว่า มีอัตราส่วนคงที่ที่เหมาะสม กล่าวคือ น้ำมันใช้แล้ว : น้ำมันปาล์ม อัตราส่วนเท่ากับ 750 : 250 มิลลิลิตร ทั้งนี้ปริมาณสารสกัดที่เติมลงไปในสบู่ก้อนที่มีส่วนผสมของส่วนสกัดเอทิลอะซิเตท 75 มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และเชื้อ *M. sedentarius* ในอัตราส่วนต่ำสุดที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ มอก. 29-2545 ได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ibrahim และคณะ (2012) และงานวิจัยของ Madhavan and Rhama (2011) นำสารที่อยู่ในกลุ่ม flavonoids มาสกัดด้วย ethyl acetate และเตรียมเป็นสบู่ก้อนโดยผสมกับ soap chip ในอัตราส่วนต่างๆ พบว่า สบู่ก้อนที่มีส่วนผสมของส่วนสกัด ethyl acetate ตั้งแต่ร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และผ่านตามเกณฑ์ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.29-2545

สรุป

สารสกัดจากใบมะกรูดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และเชื้อ *M. sedentarius* ได้สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนสกัดจากตัวทำละลายชนิดอื่น และเมื่อนำไปผสมกับสบู่ที่ผลิตขึ้นจากน้ำมันที่ใช้แล้วในงานวิจัย ในอัตราส่วนที่ต่ำที่สุดที่ซึ่งสามารถยับยั้งยั้งเชื้อแบคทีเรียได้คือ สารสกัดใบมะกรูด : สบู่ที่ผลิตจากน้ำมัน อัตราส่วนเท่ากับ 75 : 1,000 มิลลิลิตร กล่าวได้ว่า สบู่ที่ผลิตขึ้นจากน้ำมันที่ใช้แล้ว หากพิจารณาผลของการศึกษาทดลองทั้งจากการประเมินลักษณะทางกายภาพ เคมี และประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อตลอดจนการยอมรับของผู้บริโภค มีความเป็นไปได้และมีศักยภาพเพียงพอสำหรับการผลิตเป็นสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าได้อย่างเหมาะสม ตลอดจนประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์สำหรับการเป็นสบู่ที่มีคุณภาพสามารถชำระล้างสิ่งสกปรกได้อย่างประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์สบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าจากน้ำมันที่ใช้แล้วเพื่อสร้างต้นแบบผลิตภัณฑ์ชุมชนสู่เศรษฐกิจท้องถิ่นเชิงสร้างสรรค์” ซึ่งได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากคณะวิทยาศาสตร์และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ประจำ ปี พ.ศ.2557

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2542. **การบำบัดน้ำเสีย.** ห้างหุ้นส่วนจำกัดสยามสเตชั่นเนอรี่ซัพพลายส์, กรุงเทพมหานคร.

จรัญญา กุลยะ. 2544. **การศึกษาพื้นฐานในการผลิตสบู่จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ.** สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

วรรณา โรจน์บุญถึง. 2550. **ประสิทธิภาพของสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในรองเท้า.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

วิไลพร ปองเพียร. 2554. **การพัฒนาสูตรสบู่สมุนไพรระงับกลิ่นเท้าจากน้ำมันที่ใช้แล้ว.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

ศริศักดิ์ สุนทรไชย. 2551. **โครงการพัฒนาฉลากเคมีภัณฑ์วัตถุอันตราย: การจัดกลุ่มความเป็นอันตรายตามระบบ GHS สำ หรับผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดประเภทผลิตภัณฑ์ชุมชน.** ศูนย์ประสานงานพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์ชุมชน, มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2545. **สบู่ถูตัว: มอก.29-2545.** กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ.

สุมลรัตน์ จันทะผล. 2550. **กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชตระกูลส้ม**. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุมาลัย ศรีกำไลทอง. 2543. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากของเหลือใช้น้ำมันพืชและไขสัตว์ : พอลิยูรีเทนชนิดย่อยสลายโดยธรรมชาติและสบู่.** สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

Benkeblia, N. 2004. **Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*)**.Lebensm.-Wiss. U. Technology. 37: 263–268.

Brahim, M. and Kiranmai, M., 2012, **Antibacterial Potential of Different Extracts of *Tagetes erecta* Linn.,** International Journal of PharmTech Research, 2: 90-96.

CLSI. 2006. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved StandardNinth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI) document M2-A9. Wayne, PA.

Madhavan, S. and S. Rhama, 2011, **Antibacterial Activity of the Flavonoid**, Patulitrin Isolated from the Flowers of *Tagetes erecta* L., **International Journal of PharmTech Research**. 3: 1407-1409.

Mourey, A. and Canillac, N. 2002. Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. **Food Control.**13(4-5):289-292.

Corporate Carbon Footprint of Limestone Aggregate Production in Thailand: an Industrial Rock-Construction as a Case

Atima Dubsok[1] and Suthirat Kittipongvises[2*]

ABSTRACT

This research aimed to estimate the carbon footprint of limestone aggregate production in Thailand. An industrial rock-construction was specifically selected. Mining A, located in the central region of Thailand was considered as a case study. Of all potential sources of greenhouse gases (GHGs) emissions, the total amount of GHGs emitted by limestone crushed rock mining of the Mining A in 2015 was 2,922.75 tCO_2-eq. Estimated GHGs intensity was approximately 0.0480 tCO_2-eq/tonne of rock. By scope, emissions from transport activities (53%) (Scope I) was typically higher than Scope II (indirect emission from purchased electricity; 28%). Some strategies to reduce GHGs emissions from limestone aggregate production were recommended.

Key words: carbon footprint, industrial rock-construction, limestone aggregate, Thailand

*Corresponding author; e-mail address: suthirat.k@chula.ac.th

[1]Inter-Department of Environmental Science Graduate School, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330

[2]Environmental Research Institute, Chulalongkorn University (ERIC), Research Program of Toxic Substance Management in the Mining Industry, Center of Excellence on Hazardous Substance Management (HSM), Research Unit of Site Remediation on Metals Management from Industry and Mining (Site Rem), Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

INTRODUCTION

Global climate change is a serious problem that our world society is facing today. There are several observations that the earth's climate is continually changing in many parts of the world. Since 1880, for example, the average global temperature has increased by about 0.76 °C. Furthermore, global sea levels have risen roughly 0.17 cm. since nineteenth century (Intergovernmental Panel on Climate Change [IPCC], 2013). It is now clear that a change in climate is due to man-made emissions of GHGs, especially the burning of fossil fuel, deforestation, and other activities. Evidently, IPCC (2013) indicated that atmosphere concentrations of carbon dioxide (CO_2) have significantly increased over 30% since the industrial revolution began. Globally, compared to transport and industrial activities, energy sector certainly has the largest share of GHGs emissions (31%) (United State Environmental Protection Agency [US EPA], 2014).

In Thailand, similarly, the primary sources of GHGs emissions are energy, agriculture and industrial related activities (Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning [ONEP], 2011). While industry plays an important role in the national economy, its production (i.e. mining activity) has long been recognized as causing major environmental problems such as pollution, energy and resources depletion and also GHGs emissions to the atmosphere. All of these perspectives refer to resource intensity. It is therefore very important to consider long-term production planning of mineral production and also give insights into key environmental problems as above mentioned. For instance, to achieve sustainable development goals (SDGs) 13 on climate change (United Nations Development Programme: UNDP, 2016), mining industry can reduce their own energy consumption as well as limit atmospheric GHGs emissions from their production processes. Carbon footprint of an organization, in general, is a tool to quantify climate impacts associated with organization activities. Both direct and indirect sources of GHGs emissions are considered. However, in Thailand, there are very few studies that simultaneously assess the emissions of GHGs from mining and mineral processing industries. The aim of this study is to quantify the total carbon footprint of limestone aggregate production. An industrial rock-construction in Thailand was selected as research case study.

MATERIALS AND METHODS

1. Research case study

Among all types of mineral resources in Thailand, limestone has the largest share of the total production compared to lignite and basalt, respectively. Over half (54%) of mined products are commonly used as an industrial rock for construction (Department of Primary Industries and Mines [DPIM], 2016). The limestone quarrying (Mining A) located in the central region of the country was selected and considered as a case, as depicted in Figure 1.

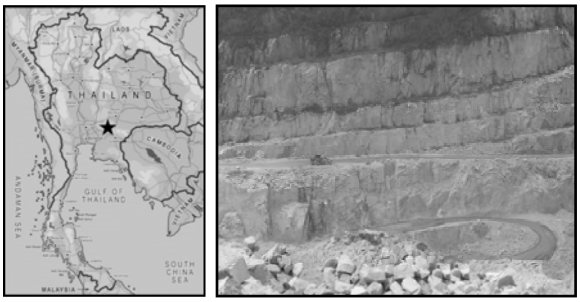


Figure 1 Mining A: research case study

2. Scope of the study

The operational boundaries of this study included all potential sources of GHGs emissions from limestone quarrying. As depicted in Table 1, both scope I (direct GHGs emissions) and scope II (indirect GHGs emission) were accounted. A process flow diagram of limestone aggregate production of a case was illustrated in Figure 2.

Table 1 Potential sources of GHGs emissions from limestone rock mining, by scope

Scope of emission	Scope description	Activities
Scope I	Direct GHGs emissions refer to all emissions from owned or controlled sources (operational control) by the organization.	-Diesel fuel consumption for mobile vehicle combustion (i.e. trucks and excavators). -Ammonium nitrate/ fuel oil (ANFO) blasting agent utilization in drilling and blasting processes.
Scope II	Indirect GHGs emission refer to emission derived from the purchase of electricity that indirectly generated by the organization. This scope is also considered mandatory by the Protocol.	-Purchased grid-electricity consumption for comminution processes (i.e. crushers and screeners).

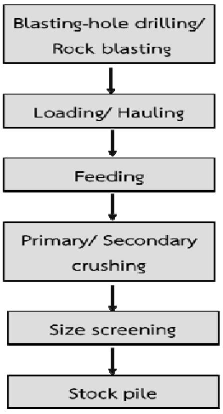


Figure 2 Limestone production processes diagram

3. Carbon footprint estimation

A carbon footprint is the measure of the environmental impact of a particular individual or organization's lifestyle or operation, measured in the unit of CO_2 (National Science and Technology Development Agency [NSTDA], 2016). In this study, the estimation of net GHGs emissions from limestone aggregate production was conducted based mainly on the GHGs Protocol issued by the World Resource Intuition (WRI) and the World Business Council for Sustainable Development (WBCSD). Principally, as illustrated in Eq (1), total GHGs emissions were obtained by multiplying emission factor (EF) with their corresponding activities:

$$\text{GHGs emission} = \text{Activity Data} \times \text{Emission factor (EF)} \quad (1)$$

Where:

- GHGs emission is the total amount of GHGs emissions from limestone rock production include those from direct and indirect sources (unit: tCO_2-eq).
- Activity data is all information used to calculate GHGs emissions from the mining processes and operations such as quantity of diesel-fuel consumed (unit: L), grid-electricity consumed (unit: kWh), and also amount of blasting agent utilized (unit: kg). As noted, data collection for all activity data was carried out each month during the period of study. Annual GHGs emissions finally were reported.
- Emission factor (EF) is defined as the average emission rate of a given GHGs for given sources, relative to unites of activity.

As noted, EF values issued by Thailand Greenhouse Gas Management Organization (TGO, 2015) and United State Environmental Protection Agency (US EPA, 1995) were used in Eq (1). For instance, EF of diesel fuel is 2.7446 $kgCO_2$-eq/L, EF of blasting agent (ANFO) is 2.390432 $kgCO_2$-eq/KgANFO and EF of grid-electricity is 0.5813 $kgCO_2$-eq/kWh. Within this, the total amount of GHGs emissions was expressed in the unit of "tCO_2-eq/year" (tonne carbon dioxide equivalent per year) base on one year data collection (2015). Furthermore, Eq (2) was used to estimate GHGs emission intensity, as follows:

$$\text{Emission intensity} = \text{GHGs emission} \,/\, \text{Production} \quad (2)$$

Where:

- Emission intensity is the level of GHGs emissions per unit of production (tCO_2-eq per tonne product).
- GHGs emission is the estimated total GHGs emissions derived from Eq (1).
- Production is the total amount of limestone rock production of Mining A (expressed in the unit of tonne product).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Total GHGs emissions

Based on the mining company's data, the consumption of diesel fuel and purchased grid-electricity in 2015 were 292,732 L per year and 871,733 kWh per year, respectively. By weighting method, the productivity of limestone mining operation (Mining A) in 2015 was about 689,147 tonne per year. By considering all potential sources of emissions, the total amount of GHGs emitted by the Mining A as approximately 2,912.75 tCO_2-eq in 2015. As depicted in Figure 2, combustion of diesel fuel related to transport activities released over half of the net emissions (60%), compared to electricity consumption (28%) and blasting agent utilization (14%). By scope of emission, scope I (direct emissions from mobile combustion and blasting agent utilization) was the dominant source of GHGs rather than scope II (indirect emission from purchased electricity consumption) (WRI, 2011 and WBCSD, 2004). These results are similar to other findings in the literatures. For instance, the Environmental Management Office, Department of Primary Industries and Mines and Faculty of Engineering, Chiangmai University of Thailand (2010), reported that the diesel-fuel mobile mining equipment (i.e. haul trucks) was the largest source of emissions (35%) compared to other sources. In the same line, Ercelebi and Bascetin (2009) and Dindarloo *et al*. (2015) also reported that transport activities in surface and open-pit mining were responsible for over half (50-60%) of the total GHGs emissions. However, some studies have argued that electricity consumption for crushing and grinding processes in the coal and metal mining industry (i.e. gold mining) were found to be the largest source of CO_2 emissions (Sterling, 2009; Warmuzinski, 2008; Carras *et al*., 2009; Kittipongvises, 2015).

2. GHGs intensity

In terms of GHGs intensity, the estimated GHGs intensity in 2015 was approximately 0.0480 tCO_2-eq/tonne product. As above mentioned, emission intensity from diesel-fuel related transport activities was by far the largest share (Figure 3).

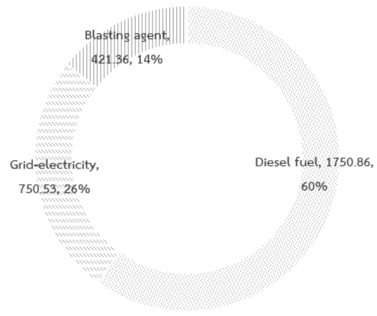


Figure 3 Proportion of GHGs emissions in 2015, by activities

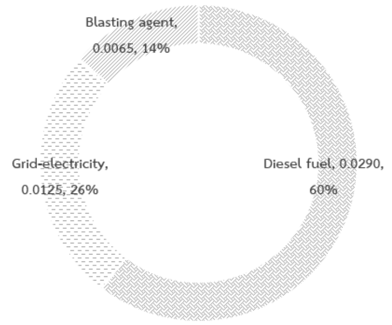


Figure 4 Proportion of GHGs intensity in 2015, by sources

3. Carbon footprint reduction options

It can be seen from Fig. 3 and 4 that combustion of diesel-fuel related to transport activities made the largest contribution of GHGs. Potentially, the following GHGs reduction options for mitigating these GHGs emissions are considered:

- Changing to a less carbon intensive fuel (i.e. CNG) (Delgado and Muncrief, 2015)
- Changing to appropriate vehicle power (i.e. shifting from a higher vehicle power to lower vehicle (Kecojevic and Komljenovic, 2010)
- Reducing haul truck payload (Kecojevic and Komljenovic, 2010)
- Reducing maximum speeds (Kecojevic and Komljenovic, 2010)
- Managing vehicle acceleration (Parreira and Meech, 2013)
- Improving the mining specific logistics management (Ta *et al.*, 2013)

CONCLUSION

The purposes of this present study were to estimate total carbon footprint and investigate all potential sources of GHGs from the limestone mining operations in Thailand. The potential sources of GHGs were defined as the following:

(i) Diesel fuel consumption (Scope 1)

(ii) Blasting agent utilization (Scope 1)

(iii) Grid-electricity consumption (Scope 2)

The results showed that the GHGs emissions and its intensity were about 2,912.75 tCO_2-eq and 0.0480 tCO_2-eq/tonne rock product in 2015, respectively. Compared to other sources, diesel-fuel vehicles and mobile equipment in mining operations were found to be the largest proportion (74%). GHGs reduction from transportation-related source therefore offers a high potential for mitigating climate change.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Office of Higher Education Commission (OHEC) and the S&T Postgraduate Education and Research Development Office (PERDO) for the financial support of the Research Program and thank the Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund, Chulalongkorn University for the Research Unit. We would like to express our sincere thanks to the Environmental Research Institute (ERIC) and the Center of Excellence on Hazardous Substance Management (HSM) Chulalongkorn University for their invaluable supports in terms of facilities and scientific equipment.

REFERENCES

Carras, J.N., S.J. Day, A. Saghafi and D.J. Williams. 2009. Greenhouse gas emissions from low-temperature oxidation and spontaneous combustion at open-cut coal mines in Australia. **International Journal of Coal Geology** 78: 161–168.

Delgado, O. and R. Muncrief. 2015. **Assessment of heavy-Duty natural gas vehicle emissions: implications and policy recommendations.** International Council on Clean Transportation, Washington, DC, USA.

Department of Primary Industries and Mines (DPIM). 2016. **Industrial rock-construction data source.** Available Source: http://mis.dpim.go.th/sourcestoneservice_public/sourcestone_data/index.html, November 1 , 2016.

Dindarloo, S.R., M. Osanloo and S. Frimpong. 2015. A stochastic simulation framework for truck and shovel selection and sizing in open pit mines. **Journal of Southern African Institute Mining Metallurgy** 115: 209-219.

Environmental Management Office, Department of Primary Industries and Mines and Faculty of Engineering, Chiangmai University. 2010. **Reporting guidelines for development of mining industry to Clean Development Mechanism (CDM).** Ministry of Industry, Bangkok, Thailand.

Ercelebi, S. and G. Bascetin. 2009. A. Optimizing of shovel-truck system for surface mining. **Journal of Southern African Institute Mining Metallurgy** 109: 433-439.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2013. **Climate Change 2013: IPCC Fifth Assessment Report**. Geneva, Switzerland.

Kecojevic, V. and D. Komljenovic. 2010. Haul truck fuel consumption and CO2 emission under various engine load conditions. **Mining Engineering Magazine** 13: 44-48.

Kittipongvises, S. 2015. Feasibility of applying clean development mechanism (CDM) and GHGs emissions reductions in the Gold mining industry: A case of Thailand. **Environmental and Climate Technologies** 15 (1): 34-47.

National Science and Technology Development Agency (NSTDA). 2016. **Carbon footprint for organization.** Ratchathewi, Bangkok, Thailand.

Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning (ONEP). 2011. **United Nations Framework Convention on Climate Change.** Phayathai, Bangkok, Thailand.

Parreira, J. and J. Meech. 2013. **Simulation of an Open Pit Mine to Study Autonomous Haulage Trucks**. The University of British Columbia, Vancouver, Canada.

Sterling, D. 2009. Identifying opportunities to reduce the consumption of energy across mining and processing plants. **Schneider-Electric.**

Ta, C., H., A. Ingolfsson and J. Doucette. 2013. A linear model for surface mining haul truck allocation incorporating shovel idle probabilities. **European Journal of Operational Research** 231: 770-778.

Thailand Greenhouse Gas Management Organization (TGO). 2015. **Emission Factor by Industrial Sectors.** Laksi, Bangkok, Thailand.

United Nations Development Programme (UNDP). 2016. **Mapping mining to the Sustainable Development Goals: An Atlas.** New York, USA.

United State Environmental Protection Agency (US EPA). 1995. **Explosives Detonation.** Washington, DC, USA.

_______. 2014. **Global Greenhouse Gas Emissions Data.** Washington, DC, USA.

Warmuzinski, K., 2008. Harnessing methane emissions from coal mining. **Process Safety Environmental Protection** 86: 315-320.

World Resources Institute (WRI). 2011. **The greenhouse gas protocol: A corporate accounting and reporting standard (Revised Edition).** World Business Council for Sustainable Development, Washington, DC, USA.

World Resources Institute and World Business Council on Sustainable Development (WBCSD). 2004. **The Greenhouse Gas Protocol (A Corporate Accounting and Reporting Standard: Revised Edition).** Geneva, Switzerland.

การเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมระหว่างเอกพันธ์และวิวิธพันธ์
Transesterification with Cocatalyst between Homogeneous and Heterogeneous Catalyst

ณิชฐมนต์ สายนภา[1*] กรณ์กนก อายุสุข[1] และ คณิต กฤษณังกูร[1]

Nichatamon Sainapa[1*], Kornkanok Aryusuk[1], and Kanit Krisnangkura[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ศึกษาการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมระหว่างตัวเร่งปฏิกิริยาเอกพันธ์ (โซเดียมไฮดรอกไซด์) และตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ (แคลเซียมไฮดรอกไซด์)ในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มเพื่อผลิตไบโอดีเซล อีกทั้งยัง เสริมความแข็งแรงของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ด้วยปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ที่อัตราส่วน 1:0-1:2 โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อน้ำมัน เท่ากับ 9:1 (โดยโมล) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำปฏิกิริยาถูกควบคุมด้วยอัตราการไหลของสารตั้งต้น พบว่า ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน ที่เร่งด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่ำ เนื่องจาก ปฏิกิริยาดังกล่าวมีช่วง lag phase สั้น ตามด้วยช่วง exponential phase และ อัตราการเกิดจะค่อย ๆ ลดลงในตอนท้าย การเกิดลักษณะนี้ สังเกตได้จากผลของ FT-IR และเมื่อเสริมตัวเร่งปฏิกิริยาเอกพันธ์โซเดียมไฮดรอกไซด์ในปฏิกรณ์ และเทียบระหว่างใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาร่วม (Cocatalyst) กับตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์เพียงอย่างเดียว พบว่า อัตราการเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (ร้อยละ 1-5) หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น โดยผลที่เกิดขึ้นสามารถอธิบายได้จากค่าความเป็นเบสของตัวเร่งปฏิกิริยาทั้งสองชนิด

ABSTRACT

The objective of this study was focused on the utilization of heterogeneous and homogeneous cocatalysts for transesterification of palm oil to biodiesel. Calcium hydroxide was used as the heterogeneous catalyst. It was reinforced with Portland cement at differe nt proportion (1:0-1:2). Sodium hydroxide was the homogeneous catalysts. Transesterification was carried out continuously via a stainless steel tube with the fixed molar ratio of alcohol to oil, 9:1 at 60^{o}C. Reaction times were controlled by flow rate of the reactants. Transesterification of palm oil to biodiesel on calcium hydroxide heterogeneous catalyst proceeded slowly with a short lag time, followed by an exponential and fell down at the end of the study. The phenomenon was discussed with FT-IR spectra. When homogeneous catalyst was included in the reactor, transesterification was increased minimally (1-5%) or not at all, comparing between the reactions with and without the heterogeneous calcium hydroxide. Nevertheless, all the results could be explained in terms of the basic strengths of the two types of catalysts.

Key Words: Transesterification, Cocatalyst, Biodiesel, Calcium hydroxide, Sodium hydroxide

*Corresponding Author; E-mail address: kanit.kri@kmautt.ac.th

---

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10150

[1]Department of biochemical technology, Faculty of school of bioresources and technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, 10150

คำนำ

ไบโอดีเซล (Biodiesel) เป็นพลังงานทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดมลพิษและการใช้พลังงานได้ เพราะมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเชื้อเพลิงปิโตรเลียม (Demirbas, 2009; Ozcanli *et al.*, 2013) โดยผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) ระหว่างน้ำมันพืชหรือไขสัตว์ ซึ่งเป็นสารประกอบ ประเภทไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) กับแอลกอฮอล์ (Alcohol) เกิดเป็นสารประกอบเอสเทอร์หรือไบโอดีเซล และกลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้ (by-product) (Figure 1) โดยตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ตัวเร่งปฏิกิริยาเอกพันธ์ (Homogeneous catalyst) และตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ (Heterogeneous catalyst) (Meher *et al.*, 2006)

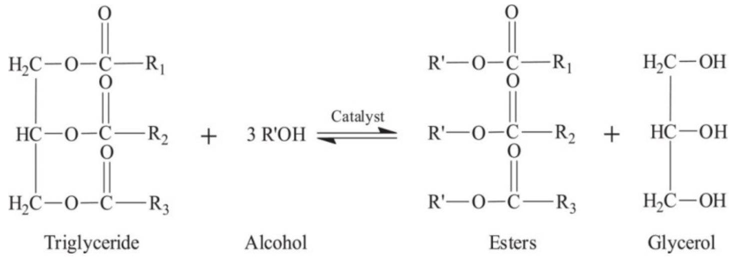


Figure 1 Chemical reaction of trans-esterification

ตัวเร่งปฏิกิริยาเอกพันธ์ประเภทเบส จัดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีความว่องไว เนื่องจากความสามารถในการเลือกทำปฏิกิริยา และมีตำแหน่งสำหรับเร่งปฏิกิริยาชัดเจน จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้รวดเร็ว และช่วยลดระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (Meher *et al.*, 2006) จากงานวิจัยของบดินทร (2555) ศึกษาการผลิตไบโอดีเซลด้วยปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (Continuous reactor) ซึ่งภายในบรรจุด้วยฝอยสแตนเลส ที่สภาวะอัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำมัน 9:1 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 15 นาที สามารถให้ผลิตภัณฑ์ไบโอดีเซลสูง โดยใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 ในเอทานอลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเอกพันธ์นี้ มีข้อด้อยคือไม่สามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ ก่อปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม

ดังนั้น นักวิจัยหลาย ๆ ท่านจึงได้ทำการศึกษาตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ และมีงานวิจัยมากมายเกี่ยวกับการใช้โลหะกลุ่มอัลคาไลน์เอิร์ท (Alkaline-earth metal compounds) เพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Granados *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2016) ซึ่งแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เป็นหนึ่งในตัวเร่งปฏิกิริยาเบสของโลหะกลุ่มอัลคาไลน์เอิร์ทที่น่าสนใจ เนื่องจาก มีความเป็นเบสแก่ หาง่าย มีความเป็นพิษต่ำ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ราคาไม่แพง สามารถแยกออกจากผลิตภัณฑ์ และนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่ยังมีข้อจำกัด ในเรื่องอัตราการเกิดปฏิกิริยาค่อนข้างช้า จากงานวิจัยของ Sánchez-Cantú *et al.* (2013) ศึกษาการใช้ปูนขาวเป็นตัวเร่งของแข็งในปฏิกิริยาทรานส์เมทิเลชันของน้ำมันละหุ่ง พบว่า เมื่อใช้ปริมาณตัวเร่งของแข็ง 0.10 กรัมต่ออัตราส่วนเมทานอลต่อน้ำมัน 0.51 โดยปริมาตร ได้ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 84 ในเวลา 2 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ งานวิจัยของ Kouzu *et al.* (2008) ได้ศึกษาตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบหลัก อย่างแคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และ แคลเซียมคาร์บอเนต เพื่อใช้ในปฏิกิริยาทรานส์เมทิเลชัน พบว่า ในเวลา 1 ชั่วโมง ตัวเร่งปฏิกิริยาแคลเซียมออกไซด์ ให้ผลผลิตไบโอดีเซลร้อยละ 93 แต่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ต้องใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 3 ชั่วโมง 30 นาที จึงจะได้ผลผลิตเท่ากัน นอกจากนี้ เมื่อเทียบอัตราการเร่งปฏิกิริยาของตัวเร่งปฏิกิริยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์ กับตัวเร่งปฏิกิริยาในกลุ่มอัลคาไลน์ตัวอื่น ๆ จะมีความว่องไวน้อยกว่า เนื่องจาก ค่าความเป็นเบสที่ต่ำกว่า (Petrucci *et al.*, 2007) จากข้อมูลข้างต้นกระบวนการในการผลิตไบโอดีเซลด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาทั้งเอกพันธ์และวิวิธพันธ์นั้นมีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกัน การศึกษานี้จึงพยายามนำข้อดีของทั้งสองแบบมาใช้ร่วมกันในเครื่องปฏิกรณ์

แบบต่อเนื่อง เพื่อช่วยส่งเสริมการเร่งปฏิกิริยา และผลผลิตไบโอดีเซลสูง ในเวลาอันสั้น นอกจากนี้ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ยังมีข้อจำกัดทางด้านกายภาพที่ค่อนข้างเปราะ (Hsieh *et al*., 2010) เมื่อทำปฏิกิริยาในปฏิกรณ์แบบท่ออย่างต่อเนื่อง จะเกิดความดันในระบบ อาจทำให้อนุภาคของตัวเร่งเสียรูปทรง (collapse) จึงได้พัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์นี้ โดยนำปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์แบบธรรมดา ผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อช่วยประสานให้อนุภาคของตัวเร่งแข็งแรงยิ่งขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ตอนที่ 1 การทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์

การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ ผสมปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์แบบธรรมดา ตราช้าง กับแคลเซียมออกไซด์ อัตราส่วน 1:0-1:2 ในน้ำกลั่น เมื่อแห้งทำการบดและร่อนให้อนุภาคของแข็งมีลักษณะกลม ขนาดไม่เกิน 500 ไมครอน อบที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วบรรจุภายในท่อสแตนเลส (Stainless steel tube) ขนาดยาว 250 มิลลิเมตร และกว้าง 4.6 มิลลิเมตร และในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาจะทำการป้อนน้ำมันปาล์ม ตรา มรกต และเมทานอล จากบริษัท RCI Labscan (Commercial grade 99.7%) อัตราส่วนโดยโมลของน้ำมัน (ขวดแก้ว 1)และแอลกอฮอล์ (ขวดแก้ว 2) 1:9 (71:29) ที่อัตราการไหล 0.1มิลลิลิตรต่อนาที กำหนดและควบคุมโดยปั๊มแรงดันสูง (Liquid chromatography-2AD pump,หมายเลข 3) ผ่านท่อสแตนเลส (หมายเลข 4)ที่ภายในบรรจุตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์.โดยควบคุมอุณหภูมิด้วยอ่างน้ำร้อน (หมายเลข 5)ที่ 60 องศาเซลเซียส (Figure 2)

ตอนที่ 2 การทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมระหว่างวิวิธพันธ์กับเอกพันธ์

เตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาเอกพันธ์ โดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอล จากบริษัท RCI Labscan (Commercial grade 99.7%) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.25 0.5 0.75 และ1.0 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเมทานอล จากนั้นทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันด้วยการป้อนน้ำมันปาล์ม ตรา มรกต (ขวดแก้ว 1) และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเมทานอล (ขวดแก้ว 2) เข้าปั๊มแรงดันสูง ผ่านท่อสแตนเลสที่ภายในบรรจุตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์จากตอนที่ 1 ที่สภาวะการทดลองเช่นเดียวกัน (Figure 2)

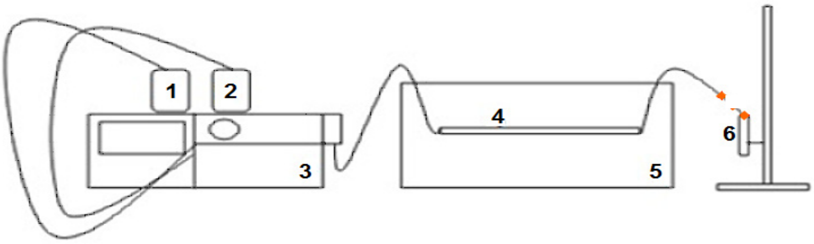


Figure 2 A schematic diagram of the laboratory scale for biodiesel production where 1= Palm oil reservoir, 2= Alcohol reservoir, 3=Liquid chromatography-2AD pump, 4= Stainless steel tube, 5= Water bath and 6=Sample test tube

ช่องว่างภายในท่อสแตนเลส 3 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้น สารไหลจากท่อลงสู่หลอดเก็บตัวอย่าง (หมายเลข 6) ใช้เวลา 30 นาทีต่อหนึ่งรอบการทำปฏิกิริยา จากนั้นเก็บตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดอะซิติก 0.1 มิลลิลิตร เติมโทลูอีน 3 มิลลิลิตร และล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วเติมโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัสลงในชั้น

โทลูอีน เพื่อกำจัดน้ำที่ติดค้าง ก่อนวิเคราะห์ด้วย High Performance Size Exclusion Chromatography (HPSEC)

การวิเคราะห์ตัวอย่างที่ได้จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

นำตัวอย่างทำการเจือจางด้วยโทลูอีน ไปวิเคราะห์องค์ประกอบของผลผลิตจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันด้วย HPSEC ตามวิธีของ Kittiratanapiboon and Krisnangkura (2008) โดยใช้เครื่องตรวจวัด (Detector) ชนิด Evaporative Light Scattering Detector (ELSD) และใช้กรดอะซิติก 25% ในโทลูอีนเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

การวิเคราะห์ตัวเร่งปฏิกิริยาของแข็งด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FT-IR)

ศึกษาลักษณะของพื้นผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ก่อนและหลังการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน โดยทำการล้างด้วยเฮกเซน และอบแห้งเพื่อไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นในตัวอย่างด้วย FT-IR โดยทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 4,000-550cm^{-1}

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของคุณลักษณะของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์

จากหลายรายงานการวิจัย (Granados *et al.*, 2010; Hsieh *et al.*, 2010; Sánchez-Cantú *et al.*, 2013; Soares Dias *et al.*, 2016) ที่กล่าวถึงข้อด้อยของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และอัลคาไลน์เอิร์ทอื่น ๆ พบทั่วไปคือ ประสิทธิภาพการเร่งปฏิกิริยาจะสูง ในช่วงต้น ๆ และจะค่อย ๆ ลดลงในเวลาต่อมา การศึกษานี้ก็พบปัญหาเช่นเดียวกัน จึงทำการวิเคราะห์ ตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ที่ใช้ทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันทั้งก่อนและหลังทำปฏิกิริยา พร้อมทั้งน้ำมันปาล์มด้วย FT-IR (Figure 3)

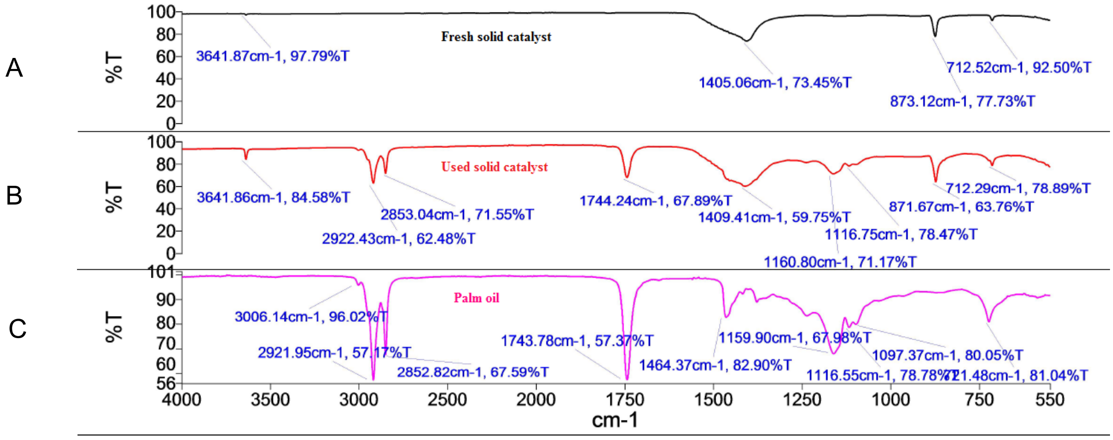


Figure 3 Functional group characteristic of untreated and treated heterogeneous catalyst with trans-esterification reaction (A) Fresh heterogeneous catalyst (B) Used heterogeneous catalyst and (C) Palm oil

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบ FT-IR spectra ที่ความยาวคลื่น 1744 cm^{-1} แสดงลักษณะของหมู่คาร์บอนิล (C=O stretching) ของน้ำมันปาล์ม และในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 1250-1000 cm^{-1} แสดงหมู่ C-O

stretching ในไตรกลีเซอไรด์หรือกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำปฏิกิริยา แสดงให้เห็นว่า บริเวณพื้นผิวของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ส่วนใหญ่มีน้ำมันปาล์มเกาะอยู่ ทำให้เมทานอลไม่สามารถแทรกผ่านถึงตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในการเกิดปฏิกิริยา (Granados *et al*., 2010; Li *et al*., 2016; Soares Dias *et al*., 2016) เมื่อพิจารณาสเปกตรัมของน้ำมันปาล์มมีพีคเกิดขึ้นที่ตำแหน่งเดียวกันกับ FT-IR spectrum ของผิวตัวเร่งวิวิธพันธ์ แสดงว่าผิวตัวเร่งวิวิธพันธ์หลังใช้งานจะถูกเคลือบด้วยน้ำมัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Granados *et al* (2010) และ Alba-Rubia *et al*(2010). (Granados *et al*., 2010; Alba-Rubio *et al*., 2012) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ลดลง

การศึกษาผลของตัวเร่งปฏิกิริยาในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

3.3.1 อัตราส่วนระหว่างปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์กับแคลเซียมไฮดรอกไซด์

ในการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันแบบต่อเนื่อง โดยกำหนดให้ อัตราการไหลของสารทั้งหมด เท่ากับ 0.1 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราส่วนเมทานอลต่อน้ำมัน 9:1 โดยโมล ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาประสิทธิภาพความคงทนของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ที่ประกอบด้วยปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์กับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในอัตราส่วน 1:0 1:1 และ 1:2 ต่อการทำปฏิกิริยาในแต่ละรอบการผลิต (Figure 4) ที่อัตราส่วนของตัวเร่งวิวิธพันธ์ระหว่างปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์กับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 1:0 พบว่าไม่มีผลผลิตของไบโอดีเซลเกิดขึ้น สรุปได้ว่าปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ที่ใช้เสริมความแข็งแรง ไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา จึงทำการเพิ่มอัตราส่วนของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพื่อช่วยเร่งปฏิกิริยา โดยที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:2 พบว่าปฏิกิริยาดำเนินไปอย่างช้าๆ ซึ่งในช่วงเวลาที่ 0-30 นาที เรียกว่า Lag phase เป็นระยะที่สารตั้งต้น เริ่มพบกับตัวเร่งปฏิกิริยาในช่วงเวลาสั้นๆ ตามด้วยช่วง Exponential phase โดยตัวเร่งวิวิธพันธ์ต้องใช้ระยะเวลาในการจับโปรตอนจากเมทานอล เพื่อทำให้เกิดเป็นเมทอกไซด์ไอออน แล้วจึงเข้าไปจับที่หมู่คาร์บอนิลของไตรกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และมอนอกลีเซอไรด์ ตามลำดับ พบว่า ผลผลิต (ร้อยละของเอสเทอร์ที่เกิดขึ้น) เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 35.2 และ 84.1 ตามลำดับ แต่เมื่อระยะเวลามาก ผลผลิตกลับลดลง เนื่องจาก บริเวณกระตุ้นของตัวเร่งปฏิกิริยาเริ่มถูกบดบังด้วยโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์หรือกลีเซอรอล และเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่นานขึ้น สังเกตได้จากผลวิเคราะห์ลักษณะของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ด้วย FT-IR (Gupta *et al*., 2015)

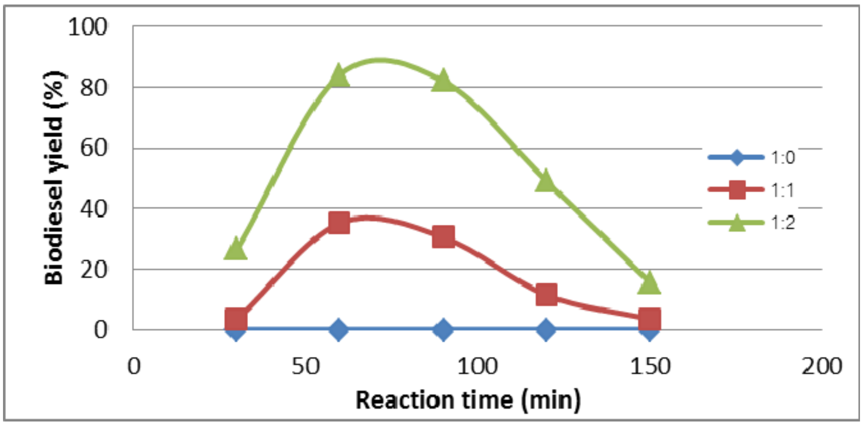


Figure 4 Effect Portland cement to Calcium hydroxide molar ratio on biodiesel yields

แต่เมื่ออัตราส่วนของแคลเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นมากกว่า 1:2 ลักษณะของตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ที่บรรจุอยู่ในท่อเกิดการแตกหักซึ่งจะทำให้เกิดการอุดตันได้ง่าย และในทางกลับกัน ถ้าเพิ่มปริมาณของปูนซีเมนต์จะทำให้บดบังตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งส่งผลทำให้ประสิทธิภาพของการเร่งปฏิกิริยาลดลง

3.3.2 การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์และเอกพันธ์ร่วม

จากผลการศึกษาข้างต้น ตัวเร่งวิวิธพันธ์นั้นสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีในระยะต้น แต่อัตราการเร่งปฏิกิริยาจะค่อนข้างช้าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวเร่งเอกพันธ์ (Arzamendi *et al*., 2008; Kouzu *et al*., 2008) อีกทั้งประสิทธิภาพการเร่งปฏิกิริยาจะลดลงอย่างมาก ทำให้การนำมาใช้ซ้ำไม่ได้หรือต่ำกว่ามาตรฐานไบโอดีเซลมาก การศึกษานี้จึงได้นำโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้ามาเป็นตัวเร่งร่วม หรือตัวเร่งเสริมเพื่อให้ผลผลิตไบโอดีเซลเกิดอย่างสม่ำเสมอในแต่ละรอบการทำปฏิกิริยา โดยศึกษาการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ระหว่างปูนซีเมนต์กับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่อัตราส่วนต่างๆจากข้างต้น ร่วมกับความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 0.25 0.5 0.75 และ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของเมทานอล เพื่อศึกษาประสิทธิภาพอัตราการเร่งปฏิกิริยา (Figure 5)

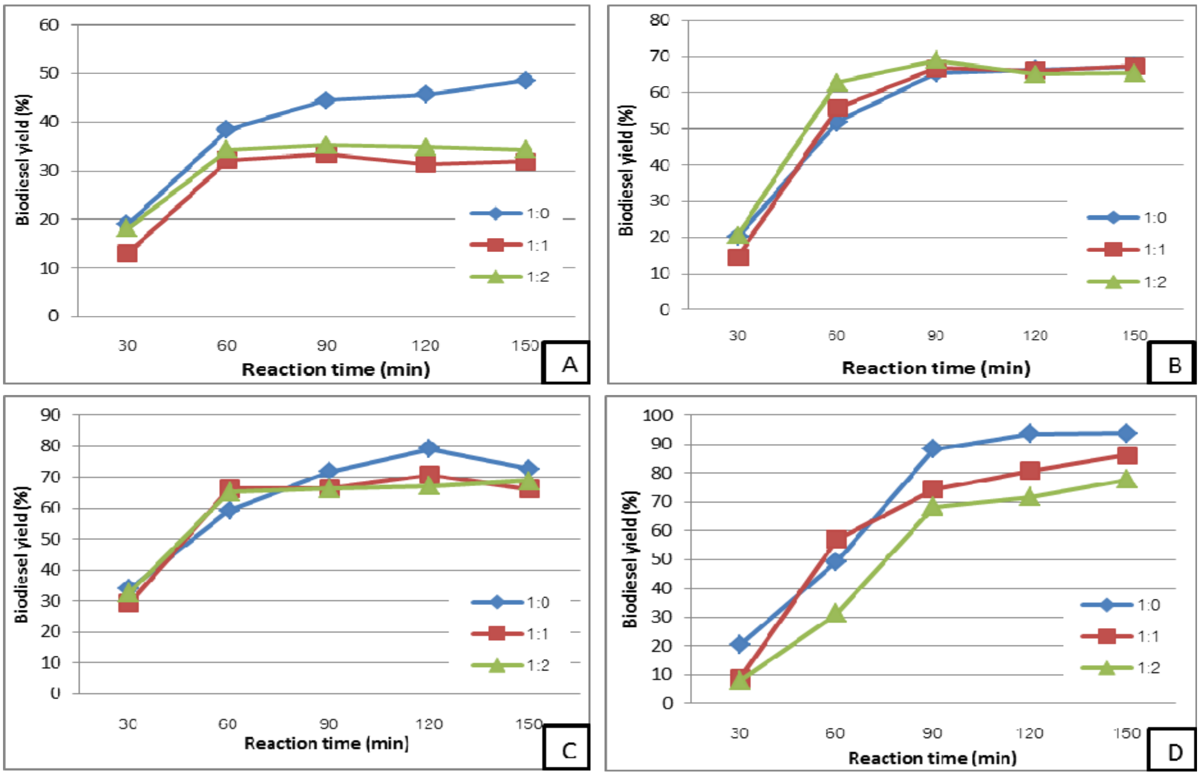


Figure 5 Effect of Portland cement to calcium hydroxide molar ratio with the concentration of sodium hydroxide at (A) 0.25 wt%, (B) 0.50 wt% (C) 0.75 wt% and (D) 1.0 wt% on biodiesel yields

Figure 5 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในปฏิกรณ์ ทำให้เกิดผลผลิตสูงขึ้นตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาร่วม (Cocatalyst) กับตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์เพียงชนิดเดียวกลับให้ผลผลิตเท่ากัน หรือน้อยกว่า ซึ่งเมื่อพิจารณาความเป็นเบสของตัวเร่งโซเดียมเมทอกไซด์มากกว่าโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Smith and March, 2007) และโซเดียมไฮดรอกไซด์(pK_b= 0.2) มากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (pK_b = 2.37) นั่นคือโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นเบสที่แรงกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ $10^{2.17}$เท่าโดยประมาณ เมื่อใช้เบสทั้งสองนี้ในปริมาณเท่าๆ กัน โซเดียมไฮดรอกไซด์จะแตกตัวได้มากกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 150 เท่า (Petrucci, 2007) ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาไปข้างหน้าของโซเดียมไฮดรอกไซด์ลดลงเพื่อปรับให้

อัตราการเกิดปฏิกิริยาทั้งตัวเร่งปฏิกิริยาทั้งสองชนิดเข้าสู่ภาวะสมดุล และเมื่อรวมปริมาณการละลายด้วยแล้ว ไอออนของไฮดรอกไซด์ที่มาจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์นั้นน่าจะน้อยมาก (Gryglewicz, 2000) อีกทั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นของแข็งในตัวปฏิกรณ์นั้นเกือบจะไม่มี ดังนั้นไฮดรอกไซด์ที่เกิด และเข้าทำปฏิกิริยาส่วนใหญ่จะมาจากส่วนของโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเป็นสาเหตุที่ว่า เมื่อผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้าไปแล้วอัตราเร่งหรือการเกิดทรานส์เอสเทอริฟิเคชันจึงไม่แตกต่างไปจากการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เพียงอย่างเดียว

สรุป

การสังเคราะห์ไบโอดีเซลจากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของน้ำมันปาล์มกับเมทานอล โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์อย่างแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และเสริมความแข็งแรงทางกายภาพด้วยปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ ส่งผลให้ตัวเร่งวิวิธพันธ์ทนต่อแรงดันที่เกิดระหว่างการทำปฏิกิริยา และเมื่อใช้ร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยอาศัยจุดเด่นของตัวเร่งทั้งสองชนิดเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง นั่น ไม่บรรลุเป้าประสงค์ แต่อย่างไรก็ตาม ยังช่วยทำให้เข้าใจกลไกการทำงานของตัวเร่งวิวิธพันธ์ได้ดีขึ้น เนื่องจาก ความเป็นเบสแก่ที่ไม่มาก ทำให้การเร่งปฏิกิริยาเกิดได้ไม่ดี อีกทั้งปริมาณน้ำมันที่ยังไม่ถูกเปลี่ยนเป็นเอสเทอร์ จะค่อยๆสะสม และบดบังผิวของตัวเร่ง ทำให้แอลกอฮอล์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ ซึ่งประสิทธิภาพของตัวเร่งจะลดลงตามระยะเวลา หรือปริมาณน้ำมันที่เคลือบ ดังนั้นอาจแก้ไขโดยการป้อนเมทานอลเข้าสู่ระบบก่อนเพื่อให้เกิดการกระตุ้นในการสร้างบริเวณจำเพาะแล้วจึงป้อนสารตั้งต้นตามอัตราส่วนที่ศึกษา และต้องคำนึงถึงการกำจัดน้ำมันที่เคลือบผิวตัวเร่ง เพื่อประสิทธิภาพที่ดีของตัวเร่งปฏิกิริยา

เอกสารอ้างอิง

Alba-Rubio, A.C., M.L. Alonso Castillo, M.C.G. Albuquerque, R. Mariscal, C.L. Cavalcante Jr, and M.L. Granados. 2012. A New and Efficient Procedure for Removing Calcium Soaps in Biodiesel Obtained Using Cao as a Heterogeneous Catalyst. **Fuel** 95 464-470.

Arzamendi, G., E. Arguinarena, I. Campo, S. Zabala, and L.M. Gandia. 2008. Alkaline and Alkaline-Earth Metals Compounds as Catalysts for the Methanolysis of Sunflower Oil. **Catalysis Today** 133-135 305-313.

Demirbas, A. 2009. Political, Economic and Environmental Impacts of Biofuels: A Review. **Applied Energy** 86, Supplement 1 S108-S117.

Granados, M.L., A.C. Alba-Rubio, F. Vila, D. Martín Alonso, and R. Mariscal. 2010. Surface Chemical Promotion of Ca Oxide Catalysts in Biodiesel Production Reaction by the Addition of Monoglycerides, Diglycerides and Glycerol. **Journal of Catalysis** 276 (2): 229-236.

Granados, M.L., D.M. Alonso, I. Sádaba, R. Mariscal, and P. Ocón. 2009. Leaching and Homogeneous Contribution in Liquid Phase Reaction Catalysed by Solids: The Case of Triglycerides Methanolysis Using Cao. **Applied Catalysis B: Environmental** 89 (1–2): 265-272.

Gryglewicz, S. 2000. Alkaline-Earth Metal Compounds as Alcoholysis Catalysts for Ester Oils Synthesis. **Applied Catalysis A: General** 192 (1): 23-28.

Gupta, A.R., S.V. Yadav, and V.K. Rathod. 2015. Enhancement in Biodiesel Production Using Waste Cooking Oil and Calcium Diglyceroxide as a Heterogeneous Catalyst in Presence of Ultrasound. **Fuel** 158 800-806.

Hsieh, L.-S., U. Kumar, and J.C.S. Wu. 2010. Continuous Production of Biodiesel in a Packed-Bed Reactor Using Shell–Core Structural Ca(C3h7o3)2/Caco3 Catalyst. **Chemical Engineering Journal** 158 (2): 250-256.

Kittiratanapiboon, K. and K. Krisnangkura. 2008. Separation of Acylglycerols, Fame and Ffa in Biodiesel by Size Exclusion Chromatography. **European Journal of Lipid Science and Technology** 110 (5): 422–427.

Kouzu, M., T. Kasuno, M. Tajika, Y. Sugimoto, S. Yamanaka, and J. Hidaka. 2008. Calcium Oxide as a Solid Base Catalyst for Transesterification of Soybean Oil and Its Application to Biodiesel Production. **Fuel** 87 (12): 2798-2806.

Li, H., S. Niu, C. Lu, and J. Li. 2016. Calcium Oxide Functionalized with Strontium as Heterogeneous Transesterification Catalyst for Biodiesel Production. **Fuel** 176 63-71.

Meher, L.C., D. Vidya Sagar, and S.N. Naik. 2006. Technical Aspects of Biodiesel Production by Transesterification—a Review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 10 (3): 248-268.

Ozcanli, M., C. Gungor, and K. Aydin. 2013. Biodiesel Fuel Specifications: A Review. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects** 35 (7): 635-647.

Petrucci, R.H., W.S. Harwood, F.G. Herring, and J.D. Madura. 2007. **General Chemistry Principles and Modern Applications**. Pearson Education, Inc, New Jersey.

Sánchez-Cantú, M., L.M. Pérez-Díaz, I. Pala-Rosas, E. Cadena-Torres, L. Juárez-Amador, E. Rubio-Rosas, M. Rodríguez-Acosta, and J.S. Valente. 2013. Hydrated Lime as an Effective Heterogeneous Catalyst for the Transesterification of Castor Oil and Methanol. **Fuel** 110 54-62.

Smith, M.B. and J. March. 2007. **March's Advanced Organic Chemistry**. John Wiley and Sons, Inc, New Jersey.

Soares Dias, A.P., J. Puna, J. Gomes, M.J. Neiva Correia, and J. Bordado. 2016. Biodiesel Production over Lime. Catalytic Contributions of Bulk Phases and Surface Ca Species Formed During Reaction. **Renewable Energy** 99 622-630.

บดินทร วัฒนวิสัย. 2555. **การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันปาล์มด้วยปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องและให้น้ำทิ้งน้อย**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

การเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) แบบผสมผสานในระบบปิดและแบบพัฒนาต่อจุดคุ้มทุน

Comparative Cost of Production between Closed Polyculture System and Intensive Culture System on the Breakeven Point of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

ทิพย์วิภา มีไชย[1*] ภาสิณี วรชนะนันท์[1] และ พงศ์เชฏฐ์ พิชิตกุล[2]

Tipvipa Meechai[1*], Pasinee Worachananant[1] and Phongchate Pichitkul[2]

บทคัดย่อ

การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมแบบพัฒนาจะต้องใช้ความรู้ทางวิชาการ เทคโนโลยีและการจัดการที่ทันสมัย เพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตต่อไร่ แต่การเลี้ยงกุ้งที่มีการจัดการระบบการเลี้ยงที่ไม่เหมาะสม ทำให้เกิดของเสียตกค้างสะสมภายในบ่อ ทำให้คุณภาพน้ำภายในบ่อไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตทำให้ได้มาซึ่งผลผลิตที่ต่ำกว่าความต้องของผู้บริโภค ดังนั้น จึงทำการศึกษารูปแบบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ เช่น ปลานิล ซึ่งเป็นการใช้ธรรมชาติบำบัด เพื่อรักษาคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยง โดยทำการศึกษาต้นทุนการผลิตระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมแบบผสมผสานร่วมกับปลานิลในระบบปิดและแบบพัฒนา (ชุดควบคุม) ที่มีการเลี้ยงแบบหนาแน่น โดยทำการเลี้ยงกุ้งระยะโพสลาร์วา 10-14 (PL 10-14) ในบ่อเพาะเลี้ยงขนาด 4 ไร่ ผลการศึกษาพบว่าการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานในระบบปิดร่วมกับปลานิลมีต้นทุนการผลิตที่สูงกว่าการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนา แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงแบบผสมผสานในระบบปิดได้มาซึ่งผลกำไรสุทธิที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ABSTRACT

The intensive culture of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) would require technical knowledge, technology and advanced management in order to increase yields per rai. The shrimp culture are fed inappropriate management system. Causing accumulate of residual waste within the pond. The water quality in pond is not suitable for the growth crops. Thus obtained lower yields than its most of the consumer. Accordingly, this study were focusing on the shrimp cultured together integrated with others creatures such as tilapia, which has been used as a natural treatment in order to maintained water quality during culture system. Comparative studied of cost of production between closed polyculture system reared with tilapia and intensive culture system (control) were investigated. Shrimp at post larval stage 10-14 (PL 10-14) were cultured in pond around 4 rai. The result showed that the closed polyculture system reared with tilapia has higher cost of production than the culture pond. However, closed polyculture system had the net profit was significantly higher than the statistics ($p < 0.05$).

Key Words: closed polyculture system, cost of production, intensive culture system, *Litopenaeus vannamei*

*Corresponding author; e-mail address: **tipvipaa.m@gmail.com**

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Environmental Technology and Management, Faculty of Environment, Kasetsart University, Bangkok10900

[2]ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[2]Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนา (intensive culture system) เป็นการนำทรัพยากรธรรมชาติมาเป็นปัจจัยหลักในการเลี้ยงกุ้งขาว ซึ่งจากผลผลิตที่ได้นำมาบริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ การเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทย ณ ปัจจุบันได้มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาดจึงได้มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงกุ้ง และการนำเทคโนโลยีเข้ามาเป็นทางเลือกในการเพิ่มอัตราการผลิต ส่งผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของต้นทุนภายในของการผลิตที่เกษตรกรต้องทำการวางแผนการลงทุนเพื่อให้ได้ซึ่งจุดคุ้มทุน ได้ศึกษาต้นทุนและกำไรของการเพาะเลี้ยงกุ้งพบว่า การเลี้ยงกุ้งแบบกึ่งพัฒนา และแบบพัฒนา มีความเหมาะสมในการประกอบธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากกว่าการเพาะเลี้ยงแบบธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงกุ้งขาวยังได้มีการนำทรัพยากรทางธรรมชาติมาเป็นปัจจัยในการผลิตทั้งทางตรงและทางอ้อมซึ่งในการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนาจึงก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมภายนอกในด้านลบ (กังวาลย์, 2532) ซึ่งเป็นการก่อให้เกิดต้นทุนภายนอกที่สังคมส่วนรวมเป็นผู้รับภาระ แต่ในปัจจุบันได้มีการออกกฎระเบียบในการรับภาระจากต้นทุนภายนอกเพื่อให้เกษตรกรได้มีการตระหนักถึงความเสื่อมโทรมของทรัพยากรและการแสดงถึงความรับผิดชอบในการนำทรัพยากรมาใช้โดยทำการหาวิธีการลดภาระต้นทุนภายนอกและจุดคุ้มทุนโดยการปรับเปลี่ยนวิธีการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนามาเป็นการเลี้ยงกุ้งขาวแบบผสมผสานในระบบปิด (closed polyculture system) ด้วยวิธีการเปลี่ยนถ่ายน้ำและการหมุนเวียนน้ำกลับมาใช้ตลอดการเลี้ยง เพื่อลดปริมาณสารอาหารตกค้างและควบคุมคุณภาพน้ำให้อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม การเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานเกษตรกรนิยมทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมร่วมกับปลานิล ปลาหมอเทศ และปลาทับทิม เป็นต้น เนื่องจากปลาที่ทำการเลี้ยงร่วมกันมีพฤติกรรมการกินแบบกินเศษซากอาหารที่ตกค้างภายในบ่อ พืชน้ำและสาหร่าย ซึ่งส่งผลให้คุณภาพน้ำอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ในพื้นที่ศึกษาจังหวัดจันทบุรีซึ่งเป็นหนึ่งในจังหวัดของประเทศไทยที่มีการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลอย่างแพร่หลาย โดยจำนวนพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงเมื่อปีพ.ศ. 2554 พบว่ามีจำนวนพื้นที่การเพาะเลี้ยงทั้งสิ้น 42,344 ไร่ ปริมาณผลผลิตโดยรวมของกุ้งขาวแวนนาไมมีจำนวน 66,336 ตัน คิดเป็นมูลค่าผลผลิตประมาณ 8,307 ล้านบาท โดยเกษตรกรส่วนใหญ่ทำการเลี้ยงในรูปแบบพัฒนาที่มีความหนาแน่นสูง นอกจากนี้ยังพบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ยังไม่ได้รับการพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมตามมาตรฐาน Code of Conduct (CoC) ที่กำหนดโดยกรมประมง การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของเกษตรกรจะอาศัยการใช้น้ำทะเลโดยการสูบน้ำผ่านคลองชลประทานไปสู่พื้นที่การเพาะเลี้ยง เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงก็ทำการปล่อยน้ำทิ้งออกสู่คลองชลประทานโดยไม่มีขั้นตอนการบำบัดน้ำทิ้งก่อนปล่อยคืนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ การศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตระหว่างการเพาะเลี้ยงแบบผสมผสานในระบบปิดกับการเลี้ยงแบบพัฒนาที่เป็นเลี้ยงแบบดั้งเดิม เพื่อเป็นแนวทางในการปรับเปลี่ยนรูปแบบการเลี้ยงกุ้งเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานในระบบปิดร่วมกับปลานิลและการเพาะเลี้ยงแบบพัฒนา โดยมีบ่อเลี้ยงขนาด 4 ไร่ อย่างละ 3 บ่อต่อรูปแบบการเลี้ยง รวมจำนวนบ่อเลี้ยงมีทั้งสิ้น 6 บ่อ และได้ทำการปล่อยกุ้งเป็นจำนวน 100,000 ตัวต่อไร่ในทั้งสองรูปแบบการเลี้ยงแต่ในระบบปิดที่มีการปล่อยปลานิลร่วมกับกุ้งจะทำการปล่อยปลานิลเป็นจำนวน 400 ตัวต่อไร่ ทำการวิเคราะห์หาต้นทุนการผลิตและจุดคุ้มทุนของการเลี้ยงกุ้ง ในตำบล

บางกะไชย อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี โดยมีระยะเวลาการศึกษาในหนึ่งรอบการเลี้ยงตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558

การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต ได้ทำการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตกุ้งขาวแวนนาไมต่อ 1 ไร่ของรอบที่ทำการเพาะเลี้ยงที่ทำการศึกษา โดยจำแนกออกเป็นต้นทุนคงที่และต้นทุนผันแปร (เพชรี, 2543)

ต้นทุนรวม (total cost) = ผลรวมของต้นทุนคงที่และต้นทุนผันแปร

รายรับรวม (total revenue) = ผลต่างของมูลค่าผลผลิตที่เกษตรกรขายได้ กับต้นทุนผันแปร

กำไรรวม (total profit) = ผลต่างของมูลค่าผลผลิตที่เกษตรกรขายได้ กับต้นทุนรวม

ต้นทุนผันแปร = ค่าพันธุ์กุ้ง + ค่าอาหารกุ้ง + ค่าไฟฟ้าและน้ำมันเชื้อเพลิง + ค่าวัสดุ +ยาและเคมีภัณฑ์ + ค่าแรงงาน + ค่าอุปกรณ์ซ่อมบำรุง + ค่าใช้จ่ายเบ็ดเตล็ด + ค่าเช่าที่ดิน + ค่าปรับปรุงบ่อ + ค่าดอกเบี้ย

ผลตอบแทนทั้งหมด = ปริมาณผลผลิต × ราคาผลผลิตที่ขายได้

กำไรเหนือต้นทุนเงินสด = ผลตอบแทนทั้งหมด – ต้นทุนแปรผัน

กำไรสุทธิ = ผลตอบแทนทั้งหมด – ต้นทุนทั้งหมด

จุดคุ้มทุน = ต้นทุนคงที่รวม/ ผลต่างของราคาสินค้าต่อหน่วยกับต้นทุนผันแปรต่อหน่วย

และนำข้อมูลต้นทุนการผลิตในการเลี้ยงแบบผสมผสานในระบบปิดและการเลี้ยงแบบพัฒนามาเปรียบเทียบผลทางสถิติโดยใช้ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาต้นทุนและกำไรของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

จากการศึกษาต้นทุนการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมแบบพัฒนาและการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานในระบบปิดร่วมกับปลานิลที่มาการหมุนเวียนน้ำกลับมาใช้ในระบบ ได้ทำการศึกษาต้นทุนการผลิตโดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ต้นทุนคงที่ ซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายอันเกิดจากการใช้ปัจจัยการผลิตคงที่ในการเลี้ยงกุ้งขาว ดังนั้นต้นทุนการผลิตส่วนนี้จะคงที่เสมอหรือไม่เปลี่ยนแปลงตามปริมาณผลผลิต สำหรับปริมาณการผลิตระดับหนึ่ง ต้นทุนคงที่ที่ใช้ในวิเคราะห์ประกอบด้วย ค่าเสื่อมราคาบ่อและโรงเรือน ภาษีที่ดิน ค่าเสื่อมราคาเครื่องมืออุปกรณ์ ค่าเช่าที่ดิน/ค่าเสียโอกาสการใช้ที่ดิน และค่าเสียโอกาสของต้นทุนคงที่ ต้นทุนที่กล่าวมาเหล่านี้จัดได้ว่าเป็นต้นทุนประเภทต้นทุนที่ไม่เป็นเงินสด ยกเว้นค่าเช่าที่ดินและภาษีที่ดินการคำนวณต้นทุนคงที่ (จุฑามาศ, 2547) มีรายละเอียด ดังนี้

ค่าเสื่อมราคาบ่อเป็นค่าใช้จ่ายที่ไม่เป็นเงินสด โดยคำนวณจากค่าเสื่อมของบ่อเมื่อใช้งานในแต่ละปี กำหนดให้อายุบ่ออยู่ที่ 10 ปี คำนวณค่าเสื่อมราคาแบบเส้นตรง (Straight Line) จากการคำนวณพบว่าการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนามีค่าเสื่อมราคาบ่อเฉลี่ยไร่ละ 8,150.00 บาท ในขณะที่การเลี้ยงกุ้งขาวแบบผสมผสานในระบบปิดมีค่าเสื่อมราคาบ่อเฉลี่ยไร่ละ 9,350.00 บาท (Table 1) ในการคำนวณค่าเสื่อมราคาเครื่องมืออุปกรณ์เป็นค่าใช้จ่ายที่ไม่เป็นเงินสด โดยคำนวณจากอุปกรณ์คงทนที่มีอายุการใช้งานหลายปี ได้แก่ เครื่องสูบน้ำ ท่อส่ง

และสูบน้ำ เครื่องตีน้ำ ใบพัดตีน้ำ จากการคำนวณพบว่าการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนามีค่าเสื่อมราคาเครื่องมือและอุปกรณ์เฉลี่ยไร่ละ 2,600.00 บาท ในขณะที่การเลี้ยงกุ้งขาวแบบผสมผสานในระบบปิดมีค่าเสื่อมราคาเครื่องมือและอุปกรณ์เฉลี่ยไร่ละ 5,978.50 บาท (Table 1) ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนาอันเนื่องมาจากในการเลี้ยงแบบผสมผสานมีการใช้อุปกรณ์เครื่องมือทั้งในขั้นตอนการเลี้ยงกุ้งและการบำบัดคุณภาพน้ำจึงส่งผลต่อค่าเสื่อมราคาเครื่องมืออุปกรณ์ ในขณะที่ค่าเช่าที่ดินเป็นค่าใช้จ่ายเป็นเงินสด สำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งที่มีที่ดินเป็นของตัวเองจึงไม่มีการคำนวณค่าเช่าที่ดิน แต่เกิดเป็นค่าเสียโอกาสการใช้ที่ดินเป็นค่าใช้จ่ายที่ไม่เป็นเงินสด สำหรับเกษตรกรที่มีที่ดินเป็นของตัวเองหากให้ผู้อื่นมาเช่าจะทำให้มีรายได้ที่อยู่ในรูปค่าเช่า การคำนวณค่าเสียโอกาสการใช้ที่ดิน จากอัตราค่าเช่าของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งในพื้นที่ตำบลบางกะไชย จังหวัดจันทบุรี สำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนามีค่าใช้จ่ายค่าเสียโอกาสใช้ที่ดินเฉลี่ย 3,750.00 บาทต่อไร่ ในขณะที่การเลี้ยงกุ้งขาวแบบผสมผสานในระบบปิดมีค่าใช้จ่ายค่าเสียโอกาสใช้ที่ดินเฉลี่ย 4,000 บาทต่อไร่ (Table 1) ดังนั้น ค่าเสียโอกาสของต้นทุนคงที่ เป็นค่าใช้จ่ายที่ไม่ใช่เงินสดคำนวณจากมูลค่าเงินลงทุนในเครื่องมืออุปกรณ์ต่าง ๆ ที่เกิดจากการใช้ปัจจัยคงที่ คูณกับอัตราดอกเบี้ยเงินฝากประจำ 4 เดือน (ระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง) ของธนาคารในปีที่ศึกษา มีอัตราดอกเบี้ยร้อยละ 0.75 บาทต่อปี การเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนามีค่าเสียโอกาสของต้นทุนคงที่เฉลี่ย 906.25 บาทต่อไร่ ในขณะที่การเลี้ยงกุ้งขาวแบบผสมผสานในระบบปิดมีค่าเสียโอกาสของต้นทุนคงที่เฉลี่ย 1,208.03 บาทต่อไร่ (Table 1) ซึ่งจากการคำนวณต้นทุนคงที่รวมของทั้งสองรูปแบบการเลี้ยง พบว่าการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนามีค่าเฉลี่ย 15,406.25 บาทต่อไร่ และการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานมีค่าเฉลี่ย 20,536.53 บาทต่อไร่ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อันเนื่องมาจากต้นทุนคงที่เป็นต้นการผลิตที่มีค่าคงที่ในระดับการผลิตระดับหนึ่ง โดยการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานเป็นการนำเอาขั้นตอนการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนามาทำการปรับปรุงเพื่อนำไปสู่แนวทางเลือกในการปรับเปลี่ยนรูปแบบการเลี้ยง โดยมีการลดจำนวนบ่อเลี้ยงลง และนำบ่อเลี้ยงมาเปลี่ยนเป็นบ่อบำบัดและการปรับปรุงคุณภาพน้ำเพื่อนำน้ำหมุนเวียนกลับไปใช้จึงทำให้มีต้นทุนที่สูงกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนา

ต้นทุนผันแปรเป็นค่าใช้จ่ายในการผลิตอันเกิดจากการใช้ปัจจัยผันแปรในการผลิตซึ่งค่าใช้จ่ายดังกล่าวจะเปลี่ยนแปลงและแปรผันตรงกับปริมาณการผลิต (อนุรักษ์, 2554) สำหรับต้นทุนการผันแปรในการเลี้ยงกุ้งขาวที่นำมาวิเคราะห์ได้แก่ ค่าเตรียมบ่อ ค่าลูกกุ้ง ค่าอาหารกุ้ง ค่ายาและสารเคมี ค่าแรงงาน และค่าเสียโอกาสแรงงานครอบครัว ค่าพลังงานไฟฟ้า ค่าน้ำมันเชื่อเพลิง ค่าเครื่องมือ อุปกรณ์ ค่าซ่อมแซมเครื่องมือและอุปกรณ์, ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ และค่าเสียโอกาสต้นทุนผันแปรการคำนวณต้นทุนผันแปรมีรายละเอียด ดังนี้

ค่าเตรียมบ่อเป็นค่าใช้จ่ายในการจัดเตรียมบ่อ ก่อนปล่อยลูกกุ้งขาวลงบ่อค่าใช้จ่ายส่วนนี้ ได้แก่ ค่าจ้างในการทำความสะอาดพื้นบ่อ การซ่อมแซมพื้นบ่อ ค่าปรับพื้นบ่อ รวมถึงค่าปูนขาวที่ใช้ปรับสภาพกรด-ด่าง จากการคำนวณค่าเตรียมบ่อของการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนามีค่าเฉลี่ย 3,200.00 บาทต่อไร่ ในขณะที่การเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานมีค่าการเตรียมบ่อเฉลี่ย 15,450.00 บาทต่อไร่ (Table 1) การเลี้ยงแบบผสมผสานมีค่าการเตรียมบ่อสูงกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนาอันเนื่องจากมีการเตรียมบ่อสำหรับการอนุบาลลูกกุ้งก่อนทำการปล่อยลงสู่บ่อและการจัดเตรียมพื้นที่สำหรับการเลี้ยงปลานิล อีกทั้งยังมีการเตรียมบ่อเพื่อทำเป็นบ่อบำบัดและปรับปรุงคุณภาพน้ำจึงทำให้มีค่าจัดเตรียมบ่อที่สูงกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนาที่มีการจัดเตรียมบ่อสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวเพียงอย่างเดียว ในส่วนของค่าพันธุ์ลูกกุ้งขาวเป็นค่าใช้จ่ายในการซื้อลูกกุ้งขาวเพื่อนำมาเลี้ยงในบ่อเลี้ยง สำหรับการเลี้ยง

กุ้งแบบพัฒนามีค่าพันธุ์ลูกกุ้งเฉลี่ย 14,000.00 บาทต่อไร่ ในขณะที่การเลี้ยงแบบผสมผสานมีค่าพันธุ์ลูกกุ้งและลูกปลานิลเฉลี่ย 14,900.00 บาท (Table 1) ในส่วนของค่าอาหารกุ้งเป็นค่าใช้จ่ายสำหรับการซื้ออาหารที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวตลอดรอบการเลี้ยงจากการคำนวณค่าอาหารเฉลี่ยของการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนามาค่าเฉลี่ย 57,486.40 บาทต่อไร่ และการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานมีค่าเฉลี่ย 116,932.80 บาทต่อไร่ (Table 1) ค่าอาหารเฉลี่ยตลอดรอบการเลี้ยงของการเลี้ยงแบบผสมผสานมีค่าสูงกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนาเนื่องจากการเลี้ยงกุ้งขาวร่วมกับปลานิลมีปริมาณความหนาแน่นของกุ้งเฉลี่ยตลอดการเลี้ยงสูงกว่าโดยทำการสุ่มตรวจนับจำนวนตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเพื่อการปรับเปลี่ยนปริมาณอาหารกุ้งให้เหมาะสมต่อความต้องการในแต่ละวัน การเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนาที่มีการสะสมตัวของของเสียในบริเวณพื้นบ่อและการเลี้ยงแบบพัฒนาได้เกิดโรคตายด่วนที่ส่งผลทำให้ปริมาณความหนาแน่นของกุ้งลดลงกว่าการเลี้ยงแบบผสมผสาน ในส่วนของค่าจ้างแรงงานในการเลี้ยงกุ้งขาวแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ค่าจ้างแรงงานประจำและค่าจ้างแรงงานชั่วคราว สำหรับค่าจ้างแรงงานประจำเป็นค่าใช้จ่ายที่เกษตรกรเจ้าของฟาร์มจ่ายให้แก่แรงงานที่เลี้ยงกุ้งขาวตลอดระยะเวลาการเลี้ยง และในส่วนของค่าจ้างแรงงานชั่วคราวในการจับกุ้งเป็นการคิดในอัตราที่เกิดขึ้นจริง จากการคำนวณค่าจ้างแรงงานของการเลี้ยงแบบพัฒนามีค่าเฉลี่ย 2,678.52 บาทต่อไร่ และการเลี้ยงแบบผสมผสานในระบบปิดมีค่าจ้างแรงงานเฉลี่ย 3,670.25 บาทต่อไร่ (Table 1) ค่าเสียโอกาสแรงงานในครัวเรือน เป็นค่าจ้างที่ประมาณให้แก่สมาชิกในครัวเรือนที่เลี้ยงกุ้งขาวโดยไม่ได้รับเงินเดือน คำนวณจากอัตราค่าจ้างแรงงานในการเลี้ยงกุ้งขาวในพื้นที่ที่ศึกษา ซึ่งมีอัตราค่าจ้างเฉลี่ย 200 บาทต่อวัน สำหรับค่าจ้างแรงงานครัวเรือนเฉลี่ยของทั้งสองรูปแบบการเลี้ยงมีค่าเท่ากับ 1,000 บาทต่อไร่ (Table 1) ในส่วนค่ายาและสารเคมีเป็นค่าใช้จ่ายที่นำมาจัดการเกี่ยวกับสุขภาพของกุ้ง ทั้งในด้านการปรับสภาพดินและน้ำ การป้องกันและรักษาโรคที่ทางกรมประมงอนุญาตให้นำมาใช้ ซึ่งจากการคำนวณค่ายาและสารเคมีจากการเลี้ยงแบบพัฒนามีค่าเฉลี่ย 15,927.73 บาทต่อไร่ และการเลี้ยงแบบผสมผสานมีค่าเฉลี่ย 39,221.21 บาทต่อไร่ (Table 1) ซึ่งมีค่าสูงกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนาอันเนื่องมาจากการเลี้ยงแบบผสมผสานตลอดระยะเวลาการเลี้ยงมีการหมุนเวียนน้ำเพื่อนำไปบำบัดการนำกลับมาใช้ จึงมีค่าใช้จ่ายในการบำบัดคุณภาพน้ำจากการใช้สารเคมีเพื่อให้คุณภาพน้ำมีความเหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง และในส่วนของค่ายารักษาโรคการเลี้ยงแบบผสมผสานพบว่า ค่ายามีสัดส่วนที่ต่ำกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนา ในส่วนของค่าพลังงานไฟฟ้าและค่าน้ำมันเชื้อเพลิงเป็นค่าใช้จ่ายที่ใช้ในกิจกรรมของการเลี้ยงกุ้งขาวในการให้แสงสว่างในเวลากลางคืนและใช้ในระบบการให้อากาศในบ่อเลี้ยง ซึ่งการเลี้ยงแบบพัฒนามีค่าพลังงานเฉลี่ย 12,750.00 บาทต่อไร่ และการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานมีค่าพลังงานเฉลี่ย 19,147.46 บาทต่อไร่ (Table 1) ค่าเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างเป็นค่าใช้จ่ายที่เกษตรกรใช้ชื่ออุปกรณ์ต่าง ๆ และค่าซ่อมแซมเครื่องมือและอุปกรณ์ซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายในการบูรณะซ่อมแซมที่ใช้ในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง จากการคำนวณการเลี้ยงแบบพัฒนามีค่าเฉลี่ย 6,330.00 บาทต่อไร่ และการเลี้ยงแบบผสมผสานมีค่าเฉลี่ย 8,6860.00 บาทต่อไร่ (Table 1) ดังนั้น ค่าเสียโอกาสต้นทุนหรือเงินทุนในปัจจัยผันแปรคำนวณจากต้นทุนหรือมูลค่าเงินลงทุนในปัจจัยผันแปรที่จ่ายเป็นเงินสดของฟาร์มเลี้ยงกุ้ง ในกรณีที่เกษตรกรใช้เงินไปเพื่อลงทุนในต้นทุนผันแปรที่จ่ายเป็นเงินสดในการเลี้ยงกุ้งขาว (Jitsanguan, 1995) แทนการนำเงินไปลงทุนในการทำกิจกรรมอย่างอื่นหรือการนำฝากธนาคาร ต้นทุนในส่วนนี้เป็นต้นทุนที่ประเมินขึ้นโดยคิดราคาประเมินตามอัตราดอกเบี้ยเงินฝากประจำ 3 เดือนของธนาคารในปีที่ศึกษา มีอัตราดอกเบี้ยร้อยละ 0.75 บาทต่อปี สำหรับการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนามีค่าเฉลี่ย 7,193.92 บาทต่อไร่ และการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานมีค่าเฉลี่ย

13,114.66 บาทต่อไร่ ซึ่งจากการคำนวณต้นทุนผันแปรรวมทั้งสองรูปแบบการเลี้ยงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Table 1 Average costs of production in the two culture systems of *L. vannamei*. (unit: Bath/Rai)

Consumption List	Control		Closed polyculture	
	Type of cost		Type of cost	
	Explicit cost	Implicit cost	Explicit cost	Implicit cost
Fixed cost				
Pond depreciation	-	8,150.00	-	9,350.00
Instrument depreciation	-	2,600.00	-	5,978.50
Rent/land opportunity cost	-	3,750.00	-	4,000.00
Fixed opportunity cost	-	906.25	-	1,208.03
Total Fixed cost	0.00	15,406.25	0.00	20,536.53
Variable cost				
Arrangement cost	3,200.00	-	15,450.00	-
Stock cost	14,000.00	-	14,900.00	-
Transport cost	1,350.00	-	2,150.00	-
Food cost	57,486.40	-	116,932.80	-
Labor payment	2,678.52	-	3,670.25	-
Family opportunity cost	-	1,000.00	-	1,000.00
Medicine and chemicals cost	15,927.73	-	39,221.21	
Electric energy cost	7,950.00	-	12,397.46	
Fuel cost	4,800.00	-	6,750.00	
Instrument and tool cost	870.00	-	980.00	
Instrument repair cost	5,460.00	-	7,880.00	
Consumption cost	1,380.00	-	1,900.25	
Variable opportunity cost	-	7,193.92	-	13,114.66
Total Variable cost	115,102.65	8,193.92	222,231.97	14,114.66
Total cost	115,102.65	23,600.17	222,231.97	34,651.19

การคำนวณต้นทุนการเลี้ยงกุ้งขาวได้ทำการพิจารณาทั้งในส่วนต้นทุนที่เป็นเงินสดและต้นทุนที่ไม่เป็นเงินสด โดยคิดต้นทุนใน 1 รอบการผลิตเฉลี่ยต่อไร่ จากผลการวิเคราะห์ต้นทุนการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อควบคุมที่ทำการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนา มีต้นทุนทั้งหมด 138,702.82 บาทต่อไร่ เป็นต้นทุนคงที่ 15,406.25 บาทต่อไร่ คิดเป็นร้อยละ 11.11 และต้นทุนผันแปร 123,296.57 บาทต่อไร่ คิดเป็นร้อยละ 88.89 (Table 2) และจากผลการคำนวณต้นทุนการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อทดลองที่ทำการเลี้ยงแบบผสมผสานในระบบปิดร่วมกับปลานิล มีต้นทุนทั้งหมด 256,883.16 บาทต่อไร่ เป็นต้นทุนคงที่ 20,536.53 บาทต่อไร่ คิดเป็นร้อยละ 8.00 และต้นทุนผันแปร 236,346.63 บาทต่อไร่ คิดเป็นร้อยละ 92.00 (Table 2) ซึ่งจากการพิจารณาค่าใช้จ่ายทั้งหมด พบว่า ค่าอาหารกุ้งเป็นปัจจัยการผลิตที่มีต้นทุนที่สูงที่สุดทั้งในบ่อควบคุม และบ่อทดลอง คือ 57,486.40 บาทต่อไร่และ 116,932.80 บาทต่อไร่ เนื่องจากในปัจจุบัน พบว่า ราคาอาหารกุ้งสูงขึ้นจึงส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิตและเมื่อเปรียบเทียบต้นทุน ผลตอบแทนและจุดคุ้มทุน พบว่า ผลผลิต รายได้ ต้นทุน จุดคุ้มทุนและกำไร ระหว่างทั้งสองรูปแบบการเลี้ยงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Table 3)

Table 2 Average costs of production and profits in the two culture systems of *L. vannamei*.

List	control	Closed polyculture
Product (kilogram/Rai/times)	1,189.30	2,136.00
Size (ind/kilogram)	45.00	40.00
Price (bath/ kilogram)	180.00	200.00
Income (bath/Rai)	214,074.00	427,200.00
Cost (bath/Rai/times)		
Explicit cost	115,102.65	222,231.97
Variable cost	115,102.65	222,231.97
Fixed cost	0.00	0.00
Imexplicit cost	23,600.17	34,651.19
Variable cost	8,193.92	14,114.66
Fixed cost	15,406.25	20,536.53
Total	138,702.82	256,883.16
Reward (bath/Rai/times)		
Profit on explicit cost	90,777.43	190,853.37
Profit (bath/Rai)	75,371.08	170,316.84

Table 3 Compare costs of production, profits and breakeven points in the two culture systems of *L. vannamei*.

List	control	Closed polyculture
Product (kilogram/Rai/times)	1,189.30[a]	2,136.00[b]
Income (bath/Rai)	214,074.00[a]	427,200.00[b]
Cost (bath/Rai/times)	138,702.82[a]	256,883.16[b]
Breakeven point (kilogram/Rai)	201.84[a]	229.84[b]
Profit (bath/Rai)	75,371.08[a]	170,316.84[b]

Remark: The data with suffixes that difference was statistically significant, the confidence level of 95%.

สรุป

ต้นทุนการผลิตเป็นปัยจัยที่สำคัญต่อผู้เลี้ยงกุ้งขาว เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลตอบแทนที่ได้รับซึ่งทำให้ทราบถึงผลกำไรในแต่ละรอบการผลิต และยังสามารถปรับปรุงโครงสร้างค่าใช้จ่ายของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งกับงบประมาณที่มีอยู่ได้ให้เกิดความสมดุลนำไปสู่การลดปัญหาการขาดทุนสะสมจนก่อให้เกิดการขาดสภาพคล่องในเงินลงทุน จากการศึกษาพบว่าการเลี้ยงแบบพัฒนามีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าการเลี้ยงแบบผสมผสานในระบบปิดอันเนื่องมาจากการเลี้ยงแบบพัฒนาเป็นการเลี้ยงแบบดั้งเดิมที่ไม่มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงที่นำไปสู่แนวทางออกในการแก้ปัญหาคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสมจนส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิต ต้นทุนในการเลี้ยงแบบผสมผสานที่สูงนั้นเป็นผลมาจากการการปรับเปลี่ยนวิธีในการเลี้ยงโดยการนำเอาปลานิลเข้ามาเลี้ยงร่วมกับกุ้งขาวส่งผลทำให้ค่าอาหารที่สูงกว่าการเลี้ยงกุ้งขาวเพียงอย่างเดียว อีกทั้งยังมีการนำเอาบ่อเลี้ยงมาเปลี่ยนเป็นบ่อบำบัดคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงจึงทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของต้นทุนในการปรับปรุงคุณภาพน้ำโดยที่จะไม่มีการดึงน้ำจากแหล่งน้ำเข้ามาเติมและไม่มีการถ่ายน้ำออกไปยังแหล่งน้ำทางธรรมชาติเพื่อเป็นรักษาคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งซึ่งมีผลโดยตรงต่อการเพิ่มขึ้นของต้นทุนการผลิต แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงกุ้งแบบผสมผสานนำมาซึ่งผลกำไรที่สูงกว่าการเลี้ยงแบบพัฒนา ดังนั้นการเลี้ยงแบบผสมผสานในระบบปิดจึงเป็นแนวทางเลือกที่ดีเพื่อนำไปสู่การปรับเปลี่ยนรูปแบบการเพาะเลี้ยงและเป็นแนวทางในการลดผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนวิจัยเพื่อการพัฒนาบัณฑิตศึกษา คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน และขอขอบพระคุณภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการปฏิบัติการคุณภาพน้ำและคำแนะนำในการเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

กังวาลย์ จันทรโชติ. 2532. **เสวนาเรื่องกุ้ง**. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จุฑามาศ จรัญญาพร. 2547. **การวิเคราะห์จุดคุ้มทุนเพื่อพัฒนาธุรกิจSMEs**. ภาควิชาการเงิน มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย, กรุงเทพฯ.

เพชรี ขุมทรัพย์. 2543. **หลักการบริหารการเงิน**. เอกสารประกอบการสอนการบริหารการเงิน. คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

อนุรักษ์ ทองสุโขวงศ์. 2554. **ต้นทุนผันแปรและการวิเคราะห์**. แหล่งที่มา: http://home.kku.ac.th, 5 ตุลาคม 2559.

Jitsanguan, T. 1995. **Analysis and Upilization of Food and Agricultural Data**. Regional Office for Asia and The Pacific (RATA), Food and Agricultural of The United Nation, Bangkok, Thailand.

ความสามารถในการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกจากทางใบปาล์มน้ำมันในช่วงความถี่โทรคมนาคม

Electromagnetic Shielding Capabilities of Woodceramics Made from Oil Palm Frond in Telecommunication Frequency Range

บุญยฤทธิ์ ปัญญายืน[1*] พงษ์ศักดิ์ เฮงนิรันดร์[1] และ ไตรรัตน์ เนียมสุวรรณ[1]

Boonyarit Panyayeun[1*], Pongsak Hengniran[1] and Trairat Neimsuwan[1]

บทคัดย่อ

วู๊ดเซรามิกเป็นอีกหนึ่งวัสดุคาร์บอนรุ่นใหม่ที่มีคุณสมบัติโดดเด่นหลายประการ หนึ่งในการประยุกต์ใช้งานที่น่าสนใจคือใช้เป็นวัสดุป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยงานวิจัยนี้จะให้ความสนใจไปที่ย่านความถี่โทรคมนาคมเป็นหลัก วู๊ดเซรามิกได้จากการคาร์บอนไนเซชันแผ่นใยไม้อัดความหนาแน่นปานกลางที่ได้จากเส้นใยทางใบปาล์มน้ำมันและผ่านการอัดด้วยกาวสังเคราะห์จากการกลายสภาพของกะลาปาล์มน้ำมัน โดยมีปัจจัยในการผลิต 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิสูงสุดของการคาร์บอนไนเซชันที่ 600, 800 และ 1,000 °C และอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 1, 5 และ 10 °C/min. ตามลำดับ นำมาศึกษาคุณสมบัติการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าตามมาตรฐาน IEEE 299 ที่ช่วงคลื่นความถี่ 800-960 และ 1,710-2,170 MHz ผลการทดสอบพบว่า ประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงสุดในการผลิตให้มีค่าเกินกว่า 600 °C แต่จะเริ่มคงที่เมื่ออุณหภูมิสูงสุดประมาณ 800 °C ทั้งนี้พบว่าวู๊ดเซรามิกที่ผลิตขึ้นโดยใช้อุณหภูมิ 800 และ 1,000 °C เท่านั้นที่มีประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานสากลโดยมีค่าการป้องกันอยู่ระหว่าง 34.34-42.86 dB

ABSTRACT

A new kind of porous carbon materials with many excellent properties, Woodceramics (WCS) were considered to have a potential for electromagnetic shielding applications, especially in telecommunication frequency range. In this research, WCS were prepared by carbonizing Medium Density Fiberboard (MDF) that made from oil palm frond and impregnated with liquefied wood that converted from oil palm shell. The effects of maximum temperature (600, 800 and 1,000 °C) and heating rate (1, 5 and 10 °C/min) during carbonization on the electromagnetic shielding property of WCS were carefully investigated according to IEEE 299. The result showed that the electromagnetic shielding property of produced WCS were rapidly increasing when maximum temperature above 600 °C and beginning to stable since 800 °C. Moreover, only WCS in conditions 800 and 1,000 C were between 34.34 to 42.86 dB that in the range according to international standard.

Key words: Woodceramics, Medium Density Fibreboard (MDF), Oil Palm Frond, Liquefied Wood

*Corresponding author; e-mail address: **rasta.garm@gmail.com**

[1]ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Forest Products, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

คำนำ

วู๊ดเซรามิก (Woodceramics) เป็นอีกหนึ่งวัสดุคาร์บอนที่มีความเป็นรูพรุนสูง มีพื้นฐานการผลิตมาจากการผลิตถ่าน โดยนำไม้หรือวัสดุลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ที่ผ่านการอัดหรือเคลือบด้วยเรซินมาผ่านกระบวนการคาร์บอนไนเซชัน (Carbonization) ที่อุณหภูมิระหว่าง 300-2,800 °C (Hirose *et al.*, 2002a) ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณสมบัติโดดเด่นหลายประการ เช่น สามารถต้านทานความร้อนสูงได้ดี ทนทานต่อการกัดกร่อนจากสารเคมี ต้านทานต่อการขัดสีขีดข่วน มีการนำไฟฟ้าที่ดี มีน้ำหนักเบาแต่มีความแข็งสูง สามารถป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าได้ ความเป็นรูพรุนสูงมีพื้นที่ผิวมากกว่า 1,000 m^2/g (Fan *et al.*, 2001) จึงเหมาะกับงานดูดซับ จากข้อดีเหล่านี้ทำให้วู๊ดเซรามิกสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมที่เกี่ยวกับ เครื่องทำความร้อน ตัวกรองแก๊ส วัสดุดูดซับ วัสดุที่ใช้ในการบำบัดน้ำ อุปกรณ์วัดความชื้น อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ ตัวเร่งปฏิกิริยา ฉนวนกันความร้อน อุปกรณ์ป้องกันคลื่นแม่เหล็ก (Shibata *et al.*, 1997) ไฟฟ้าและแบริ่งได้เป็นอย่างดี ซึ่งคุณสมบัติของวู๊ดเซรามิกดังกล่าวเป็นผลจากการที่เรซินเปลี่ยนสภาพเป็นคาร์บอนสัณฐาน (Hard glassy carbon) ขณะที่ไม้เปลี่ยนสภาพเป็นคาร์บอนอสัณฐาน (Soft amorphous carbon) หลังจากผ่านกระบวนการคาร์บอนไนเซชัน ที่สำคัญวู๊ดเซรามิกยังจัดอยู่ในกลุ่มวัสดุที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากสามารถนำเศษเหลือวัสดุลิกโนเซลลูโลสมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตทั้งยังส่งผลให้ต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่าวัสดุประเภทอื่น ๆ (Suda and Kakishita, 1999; Hirose *et al.*, 2002b; Qian *et al.*, 2004)

ปาล์มน้ำมันจัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากเป็นพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อไร่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับพืชน้ำมันอื่น ๆ โดยผลผลิตหลักที่ได้คือน้ำมันปาล์ม ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายในชีวิตประจำวันทั้งการบริโภคและอุปโภค ด้วยเหตุนี้ทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกอย่างต่อเนื่องมาโดยตลอด ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกทั้งประเทศราว 4.28 ล้านไร่ ขณะที่พื้นที่ให้ผลผลิตประมาณ 3.98 ล้านไร่ ได้น้ำมันปาล์มดิบที่ 1.9 ล้านตันต่อปี มูลค่าทางเศรษฐกิจของทั้งปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์มไม่ต่ำกว่า 60,000 ล้านบาทต่อปี โดยมีแหล่งเพาะปลูกที่สำคัญอยู่ที่ภาคใต้ (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2555) จากสถานการณ์ดังกล่าวส่งผลให้มีเศษเหลือจากวัสดุปาล์มน้ำมันเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะทางใบปาล์มน้ำมันที่ยังไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง ซึ่งมีปริมาณมากและสม่ำเสมอตลอดทั้งปี เนื่องจากเมื่อปาล์มน้ำมันมีอายุมากขึ้นลำต้นจะสูงขึ้นทำให้การเก็บเกี่ยวทะลายผลทำได้ยาก จึงจำเป็นต้องตัดทางปาล์มด้านล่างออกเพื่อให้ง่ายต่อการเก็บเกี่ยวผลปาล์มต่อไป (ประยงค์, 2548) ปริมาณทางใบทั้งประเทศคาดว่ามีมากถึงประมาณ 2.47 ล้านตันต่อปี (คำนวณจากพื้นที่ปลูกในประเทศไทยในปี 2555)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเศษเหลือทางใบปาล์มน้ำมันที่ถูกทิ้งไว้ในสวนปาล์มน้ำมันมาขึ้นรูปเป็นแผ่นใยไม้อัดความหนาแน่นปานกลาง (MDF) และนำกะลาปาล์มน้ำมันมาแปรสภาพเป็นลิควิดไฟท์วู๊ด จากนั้นประยุกต์ใช้วิธีการอัดน้ำยารักษาเนื้อไม้แบบ Full Cell Process ทำการอัดลิควิด-ไฟท์วู๊ดเข้าไปภายในแผ่นวัสดุ MDF ที่ผลิตขึ้น คาดว่างานวิจัยชิ้นนี้จะช่วยส่งเสริมให้มีการนำเศษเหลือวัสดุปาล์มน้ำมันมาใช้งานอย่างมีประสิทธิภาพ ลดปัญหาสิ่งแวดล้อม และสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า โดยงานวิจัยชิ้นนี้จะศึกษาสภาวะในการผลิตวู๊ดเซรามิกจากทางใบปาล์มน้ำมันที่มีผลต่อคุณสมบัติการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่โทรคมนาคมเพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้งานเชิงพาณิชย์ต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การผลิตแผ่นใยไม้อัด

การผลิตแผ่นใยไม้อัดความหนาแน่นปานกลางจะใช้วิธีการอัดแบบแห้ง โดยมีขั้นตอนในการผลิตดังนี้ ใช้เส้นใยที่ได้จากการแยกเยื่อทางใบปาล์มน้ำมันผสมกับฟีนอลเรซินในอัตราส่วน 1:0.5 โดยมวล ในเครื่องผสมกาว ทำการขึ้นรูปแผ่นใยไม้อัดความหนาแน่นปานกลางจากเส้นใยที่ผสมกาว ให้มีขนาด 35x35x1.2 cm^3 โดยเครื่องอัดร้อน ภายใต้แรงดัน 5 Mpa อุณหภูมิในการอัดร้อน 160 °C เป็นเวลา 10 นาที (Figure 1)

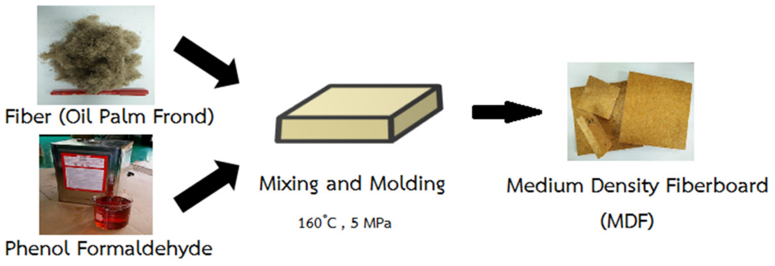


Figure 1 Medium density fiberboard manufacturing methods.

การผลิตลิควิดไฟท์วู๊ด

การผลิตลิควิดไฟท์วู๊ด เริ่มจากผสมสารประกอบฟีนอลกับผงกะลาปาล์มน้ำมันที่ผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh ในอัตราส่วน 3:1 โดยมวล และใช้กรดกำมะถันเข้มข้น 95% ปริมาณ 3% ของสารประกอบฟีนอล เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในขวด 3 คอก้นกลมขนาด 2,000 ml ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 °C พร้อมทั้งกวนด้วยใบกวนที่ความเร็ว 1,000 rpm เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนส่วนผสมกลายเป็นของเหลวที่มีเนื้อเดียวกันแล้วจึงทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เมื่อจะใช้งานจึงเจือจางลิควิดไฟท์วู๊ดที่ได้ด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1:1 โดยมวล (Figure 2)

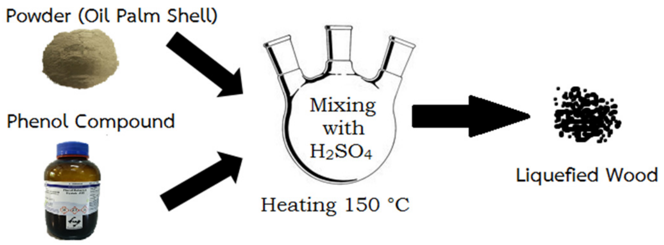


Figure 2 Liquefied wood preparation.

การผลิตวู๊ดเซรามิก

การอัดลิควิดไฟท์วู๊ดเข้าไปในแผ่นใยไม้อัดจะใช้วิธีการอัดน้ำยาแบบเต็มเซลล์ ตามรายละเอียดดังนี้ ทำสุญญากาศเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อดึงอากาศที่อยู่ภายในช่องว่างของชิ้นตัวอย่างออก จากนั้นปล่อยลิควิดไฟท์วู๊ดเข้าสู่ถังอัดน้ำยาให้เต็มถังอัด และทำการเพิ่มแรงดันภายในถังอัดน้ำยาให้สูงขึ้นให้เท่ากับ 10 MPa เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง นำชิ้นงานที่ได้มาผ่านการคาร์บอนไนเซชันที่สภาวะต่าง ๆ โดยมีปัจจัยการผลิต 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยของอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชัน และปัจจัยของอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ (Figure 3)

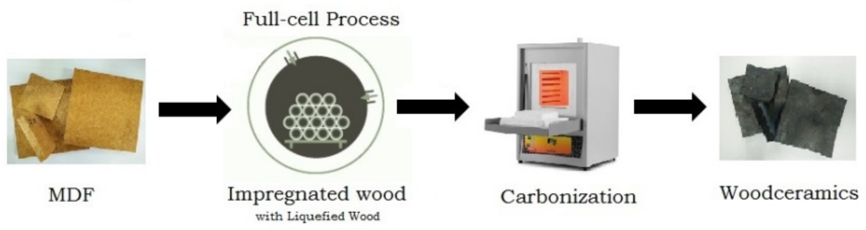


Figure 3 Woodceramics manufacturing methods.

การเก็บข้อมูลและการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 แฟคทอเรียล (3x3 Factorial Experiment Design) โดยควบคุมอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชัน 3 ระดับ คือ 600, 800 และ 1,000 °C กับอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิ 3 ระดับ 1, 5 และ 10 °C/min ทำซ้ำทั้งสิ้น 3 ซ้ำ จากนั้นวู๊ดเซรามิกที่ได้ในแต่ละสภาวะจะถูกสุ่มตัวอย่างมา 3 ตัวอย่าง เพื่อทดสอบคุณสมบัติการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าตามมาตรฐาน Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE 229 : 1991) ซึ่งจะเป็นการทดสอบหาค่าประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวัสดุ (Figure 4)

$$SE = 20\log (E_1/E_2)$$

เมื่อ E_1 = ความเข้มของสัญญาณเมื่อไม่มีชิ้นทดสอบ

E_2 = ความเข้มของสัญญาณเมื่อมีชิ้นทดสอบปิดกั้น

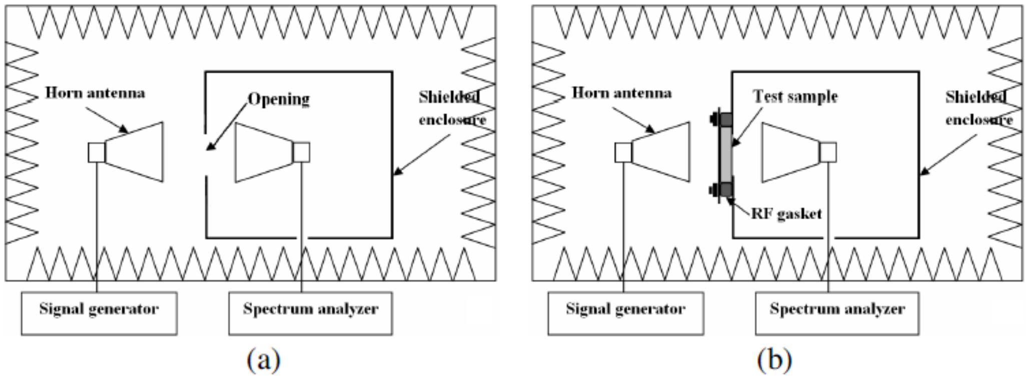


Figure 4 Experimental test setup used to determine shielding effectiveness. (a) Reference measurement (without sample) and (b) load measurement (with sample).

Source: Morari *et al.* (2011)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิตของประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิก ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง

คุณสมบัติการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

ประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะทำการทดสอบที่ช่วงความถี่ 800-960 MHz และ 1,710-2,170 MHz ซึ่งเป็นช่วงความถี่สำหรับโทรศัพท์เคลื่อนที่ ตามตารางกำหนดคลื่นความถี่แห่งชาติ (พ.ศ. 2558) (สำนักงานคณะกรรมการกิจการกระจายเสียง กิจการโทรทัศน์และกิจการโทรคมนาคมแห่งชาติ, 2558)

1. ช่วงความถี่ 800–960 MHz

ผลการทดสอบและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าวู๊ดเซรามิกที่ผลิตจากอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชันเท่ากับ 600 °C ให้ค่าประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่ 800-960 MHz แตกต่างจากอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชัน 800 และ 1,000 °C อย่างมีนัยสำคัญ (ประมาณ 3.10-5.70 dB เปรียบเทียบกับ 34.34-34.77 dB) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับสภาพต้านทานไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกที่ลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการผลิตให้สูงขึ้น และเฉพาะที่อุณหภูมิ 600 °C นี้เท่านั้นที่พบอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชันกับอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ โดยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 10 °C/min จะให้ค่าการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 5 และ 1 °C/min ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิสูงสุด 800 และ 1,000 °C ไม่พบอิทธิพลร่วมของอัตราการเพิ่มอุณหภูมิแต่อย่างใด ซึ่งหมายความว่าเมื่ออุณหภูมิในการผลิตตั้งแต่ 800 °C ขึ้นไป อัตราการเพิ่มอุณหภูมิไม่มีผลต่อคุณสมบัติในการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่นี้ต่อวู๊ดเซรามิกที่ผลิตได้ (Figure 4)

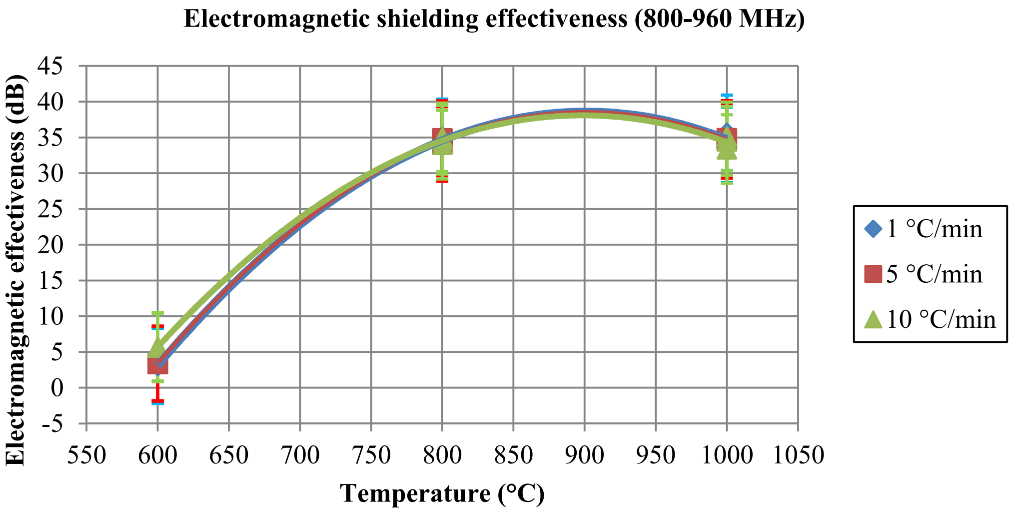


Figure 4 Electromagnetic shielding effectiveness of woodceramics (800-960 MHz)

2. ช่วงความถี่ 1,710-2,170 MHz

ผลการทดสอบและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าวู๊ดเซรามิกที่ผลิตจากอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชันที่ 600 °C ให้ค่าประสิทธิภาพในการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่ 1,710-2,170 MHz แตกต่างจากอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชัน 800 และ 1,000 °C อย่างมีนัยสำคัญ (ประมาณ 2.46-3.62 dB เปรียบเทียบกับ 41.39-42.86 dB) เช่นเดียวกับช่วงความถี่ 800-960 MHz ซึ่งมีความสัมพันธ์กับสภาพต้านทานไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกที่ลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการผลิตให้สูงขึ้น นอกจากนั้นยังพบว่าอุณหภูมิสูงสุดที่

600 และ 800 °C มีอิทธิพลร่วมกับอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิ 600 °C และอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 5 °C/min จะให้ค่าการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 1 และ 10 °C/min ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน และที่อุณหภูมิ 800 °C การเพิ่มอุณหภูมิที่ 1 °C/min จะให้ค่าการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแตกต่างจากอัตราการเพิ่มอุณหภูมิระดับอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่อุณหภูมิ 1,000 °C เป็นอุณหภูมิเดียวที่พบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมกับอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ ซึ่งหมายความว่าที่อุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชัน 1,000 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิไม่มีผลต่อคุณสมบัติในการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกที่ผลิตได้ (Figure 5)

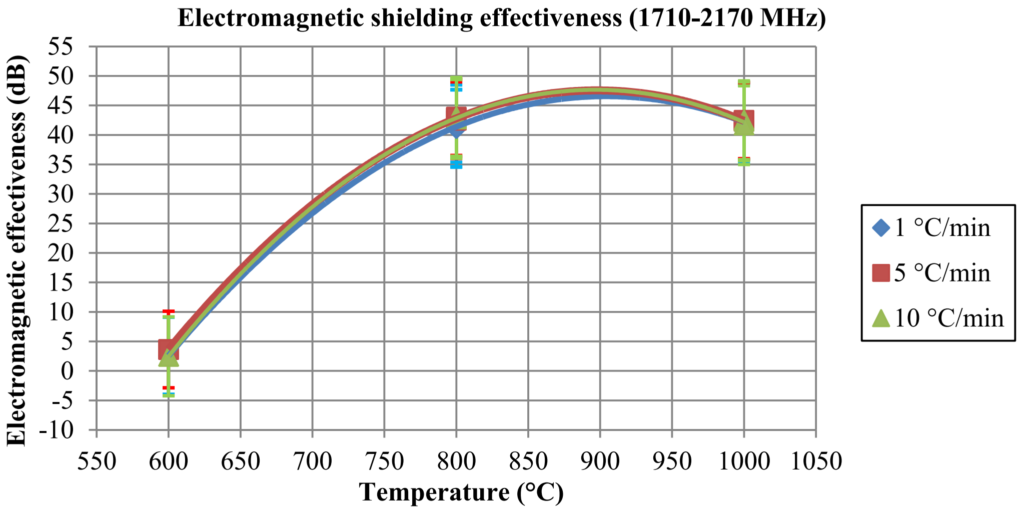


Figure 5 Electromagnetic shielding effectiveness of woodceramics (1,710-2,170 MHz)

ประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าสามารถแบ่งวัสดุป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าออกเป็น 2 กลุ่ม ตามรูปแบบการใช้งาน คือ กลุ่มใช้งานระดับสูง และกลุ่มการใช้งานระดับทั่วไป ผลการจัดระดับตามรูปแบบการใช้งาน โดยใช้ค่าประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกเป็นเกณฑ์ เป็นไปตาม Table 1

Table 1 Evaluation of electromagnetic shielding effectiveness

<table>
<tr><th rowspan="2">Class</th><th rowspan="2">Grade</th><th rowspan="2">Electromagnetic effectiveness range</th><th rowspan="2">Percentage of Electromagnetic Shielding</th><th colspan="3">Temperature (°C)</th></tr>
<tr><th>600</th><th>800</th><th>1000</th></tr>
<tr><td rowspan="5">Class I</td><td>Excellent</td><td>SE > 60 dB</td><td>ES > 99.9999 %</td><td rowspan="5">-</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Very good</td><td>60 dB ≥ SE > 50 dB</td><td>99.9999 % ≥ ES > 99.999 %</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Good</td><td>50 dB ≥ SE > 40 dB</td><td>99.999 % ≥ ES > 99.99 %</td><td colspan="2" rowspan="2">34.34-42.86 dB</td></tr>
<tr><td>Moderate</td><td>40 dB ≥ SE > 30 dB</td><td>99.99 % ≥ ES > 99.9 %</td></tr>
<tr><td>Fair</td><td>30 dB ≥ SE > 20 dB</td><td>99.9 % ≥ ES > 99.0 %</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="5">Class II</td><td>Excellent</td><td>SE dB > 30 dB</td><td>ES > 99.9 %</td><td rowspan="5">-</td><td colspan="2">34.34-42.86 dB</td></tr>
<tr><td>Very good</td><td>30 dB ≥ SE > 20 dB</td><td>99.9 % ≥ ES > 99.0 %</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Good</td><td>20 dB ≥ SE > 10 dB</td><td>99.0 % ≥ ES > 90 %</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Moderate</td><td>10 dB ≥ SE > 7 dB</td><td>90 % ≥ ES > 80 %</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Fair</td><td>7 dB ≥ SE > 5 dB</td><td>80 % ≥ ES > 70 %</td><td></td><td></td></tr>
</table>

Remark: Class I = For Professional Use. Class II = For General Use.

Source: Mistik *et al.* (2012)

สรุป

ประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกที่ช่วงความถี่ 800-960 MHz และ 1,710-2,170 MHz ได้รับผลกระทบอย่างมากจากอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชัน โดยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการผลิตให้สูงกว่า 600 °C ประสิทธิภาพในการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและเริ่มคงที่เมื่ออุณหภูมิประมาณ 800 °C สำหรับอัตราการเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลต่อค่าประสิทธิภาพการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของวู๊ดเซรามิกเช่นกัน โดยจะทำให้ประสิทธิภาพการป้องกันเพิ่มขึ้นแต่ก็ถือว่ามีผลกระทบน้อยกว่าอุณหภูมิสูงสุดในการคาร์บอนไนเซชัน การแบ่งกลุ่มการใช้ประโยชน์ของวู๊ดเซรามิกตามประเภทการใช้งานและการจัดระดับโดยใช้ค่าประสิทธิภาพในการป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นเกณฑ์ ทำให้ทราบว่าวู๊ดเซรามิกที่ผ่านการคาร์บอนไนเซชันที่อุณหภูมิสูงสุด 800 และ 1,000 °C ให้ค่าประสิทธิภาพการป้องกันประมาณ 34.34-42.86 dB ซึ่งจัดอยู่ในเกณฑ์ปานกลางจนถึงดี สำหรับกลุ่มการใช้งานในระดับสูง (Class I) และจัดอยู่ในเกณฑ์ดีเยี่ยมสำหรับกลุ่มการใช้งานในระดับปานกลาง (Class II) ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานเกี่ยวกับ อุปกรณ์ทางการแพทย์ อุปกรณ์ป้องกันระดับสูงสำหรับอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ เครื่องกำบังคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า และอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่เกี่ยวข้องกับการติดต่อสื่อสาร สัญญาณวิทยุ หรือสำหรับการประยุกต์ใช้งานใหม่ ๆ แต่สำหรับวู๊ดเซรามิกที่ผ่านการคาร์บอนไนเซชันที่อุณหภูมิสูงสุด 600 °C พบว่าไม่เหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้งานเพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ป้องกันคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เนื่องจากว่าไม่ผ่านเกณฑ์การใช้งานในทั้ง 2 กลุ่ม ถึงแม้ว่าจะผ่านเกณฑ์การใช้งานในระดับทั่วไปที่บางช่วงความถี่ แต่ก็ถือว่าเป็นส่วนน้อย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ดูแลสวนปาล์มน้ำมันคลอง 9 จังหวัดปทุมธานี ที่ได้เก็บรวบรวมทางใบปาล์มน้ำมันที่ใช้ในงานวิจัย ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการไม้พลังงานและไม้ประกอบ ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณศูนย์ทดสอบผลิตภัณฑ์ทางไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ (PTEC) ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เรื่องการทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

ประยงค์ สุขเตชะพันธ์. 2548. **ปาล์มน้ำมัน.** พิมพ์ครั้งแรก. สำนักพิมพ์เกษตรสยามบุ๊คส์, กรุงเทพฯ.

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2555. **ธุรกิจปาล์มน้ำมันหลังก้าวเข้าสู่ AEC.** ธนาคารกสิกรไทย. แหล่งที่มา: http://www.ksmecare.com/Article/82/28155/ธุรกิจน้ำมันปาล์มหลังก้าวเข้าสู่-AEC, 30 พฤศจิกายน 2556.

สำนักงานคณะกรรมการกิจการกระจายเสียง กิจการโทรทัศน์และกิจการโทรคมนาคมแห่งชาติ. 2558. **ตารางกำหนดคลื่นความถี่แห่งชาติ (พ.ศ.2558).** แหล่งที่มา: http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2558/E/208/19.PDF, 7 กันยายน 2558

Fan, T.X., T. Hirose, T. Okabe and D. Zhang. 2001. Surface area characteristics of woodceramics. Journal of Porous Materials 8(3): 211-217.

Hirose, T., B. Zhao, T. Okabe and M. Yoshimura. 2002a. Effect of carbonization temperature on the basic properties of woodceramics made from carbonized bamboo fiber and liquefied wood. Journal of Materials Science 37: 3453–3458.

______, T. Fujino, T. Fan, H. Endo, T. Okabe and M. Yoshimura. 2002b. Effect of carbonization temperature on the structural changes of woodceramics impregnated with liquefied wood. **Journal Carbon** 40(5): 761-765.

Mistik, S. I., E. Sancak, I. Usta, E. D. Kocak and M. Akalin. 2012. Investigation of electromagnetic shielding properties of boron and carbon fibre woven fabrics and their polymer composites, pp. 34. *In* **Proceeding of the 4th RMUTP International Conference: Textiles & Fashion.** 3-4 July 2012, Bangkok, Thailand.

Morari, C., I. Balan, J. Pintea, E. Chitanu, and I. Iordache. 2011. Electrical conductivity and electromagnetic shielding effectiveness of silicone rubber filled with ferrite and graphite powders. **Progress In Electromagnetics Research M** 21: 93-104.

Qian, J., Z. Jin and J. Wan. 2004. Structure and basic properties of woodceramics made from phenolic resin–basswood powder composite. **Materials Science and Engineering: A** 368: 71–79.

Shibata, K., T. Okabe, K. Saito, T. Okayama, M. Shimada, A. Yamamura and R. Yamamoto. 1997. Electromagnetic shielding properties of woodceramics made from wastepaper. **Journal of Porous Materials** 4(4): 269-275.

Suda, T. and K. Kakishita. 1999. Electrical properties of woodceramics humidity sensor. **Journal Transactions of the Materials Research Society of Japan** 24(2): 305-309.

ผลกระทบจากการทำไม้บนพื้นที่สูงต่อความหลากหลายของพืชและสมบัติทางกายภาพของดินในพื้นที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่

Logging Impact on Steep Terrain to Plant Diversity and Soil Physical Properties at Royal Agricultural Station Angkhang in Chiang Mai Province

ขรรค์ชัย ประสานัย[1*] สุภัทรา ถึกสถิตย์[1] นพรัตน์ คิดคุริวาระ[1] และ วาทินี กฤษณะพันธ์[1]

Khanchai Prasanai[1*], Supattra Thueksathit[1], Napparat Kaakkurivaara[1] and Wathinee Krisanapant[1]

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบจากการทำไม้บนพื้นที่สูงต่อความหลากหลายของพืชและสมบัติทางกายภาพของดิน ในสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการเก็บข้อมูลความหลากหลายของพืชและสมบัติทางกายภาพของดิน ในช่วงก่อนและหลังการทำไม้ ในแปลงที่ไม่มีการทำไม้ แปลงที่มีการทำไม้ 20% และแปลงที่มีการทำไม้ 40% ของพื้นที่หน้าตัดไม้ ในช่วงปี พ.ศ. 2558-2559 ผลการศึกษา พบว่า ค่าดัชนีความหลากหลายของพืชในแปลงที่ไม่มีการทำไม้มีค่าเพิ่มขึ้นทั้งในส่วนของลูกไม้และกล้าไม้ แต่ในแปลงที่มีการทำไม้นั้นค่าดัชนีความหลากหลายของพืชลดลงหลังการทำไม้ โดยแปลงที่มีการทำไม้ 40% พบว่า มีการสูญเสียความหลากหลายของพืชมากกว่าแปลงที่มีการทำไม้ 20% ส่วนผลกระทบจากการทำไม้ต่อสมบัติทางกายภาพของดิน พบว่า ความหนาแน่นรวมของดินและผิวหน้าดินของดินชั้นบนในแปลงที่มีการทำไม้ 40% ได้รับผลกระทบมากที่สุด ดังนั้น จึงควรคำนึงถึงระบบการทำไม้ที่เหมาะสม เพื่อลดผลกระทบที่เกิดจากการทำไม้บนพื้นที่สูง กระบวนการการทำไม้บนพื้นที่สูงชันมีความยุ่งยาก อีกทั้งความเปราะบางของสภาพพื้นที่ย่อมส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าพื้นที่ราบ ดังนั้น การอนุรักษ์พื้นที่สูงให้มีความอุดมสมบูรณ์นับว่ามีความสำคัญและส่งผลดีต่อเนื่องต่อพื้นที่ตอนกลางและตอนล่าง ระบบการทำไม้ที่เหมาะสมจึงต้องคำนึงถึงความเหมาะสมทั้งในเชิงเทคนิค เศรษฐศาสตร์ และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

ABSTRACT

The objective of this research was to study logging impact on steep terrain to plant diversity and soil physical properties at Royal Agricultural Station Angkhang in Chiang Mai Province. Plant diversity and soil physical properties data were collected before and after logging from plots subjected to non-logging, 20% logging and 40% logging of basal area during 2015-2016. The result showed that the plant diversity index of non-logging plots increased in both sapling and seedling but decreased in logging plots after logging practice. Moreover, it was found that the loss of plant diversity in 40% logging plots was greater than 20% logging plots. Regarding the logging impact on soil physical properties, soil bulk density and soil surface at topsoil of 40% logging plots had the most impact. Therefore, the appropriated logging practice should be considered to reduce these logging impacts on steep terrain. Logging on steep terrain is highly sensitive to environmental impacts and more excessive than the ground-based, related to an issue of its difficulty and the vulnerable circumstances. Therefore, conservation on steep terrain will significantly address the abundance to hillslope and terrain accordingly. To implement an appropriated logging practice should consider to various factors and less damage to its environment.

Key Words: Logging impact, Steep terrain, Plant diversity, Soil physical properties

*Corresponding author; e-mail address: fforkcp@ku.ac.th

[1]คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok 10900

คำนำ

ทรัพยากรป่าไม้เป็นทรัพยากรที่สามารถทดแทนได้ (renewable natural resources) แต่เมื่อมีความต้องการใช้หรือความต้องการที่ดินเพื่อเปลี่ยนแปลงพื้นที่ดั้งเดิมให้เป็นพื้นที่เกษตรกรรม จึงเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้สภาพพื้นที่ป่าลดลงและถูกทำลาย การฟื้นฟูทรัพยากรป่าไม้นั้นให้ประโยชน์ทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสังคม ช่วยรักษาความสมดุลทางสภาวะแวดล้อมและป้องกันภัยธรรมชาติ การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติที่ถูกต้องการคือการนำทรัพยากรธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดและสูญเสียน้อยที่สุดด้วยเช่นกัน นโยบายการอนุรักษ์ที่ให้หน่วยงานราชการและประชาชนมีส่วนร่วมในการปลูกป่านั้น ถือว่ารัฐบาลได้ประโยชน์ทางอ้อม แต่เจ้าของพื้นที่ไม่ว่าจะเป็นพื้นที่เอกชนหรือราชการเองยังมีความต้องการนำทรัพยากรเหล่านั้นมาใช้ประโยชน์โดยตรง ซึ่งการนำไม้มาใช้ประโยชน์ในปัจจุบันกิจกรรมการทำไม้สามารถกระทำได้เฉพาะในพื้นที่ของสวนป่าหรือป่าปลูกเพียงเท่านั้น ป่าปลูกถือเป็นแหล่งผลิตไม้ที่สำคัญ นอกจากนี้ยังช่วยลดปัญหาการตัดไม้ทำลายป่า เป็นแหล่งกักเก็บคาร์บอน ทำหน้าที่ปกป้องทรัพยากรดินและน้ำ เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์ ก่อให้เกิดการสร้างงานกับชุมชนท้องถิ่น และดำรงไว้ซึ่งความหลากหลายทางชีวภาพ (Savill *et al*., 1997; Siry *et al*., 2001; Carle *et al*., 2002; Evans and Turnbull, 2004) ในพื้นที่เกษตรหลวงอ่างขางมีพื้นที่บ้างส่วนเป็นป่าปลูก ไม้ส่วนใหญ่เป็นไม้ต่างถิ่นทดลองปลูกเพื่อฟื้นฟูพื้นที่และนำมาใช้ประโยชน์ภายในกิจการของโครงการหลวง การนำเอาทรัพยากรป่าไม้ที่เป็นเนื้อไม้ออกมาใช้ประโยชน์ได้นั้นต้องเกี่ยวข้องกับกระบวนการทำไม้ เมื่อพื้นที่ที่มีความชันมากกว่า 30% รูปแบบของเทคโนโลยีพื้นบ้านทั้งขนาดเล็กและขนาดกลาง กำลังงานสัตว์และรวมทั้งการใช้แรงตามแรงโน้มถ่วงจึงควรนำมาปรับใช้ (Spinelli *et al*., 2010) ระบบการทำไม้นั้นมีมากมายหลากหลาย บางครั้งการทำไม้โดยมิได้คำนึงถึงต้นทุนการผลิต ผลกำไรและผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นกับสิ่งแวดล้อมจากการประกอบการเท่าที่ควร ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้ทดลองการทำไม้บนพื้นที่สูงเพื่อศึกษาผลกระทบต่อความหลากหลายของพืชและสมบัติทางกายภาพของดิน เพื่อเป็นข้อเสนอแนะให้ได้รูปแบบการทำไม้ที่เหมาะสมในพื้นที่ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเลือกแปลงทดลองและกำหนดระดับความหนักเบาของการทำไม้บริเวณพื้นที่สูงของสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งพื้นที่ดังกล่าวได้ทำการฟื้นฟูสภาพป่าต้นน้ำด้วยไม้โตเร็วจากต่างถิ่น โดยแปลงศึกษาแบ่งออกเป็นแปลงควบคุม (แปลงที่ไม่มีการทำไม้) แปลงที่มีการทำไม้ 20 เปอร์เซ็นต์ และแปลงที่มีการทำไม้ 40 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดไม้ (Figure 1) ทำการศึกษาในด้านความหลากหลายของทรัพยากรพืช ซึ่งเน้นที่การศึกษาลูกไม้ (sapling) คือ ไม้ที่มี DBH < 4.5 เซนติเมตร มีความสูงมากกว่า 1.30 เมตร โดยทำการวางแปลงชั่วคราว ขนาด 5 x 5 เมตร และศึกษากล้าไม้ (seedling) คือ ไม้ที่มีความสูงน้อยกว่า 1.30 เมตร และไม้พื้นล่าง คือ ไม้ล้มลุก หญ้า และไม้พุ่ม โดยวางแปลงขนาด 1 x 1 เมตร แล้วทำการนับจำนวนกล้าไม้ หญ้า และไม้ล้มลุกที่อยู่ภายในแปลงพร้อมทั้งติดแผ่นป้ายหมายเลขประจำแต่ละต้น และจำแนกชนิดพันธุ์ไม้ หรือเก็บตัวอย่างชนิดที่ไม่สามารถจำแนกได้ เพื่อจะได้ทำการจำแนกโดยการเทียบตัวอย่างในหอพรรณไม้

ทำการศึกษาสมบัติทางกายภาพของดินในแปลงทดลองเดียวกันกับแปลงที่ศึกษาสังคมพืช โดยทำการเก็บข้อมูลดิน ได้แก่ เนื้อดิน อินทรียวัตถุในดิน ความหนาแน่นรวมของดิน และความชื้นในดิน วิธีการเก็บตัวอย่างดินแบ่งเป็น 2 วิธีการ ได้แก่ การเก็บตัวอย่างดินแบบรบกวนโครงสร้าง (disturbed samples) สำหรับการศึกษา

สมบัติดินเบื้องต้น และการเก็บตัวอย่างดินแบบไม่รบกวนโครงสร้าง (undisturbed samples) ที่ระดับความลึก 0-50 ซม. และ 50-100 ซม. โดยใช้กระบอกเก็บดิน (soil core) จำนวน 3 จุด ในแต่ละแปลง เพื่อศึกษาความหนาแน่นรวมของดิน และความชื้นในดิน พร้อมทั้งบันทึกลักษณะของสภาพพื้นที่ การวิเคราะห์ตัวอย่างดินที่ห้องปฏิบัติการโดยทำการชั่งน้ำหนักสดของดิน และทำการอบดินที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง และทำการหาค่าความหนาแน่นรวมของดินและความชื้นดินโดยใช้สมการดังนี้

$$\text{ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density)} = \frac{\text{มวลดินแห้ง}}{\text{ปริมาตรทั้งหมด}}$$

$$\text{ความชื้นในดินโดยน้ำหนัก (soil moisture)} = \frac{\text{น้ำหนักดินเปียก} - \text{น้ำหนักดินแห้ง}}{\text{น้ำหนักดินแห้ง}} \times 100$$

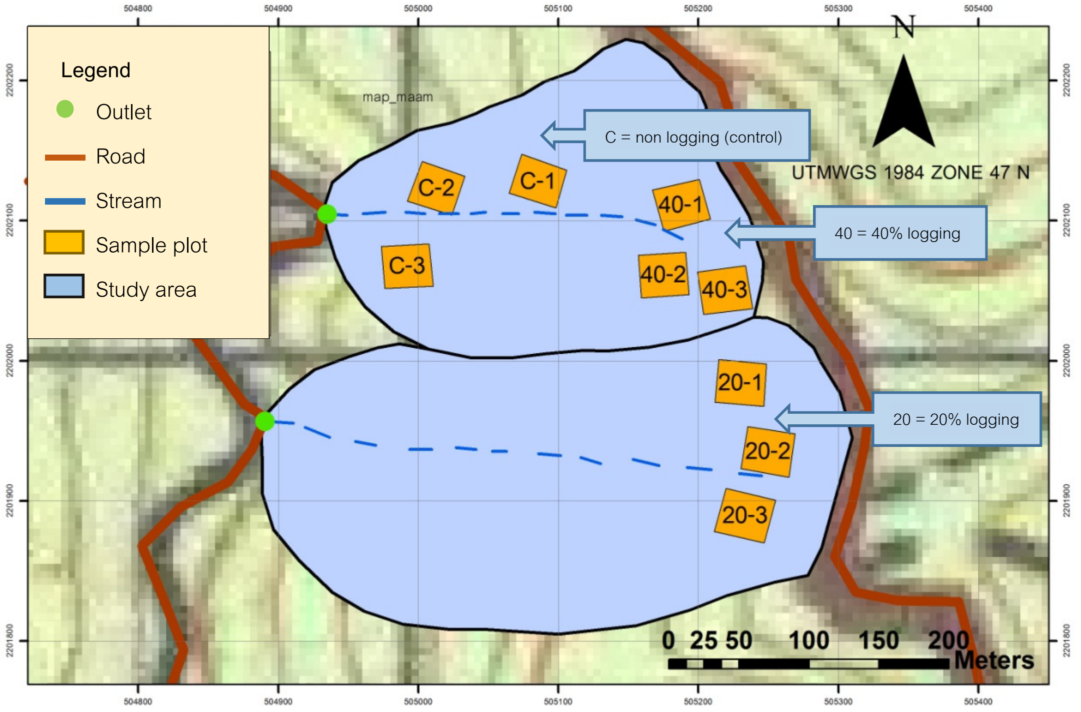


Figure 1 Study area and sample plots at Royal Agricultural Station Angkhang, Chiang Mai Province

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลกระทบการทำไม้ต่อความหลากหลายของพืชนั้น มุ่งเน้นที่กลุ่มไม้ชั้นสอง คือ ลูกไม้และไม้พื้นล่าง คือ กล้าไม้และพืชปกคลุมดินต่าง ๆ เพื่อหาค่าดัชนีความหลากหลายของลูกไม้ (sapling) และกล้าไม้ (seedling) ภายหลังการทำไม้ โดยแปลงที่ไม่มีการทำไม้หรือแปลงควบคุม (C1-C3) ทำการเก็บข้อมูลในเวลาเดียวกันกับแปลงที่มีการทำไม้ สามารถประเมินค่าดัชนีความหลากหลายของพืชได้ ดัง Table 1 ซึ่งพบว่า ในแปลงที่ไม่มีการทำไม้นั้นค่าดัชนีความหลากหลายของพืชเพิ่มขึ้นทั้งในส่วนของลูกไม้และกล้าไม้ ส่วนแปลงที่มีการทำไม้นั้นค่าดัชนีความหลากหลายของพืชลดลง เนื่องจากระหว่างการทำไม้ ไม่ว่าจะเป็นในกระบวน ล้มไม้ นำไม้ออกจากพื้นที่ ลูกไม้และกล้าไม้ได้รับผลกระทบ ตายหรือถูกถอนไป ระหว่างกระบวนการเหล่านี้ อย่างไรก็ตาม

การทำไม้ย่อมเกิดช่องว่างระหว่างพื้นที่มากขึ้น โอกาสที่ไม้ชนิดดั้งเดิมหรือลูกไม้ในพื้นที่จะมีการงอกหรือเจริญเติบโตมากขึ้น ย่อมมีความเป็นไปได้ ดังนั้น ต้องมีการศึกษาอีกต่อไปเพื่อให้ได้ข้อมูลอัตราการเกิดขึ้นของลูกไม้ในพื้นที่

Table 1 Diversity Index of sapling and seedling in the plots

plots	sapling		seedling	
	before logging	after logging	before logging	after logging
C1	2.236	2.266	1.562	1.683
C2	2.315	2.382	1.088	1.192
C3	2.384	2.384	2.613	2.656
20-1	2.164	2.133	2.530	2.524
20-2	1.894	1.748	2.075	1.859
20-3	1.635	1.657	2.068	1.918
40-1	2.575	2.575	2.338	2.141
40-2	1.995	1.451	2.417	2.453
40-3	2.138	1.973	2.095	2.059

จากการศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นกับสมบัติทางกายภาพของดินบางประการจากกิจกรรมการทำไม้ โดยสมบัติดินเบื้องต้นที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ เนื้อดิน และปริมาณอินทรียวัตถุในดิน มีผลการศึกษาดัง Table 2 อธิบายได้ดังนี้

แปลงที่ไม่มีการทำไม้ (แปลงควบคุม) ดินชั้นบน เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (sandy clay loam) ประกอบด้วย อนุภาคทราย อนุภาคทรายแป้ง และอนุภาคดินเหนียว ร้อยละ 49 25 และ 26 ตามลำดับ ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน มีค่าเท่ากับ 9.01 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับสูง ส่วนดินชั้นล่าง เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียว (clay loam) ประกอบด้วย อนุภาคทราย อนุภาคทรายแป้ง และอนุภาคดินเหนียว ร้อยละ 40 21 และ 39 ตามลำดับ ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน มีค่าเท่ากับ 8.88 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับสูงเช่นกัน

แปลงที่มีการทำไม้ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ดินชั้นบน เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (sandy clay loam) ประกอบด้วย อนุภาคทราย อนุภาคทรายแป้ง และอนุภาคดินเหนียว ร้อยละ 47 27 และ 26 ตามลำดับ ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน มีค่าเท่ากับ 7.69 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับสูง ส่วนดินชั้นล่าง เนื้อดินเป็นดินเหนียว (clay) ประกอบด้วย อนุภาคทราย อนุภาคทรายแป้ง และอนุภาคดินเหนียว ร้อยละ 31 21 และ 48 ตามลำดับ ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน มีค่าเท่ากับ 1.97 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับปานกลาง

แปลงที่มีการทำไม้ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ดินชั้นบน เนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (sandy clay loam) ประกอบด้วย อนุภาคทราย อนุภาคทรายแป้ง และอนุภาคดินเหนียว ร้อยละ 48 21 และ 31 ตามลำดับ ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน มีค่าเท่ากับ 3.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับปานกลาง ส่วนดินชั้นล่าง เนื้อดินเป็น

ดินร่วนเหนียว (clay loam) ประกอบด้วย อนุภาคทราย อนุภาคทรายแป้ง และอนุภาคดินเหนียว ร้อยละ 40 24 และ 36 ตามลำดับ ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน มีค่าเท่ากับ 1.47 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับต่ำ

Table 2 Some soil physical properties in sample plots at Royal Agricultural Station Angkhang, Chiang Mai Province

plots		slope (%)	soil particle (%)			soil texture	organic matter (%)	rate	bulk density (Pb) (g/cm^3)		soil moisture (SM) (%)	
			sand	silt	clay				before logging	after logging	before logging	after logging
non logging (Control)	topsoil	40.59	49	25	26	SCL	9.01	H	0.86	0.84	52.48	50.32
	subsoil		40	21	39	CL	8.88	H	0.95	0.98	51.97	40.84
20% logging	topsoil	25.99	47	27	26	SCL	7.69	H	0.88	0.87	40.60	51.38
	subsoil		31	21	48	C	1.97	M	0.96	0.87	39.39	34.53
40% logging	topsoil	32.15	48	21	31	SCL	3.22	M	0.80	0.94	49.11	44.94
	subsoil		40	24	36	CL	1.47	L	1.11	1.09	45.14	46.94

Remarks: SCL = Sandy clay loam, CL = Clay loam, C = Clay
H = High, M =Moderate, L = Low

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพของดินบางประการ ได้แก่ ความหนาแน่นรวมของดิน และปริมาณความชื้นในดิน มีผลการศึกษาดังนี้ (Table 2)

แปลงที่ไม่มีการทำไม้ (แปลงควบคุม) จากการศึกษาครั้งที่ 1 พบว่า ความหนาแน่นรวมเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง เท่ากับ 0.86 และ 0.95 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ ปริมาณความชื้นในดินเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง เท่ากับ 52.48 และ 51.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในการศึกษาครั้งที่ 2 พบว่า แปลงควบคุมที่ไม่มีการทำไม้ มีค่าความหนาแน่นรวมเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง เท่ากับ 0.84 และ 0.98 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ และมีค่าความชื้นในดินเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง เท่ากับ 50.32 และ 40.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

แปลงที่มีการทำไม้ 20 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงก่อนการทำไม้ พบว่า ดินบนและดินล่างมีความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ยเท่ากับ 0.88 และ 0.96 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ มีค่าความชื้นในดินเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง มีค่าเท่ากับ 40.60 และ 39.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ภายหลังการทำไม้ พบว่า ดินบนและดินล่างมีความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ย เท่ากับ 0.87 และ 0.87 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ และมีค่าความชื้นในดินเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง เท่ากับ 51.38 และ 34.53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

แปลงที่มีการทำไม้ 40 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงก่อนการทำไม้ พบว่า ดินบนและดินล่างมีความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ย เท่ากับ 0.80 และ 1.11 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ และมีปริมาณความชื้นในดินเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง มีค่าเท่ากับ 49.11 และ 45.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ภายหลังการทำไม้ พบว่า

ดินบนและดินล่างมีความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ย เท่ากับ 0.94 และ 1.09 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ และมีค่าความชื้นในดินเฉลี่ยของดินบนและดินล่าง เท่ากับ 44.94 และ 46.99 เปอร์เซ็นต์

จะเห็นได้ว่า ค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นรวมของดินก่อนและหลังการทำไม้ ในแปลงที่มีการทำไม้ 20 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกันมากทั้งดินบนและดินล่าง ส่วนแปลงที่มีการทำไม้ 40 เปอร์เซ็นต์ หลังการทำไม้มีค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นรวมของดินเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อยที่ดินบน ในขณะที่ค่าความชื้นในดินที่มีความแตกต่างกันนั้น น่าจะเกิดจากปัจจัยของฝนและเนื้อดินในพื้นที่ศึกษา

สรุป

จากการสำรวจทรัพยากรป่าไม้ในพื้นที่โดยดูลักษณะโครงสร้างของป่า ในแปลงทดลองนั้นเป็นป่าที่ปลูกฟื้นฟูต้นน้ำ การศึกษาดัชนีความหลากหลายของลูกไม้ (sapling) และกล้าไม้ (seedling) โดยการเก็บข้อมูลก่อนและหลังการทำไม้ ซึ่งแปลงที่ไม่มีการทำไม้หรือแปลงควบคุม ก็ทำการเก็บข้อมูลในเวลาเดียวกันกับแปลงที่มีการทำไม้ สามารถประเมินค่าดัชนีความหลากหลายของพืชได้ ในแปลงที่ไม่มีการทำไม้นั้นค่าดัชนีความหลากหลายของพืชเพิ่มขึ้นทั้งในส่วนของลูกไม้และกล้าไม้ ส่วนของแปลงที่มีการทำไม้นั้นค่าดัชนีความหลากหลายของพืชลดลง แปลงที่มีการทำไม้ร้อยละ 40 ของพื้นที่หน้าตัดไม้พบว่ามีการสูญเสียความหลากหลายมากกว่าแปลงที่มีการทำไม้ร้อยละ 20 ของพื้นที่หน้าตัดไม้ อาจเนื่องจากช่วงที่มีการทำไม้ ลูกไม้และกล้าไม้บางต้นโดนทำลายและตายไปจากพื้นที่ ดังนั้นการฝึกอบรม เพิ่มทักษะและให้ความรู้กับเจ้าหน้าที่ในเรื่องกระบวนการการทำไม้ ย่อมเกิดผลดีต่อพื้นที่และสิ่งแวดล้อมในอนาคตได้

การศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นกับสมบัติดินทางกายภาพบางประการจากการทำไม้ที่มีความหนักเบาแตกต่างกัน พบว่า แปลงที่ไม่มีการทำไม้ (แปลงควบคุม) มีค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นดินรวมของดินบน ทั้ง 2 ครั้งที่ทำการศึกษา เท่ากับ 0.86 และ 0.84 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนแปลงที่มีการทำไม้ร้อยละ 20 ของพื้นที่หน้าตัดต้นไม้ พบว่า ดินบนมีค่าความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ยก่อนและหลังทำไม้เท่ากับ 0.88 และ 0.87 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนแปลงที่มีการทำไม้ร้อยละ 40 ของพื้นที่หน้าตัดต้นไม้ พบว่า ดินบนมีค่าความหนาแน่นรวมของดินเฉลี่ยก่อนและหลังทำไม้เท่ากับ 0.80 และ 0.94 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ จึงเห็นได้ว่าดินชั้นบนของการทำไม้ร้อยละ 40 ของพื้นที่หน้าตัดไม้มีผลกระทบต่อสมบัติทางกายภาพของดินมากกว่าแปลงศึกษาอื่น

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนการวิจัยภายใต้แผนงานวิจัย การฟื้นฟูและการจัดการป่าบนพื้นที่สูงอย่างยั่งยืนเพื่อการอนุรักษ์น้ำในพื้นที่โครงการหลวง (Forest restoration and sustainable management on highland for water conservation in Royal Project area) ภายใต้โครงการวิจัย การทำไม้ในป่าฟื้นฟูบนที่สูงอย่าเหมาะสมและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (An appropriate and environmental friendly timber harvesting approach on steep terrain) และขอบคุณเจ้าหน้าที่โครงการเกษตรหลวงอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่ ที่อำนวยความสะดวกในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Carle J., P. Vuorinen and A.D. Lungo. 2002. Status and trends in global forest plantation development. **Journal Forest Products** 52 (7): 1–13.

Evans J. and J.W. Turnbull. 2004. **Plantation Forestry in the Tropics: Role of Silviculture and use of Planted Forest for Industrial, Social Environmental and Agroforestry Purposes** (3rd edition). Oxford, UK: Oxford University Presss.

Savill P., J. Evans, D. Auclair and J. Falck. 1997. **Plantation Silviculture in Europe**. Oxford, UK: Oxford University Presss.

Siry J.P., F.W. Cubbage and R.C. Abt. 2001. **The Role of Plantations in World Forestry**. Available Source http://sofew.cfr.msstate.edu/papers/25siry.pdf, June 3, 2014.

Spinelli, R., N. Maganotti and C. Lombardini. 2010. Performance, capability and costs of small-scale cable yarding technology. **Small-Scale Forestry** 9 (1): 123-135.

การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรียวัตถุและฟอสฟอรัสในดินบริเวณพื้นที่พืชอิงอาศัยของเห็ดเสม็ดในจังหวัดตรัง

Seasonal Soil Organic Matter and Phosphorus Dynamics in Mixed Forests with Fruiting of *Boletus griseipurpureus* in Trang Province

__ลัดดาวัลย์ แก้วส่งแสง__[1] อมรรัตน์ อังอัจฉะริยะ[1] สุวิทย์ จิตรภักดี[1] ขวัญตา ตันติกำธน[1] และ เอนก สาวะอินทร์[1*]

__Laddawan Kaewsongsang__[1], Amornrat Aung-aud-chariya[1], Suwit Jitpukdee[1], Khwanta Tantikamton[1] and Aneak Sawain[1*]

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรียวัตถุ และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ในบริเวณพื้นที่พืชอิงอาศัยของเห็ดเสม็ด ได้แก่ เสม็ดขาว กระถินเทพา และสนทะเล ในจังหวัดตรัง ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ใน 3 พื้นที่การงอกของเห็ดเสม็ด มีการเก็บตัวอย่างในดินที่ความลึกดิน 0-20 เซนติเมตร เก็บตัวอย่าง 3 ซ้ำต่อพื้นที่ป่า ปริมาณอินทรียวัตถุในดินและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเพิ่มขึ้นใน 3 พื้นที่ โดยมีการเพิ่มขึ้นสูงสุดของปริมาณอินทรียวัตถุในดิน 1.2-1.6% และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 1.1-1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม เกิดขึ้นในป่าสนทะเล และป่าเสม็ด ตามลำดับ พื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง มีการเพิ่มขึ้นสูงสุดของปริมาณอินทรียวัตถุในดิน 1.8-2% และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 1.2-1.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เกิดขึ้นในป่ากระถินเทพา และป่าสนทะเล ตามลำดับ และพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหินมีการเพิ่มขึ้นสูงสุดของปริมาณอินทรียวัตถุในดิน 1.3-2% และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 1.2-1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเกิดขึ้นในป่าเสม็ด ซึ่งเป็นผลจากการเกิดฝนตกเกิดการย่อยสลายสารอาหาร และแร่ธาตุในดิน เพื่อให้ต้นพืชนำไปใช้ในการสังเคราะห์เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อส่วนต่าง ๆ ของพืชและราเอคไมคอร์ไรซ่า ส่งผลให้เกิดดอกเห็ดเสม็ดในช่วงเดือนเมษายน จนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2559

ABSTRACT

Soil organic matter and available phosphorus in forests containing *Melaleuca leucadendron*, *Acacia mangium* and *Casuarina equisetifolia* in Trang province, Thailand were investigated from January to October 2016. The three study areas chosen all had fruiting of *Boletus griseipurpureus,* an edible ectomycorrhizal mushroom, during the wet season. Soil was sampled randomly from a depth of 0 -20 cm, 3 replicates per forest site. Soil organic matter (SOM) and Bray II available phosphorus (P) increased in the 3 sites following the wet season. The highest increment in SOM (1.2 - 1.6 %) and available P (1.1 - 1.3 mg/kg) in Hat chao mai national park occurred in *C. equisetifolia* and *M. leucadendron* stands, respectively. In Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang campus, the highest increment in SOM (1.8 - 2.0 %) and available P (1.2 - 1.4 mg/kg) occured in *A. mangium* and *C. equisetifolia* stands, respectively, whereas in Bohin sub-district administration organization, the highest increase in SOM (1.3 - 2.0 %) and available P (1.2 - 1.3 mg/kg) occurred in *M. leucadendron* forest. Rainfall in the dissolution of soil nutrients which plant and ectomycorrhiza used in the synthesis of a nutrient essential Influence the *Boletus griseipurpureus* in April until June 2016.

Key Words: organic matter, available phosphorus, host plant, *Boletus griseipurpureus*,

*Corresponding author; e-mail address: **aneak.ene@gmail.com**

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง, ตรัง 92150

[1]Department of, Faculty of Science and fishery technology, Rajamangala university of technology srivijaya, trang campus, Trang 92150;

คำนำ

เห็ดเสม็ด (Had samed ; *Boletus griseipurpureus*) เป็นเห็ดราไมคอร์ไรซ่า พวกเอคโตไมคอร์ไรซ่าชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภคสำหรับคนท้องถิ่นภาคใต้ ได้แก่ ตรัง กระบี่ ชุมพร ปัตตานี สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช เห็ดชนิดนี้จะอยู่ร่วมกับพืชอิงอาศัย ได้แก่ เสม็ดขาว (*Melaleuca leucadendron*) กระถินเทพา (*Acacia mangium*) กระถินณรงค์ (*Acacia* auriculiformis) สนทะเล (*Casuarina equisetifolia*) และยูคาลิปตัส (*Eucalyptus* spp.) (Seehanan and Petcharat, 2008) เห็ดเสม็ดเป็นเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการ มีปริมาณโปรตีนสูงและไขมันต่ำ (Aung-aud-chariya *et al*., 2012) เมื่อถึงฤดูกาลงอกของเห็ดเสม็ด เกษตรกรชาวสวนยางพารา จะไม่สามารถประกอบอาชีพได้ดี และไม่มีรายได้จากอาชีพหลักในช่วงฤดูฝนนี้ การหาเห็ดเสม็ดจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยสร้างรายได้ให้กับกลุ่มเกษตรกร ในการหาเห็ดเสม็ดจำหน่าย ราคากิโลกรัมละ 200 – 300 บาท เป็นรายได้เสริมอีกทางหนึ่งของชาวบ้าน นอกจากนี้มีรายงานการวิจัย เห็ดเสม็ดมีฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสกัดจากเห็ดเสม็ดนั้นมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* (Aung-aud-chariya *et al*., 2015) เห็ดเสม็ดเป็นเห็ดที่เกิดขึ้นตามฤดูกาล ผลผลิตค่อนข้างน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการ โดยเห็ดชนิดนี้จะงอกเฉพาะต้นฤดูฝนเท่านั้น ซึ่งในภาคใต้มีฤดูฝน 2 ช่วงต่อปี คือ ปลายเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน และระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเร็วช้าของการเริ่มต้นฤดูฝน ทั้งนี้จากข้อมูลเบื้องต้นในพื้นที่จังหวัดตรังและพื้นที่ใกล้เคียง พบว่า เห็ดเสม็ดจะงอกเพียงช่วงต้นฤดูฝน คือ ช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนมิถุนายน ปีละ 1 ครั้ง เท่านั้น ก่อนเห็ดเสม็ดงอกอากาศจะร้อนและแล้ง เมื่อฝนตกหนักสองสามครั้งเห็ดเสม็ดถึงจะงอก จากการที่เห็ดเสม็ดมีความสัมพันธ์กับพืชอิงอาศัยในลักษณะการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน โดยต่างฝ่ายต่างได้ประโยชน์ ราไมคอร์ไรซ่าช่วยดูดซับน้ำและธาตุอาหารจากดินให้กับพืชอิงอาศัย โดยเฉพาะฟอสฟอรัส ส่วนราได้สารอาหารจากพืชที่ขับออกมาทางรากสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต เช่น น้ำตาล โปรตีน และวิตามินต่าง ๆ (กฤษชนะ, 2559)

ดังนั้นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอินทรียวัตถุ และฟอสฟอรัสในดินของพื้นที่พืชอิงอาศัยที่มีการงอกของเห็ดเสม็ด จะช่วยให้เข้าใจลักษณะสภาพแวดล้อมของเห็ดเสม็ดและสามารถนำข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้ไปใช้ในการกระตุ้นการงอกของเห็ดเสม็ดนอกฤดูกาลได้ เพื่อเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญและสามารถสร้างรายได้ให้กับชุมชนต่อไป รวมทั้งเป็นการส่งเสริมการอนุรักษ์ป่าของพืชอิงอาศัยของเห็ดเสม็ด เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าผลผลิตจากป่าชุมชนร่วมกับการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และเป็นการสนับสนุนการอนุรักษ์พื้นที่ป่าเสม็ดและพืชอิงอาศัยชนิดอื่น ๆ ได้อีกทางหนึ่ง

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

การศึกษาปริมาณอินทรียวัตถุและปริมาณฟอสฟอรัสในดินในพื้นที่การงอกของเห็ดเสม็ด ได้แบ่งพื้นที่ศึกษาออกเป็น 3 พื้นที่พืชอิงอาศัย ได้แก่ พื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม พื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง และพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง และแบ่งพืชอิงอาศัยออกเป็น 3 ชนิด คือ ป่าเสม็ด ป่ากระถินเทพา และป่าสนทะเล ตั้งแต่เดือนมกราคม จนถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 โดยมีขนาดแปลงศึกษา 40x40 เมตร (1ไร่) เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มตัวอย่าง 15-20 จุด ที่ความลึกดิน 0-20 เซนติเมตร โดยมีขั้นตอนวิธีการเก็บตัวอย่างดินตาม (กรมวิชาการเกษตร, มปป.) ซึ่งจะแบ่งตัวอย่างดินออกเป็น 3 ตัวอย่างต่อพื้นที่ และวิเคราะห์ข้อมูลความแตกต่างทางสถิติ (ANOVA) รายละเอียดวิธีการดำเนินการศึกษาดังนี้

การวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (Organic Matter : OM)

เก็บตัวอย่างดินบริเวณป่าเสม็ด ป่ากระถินเทพา และป่าสนทะเล ในพื้นที่ อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง และพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลหิน อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง ทำการเก็บตัวอย่างเป็นระยะเวลา 10 เดือน โดยใช้อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน ซึ่งทำการตรวจวัด 1 ครั้ง/เดือน และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Walkley and Black (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) และคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (OM)} = \frac{B-T}{B} \times \frac{4}{58} \times \frac{100}{W}$$

การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน (Available Phosphorus)

เก็บตัวอย่างดินบริเวณป่าเสม็ด ป่ากระถินเทพา และป่าสนทะเล ในพื้นที่ อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง และพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลหิน อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง ทำการเก็บตัวอย่างเป็นระยะเวลา 10 เดือน โดยใช้อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดิน ซึ่งทำการตรวจวัด 1 ครั้ง/เดือน และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Bray II (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) และคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (P)} = \frac{BxX}{AxDF}$$

การเก็บตัวอย่างเห็ดเสม็ด

การเก็บตัวอย่างเห็ดเสม็ดบริเวณป่าเสม็ด ป่ากระถินเทพา และป่าสนทะเล ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม ในฤดูกาลงอกของเห็ดเสม็ด (เดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2559) ทำการเก็บตัวอย่างเห็ดเสม็ดทุกวันในฤดูกาลงอกเห็ดเสม็ดและนำมานับจำนวนดอกเห็ดเสม็ดในแต่ละวัน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณอินทรียวัตถุในดิน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ในพื้นที่พืชอิงอาศัยของเห็ดเสม็ด ได้แก่ ป่าเสม็ด ป่ากระถินเทพา และป่าสนทะเล ในพื้นที่ศึกษา 3 พื้นที่ ได้แก่ พื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม พื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง และพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มสูงขึ้นในทุกพื้นที่ในช่วงฤดูการงอกของเห็ดเสม็ด (เมษายน ถึง มิถุนายน) โดยในพื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) พบว่าในพื้นที่ป่าสนทะเล มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.22-1.64 (Figure 1) พื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นมากในพื้นที่ป่ากระถินเทพา มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.83-2.00 (Figure 2) และในพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นมากในพื้นที่ป่าเสม็ด มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.34-1.99 (Figure 3) ซึ่งปริมาณอินทรียวัตถุในดินของทุกพื้นที่อยู่ในระดับค่าปานกลาง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) การเพิ่มขึ้นของปริมาณอินทรียวัตถุอาจเป็นผลมาจากการเกิดฝนตกในช่วงเวลาดังกล่าว ก่อให้เกิดการย่อยสลายของซากพืชซากสัตว์เพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการงอกของเห็ดเสม็ดในพื้นที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นจนมีความเหมาะสมต่อการงอกของเห็ดเสม็ด สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ สายพิณ (2536) พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของดอกเห็ดเสม็ด และเห็ดเสม็ดจะงอกหลังจากฝนตกประมาณ 2-3 วัน คล้ายกับในพื้นที่ที่ทำการศึกษาของงานวิจัยนี้ และ Lindahl and Anders (2014) พบว่า เชื้อราเอคโตไมคอร์ไรซ่าทำหน้าที่ช่วยย่อยสลายอินทรียวัตถุเพื่อการเผาผลาญคาร์บอนโดยใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหารทำให้

เกิดปฏิกิริยาออกซิไดซ์เป็นก๊าซไนโตรเจน และ มีรายงานว่า ปริมาณตะกอนและอุณหภูมิมีผลต่อกิจกรรมของเชื้อราและการสร้างเส้นใยราในดินทำให้อินทรียวัตถุเพิ่มขึ้น และผลผลิตขั้นต้นของป่าเกิดจากไมคอร์ซ่า 30% (Ulf *et al.*, 2011)

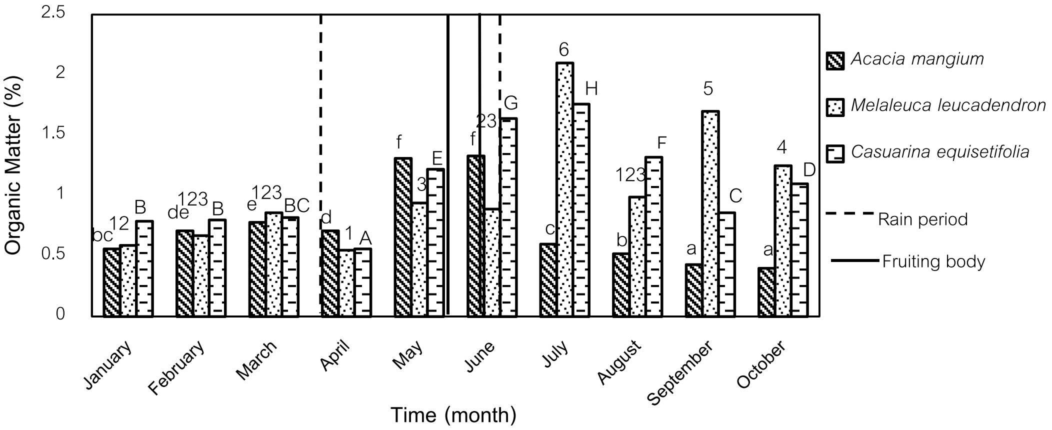


Figure 1 Relationship between the soil organic matter and Rain period in Hat chaomai national park

*significant differences indicated by different letters and numbers (*P*<0.05)

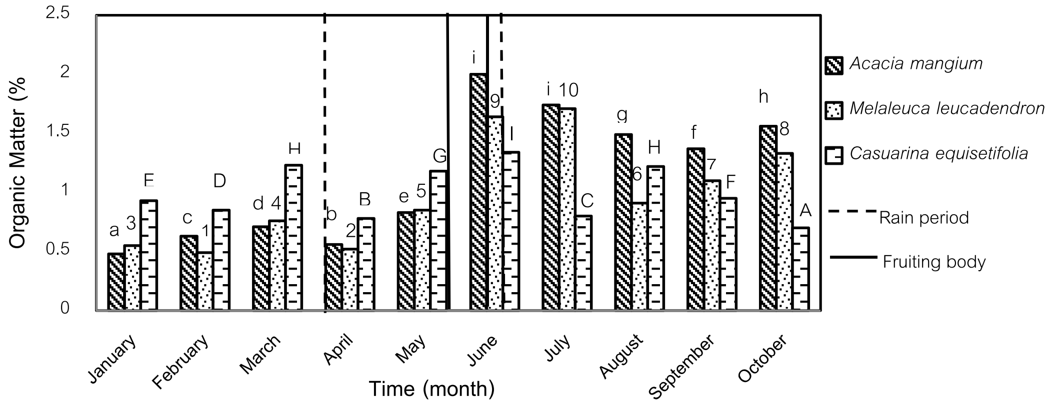


Figure 2 Relationship between the soil organic matter and Rain period in Rajamangala University of Technology Srivijaya Trang campus

*significant differences indicated by different letters and numbers (*P*<0.05)

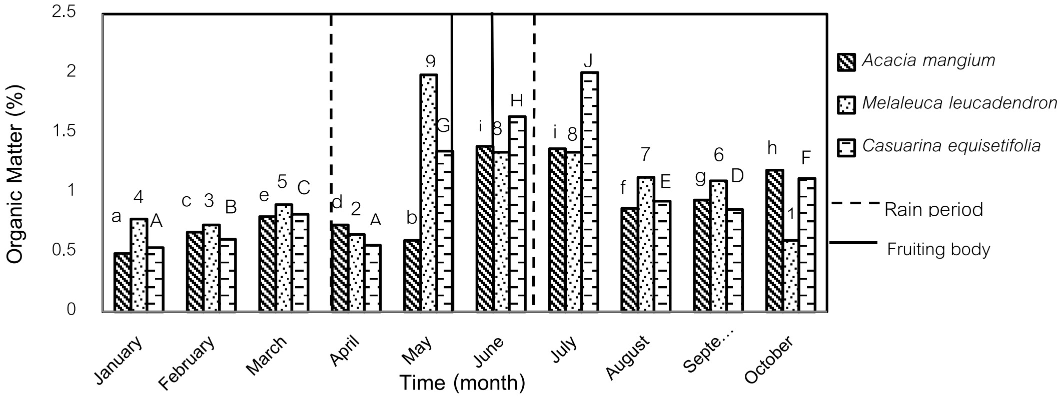


Figure 3 Relationship between soil organic matter and Rain period Bohin Sub-district Administration Organization

*significant differences indicated by different letters and numbers (*P*<0.05)

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟอสฟอรัสในดิน

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟอสฟอรัส เนื่องจากธาตุอาหารหลักที่มีความจำเป็นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเห็ด ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และไนโตรเจน (ปัญญา, 2532) โดยบริเวณพื้นที่ของพืชอิงอาศัยของเห็ดเสม็ด ได้แก่ ป่าเสม็ด ป่ากระถินเทพา และป่าสนทะเล ในเขตพื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม พื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง และพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสในดินเพิ่มสูงขึ้นในทุกพื้นที่พืชอิงอาศัยของเห็ดเสม็ดที่ทำการศึกษา สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของอินทรียวัตถุในดินที่เพิ่มสูงขึ้นในช่วงเวลาเดียวกัน โดยพบว่า พื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินในพื้นที่ป่าเสม็ดเพิ่มขึ้นมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในฤดูการงอกของเห็ดเสม็ด (เมษายน – มิถุนายน) มีค่าอยู่ในช่วง 1.1-1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Figure 4) เช่นเดียวกับพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินเพิ่มขึ้นมาก ในพื้นที่ป่าสนทะเล มีค่าอยู่ในช่วง 1.2-1.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Figure 5) และในพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินเพิ่มขึ้นมาก ในพื้นที่ป่าเสม็ด มีค่าอยู่ในช่วง 1.2-1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Figure 6) แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟอสฟอรัสในดินเป็นผลจากการเกิดฝนตกในช่วงระยะเวลาดังกล่าว ซึ่งน้ำเป็นตัวทำละลายอาหารและแร่ธาตุอาหาร และยังเป็นตัวกลางในการลำเลียงธาตุอาหารในดินไปยังบริเวณรากพืช เมื่อพืชดูดซึมธาตุอาหารเข้าไป น้ำก็ยังเป็นตัวลำเลียงแร่ธาตุอาหารไปยังใบเพื่อสังเคราะห์เป็นอาหาร และน้ำยังเป็นส่วนที่ลำเลียงอาหารที่ได้ออกจากแหล่งสังเคราะห์ไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช สารอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์จะออกมาในรูปแป้งและน้ำตาลซึ่งเป็นอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของราเอคโตไมคอร์ไรซ่า (สังคม, 2547) และสอดคล้องกับ Marcos *et al.*, 2016 มีรายงานว่าการเกิดฝนตกส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดินมีปริมาณสูงขึ้นหลังจากเกิดฝนตก ทั้งนี้จากรายงานการศึกษาของ สาวิตรี และคณะ (2553) รายงาน ปริมาณฟอสฟอรัส 10 มิลลิกรัม ส่งผลให้ต้นกล้ายูคาลิปตัสมีการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อเห็ดตับเต่าสูงสุด และ Mulyani *et al.* (2014) กล่าวว่า ความอุดมสมบูรณ์ของดอกเห็ดพวกเอคโตไมคอร์ซ่า จะเกี่ยวข้องกับปริมาณสารอาหารของดินในรูปแบบของอินทรีย์คาร์บอนและ องค์ประกอบฟอสฟอรัสที่สูงมาก ทั้งนี้เมื่อมีปริมาณฝนตกเพิ่มมากขึ้นและติดต่อกันเป็นเวลาหลายวันส่งผลให้เกิดความชื้นสูง และเกิดน้ำท่วมขังในพื้นที่ ส่งผลให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการงอกของเห็ดเสม็ด และเกิดการเน่าของเห็ดเสม็ด

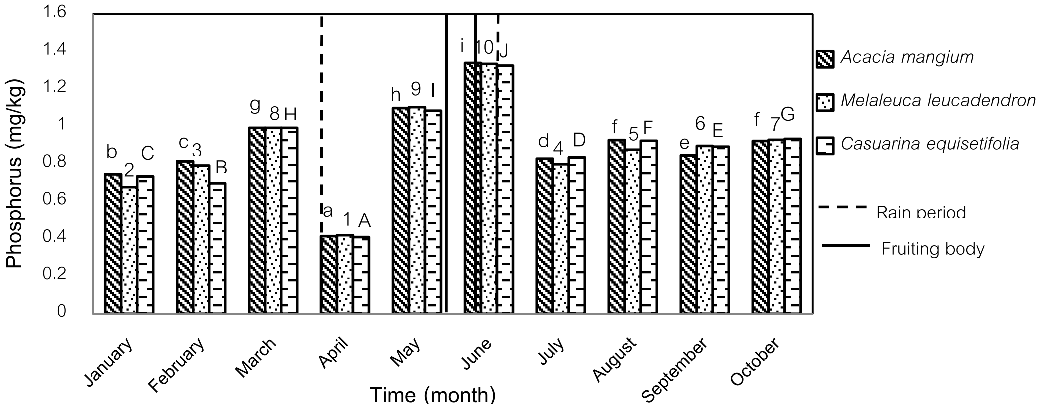


Figure 4 Relationship between the Available phosphorus and Rain period in Hat chaomai national park

*significant differences indicated by different letters and numbers ($P<0.05$)

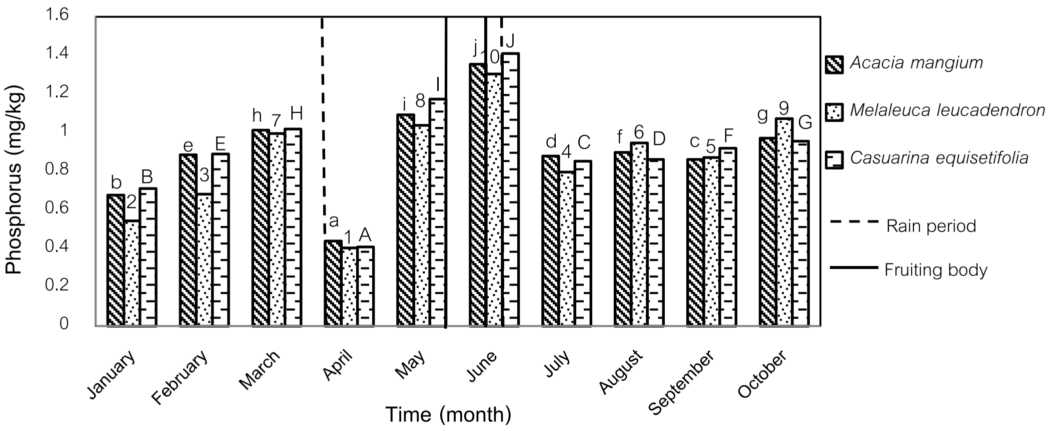


Figure 5 Relationship between the Available phosphorus and Rain period in Rajamangala University of Technology Srivijaya Trang campus

*significant differences indicated by different letters and numbers (*P*<0.05)

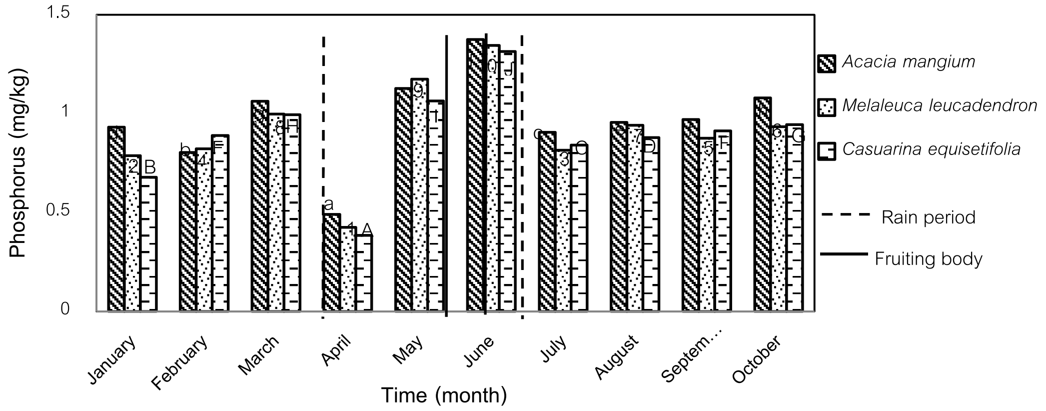


Figure 6 Relationship between the Available phosphorus and Rain period Bohin Sub-district Administration Organization

*significant differences indicated by different letters and numbers (*P*<0.05)

Table 1 Amount of the Available phosphorus and soil organic matter in three study areas where of fruiting of *Boletus griseipurpureus* season

Station	Host plant	Available phosphorus (P)	organic matter (OM)
Hat chaomai national park	*A.mangium*	1.31-1.33	1.10-1.34
	M.leucadendron	0.89-0.94	1.10-1.34
	C.equisetifolia	1.22-1.64	1.08-1.33
Rajamangala University of Technology Srivijaya Trang campus	*A.mangium*	0.83-2.00	1.09-1.36
	M.leucadendron	0.85-1.64	1.04-1.31
	C.equisetifolia	1.18-1.34	1.18-1.41
Bohin Sub-district Administration Organization	*A.mangium*	0.60-1.39	1.13-1.38
	M.leucadendron	1.34-1.99	1.18-1.33
	C.equisetifolia	1.35-1.64	1.07-1.32

การเปลี่ยนแปลงของอินทรียวัตถุและฟอสฟอรัสในดินส่งผลให้เกิดการงอกของเห็ดเสม็ด

ปริมาณการงอกของเห็ดเสม็ด (Figure 7) ในป่าพืชอิงอาศัยของพื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ประชาชนหรือบุคคลภายนอกไม่สามารถเข้าไปเก็บเห็ดเสม็ดได้ เนื่องจากทางอุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหมได้ปิดพื้นที่เพื่อการอนุรักษ์สัตว์ป่าและพันธุ์พืช (ในส่วนพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง และพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน ไม่สามารถเก็บข้อมูลได้เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่อนุญาตให้ประชาชนเข้าพื้นที่ได้ จึงทำให้ยากต่อการควบคุมประชาชนในฤดูกาลงอกของเห็ดเสม็ด) ผลจากการเก็บข้อมูลพบว่ามีการงอกของเห็ดเสม็ดในทุกแปลงของพืชอิงอาศัย โดยพบปริมาณดอกเห็ดเสม็ดในแปลงกระถินเทพาสูงที่สุด 17 ดอก ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาเดียวกัน ที่มีการเพิ่มขึ้นของอินทรียวัตถุและฟอสฟอรัสในดิน

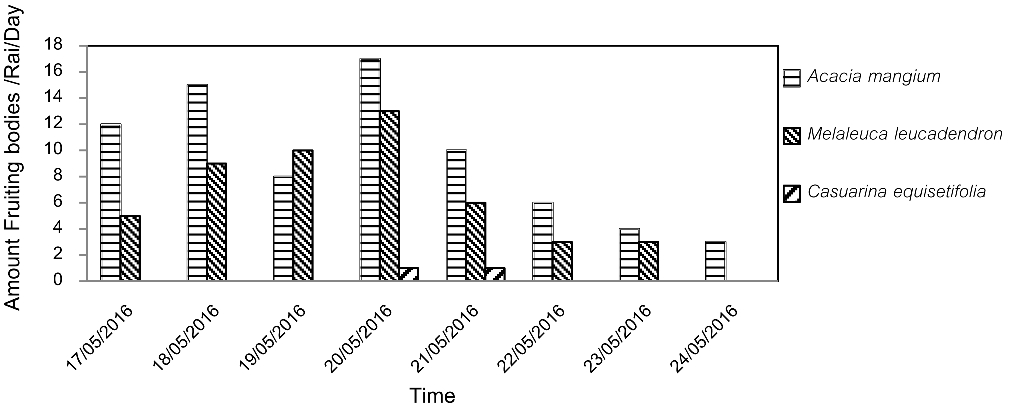


Figure 7 Amount fruiting bodies of *Boletus griseipurpureus* in Hat chaomai national park

สรุป

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มสูงขึ้นในทุกพื้นที่ในช่วงฤดูการงอกของเห็ดเสม็ด คือ ช่วงเมษายน ถึง มิถุนายน และมีความแตกต่างกันในแต่ละเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยในพื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นมากในพื้นที่ป่าสนทะเล มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.22-1.64 พื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นมากในพื้นที่ป่ากระถินเทพา มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.83-2.00 และในพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นมากในพื้นที่ป่าเสม็ด มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.34-1.99 ซึ่งปริมาณอินทรียวัตถุในดินของทุกพื้นที่อยู่ในระดับค่าปานกลาง และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟอสฟอรัสในดินเพิ่มสูงขึ้นในทุกพื้นที่ในช่วงฤดูการงอกของเห็ดเสม็ด และมีความแตกต่างกันในแต่ละเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) พบว่า พื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินในพื้นที่ป่าเสม็ดเพิ่มขึ้นมาก มีค่าอยู่ในช่วง 1.1-1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เช่นเดียวกับพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินเพิ่มขึ้นมาก ในพื้นที่ป่าสนทะเล มีค่าอยู่ในช่วง 1.2-1.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในพื้นที่องค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินเพิ่มขึ้นมาก ในพื้นที่ป่าเสม็ดมีค่าอยู่ในช่วง 1.2-1.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการศึกษาแสดงให้เห็นถึงปริมาณน้ำฝนในพื้นที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มมากขึ้นและเกิดการย่อยสลายมากขึ้นกลายเป็นธาตุอาหารในดิน ส่งผลให้เกิดการงอกของเห็ดเสม็ด โดยพบว่าในพื้นที่อุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหมมีการงอกของเห็ดเสม็ดในพื้นที่กระถินเทพาสูงที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นที่ป่าเสม็ดขาวและป่าสนทะเล

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้รับผิดชอบพื้นที่ศึกษา อุทยานแห่งชาติหาดหาดเจ้าไหม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง และองค์การบริหารส่วนตำบลบ่อหิน อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง ที่เอื้อเฟื้อพื้นที่สำหรับทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

กฤษชนะ นิสสะ. 2559. **ผลิใบ ก้าวใหม่การวิจัยและพัฒนาการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.** แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/pibai/pibai/n16/v_7-aug/korkui.html, 21 ตุลาคม 2559.

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2532. **เทคโนโลยีการเพาะเห็ด**. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สายพิณ จันทรเทพ. 2536. **การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดเสม็ดในสภาพธรรมชาติและการใช้ประโยชน์**. ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สาวิตรี วีระเสถียร ประภาพร ตั้งกิจโชติ และ กวิศ์ร วานิชกุล. 2553. ธาตุอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ กล้าไม้ยูคาลิปตัสภายหลังการปลูกเชื้อเห็ดตับเต่า. **ว.วิทย์. กษ.** 41(3/1): 201-204.

สังคม เตชะวงค์เสถียร. 2547. **สรีรวิทยาของพืชสวน**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 173.

Aung-aud-chariya, A., P. Bangrak, B. Dell, S. Lumyong and N. Kamlangdee. 2012. Preliminary molecular identification of *Boletus griseipurpureus* Corner from Thailand and its nutritional value. **Journal of Agricultural Technology** 8(6): 1991-1998.

Aung-aud-chariya, A., P. Bangrak, S. Lumyong, W. Phupong, N. S. Aggangan and N. Kamlangdee. 2015. RNA Polymerase II Second Largest Subunit Molecular Identification of *Boletus griseipurpureus* Corner From Thailand and Antibacterial Activity of Basidiocarp Extracts. **Journal Microbiology** 8(3): e15552.

Lindahl, B.D. and A. Tunlid. 2014. Ectomycorrhizal fungi – potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. **New Phytologist** 205: 1443–1447.

Marcos, F., P. Pereira, M. Alcaniz, J. M. Solera and X. Ubeda. 2016. Impact of an intense rainfall event on soil properties following a wildfire in a Mediterranean environment (North-East Spain). **Science of the Total Environment** 572: 1353–1362.

Mulyani, R.B., I. R. Sastrahidayat, A. L. Abadi and S. Djauhari. 2014. Explor extomycorrhiza in peat swamp forest of Nyaru Menteng Palangka Raya Central Borneo. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences** 133-145 .

Seehanan, S and V. Petcharat. 2008. Some Species of Wild Boletes in Thailand. **Journal of Agricultural Technology** 4(1): 109-118.

Ulf B, H. Kauserud, and S. Egli. 2011. Linking climate variability to mushroom productivity and phenology. **Front Ecol Environ** 10(1): 14-19.

สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

Subject: Natural Resources and Environment

ภาคโปสเตอร์

Poster Presentation

Plant Development and Nutrient Content in Thai Vetiver Grass under Flooded Condition

Katarut Chusreeaeom[1*] and Nualchavee Roongtanakiat[1]

ABSTRACT

Global warming is associated with an increase in flooding events, making many ecosystems worldwide vulnerable to submergence. Vetiver is highly tolerant to waterlogging condition, has been used in many countries and shown to be a simple and economical method for soil and water conservation. In combination with its extensive root system, vetiver provides a highly effective means of stream and irrigation channel stabilization. The aims of the present field study were to analyse plant nutrient (total N, available P and extractable K) content under flooded condition as well as screen for 19 flood-tolerance ecotypes. The experiment was based on completely randomized design with three replications. Plant height, number of new tillers and dry biomass were recorded at 12 months after planting. The experiment results indicated that plant developments have influenced by flooded condition and were different among vetiver ecotype. Plant nutrient concentrations of total N and extractable K revealed mainly accumulated in shoot under flooded and non-flooded (control) condition. Contrary to available phosphorus under flooded condition demonstrated regularly accumulated in root. We have isolated 8 flood-tolerance ecotypes according to plant development. These ecotypes would be benefits for genetic improvement with the best available plant material in our breeding program.

Key words: plant nutrient, vetiver, flooded condition, soil stabilization

*Corresponding author; e-mail address: fscikac@ku.ac.th

[1]Departmant of Applied Radiation and Isotopes, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

INTRODUCTION

Flooding caused by heavy rainfall and river flow has serious implications for soil conservation and slope stabilization in Thailand. This problem is predicted to be worsen as a result of climate change (IPPC, 2013). To date, there is still no bio- or eco- stabilizing ideal sympathetic slopes of rivers, reservoirs and lakes, as plant established on the inner slopes are almost all drowned by the elevated water level in rainy season. Thus, the key is screening out strongly tolerant plant species to submergence (Truong and Loch, 2004). Vetiver is known to have highly tolerant to waterlogging condition so far (Truong and Baker, 1998).

His Majesty the King, Bhumibol Adulyadej, has initiated the use of vetiver in Thailand, primarily for soil and water conservation since it has a long fibrous root system that penetrated deep into the soil. There are two species of vetiver, namely *Chrysopogon nemoralis* (Balansa) Holttum and *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. Both species have distinct ecological characteristics which make them adapt to different habitats (Roongtanakiat *et al*., 2009). *Chrysopogon nemoralis* (Balansa) Holttum, the local vetiver, has a limited area of distribution. It is found only in the South-east Asian Region, i.e. in Thailand, Laos, Cambodia, Vietnam and Malaysia; commonly found in dry areas or in soil conditions with good draining in all regions of Thailand but hardly found in the South. This species grows well in the areas either with strong or moderate sunlight. The tip of the clump bends over the ground like lemon grass. Contrasting to, *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty, a kind of plant can rapidly adapt to the environment, i.e. tolerance to diseases and to critical climatic factors. Most imported vetiver ecotypes including those from India, Sri Lanka and Indonesia (Office of the Royal Development Projects Board, 1998). The aims of this study were to evaluate the effective ecotype for flood-tolerance and determine the plant nutrient content; total N, available P and extractable K in shoot and root of vetiver grass. The translocation ability from root to shoot was also noted.

MATERIALS AND METHODS

1. Flooding pots experiment

Vetiver ecotypes have been named after the provinces or country where they were first found. In this study, nineteen vetiver ecotypes; Maehae, Maihuywai, Japanese, Monto, Prachuap Khiri Khan, Fiji, Ratchabura, Kamphaeng Phet1, Kamphaeng Phet2, Sri Lanka, Prarat Chathan, Roi Et, Loei, Nakhon Sawan, Syuntangbaimai, Nangpaya, Surat Thani, SongKhla3 and Dyunrimtang were grown in the continuously flooded condition. The experiment was carried out at Nuclear Technology Research Center (NTRC), Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, using completely randomized design (CRD) with three replications. The vetiver tillers were planted in pots containing 2 kg of Hupkaphong series sandy soil (coarse-loamy, siliceous isohyperthermic Ustoxic Dystripepts). The 0-15 cm layer of the soil has pH5.5 (1:1, H_2O:soil), 0.8% organic matter (Walklay and Black, 1934), 0.77,

11.00 and 68.00 mgkg^{-1} available-N, available-P and extractable-K, respectively. Two weeks after planting, the plants were submerged in tap water at maximum water level was 10 cm above the pot surface whereas the control was performed under normal condition (non-submerge). Weed control was done by hoeing as necessary. The plant height and the number of new tillers were recorded at 12 months after planting under submergence. After harvested, each plant was divided into shoot (upper ground part) and root (lower ground parts). The dry biomass of the plant samples were determined after oven drying at 80°C to a constant weight. The high effective ecotypes for flood-tolerance were screened.

2. Primary nutrition analysis

The total nitrogen (%T-N), available phosphorus (%T-P) and extractable potassium (%T-P) concentrations were determined for each replication compared to control (non-flooded condition), shoot and root independently. The primary nutrient analysis was conducted, in the laboratory of the Division of Soil Science, Department of Agriculture, Bangkok. Total N was determined by distillation and titration of NH_3 in solution (Bradstreet, 1965). Available P was determined by colorimetry (blue molybdophosphoric acid method; Olsen and Dean, 1965) and extractable K by atomic emission spectrometry (Thomas *et al.*, 1967; Lierop, 1976).

3. Statistical analysis

The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) according to a completely randomized design (CRD) with three replications for each treatment and 19 samples for each replication. Where the main effects were significant, mean separation was carried out using least significant difference (LSD).

RESULTS AND DISCUSSION

Vetiver growth and biomass

Plant developments in terms of plant height and number of new tillers have influenced by flooded condition and were different among vetiver ecotype. Plant height of Ratchaburi and Japanese ecotypes revealed significantly higher than others whereas Maehae and Monto ecotypes demonstrated high tillering ability under flooded condition (Table 1). The dry weight of vetiver shoot and root was also examined. Interestingly, shoot and root biomasses of Sri Lanka revealed much higher than others. Chinapan *et al*. (1992) have evaluated 27 local vetiver ecotypes of Thailand and found that Sri Lanka ecotype produced high tiller number and good characteristic for clay loam and laterite soil. Ratchaburi ecotype also demonstrated high biomass, following Monto, Maehae, Song Khla3, Japan and Khamphaeng Phet2 ecotypes (Table 1). Vetiver is a C4 plant and is highly efficient

in converting solar radiation to biomass. However, there are many factors affect the biomass for example low concentration of soil nutrient (Wagner *et al*., 2003) acid soil, salinity soil, shading and submergence (Truong *et al*., 2002 and Truong 2000). The surface biomass can be utilized for multifunctional i.e. animal feeding, mushroom culture, roof thatching and compost making (Office of the Royal Development Projects Board, 1998).

Table 1 Average height, number of new tillers and dry biomass of 19 vetiver ecotypes grown under flooded condition.

No.	Ecotype	Height (cm)	Number of new tillers	Dry biomass (g)	
				Shoot	Root
1	Maehae	85.83±15.17ab	7.44±0.84a	16.38±5.14ab	24.66±1.60ab
2	Maihuywai	66.34±14.19abc	4.11±0.19ab	6.78±0.51ab	11.16±0.77ab
3	Japanese	94.33±19.75a	7.00±1.53ab	15.69±1.17ab	25.52±1.33ab
4	Monto	87.77±24.8ab	7.44±1.17a	19.71±2.75ab	21.18±1.15ab
5	Prachuap Khiri Khan	69.94±22.36abc	2.67±0.34ab	6.01±0.68ab	11.02±1.57ab
6	Fiji	53.22±6.47abc	5.00±0.88ab	7.43±1.03ab	9.62±1.24ab
7	Ratchaburi	97.11±33.8a	6.33±0.88ab	23.36±1.46ab	31.87±2.83ab
8	Kamphaeng Phet1	24.94±14.11abc	0.67±0.58ab	-	-
9	Kamphaeng Phet2	61.88±10.66abc	3.33±0.33ab	12.97±1.28ab	18.43±1.45ab
10	Sri Lanka	86.55±19.62ab	7.00±0.58ab	27.58±2.77a	41.08±1.12a
11	Prarat Chathan	44.27±8.16abc	2.17±0.44ab	3.60±0.34b	5.83±0.08b
12	Roi Et	47.11±11.06abc	2.11±0.19ab	2.97±0.31b	3.60±0.33b
13	Loei	39.94±6.99abc	1.61±0.67ab	2.87±0.97b	1.82±0.05b
14	Nakhon Sawan	54.77±12.61abc	3.00±0.38ab	6.17±0.47ab	11.69±0.23ab
15	Syuntangbaimai	54.89±13.08abc	1.89±0.19ab	2.43±0.07b	3.13±0.85b
16	Nangpaya	51.00±2.03abc	2.56±0.01ab	2.74±0.01b	3.14±0.09b
17	Surat Thani	13.50±3.38c	-	-	-
18	Songkhla3	91.22±28.26ab	6.89±0.38ab	16.71±0.79ab	18.81±0.65ab
19	Dyunrimtang	57.89±5.98abc	1.67±0.34ab	2.09±0.07b	2.78±0.06b

Values in the same column with a common superscript letter are not significantly different at the 0.05 probability level by LSD.

Our screening for efficient ecotype for flood-tolerance was considering plant height, number of new tiller and dry biomass under submergence. We have isolated 8 vetiver ecotypes; Maehae,

Maihuywai, Japan, Monto, Ratchaburi, Kamphang Phet2 (KPP2), Sri Lanka and Songkhla3 as shown in figure 1. Similar research was performed by the Department of Land Development, comparative study of 28 vetiver ecotypes; 10 ecotypes have proven suitable to grown in various soils type (ORDPB, 2000). As a result, Ratchaburi and Songkhla3 have proven suitable to grown in clay loam soil and sandy soil whereas Kamphaeng Phet2 and Sri Langka have suitable for laterite soil.

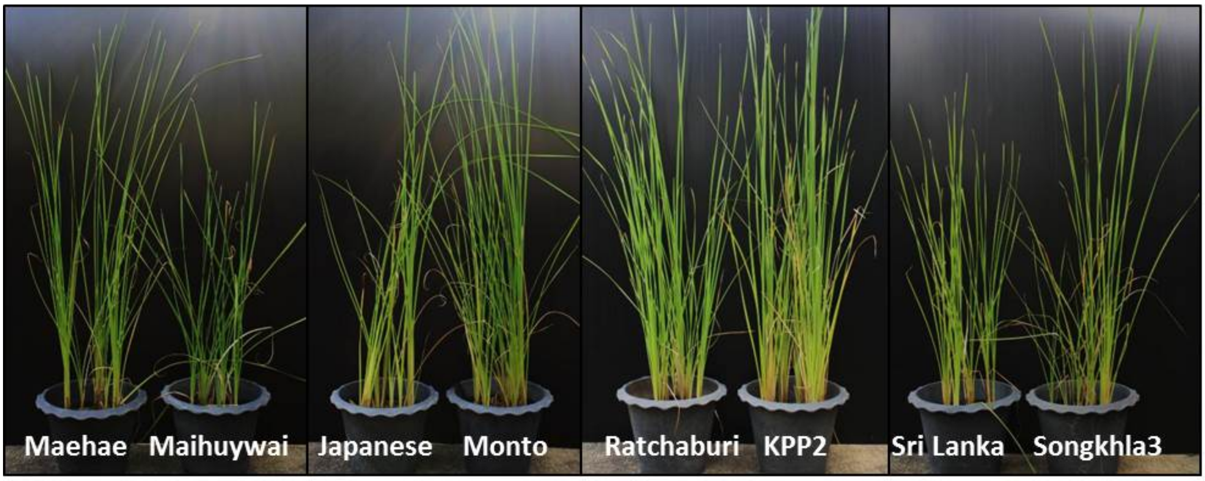


Figure 1 Eight flooded-tolerance ecotypes. Maehae, Maihuywai, Japanese, Monto, Ratchaburi, Kamphang Phet2 (KPP2), Sri Lanka and Songkhla3.

Plant nutrient content in vetiver grass

Plant nutrients are needed in large quantities for plant growth and development. Our studies indicated that vetiver grown under flooded condition, had concentration of plant nutrient (Total N, available P and extractable K) accumulated in shoot lower than control (non-flooded condition). Beside, all nineteen ecotypes demonstrated the storage ability of total N was mainly in shoot but very lower than detected in root. Our results validated the translocation ability of N from root to shoot. Office of the Royal Development Projects Board (1998) reported the N content of one ton of vetiver grass compost was as much as 43 kg of ammonium sulfate. Therefore, the vetiver gass has a potential to be used as organic matter to increase soil fertility (Roongtanakiat, 2009). Contrary, the available P mainly accumulated in root revealed approximately two times higher concentration than non-flooded condition (Table 2). Flooding is frequently accompanied with a reduction of cellular O_2 content that is particularly severe when photosynthesis is limited or absent. Previous research reported effect of root oxygen stress on phosphorus uptake by *Typha domingensis*, suggested anaerobic treatments (no oxygen) had lower rates of P uptake as compared to the oxidized treatment (Delaune, 1999).

Table 2 Total N (%T-N), available P (%T-P) and extractable K (%T-K) content in vetiver grass under flooded condition compared to control (non-flooded condition).

	Control	Flooded
Shoot		
Total Nitrogen (%T-N)	1.42±0.13	0.75±0.18
Phosphorus (%T-P)	0.33±0.09	0.01±0.01
Potassium (%T-K)	2.51±0.34	1.73±0.25
Root		
Phosphorus (%T-P)	0.15±0.04	0.35±0.11
Potassium (%T-K)	1.11±0.23	0.66±0.21

LDD (1994) have been studies on the content of plant nutrients in vetiver shoot and reported the concentration of N, P and K were 2.5, 0.17 and 1.5%, respectively. In this study, we analyzed 8 vetiver ecotypes of which revealed high efficiency under flooded condition individually as shown in the figure 2. The results revealed the similar pattern to all nineteen ecotypes. Those 8 vetiver ecotypes not only demonstrated the concentration of primary nutrients lower than control but also shown that the available P mainly accumulated in root. These mean to the available P have reduced translocation ability from roots to shoots under flooded condition.

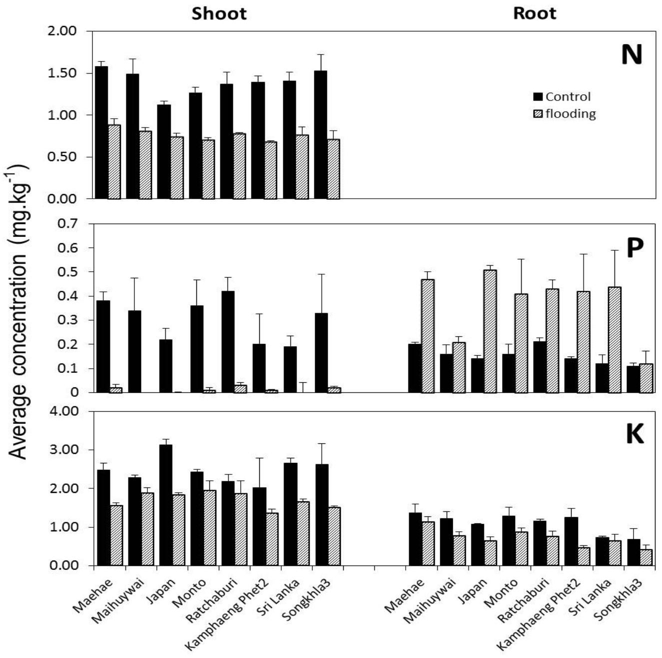


Figure 2 Plant nutrients, Total N (%T-N), available P (%T-P) and extractable K (%T-K) content on vetiver grass under flooded condition. Eight vetiver ecotypes which revealed flood-tolerance; Maehae, Maihuywai, Japan, Monto, Ratchaburi, Kamphang Phet2 (KPP2), Sri Lanka and Songkhla3 were described.

CONCLUSION

Under flooded condition, concentration and uptake of N, P and K varied between vetiver ecotypes. Concentration values of N and K were higher in shoot. On the other hand, P was mainly stored in root due to reduction of cellular O_2 content. Plant height, number of new tillers and biomass demonstrated beneficial characters which balancing the stress condition and plant nutrient requirement for growth and development. We isolated 8 profits ecotypes valuable for genetic improvement.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors deeply appreciated the financial support from the Office of the Royal Development Projects Board in running the experiments. The assistance from others regarding this study is also sincerely appreciated.

REFERENCES

Bradstreet, R.B. 1965. **The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen**. Academic Press, New York, NY.

Chinapan, W., A. Sukhasem and L. Moncharoen. 1992. **Comparative study of vetiver grass ecotypes in Thailand.** Soil and Water Conservation Division, Soil Survey and Classification Division, Land Development Department, Bangkok. (in Thai)

Delaune, R.D., A. Jugsujinda and K.R. Reddy. 1999. Effect of root oxygen stress on phosphorus uptake by cattail. **J. of Plant Nutri.** 22(3): 459-466.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2013. **Climate Change: The Physical Science Basis.** Contribution of Working GroupI to the 5^{th} Assessment Report of the International Panel on Climate Change, Cambridge University, Cambridge Press. United Kingdom and New York, NY, USA.

Land Development Department (LDD). 1994. **Vetiver grass.** Land Development Department. Ministry of Agriculture and Cooperative, Bangkok, Thailand.

Lierop, W.V. 1976. Digestion procedures for simultaneous automated determination of NH4, P, K, Ca, and Mg in plant material. **Can. J. Soil Sci**. 56: 425-432.

Office of the Royal Development Projects Board (ORDPB). 1998. **Use of vetiver grass.** Office of the Royal Development Projects Board, Bang Phlat, Bangkok, Thailand.

_____. 2000. **Factual tips about vetiver grass.** Text and Journal Publication Co., Ltd., Phatumwan, Bangkok, Thailand.

Olsen, S.R. and L.A. Dean. 1965. Phosphorus. pp. 1035-1049. *In* C.A. Black, ed. **Methods of Soil Analysis Part 2 Agronomy 9.** American Society of Agronomy, Madison, WI.

Roongtanakiat, N., P. Chairoj and S. Chookhao. 2000. Fertility improvement of sandy soil by vetivr grass mulching and compost. **Kasetsart J. Nat. Sci.** 34: 332-338.

Roongtanakiat, N., Y. Osotsapar and C. Yindiram. 2009. Influence of heavy metals and soil amendments on vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) grown in zinc mine soil. **Kasetsart J. Nat. Sci.** 43: 37-39.

Thomas, R.L., R.W. Sheard and J.R. Moyer. 1967. Comparison of conventional and automated procedures for nitrogen, phosphorus, and potassium analysis of plant materials using a single digestion. **Agron. J.** 59: 240-243.

Truong, P.N. 2000. The global impact of vetiver grass technology on the environment, pp. 48-61. *In* **Proceedings of the Second International Conference on Vetiver.** January 2000, Office of the Royal Development Projects Board, Bangkok.

______, _____ and D. E. Baker. 1998. Vetiver Grass System for Environmental Protection. **Technical Bulletin No. 1998/1.** Pacific Rim Vetiver Network. Office of the Royal Development Projects Board, Bangkok, Thailand.

______, _____and R. Loch. 2004. Vetiver System for erosion and sediment control, pp. 1-6. *In* **Proceedings of 13th International Soil Conservation Organization Conference**, 4-8 July 2004. Brisbane, Australia.

______, _____, I. Gordon and F. Armstrong. 2002. Vetiver grass for saline land rehabilitation under tropical and Mediterranean climate, pp.1-11. *In* **Productive Use and Rehabilitation of Saline Lands National Conference.** October 2002. Fremantle, Australia.

Wagner, S., P. Truong and A. Vieritz. 2003. Response of Vetiver Grass to Extreme Nitrogen and Phosphorus Supply, pp.100-108. *In* **Proceedings of the Third International Conference on Vetiver and Exhibition,** 6-9 October 2003, Guangzhou, China.

Walkley, A and C.A. Black. 1943. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Sci,** 37: 29-38.

แบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสารของดินเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งที่บำบัดด้วยวิธีการต่าง ๆ

Catabolic Response Profile of Sediments from Shrimp Cultivation Pond Treated with Different Remediation Methods

พรภัค ธนะเศวต[1] และ **ปิยาภรณ์ สมสมัคร**[1*]

Pornpak Thansawate[1] and Piyapawn Somsamak[1*]

บทคัดย่อ

ในการเก็บตัวอย่างภาคสนามจำนวน 4 บ่อ พบดินเลนก้นบ่อเลี้ยงกุ้งที่บำบัดโดยวิธีตากดินสามารถลดอินทรีย์คาร์บอนได้ร้อยละ 11 ถึง 37 ส่วนบ่อที่มีการเติมจุลินทรีย์ทางการค้าสามารถลดได้ร้อยละ 47 ดินเลนที่ผ่านการบำบัดในห้องปฏิบัติการโดยวิธีการตากดินลดอินทรีย์คาร์บอนได้ร้อยละ 22 ส่วนการตากดินร่วมกับพลิกดิน การตากดินร่วมกับเติมจุลินทรีย์ และการตากดินร่วมกับพลิกดินและเติมจุลินทรีย์ สามารถบำบัดอินทรีย์คาร์บอนใกล้เคียงกันคือร้อยละ 47 ถึง 53 เมื่อศึกษาแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสารพบว่า การตากดินแสดงศักยภาพในการสลายสารต่ำที่สุดโดยสลายสารโมเลกุลเล็กที่พบในธรรมชาติ แต่ไม่สามารถสลายสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ในเวลา 48 ชั่วโมง ดินเลนที่บำบัดด้วยการตากดินร่วมกับพลิกดินและการตากดินร่วมกับพลิกดินและเติมจุลินทรีย์มีแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสารที่หลากหลายในอัตราเร็วสูงกว่าวิธีตากดินร่วมกับเติมจุลินทรีย์แต่ไม่มีการพลิกดิน โดยสามารถย่อยสลายกลุ่มคาร์บอกซิลิกที่มีใหญ่ กรดอะมิโนอาร์จินีน ฮีสติดีน และ น้ำตาลอะมิโนกลูโคซามีน และลิกนิน ได้เพิ่มขึ้นจากชุดตากดิน

ABSTRACT

Upon field investigation of 4 shrimp cultivation ponds, sediments treated by air-dried methods exhibited 11% to 37% of organic carbon (OC) removal, while a sediment augmented with commercial microorganisms demonstrated 47% OC removal. In laboratory investigation, four different remediation methods namely air dried (AD), air dried with plowing (AW), air dried with microorganism added (AM), and air dried with plowing and microorganism added (APM) were conducted. AD method achieved 22% OC removal. The OC removal efficiency of other methods was comparable at 47% to 53%. The catabolic response profile of treated sediments were examined. AD sediments exhibited limited catabolic capacity, as only small naturally occurring organic compounds were catabolized within 48 hours, but complex compounds were not. AW and APM sediments demonstrated diversified catabolic profiles with higher rates than AM sediments. In addition to those compounds catabolized by AD sediments, complex carboxylic compounds, arginine, histidine, glucosamine and lignin were catabolized by AW, AM and APM sediments.

Key words: bioremediation, bottom sediment, catabolic response profile, shrimp cultivation

*Corresponding author email address: fscipys@ku.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[1]Department of Environmental Technology and Management, Faculty of Environment, Kasetsart University.

คำนำ

การเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนาหรือแบบหนาแน่นจำเป็นต้องให้อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนสูงตลอดจนมีการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ อนินทรีย์ ยาปฏิชีวนะและเคมีภัณฑ์ต่างๆ ในระหว่างการเลี้ยง จึงมีของเสียจากการขับถ่ายของกุ้งและเศษอาหารเกิดเป็นตะกอนตกค้างอยู่บริเวณก้นบ่อจำนวนมาก การศึกษาของยนต์และพรพันธุ์ (2534) ชี้ให้เห็นว่าปัญหาที่ทำให้พื้นที่เลี้ยงกุ้งเก่าจำนวนมากไม่สามารถให้ผลผลิตได้อีกต่อไปมาจากสาเหตุหลัก คือ การขาดการจัดการที่ดีเกี่ยวกับสารอินทรีย์ในบ่อ ทำให้มีการสะสมสารอินทรีย์ในดินพื้นบ่อ เมื่อสารอินทรีย์เน่าสลายส่งผลต่อคุณภาพน้ำจนทำให้กุ้งที่เลี้ยงอ่อนแอ ในสภาวะที่มีการแพร่ระบาดของโรคจะทำให้กุ้งตายยกบ่อได้ ปัจจุบันมีการแนะนำวิธีการบำบัดเลนหลังการเลี้ยงหลายวิธี เช่น การตากเลน การล้างเลน หรือการคราดดินเลนให้กระจายผสมกับน้ำและอากาศ รวมถึงมีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเป็นการเร่งให้เกิดกลไกธรรมชาติในการย่อยสลาย การประเมินประสิทธิภาพของการบำบัดเลนวิธีต่างๆ นิยมใช้การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางเคมีของดินเลนที่แสดงถึงของเสียที่ลดลง เช่นปริมาณอินทรียวัตถุและสารประกอบไนโตรเจนรวมในตะกอนเลนภายหลังการบำบัด ส่วนดัชนีทางชีวภาพนั้นนิยมใช้การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มวิบริโอซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคในกุ้งและจุลินทรีย์กลุ่มบาซิลลัส

การย่อยสลายของเสียในดินนั้นเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นผลโดยรวมของการสร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมและคุณลักษณะของชุมชนจุลินทรีย์ในดิน ได้แก่ โครงสร้างและหน้าที่ (structure and function) ของชุมชนจุลินทรีย์ในดินนั่นเองว่ามีความพร้อมในการรองรับและย่อยสลายของเสีย (*Ravit et al.*, 2006) ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงเน้นการศึกษา “หน้าที่” ของชุมชนจุลินทรีย์โดยศึกษาแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสาร (catabolic response profile, CRP) วิธี CRP เป็นการเลือกใช้สารอินทรีย์หลายชนิดตั้งแต่ สารโมเลกุลเดี่ยว สารพอลิเมอร์ สารที่มีโครงสร้างซับซ้อน รวมถึงสารที่ย่อยสลายยากหรือสารที่มีความเป็นพิษเพื่อใช้ทดลองเป็นสับสเตรทแก่จุลินทรีย์ในดินเลน ผลของการศึกษาสามารถใช้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการบำบัดหรือการเตรียมบ่อในอีกแนวทางหนึ่ง

อุปกรณ์และวิธีการ

เลือกบ่อเลี้ยงกุ้ง

สำรวจฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแบบหนาแน่นในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา คัดกรองจากประวัติการเลี้ยง วิธีการเตรียมบ่อและกรอบเวลาการเลี้ยงที่สอดคล้องกับแผนการวิจัย เลือกบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลที่มีการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ บ่อที่ใช้งานแล้วไม่เกิน10 ปี (ประเภท 1) และบ่อที่อายุเกิน 10 ปี (ประเภท 2) ประเภทละ 2 บ่อ รวมทั้งสิ้น 4 บ่อ กำหนดชื่อว่า บ่อ 1-A,1-B, 2-A, 2-B

การบำบัดดินเลนในพื้นที่จริงโดยเกษตรกร

เก็บตัวอย่างดินเลนจากบ่อที่เลือกไว้ทั้ง 4 บ่อ เก็บตัวอย่างบ่อละ 2 ครั้ง คือเมื่อมีการระบายน้ำออกจากบ่อเพื่อเตรียมบ่อ และเก็บตัวอย่างอีกครั้งภายหลังจากการเตรียมบ่อเลี้ยงกุ้งแล้วเสร็จ ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเลนบริเวณพื้นก้นบ่อเลี้ยงกุ้งแบบกระจายทั่วบ่อ จำนวน 5 สถานี (composite) ความลึกประมาณ 0-10 เซนติเมตร โดยใช้พลั่วหรือเสียม นำดินแต่ละจุดที่เก็บ มาผสมกันให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของดินเลน ได้แก่ พีเอช แอมโมเนีย อินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจนรวม จุลินทรีย์

กลุ่มวิบริโอและกลุ่มบาซิลลัส (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2536) นำตะกอนเลนตัวอย่างส่วนหนึ่งเก็บไว้ที่ 4 ^{o}C เพื่อศึกษาแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสาร

การบำบัดดินเลนในระดับห้องปฏิบัติการ

เก็บตะกอนเลนจากบ่อ 2-A เลือกไว้ จำนวน 5 สถานี (composite) ความลึกประมาณ 0-10 เซนติเมตร ในปริมาณเพียงพอ ผสมตะกอนเลนให้ดีในกระบะแล้วเก็บตัวอย่างย่อยจากดินในกระบะจำนวน 5 จุดเพื่อวิเคราะห์ลักษณะสมบัติดินเลนก่อนบำบัด แล้วแบ่งนำดินเลนใส่กระบะพลาสติก ขนาดเล็กจำนวน 12 กระบะ บำบัดดินเลนด้วยวิธีการต่างๆ ในระดับห้องปฏิบัติการ ได้แก่ การตากแดด (AD) การพลิกดิน (AW) การเติมจุลินทรีย์ทางการค้า (AM) และการพลิกดินร่วมกับการเติมจุลินทรีย์ทางการค้า (APM) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ระยะเวลาการทดลองทั้งสิ้น 8 สัปดาห์ ชุดการทดลองทั้งหมดอยู่ใต้แผ่นพลาสติกใสเพื่อกันฝนแต่ได้รับแสงแดดตามธรรมชาติ เก็บตัวอย่างดินเลนหลังการบำบัดตามเวลาวิเคราะห์ แอมโมเนีย และพีเอชดิน อินทรีย์คาร์บอน ไนโตรเจนรวม TKN จุลินทรีย์รวม และกลุ่มบาซิลลัส นำดินเลนตัวอย่างส่วนหนึ่งเก็บไว้ที่ 4 ^{o}C เพื่อศึกษาแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสาร

การศึกษาแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสาร (catabolic response profiles, CRP)

ศึกษาดินเลนหลังการบำบัดด้วยวิธีต่างๆ ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและพื้นที่บำบัดจริงโดยเกษตรกร เลือกสับสเตรทอินทรีย์ที่เหมาะสม 18 ชนิด ใช้ในการศึกษา CRP โดยเป็นสารอินทรีย์ประเภทต่างๆ ดังนี้ น้ำตาล (แมนโนสและฟรุคโตส) พอลิเมอร์ (ลิกนิน) กรดอะมิโน (อาร์จินีน กลูตามีน เมไทโอนีน ฮีสติดีน ไกลซีน) กลูโคซามีน กรดคาร์บอกซิลิก (คีโตกลูตาริก คีโตบิวทีริก ออกซาลิก ซิตริก ซักซินิค) กรดฟีนอลิกที่ย่อยสลายยาก (คาเฟอิก ไฮดรอกซีเบนโซอิก โปรโตคาทาชูอิก แกลลิก) เป็นต้น โดยนำตะกอนเลนที่จะทำการศึกษาหนัก 50 กรัม เติมสับสเตรทในความเข้มข้นที่เหมาะสมลงไปในขวดที่ใส่ตัวอย่าง หลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมงตรวจวัดความเข้มข้นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ใน headspace เทียบกับชุดทดลองที่ไม่เติมสับสเตรทและชุดทดลองที่ทำการฆ่าเชื้อ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลักษณะสมบัติของดินเลนที่ผ่านการบำบัดโดยเกษตรกร

บ่อเลี้ยงกุ้งที่สำรวจสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ บ่อที่มีอายุมากกว่า 10 ปี (1) และบ่อที่มีอายุน้อยกว่า 10 ปี (2) ประเภทละ 2 บ่อ (A,B) จากการสอบประวัติการใช้บ่อและการบำบัดดินเลนพบว่า ทุกบ่อมีการเลี้ยงกุ้งอย่างต่อเนื่อง โดยในแต่ละรอบจะพักบ่อเพื่อตากดินเลนรอบละไม่เกิน 2 เดือนขึ้นกับสภาพดินฟ้าอากาศ ถ้าในฤดูที่ฝนตกหนักจะใช้วิธีสูบดินเลนทิ้งในพื้นที่ข้างเคียงแทนการตากดินให้แห้ง ทั้ง 4 บ่อไม่เคยบำบัดดินเลนด้วยการพลิกดินเลยและมีเพียงบ่อ 2B ที่มีการเติมจุลินทรีย์ทางการค้ารูปแบบใดรูปแบบหนึ่งอย่างต่อเนื่องอย่างน้อยใน 2 ปีที่ผ่านมา ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนเลนจากบ่อเลี้ยงกุ้งก่อนและหลังการบำบัดเลนโดยเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจากนั้นทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติดังแสดงไว้ใน Table 1 ผลการวิเคราะห์ดินจากบ่อตัวอย่างพบว่าแนวโน้มการสะสมอินทรีย์คาร์บอนและอินทรีย์ไนโตรเจนในดินเลนจะเพิ่มตามอายุการใช้งานของบ่อ นอกจากนี้ระดับความเข้มข้นของอินทรีย์คาร์บอนและอินทรีย์ไนโตรเจนยังอยู่ในระดับสูง อย่างไรก็ดี การที่ดินเลนมีจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มบาซิลลัสอยู่มากแสดงถึงกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์ยังเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ภายหลังจากช่วงการเตรียมบ่อของเกษตรกรแล้วเสร็จจึงทำการเก็บตัวอย่างดินเลนอีกครั้ง พบว่าขั้นตอนการเตรียมบ่อโดย

การตากดินสามารถกำจัดจุลินทรีย์กลุ่มวิบริโอซึ่งเป็นกลุ่มก่อโรคจนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจสอบได้ แต่การบำบัดดินแบบนี้ส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มบาซิลลัสลดจำนวนลงซึ่งอาจเป็นผลจากความร้อน รังสีUV และการขาดน้ำ โดยบ่อ 2-B ที่การเติมจุลินทรีย์ทางการค้าบำบัดได้สูงสุดร้อยละ 47 รองลงมาได้แก่บ่อ 2-A และ 1-A บำบัดได้ร้อยละ 37 และร้อยละ 32 ตามลำดับ ส่วน โดยบ่อ 1B ที่มีอายุมากกว่า 10 ปี บำบัดได้ต่ำสุดเพียงร้อยละ 11 ส่วนปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (Table 1)

Table 1 Characteristics of sediments before and after being treated by farmers in the fields.

		pond 1- A	pond 1-B	pond 2-A	pond 2-B
pH	Before	7.8 ± 0.2	8.2 ± 0.2	7.2 ± 0.3	7.2 ± 0.3
	After	7.5 ± 0.2	8.1 ± 0.2	6.0 ± 0.3	7.1 ± 0.3
OC (%)	Before	1.10 ± 0.18	1.43 ± 0.19	1.04 ± 0.12	1.06 ± 0.21
	After	0.74 ± 0.04	1.28 ± 0.08	0.65 ± 0.07	0.56 ± 0.10
Ammonia-N (mg/kg)	Before	88.77 ± 9.09	72.36 ± 5.68	62.63 ± 6.12	58.62 ± 4.01
	After	80.58 ± 8.73	65.82 ± 5.12	56.14 ± 6.04	35.05 ± 5.66
Nitrate-N (mg/kg)	Before	1.47 ± 0.21	1.07 ± 0.22	3.06 ± 0.21	4.29 ± 56
	After	0.28 ± 0.17	0.28 ± 0.16	0.64 ± 0.20	0.24 ± 0.15
TKN (mg/kg)	Before	1852 ± 145	2466 ±259	1720 ± 216	1558 ±206
	After	1706 ± 187	2432 ±165	1685 ±185	1622 ±149
Vibrio (CFU/g)	Before	$4.2 \pm 0.6 \times 10^{2}$	$2.2 \pm 0.3 \times 10^{2}$	$2.8 \pm 0.5 \times 10^{2}$	$0.8 \pm 0.2 \times 10^{1}$
	After	ND	ND	ND	ND
Bacillus (CFU/g)	Before	$7.5 \pm 1.1 \times 10^{10}$	$1.1 \pm 0.2 \times 10^{10}$	$8.8 \pm 1.1 \times 10^{9}$	$4.1 \pm 0.8 \times 10^{10}$
	After	$2.2 \pm 0.4 \times 10^{7}$	$6.3 \pm 1.4 \times 10^{6}$	$2.6 \pm 1.1 \times 10^{6}$	$7.6 \pm 0.9 \times 10^{7}$

ND = not detectable

ลักษณะสมบัติของดินเลนที่ผ่านการบำบัดในห้องปฏิบัติการ

ศึกษาการบำบัดในห้องปฏิบัติการโดยใช้ดินเลนจากบ่อ 2-A บ่อเลี้ยงกุ้งนี้ได้ผ่านการเลี้ยงมาเป็นระยะเวลากว่า 5 ปี หลังจากจับกุ้งและมีการระบายน้ำทิ้งออกไปแล้ว ได้ทำการเกลี่ยดินเลนให้กระจายสม่ำเสมอ เก็บดินเลนตัวอย่างมาบำบัดในห้องปฏิบัติการ 4 วิธี ได้แก่การตากดิน การตากดินร่วมกับการพลิกดิน การตากดินร่วมกับการเติมจุลินทรีย์ และการตากดินร่วมการพลิกดินและการเติมจุลินทรีย์ ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะของดินเลนก้นบ่อเลี้ยงกุ้งที่บำบัดในห้องปฏิบัติการแสดงไว้ใน Table 2

การตากดินร่วมกับการเติมจุลินทรีย์ และการตากดินร่วมกับการพลิกดินและเติมจุลินทรีย์ ทำให้ค่าอินทรีย์คาร์บอนในดินลดลงอย่างรวดเร็วในเวลา 14 วันแรกของการบำบัด หลังจาก 8 สัปดาห์วิธีตากดินสามารถลดอินทรีย์คาร์บอนได้ร้อยละ 22 ส่วนวิธีอื่นมีประสิทธิภาพในการกำจัดอินทรีย์คาร์บอนใกล้เคียงกันโดยสามารถบำบัดได้ร้อยละ 47 ถึง 53 ปริมาณไนโตรเจนในรูป TKN ในดินเลนมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากตลอดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง วิธีการตากดินร่วมกับการพลิกดินและเติมจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพการกำจัด TKN ดี

ที่สุดคือร้อยละ 11 ของค่าเริ่มต้น รองลงมาได้แก่วิธีการตากดินร่วมกับการพลิกดิน วิธีการตากดินร่วมกับการเติมจุลินทรีย์ และ การตากดินซึ่งลด TKN ได้ร้อยละ 8 ร้อยละ 6 และ ร้อยละ 3 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการเพิ่มออกซิเจนแก่ดินเลนเป็นปัจจัยสำคัญในการกำจัดสารอินทรีย์ในดิน ส่วนสารประกอบไนโตรเจนมีการเปลี่ยนรูปตลอดเวลา อย่างไรก็ตามการกำจัดไนโตรเจนผ่านกลไกชีวภาพไนตริฟิเคชั่น-ดีไนตริฟิเคชั่นไม่สามารถเกิดในดินเลนได้อย่างเต็มที่เนื่องจากออกซิเจนซึ่งจำเป็นต่อการเกิดปฏิบัติกิริยาไนตริฟิเคชั่นมีจำกัดนั่นเอง

Table 2 Characteristics of sediments before and after being treated by different remediation methods

Parameter	Before[1]	AD[2]	AW[3]	AM[4]	APM[5]
pH	7.6 ± 0.1	6.4 ± 0.2	7.8 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.8 ± 0.1
OC (%)	0.98 ± 0.10	0.76 ± 0.03	0.48 ± 0. 03	0.52 ± 0. 03	0.45 ± 0. 03
Ammonia-N (mg/kg)	53.84 ± 4.68	48.1 ± 2.00	26.02 ± 3.18	23.35 ± 3.52	8.7 ± 3.80
Nitrate-N (mg/kg)	2.48 ± 0.32	0.37 ± 0.13	0.15 ± 0.07	0.32 ± 0.17	0.47 ± 0.19
TKN (mg/kg)	1607 ± 131	1560 ± 110	1472 ± 52	1505 ± 20	1431 ± 50
Heterotrophic Bacteria(CFU/g)	$1.65 \pm 0.15 \times 10^{10}$	$8.66 \pm 1.5 \times 10^{7}$	$4.35 \pm 0.9 \times 10^{8}$	$8.85 \pm 0.1 \times 10^{8}$	$4.22 \pm 0.68 \times 10^{9}$
Bacillus (CFU/g)	$5.8 \pm 0.14 \times 10^{9}$	$2.35 \pm 0.38 \times 10^{6}$	$1.15 \pm 0.15 \times 10^{7}$	$2.65 \pm 0.77 \times 10^{7}$	$2.52 \pm 0.54 \times 10^{8}$

[1]Before=Characteristics of sediment before treatment

[2]AD=air dried, [3]AW= air-dried with plowing, [4]AM= air dried with microorganism added,[5] APM= air dried with plowing and microorganism added

การศึกษาแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสาร (CRP) ของดินเลนที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีต่าง ๆ

ศึกษาแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสารเลือกใช้สารอินทรีย์หลายกลุ่มตั้งแต่ สารโมเลกุลเดี่ยว สารพอลิเมอร์ สารที่มีโครงสร้างซับซ้อน รวมถึงสารที่ย่อยสลายยากหรือสารที่มีความเป็นพิษ รวม 18 ชนิด เพื่อใช้ทดลองเป็นสับสเตรทแก่จุลินทรีย์ในดินเลนเพื่อบอกความพร้อมการรองรับและย่อยสลายของเสีย เมื่อพิจารณาทั้งชนิดของสับสเตรทที่ย่อยสลายได้และอัตราของการเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ดินเลนที่บำบัดด้วยวิธีตากดินร่วมกับเติมจุลินทรีย์ การตากดินร่วมกับพลิกดิน และการตากดินร่วมกับพลิกดินและเติมจุลินทรีย์มีแบบแผนการตอบสนองด้านการสลายสารที่หลากหลายคล้ายคลึงกัน แต่สองวิธีหลังมีอัตราเร็วของการสลายสารสูงกว่าวิธีตากดินร่วมกับเติมจุลินทรีย์แต่ไม่มีการพลิกดิน ส่วนดินเลนที่ผ่านการบำบัดด้วยการตากดินเพียงอย่างเดียวมีศักยภาพในการสลายสารต่ำกว่าดินเลนจากการบำบัดแบบอื่น (Figure 1)

เมื่อพิจารณาการย่อยสลายสับสเตรทประเภทต่างๆ พบว่าดินเลนที่ผ่านการบำบัดในห้องปฏิบัติการสามารถย่อยสลายสารที่มีขนาดเล็กที่พบในธรรมชาติและสารที่เป็นตัวกลางในวัฏจักรเครป ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส แมนโตส กรดอะมิโนกลูตามีน เมไทโอนีน ไกลซีน กรดซิตริก ซัคซินิก โปรโตเคชทาซูอิก แกลลิค ตะกอนที่ผ่านการ

บำบัดในห้องปฏิบัติการทุกตัวอย่างไม่ตอบสนองต่อไฮดรอกซีเบนโซเอทซึ่งโดยทั่วไปใช้เป็นสารกันเสีย ดินเลนที่ผ่านการบำบัดในระดับห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ตากดินเพียงอย่างเดียวไม่ตอบสนองต่อสารกลุ่มคาร์บอกซิลิกที่มีใหญ่ กรดอะมิโนอาร์จินีน ฮีสติดีน และ น้ำตาลอะมิโนกลูโคซามีน และลิกนินภายในเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนดินเป็นเลนที่ผ่านการบำบัดโดยการ การตากดินร่วมกับการพลิกดิน วิธีตากดินร่วมกับการเติมจุลินทรีย์ และวิธีตากดินร่วมกับการพลิกดินและเติมจุลินทรีย์ สามารถย่อยสลายสารกลุ่มดังกล่าวได้ เป็นที่น่าสนใจว่าดินเลนที่ไม่ได้เติมจุลินทรีย์จากภายนอกไม่ตอบสนองต่อกรดคาเฟอิกที่มีโครงสร้างเป็นหมู่ฟีนอลและหมู่อะคริลิก (Figure 1)

(A)

(B)

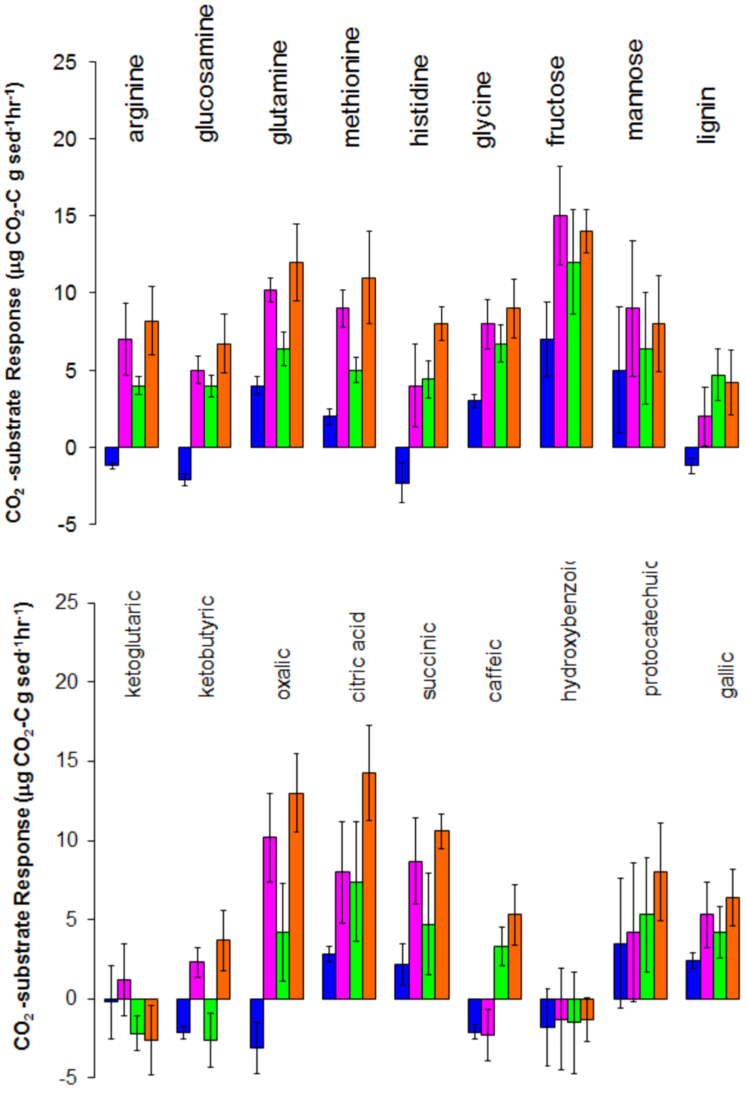


Figure 1 Catabolic response profile (CRP) of sediments treated with different remediation methods under laboratory studies: air dried (blue), air-dried with plowing (pink), air dried with microorganism added (green), and air dried with plowing and microorganism added (red)

ส่วน CRP ของดินเลนที่บำบัดโดยเกษตรกรในพื้นที่จริงพบว่าในภาพรวมบ่อ 1A 1B และ 2A ซึ่งบำบัดตะกอนด้วยการตากดินมีแบบแผน CRP คล้ายคลึงกัน ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส แมนโตส กรดอะมิโนกลูตามีน เมไทโอนีน ไกลซีน กรดซิตริก ซัคซินิก โปรโตเคชทาชูอิก แกลลิค ส่วนบ่อ 2B จะมีแบบแผน CRP ที่แตกต่าง กล่าวคือ นอกจากสารที่กล่าวมาแล้วยังสามารถย่อยสลายลิกนิน กลูโคซามีน กรดคีโตกลูตาริก คีโตบิวทีริก ออกซาลิก

คาเฟอิกและไฮดรอกซีเบนโซเอทได้ (Figure 2) ปัจจัยหลักอาจเกิดจากบ่อ 2B มีการเติมจุลินทรีย์ทางการค้าร่วมด้วยเป็นระยะเวลานานจึงส่งผลต่อแบบแผน CRP

เมื่อเปรียบเทียบดินเลนที่ผ่านการบำบัดในระดับห้องปฏิบัติการกับดินเลนที่บำบัดโดยเกษตรกรพบว่าดินเลนที่บำบัดในแนวทางเดียวกันจะมีแบบแผน CRP คล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ดินเลนจากบ่อ 1A 1B และ 2A มีแบบแผน CRP คล้ายคลึงกับชุดการทดลองตากดินในห้องปฏิบัติการคือแบบแผน CRP ในเวลา 48 ชั่วโมงจะจำกัดเฉพาะการสลายสารโมเลกุลเล็กที่พบในธรรมชาติ ส่วนชุดการทดลองตากดินร่วมกับจุลินทรีย์ที่ดำเนินการในระดับห้องปฏิบัติการสามารถเพิ่มศักยภาพในการสลายทั้งในด้านความหลากหลายและอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาคล้ายคลึงกับ CRP ของบ่อ 2B ทั้งนี้ความแตกต่างของ CRP ของชุดการทดลองตากดินร่วมกับจุลินทรีย์กับบ่อ 2B ที่พบอาจเป็นผลจากการทำงานของจุลินทรีย์เดิมในดินเลนเนื่องจากเป็นตัวอย่างดินจากต่างพื้นที่และผลจากจุลินทรีย์ทางการค้าที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากความสามารถในการสลายสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้จึงคาดว่าความเป็นไปได้ประการหลังน่าจะมีอิทธิพลมากกว่า

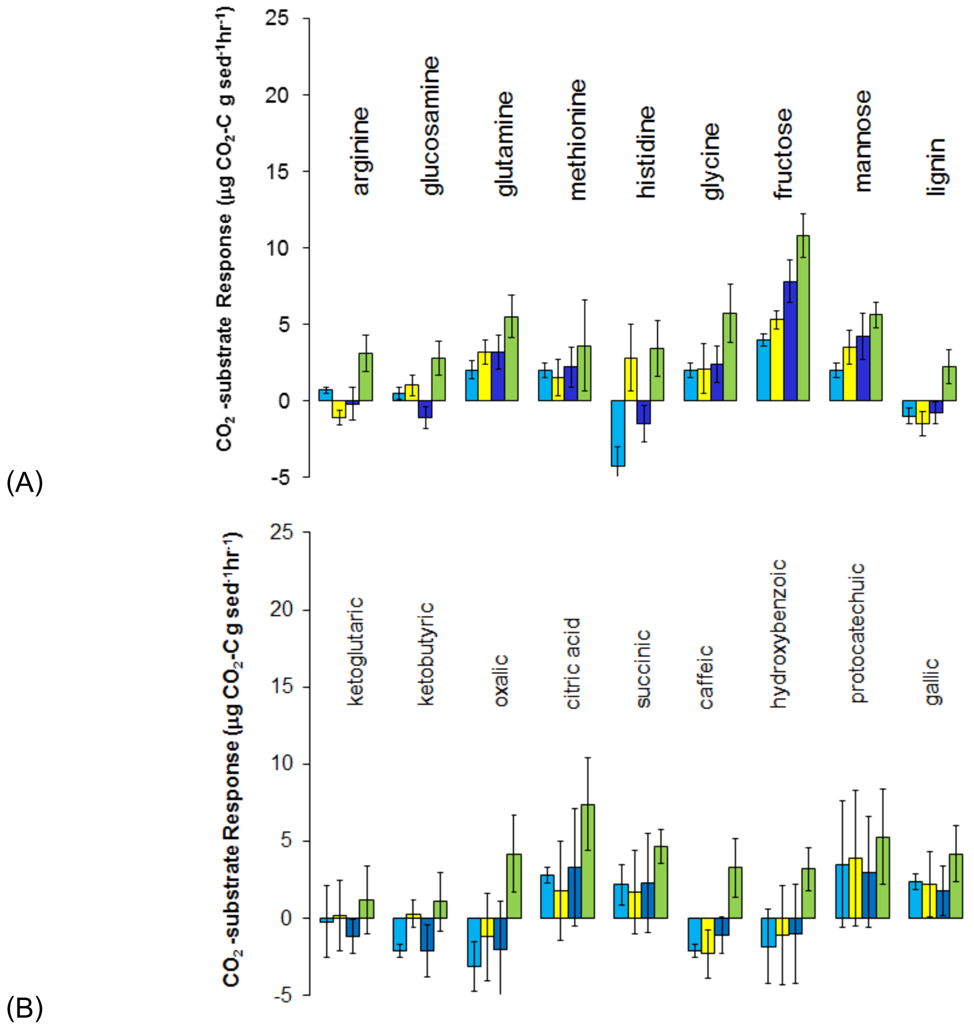


Figure 2 Catabolic response profile (CRP) of sediments treated by farmers in the fields: ponds being used for shrimp cultivation more than 10 years; 1-A (light blue) and 1-B (yellow), ponds being used for shrimp cultivation less than 10 years; 2-A (blue), 2-B (green)

สรุป

แม้ว่าการตากดินร่วมกับการพลิกดินและเติมจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดอินทรีย์คาร์บอนและ TKN แต่การเพิ่มออกซิเจนแก่ดินเลนเป็นปัจจัยสำคัญในการลดอินทรีย์คาร์บอนเพราะจุลินทรีย์ในดินตามธรรมชาติมีศักยภาพในการสลายสารเพียงพอ เมื่อพิจารณา CRP ของดินเลนที่ผ่านการบำบัดแล้วพบว่าการตากดินร่วมกับการพลิกดินและเติมจุลินทรีย์ การตากดินร่วมกับการพลิกดิน และการตากดินร่วมกันการเติมจุลินทรีย์มีศักยภาพในการหมุนเวียนสารอินทรีย์คล้ายคลึงกันในด้านความหลากหลายของสารที่สลายได้โดยเฉพาะมลสารอินทรีย์ที่พบทั่วไปในธรรมชาติ แต่วิธีการตากดินร่วมกันการเติมจุลินทรีย์เกิดปฏิกิริยาในอัตราช้ากว่า ซึ่งชี้ว่าในดินเลนมีจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่เมื่อผ่านการกระตุ้นด้วยการพลิกดินเพื่อเพิ่มออกซิเจนจะสามารถกระตุ้นจุลินทรีย์ดินให้สามารถรองรับและย่อยสลายสารอินทรีย์ได้หลายชนิดในเวลาที่รวดเร็ว ส่วนการบำบัดด้วยการตากดินอย่างเดียวเป็นการจำกัดศักยภาพของจุลินทรีย์ดินดังนั้นหากเกษตรกรเลือกบำบัดดินวิธีดั้งเดิมโดยการตากดินซึ่งทำได้ง่าย สะดวกและเสียค่าใช้จ่ายต่ำจะส่งผลเสียต่อคุณภาพดินเลนโดยรวมทั้งกายภาพ เคมีและชีวภาพในระยะยาว

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2536. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.** คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ยนต์ มุสิก และ พรพันธ์ ยุทธรักษานุกูล. 2534 อัตราการตกตะกอน คุณสมบัติของตะกอนและดินพื้นบ่อในบ่อพักน้ำและบ่อเลี้ยงในระบบการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบหนาแน่นบริเวณก้นอ่าวไทย. **วารสารวิทยาศาสตร์การประมง** 1 (1) : 47-55.

Ravit, B., J.G. Ehenfeld and M.M. Häggblom. 2006. Effects of vegetation on root-associated microbial communities: A comparison of disturbed versus undisturbed estuarine sediments. **Soil Biology and Biochemistry.** 38: 2359-2371.

การจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

The Solid Waste Management in Prince of Songkla University, Pattani Campus

นารูมา มะบากอ[1*] นูรีซาวาตี สาเมาะ[1] โซเฟีย ยามิง[1] มดีฮะห์ สาแม[1] รัชนก ซันประสิทธิ[1] และ นภารัตน์ ไวยเจริญ[1]

Naruma Mabaka[1*], Nureesawatee Samoh[1], Sofia Yaming[1], Madihah Samae[1], Ratchanok Sanprasit[1] and Naprarath Waijarean[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจข้อมูลการจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ซึ่งเป็นแนวทางการจัดการมูลฝอยที่เหมาะสม โดยทำการสุ่มตัวอย่างมูลฝอยเพื่อศึกษาอัตราการเกิด ปริมาณ ความหนาแน่น องค์ประกอบ คุณสมบัติทางกายภาพของมูลฝอย ซึ่งพบว่ามีปริมาณมูลฝอยเกิดขึ้นเฉลี่ย 3,303 กก.ต่อวัน คิดเป็นอัตราการเกิดมูลฝอย 4.5 กก.ต่อคนต่อวัน มีค่าความหนาแน่น 0.02 กก.ต่อลบ.ม. มีองค์ประกอบมูลฝอยประกอบด้วย เศษอาหาร และขยะสด ขวดพลาสติกใส เศษกระดาษคละสี พลาสติกประเภทบรรจุภัณฑ์ เศษกระดาษสี ขวดพลาสติกขุ่น แก้ว เศษไม้ หลอดกาแฟ บรรจุภัณฑ์โฟม เศษกระดาษขาว และยางรัด คิดเป็นร้อยละ 54.54, 18.20, 13.63, 4.50, 3.63, 2.36, 1.54, 0.54, 0.36, 0.30, 0.30 และ 0.10 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า เศษอาหารและขยะสดมีปริมาณมากที่สุด ซึ่งเหมาะสำหรับการหมักทำปุ๋ย และมีการคัดแยกเศษอาหารมากที่สุด เพื่อนำไปทำเป็นอาหารสัตว์ รองลงมาเป็นเศษวัสดุเหลือใช้จากการปรุงอาหาร ส่วนเศษพลาสติกมีการจำหน่ายโดยผู้รับซื้อภายนอกมหาวิทยาลัย ปัจจุบันขยะส่วนใหญ่ยังไม่มีการคัดแยกอย่างเป็นระบบ มีเพียงการเก็บรวบรวม เก็บขน และกำจัดโดยพนักงานเทศบาลเพื่อนำไปกำจัดภายนอกมหาวิทยาลัย

ABSTRACT

This study aims to explore the solid waste management within Prince of Songkla University, Pattani Campus. The research shows that the average amount of waste occurred 3,303 kg/day, 4.5 kg./person/day and 0.02 kg/m^3 The composition consisted of food waste, garbage, PET bottles, paper color, plastic packaging, paper, plastic bottles, opaque glass, wood, straw, paper, packaging foam and white rubber strap is 54.54%, 18.20%,13.63%, 4.50%, 3.63%, 2.36%, 1.54%, 0.54%, 0.36%, 0.30%, 0.30% and 0.1%, respectively. The fresh food wastes are organic matters and contain moisture content of 72 %, which the natural process of fertilization. It also found that the segregation of waste on campus is the separation of food waste to make pet food. The plastic waste sold by buyers outside the university. The solid waste mainly from sources within the university, are non-separation. There are a systematic waste collection and disposal by municipal employees for disposal outside the university.

Key Words: garbage, solid wastes, solid waste components

*Corresponding author; e-mail address: **Naruma555@gmail.com**

[1]วท.บ.สาขาวิชาวิทยาศาสตร์นิเทศ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี 94000

[1]B.Sc. Science Communication, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani 94000

คำนำ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี เป็นศูนย์กลางทางการศึกษาที่สำคัญของภาคใต้ เป็นที่ตั้งของมหาวิทยาลัยแห่งแรกในพื้นที่สามจังหวัดชายแดนใต้ที่เน้นการจัดการเรียนการสอน และผลิตบัณฑิตที่มีคุณภาพ ในสาขาวิชาต่าง ๆ อย่างมากมาย อีกทั้งพื้นที่จังหวัดปัตตานียังเป็นศูนย์กลางทางเศรษฐกิจการค้าที่สำคัญตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ด้วยสภาพทางภูมิศาสตร์ที่เหมาะสมและมีทรัพยากรธรรมชาติทั้งทางทะเล และบนบกอย่างอุดมสมบูรณ์ จึงเป็นแรงจูงใจให้นักลงทุนจำนวนมากสนใจมาทำธุรกิจในพื้นที่แห่งนี้ตลอดจนเป็นแหล่งเรียนรู้ด้านทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญยิ่งของพื้นที่ชายแดนใต้ ด้วยเหตุผล และความพร้อมดังกล่าวข้างต้นในแต่ละปีจึงมีนักศึกษาที่สนใจเข้าศึกษาต่อในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานีเป็นจำนวนมาก ปัจจุบันมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี มีจำนวนนักศึกษาและบุคคลากรรวมทั้งหมด 15,031 คน (สำนักทะเบียนมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2559) ภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานีประกอบด้วยกิจกรรมต่าง ๆ เกิดขึ้นมากมาย ได้แก่ กิจกรรมด้านการเรียนการสอน กิจกรรมสนับสนุนการเรียนการสอน กิจกรรมการซื้อ-ขายจากร้านค้าภายในโรงอาหาร มีที่พักภายในมหาวิทยาลัยไว้บริการแก่นักศึกษา มีลานกีฬา และลานกิจกรรมเพื่อส่งเสริมทักษะด้านต่าง ๆ ซึ่งเปิดให้บริการแก่บุคคลทั้งภายใน และภายนอกมหาวิทยาลัย จากกิจกรรมดังกล่าวข้างต้น เป็นที่มาของการใช้วัตถุดิบเพื่อกิจกรรมต่าง ๆ โดยเฉพาะกิจกรรมต่าง ๆ ก่อให้เกิดมูลฝอยประเภทต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก จากการสอบถามข้อมูลจากกองอาคาร และสถานที่ของวิทยาเขตปัตตานี ทำให้ทราบว่าภายในวิทยาเขตมีแนวทางการจัดการมูลฝอยที่หลากหลาย แต่ยังไม่มีการศึกษาข้อมูลด้านองค์ประกอบมูลฝอย ความหนาแน่นของมูลฝอย และองค์ประกอบทางเคมีของมูลฝอย ตลอดจนขาดการจัดการข้อมูลอย่างเป็นระบบที่ดีพอ ทั้งนี้จากการสัมภาษณ์เจ้าหน้าที่เก็บขนมูลฝอยของเทศบาลเมืองจังหวัดปัตตานี พบว่าไม่มีการคัดแยกขยะ ปริมาณถังขยะยังไม่เพียงพอ ส่งผลให้มีขยะตกค้างภายในสถาบันจำนวนมาก และยังพบอีกว่าการรณรงค์ด้านการจัดการมูลฝอยยังมีน้อย และไม่เป็นรูปธรรม จากปัญหาดังกล่าวส่งผลให้การจัดการมูลฝอยภายในสถาบันยังไม่ประสบผลสำเร็จ และยังขาดประสิทธิภาพ

ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญในด้านการจัดการมูลฝอยอย่างเป็นระบบแบบครบวงจรโดยเฉพาะการศึกษาข้อมูลพื้นฐานตั้งแต่แหล่งกำเนิดมูลฝอย การเก็บรวบรวม การเก็บขน และการกำจัดมูลฝอย ซึ่งแต่ละระบบจะมีการศึกษาข้อมูลด้วยวิธีการสอบถาม สัมภาษณ์ การลงมือปฏิบัติ เพื่อหาข้อสรุป นำข้อมูลมาวิเคราะห์หาค่าทางสถิติ ประกอบการวิจัยตลอดจนนำเสนอข้อมูล เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการมูลฝอยอย่างเป็นระบบภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี จึงเป็นที่มาของการวิจัยหัวข้อ การจัดการขยะมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี โดยมีวัตถุประสงค์ คือ 1) เพื่อสำรวจข้อมูลการจัดการมูลฝอยในปัจจุบันภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี และ 2) เพื่อศึกษาอัตราการเกิดมูลฝอยปริมาณมูลฝอย องค์ประกอบ และคุณสมบัติทางกายภาพของมูลฝอย 3) เพื่อเสนอแนะแนวทางการจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี การวิจัยครั้งนี้เพื่อสร้างความตระหนักในการจัดการมูลฝอย โดยมีจุดมุ่งหมายให้เกิดความตระหนักในเรื่องการจัดการมูลฝอยอย่างมีประสิทธิภาพ และผลักดันให้เกิดแนวทางการจัดการอย่างเป็นรูปธรรมในระดับนโยบายระดับสถาบัน และให้เป็นไปตามนโยบายมหาวิทยาลัยสีเขียว(Green University) ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างมูลฝอยได้แก่ ถุงพลาสติก พลั่ว ถาดอะลูมิเนียม ตาชั่ง ถุงมือ ผ้าปิดจมูก คราด เชือกฝาง ถังขนาด 40 กิโลกรัม ยางรัด ผ้าปูพลาสติก และสายวัด

1.2 อุปกรณ์ในการวัดค่าและวิเคราะห์ทางกายภาพ ได้แก่ Desiccator, Porcelain crucible, Muffle Furnace, Oven, Grinder and Weight Scale

2. วิธีการศึกษางานวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

1) การสำรวจข้อมูลเบื้องต้น ได้แก่ การจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัย การเก็บรวบรวมมูลฝอย ประเภทของถังขยะ จำนวนถังขยะ จุดเก็บรวบรวม การเก็บขนขยะ ประเภทรถเก็บขน และเส้นทางการเก็บขนโดยวิธีการสังเกต สัมภาษณ์เจ้าหน้าที่หรือบุคคลที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนพนักงานเก็บขนมูลฝอยของเทศบาลเมืองปัตตานี

2)ทบทวนข้อมูลทุติยภูมิและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และข้อมูลปริมาณมูลฝอยจากเทศบาลเมืองปัตตานี

3) ลักษณะทางกายภาพของมูลฝอย ได้แก่ ลักษณะมูลฝอย องค์ประกอบมูลฝอย ความหนาแน่นของมูลฝอย โดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างมูลฝอย โดยมีเกณฑ์พิจารณาเลือกสถานที่และจุดรวบรวมมูลฝอยที่เป็นแหล่งรวมของกิจกรรมภายในมหาวิทยาลัยมากที่สุดนั่นก็คือ หอพักนักศึกษาซึ่งใกล้กับบริเวณโรงอาหาร และใกล้ลานกิจกรรม เพื่อให้เป็นตัวแทนมูลฝอยของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี โดยเก็บตัวอย่างจากถังขยะที่รวบรวมมูลฝอยจำนวน 3 ถัง จากจำนวนถังทั้งหมด 10 ถัง (ถังละประมาณ 200 ลิตร) จากนั้นนำมูลฝอยมาทำ quatering เพื่อให้ได้ตัวอย่างมูลฝอยประมาณ 100 กิโลกรัม แล้วนำไปหาค่าความหนาแน่น ความชื้น และค่าปริมาณเถ้า โดยวิธีการคำนวณจากค่าผลต่างของน้ำหนักก่อนและหลังอบแห้ง (AOAC, 1990) โดยองค์ประกอบของมูลฝอยพิจารณาการแบ่งประเภทตามนภารัตน์ (2544) โดยวิธีการชั่งน้ำหนัก และคำนวณอัตราส่วนร้อยละ

4) จดบันทึกข้อมูล และนำมาวิเคราะห์ผล เพื่อเสนอแนะแนวทางการจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานีในลำดับต่อไป

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ข้อมูลพื้นฐานปัจจุบันของการจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

จากการสำรวจพื้นที่โดยรอบมหาวิทยาลัย และสัมภาษณ์เจ้าหน้าที่กองอาคารและสถานที่ ด้านข้อมูลการจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัย พบว่า มหาวิทยาลัยมีกิจกรรมเน้นการเรียนการสอน และการบริการวิชาการ ดังนั้น แหล่งกำเนิดมูลฝอยจึงแบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ 1. อาคารเรียนรวม และสำนักงาน พบขยะ

ประเภทกระดาษ เอกสารประกอบการเรียน อุปกรณ์เครื่องใช้สำนักงาน ซึ่งไม่มีการจดบันทึกปริมาณที่ชัดเจน มีการคัดแยกเฉพาะขยะที่ขายได้ ส่วนใหญ่เป็นขยะประเภทนำกลับมาใช้ใหม่ ทางสำนักงานจึงเลือกวิธีการจำหน่ายให้กับพ่อค้าที่มารับซื้อแบบชั่งกิโล แต่ยังคงเหลือขยะที่ทิ้งไม่สามารถคัดแยกได้ ซึ่งจะทิ้งลงถังขยะรวม และ 2. โรงอาหาร หอพักและลานกิจกรรม พบขยะประเภทเศษอาหาร และบรรจุภัณฑ์ห่ออาหาร ขยะประเภทนี้มีการคัดแยกโดยเฉพาะเศษอาหารสด ถูกรวบรวมใส่ในถังขนาด 100 ลิตร จำนวน 6 ถังต่อวัน และจำหน่ายต่อให้ผู้รับซื้อในราคาถังละ 200 บาท เพื่อนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ ส่วนขวดพลาสติกจะถูกรวบรวมไว้เพื่อรอการจำหน่ายให้กับพ่อค้า ส่วนเศษวัสดุเหลือใช้จากการประกอบอาหาร เกิดขึ้นปริมาณเฉลี่ยวันละ 30 กิโลกรัม ในส่วนนี้แม่ค้าต้องนำกลับไปทิ้งและกำจัดภายนอกมหาวิทยาลัย คงเหลือเฉพาะขยะทั่วไป จะถูกทิ้งในถัง 200 ลิตร แบบไม่แยกประเภทมูลฝอย ทั้งนี้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี มีการกำหนดจุดวางถังขยะกระจายโดยรอบพื้นที่มหาวิทยาลัยจำนวน 352 ถัง แสดงดัง Figure 1 เพื่อรอการเก็บขนโดยรถประเภทเปิดอัดท้ายของเทศบาลเมืองปัตตานี ที่เข้ามาเก็บขนขยะจำนวน 1 คัน ทุกวันในตอนเช้า เพื่อนำไปฝังกลบในพื้นที่หนองแรด อ.ยะหริ่ง จ.ปัตตานี จากการสัมภาษณ์พนักงานเก็บขนมูลฝอยของเทศบาลเมืองปัตตานี และข้อมูลทุติยภูมิบันทึกค่าน้ำหนักของปริมาณมูลฝอยที่เก็บขนเฉพาะพื้นที่มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี พบว่ามีปริมาณมูลฝอยเกิดขึ้นเฉลี่ย 3,303 กิโลกรัมต่อวัน (เทศบาลเมืองปัตตานี, 2558) คิดเป็นอัตราการเกิดมูลฝอย 4.5 กิโลกรัมต่อคนต่อวัน และขยะภายในมหาวิทยาลัยยังมีการคัดแยกไม่สมบูรณ์ ยังคงมีขยะที่มีมูลค่าได้แก่ ขวดแก้ว ขวดพลาสติก กระดาษ และโลหะ พนักงานสามารถคัดแยก และนำไปจำหน่ายให้ร้านรับซื้อของเก่าได้ ทั้งนี้โดยภาพรวมมูลฝอยส่วนใหญ่จากแหล่งกำเนิดมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยยังไม่มีการคัดแยกอย่างเป็นระบบ

Figure 1 Collection of Solid wastes in Prince of Songkla University, Pattani Campus

2. การศึกษาสมบัติทางกายภาพของมูลฝอย

จากการสุ่มตัวอย่างมูลฝอยจำนวน 400 กิโลกรัม บริเวณหอพักนักศึกษาซึ่งเป็นตัวแทนของกิจกรรมต่าง ๆ ภายในมหาวิทยาลัยแล้วนำมาทำ quatering เพื่อเป็นตัวแทนมูลฝอยที่จะนำไปศึกษาลักษณะทางกายภาพ พบว่าขยะมีความหนาแน่น 0.02 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร และมีปริมาณเถ้าร้อยละ 93.13 มีองค์ประกอบของมูลฝอยได้แก่ เศษอาหาร ขยะสด ขวดพลาสติกใส เศษกระดาษคละสี พลาสติกประเภทบรรจุภัณฑ์ เศษกระดาษ

สี ขวดพลาสติกขุ่น แก้ว เศษไม้ หลอดกาแฟ บรรจุภัณฑ์โฟม เศษกระดาษขาว และยางรัด คิดเป็นร้อยละ 54.54, 18.20, 13.63, 4.50, 3.63, 2.36, 1.54, 0.54, 0.36, 0.30, 0.30 และ0.1 ตามลำดับ แสดงดัง Table 1 นอกจากนี้ยังพบว่าเศษอาหาร และขยะสดมีปริมาณมากที่สุด ขยะสดและเศษอาหาร เป็นสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อยได้ง่าย เหมาะสำหรับเป็นวัตถุดิบหมักทำปุ๋ย แต่อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องมีการคัดแยกขยะก่อนจะนำไปทำปุ๋ยหมัก (สรศักดิ์, 2550)

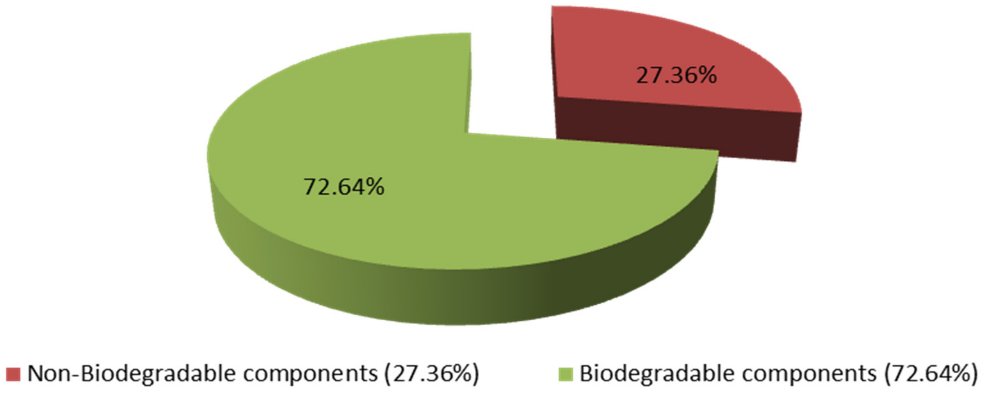


Figure 2 Solid waste components in Prince of Songkla University, Pattani Campus

จาก Figure 2 การศึกษาครั้งนี้ พบว่ามูลฝอยบริเวณหอพักนักศึกษาและลานกิจกรรม จะมีองค์ประกอบมูลฝอยที่สามารถย่อยสลายได้สูงถึงร้อยละ 72.64% โดยประกอบด้วยเศษอาหาร และขยะสดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบมูลฝอยที่ศึกษาได้ โดยเฉพาะเศษอาหารมีมากกว่าร้อยละ 50.00 เศษอาหารส่วนนี้มีความชื้นสูง สามารถย่อยสลายเองได้ จึงเหมาะสมอย่างยิ่งในการนำมูลฝอยประเภทนี้ไปหมักทำปุ๋ย แต่ต้องมีการคัดแยกประเภทขยะที่ย่อยสลายได้และย่อยสลายไม่ได้ เพื่อนำขยะที่ย่อยสลายไม่ได้ ซึ่งส่วนมากจะเป็นบรรจุภัณฑ์ ไปหาวิธีการจัดการต่อไป ส่วนที่เหลือของขยะที่สามารถย่อยสลายได้ส่วนมากเป็นกระดาษ และเศษไม้ ซึ่งหากเลือกวิธีการกำจัดด้วยวิธีการหมักทำปุ๋ยจะใช้เวลาในการย่อยสลายนาน อีกทั้งขยะประเภทนี้สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ใหม่ในรูปแบบของการ recycle แต่ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการคัดแยกไม่ให้มีการปนเปื้อนของเศษอาหารหรือเปียกชื้น ดังนั้นวิธีการที่ดีที่สุดสำหรับการจัดการขยะประเภทนี้คือ การคัดแยกมูลฝอยก่อนทิ้ง ซึ่งอาจจะมีการรณรงค์ให้เกิดความตระหนักในการคัดแยกขยะเพื่อเพิ่มมูลค่าของขยะให้เกิดประโยชน์สูงสุด (สรศักดิ์, 2550; วัสสา และคณะ, 2553)

การศึกษาครั้งนี้พบค่าความชื้นของมูลฝอยในพลาสติกรวม เศษไม้ ขยะรวมทั้งหมด เศษอาหาร ยางรัด บรรจุภัณฑ์โฟม เศษกระดาษรวม คิดเป็นร้อยละ 88.64, 79.24, 79.05, 71.57, 57.44, 50.62 และ16.4 ตามลำดับ ในส่วนของพลาสติกรวมที่มีค่าความชื้นสูง เนื่องจากการเก็บตัวอย่างพลาสติกรวมเป็นบรรจุภัณฑ์ที่มีเศษอาหารบรรจุในถุง ดังนี้การอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเพียงการไล่อนุภาคน้ำอิสระบริเวณผิววัสดุซึ่งอาจจะมีน้ำหลงเหลือในส่วนของพลาสติกจึงทำให้ค่าความชื้นมากที่สุด ดัง

แสดงใน Table 1 นอกจากนี้ยังพบว่ามูลฝอยที่สามารถย่อยสลายได้เช่น เศษอาหารและขยะสด เศษไม้และใบไม้ มีความชื้นเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 70.00 วัสดุที่มีค่าความชื้นสูงและย่อยสลายได้ง่ายเหล่านี้ จึงเหมาะสมสำหรับการหมักทำปุ๋ยได้ดีเพื่อเป็นสารปรับปรุงคุณภาพดิน และนำกลับมาใช้ในการปรับปรุงภูมิทัศน์ภายในมหาวิทยาลัยได้ในอนาคต

Table 1 The characteristics of Solid Wastes in Prince of Songkla University, Pattani Campus

Components	Quantity (kg)	(% wet wt.)	MC (%)
1. Biodegradable components (% wet wt.)			
1.1 Food Waste	6	54.54	71.57
1.2 Multicolor paper	1.5	13.63	16.40
1.3 Mixed paper	0.4	3.63	-
1.4 White paper	0.03	0.30	-
1.5 Wood and leaf residues	0.06	0.54	79.24
Subtotal	8	72.64	55.73
2. Non-Biodegradable component (% wet wt.)			
2.1 Plastic packaging	0.5	4.5	88.64
2.2 Clear Plastic	2	18.2	-
2.3 Opaque Plastic	0.26	2.36	-
2.4 Straws	0.04	0.36	-
2.5 Packaging foam	0.03	0.30	50.62
2.6 Rubber	0.01	0.1	57.44
2.7 Glass	0.17	1.54	-
Total waste	11	100	79.05
Subtotal	3	27.36	68.98
Total	11	100	
Bulk density (kg/m^3)	0.02		

Remark MC = moisture content of solid wastes

ดังนั้น การเกิดมูลฝอยภายในพื้นที่มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี จะขึ้นอยู่กับกิจกรรมต่าง ๆ เช่น กิจกรรมการเรียนการสอนจะมีขยะประเภทกระดาษ อุปกรณ์สำนักงานมากที่สุด มีการเก็บรวบรวมโดยเจ้าหน้าที่ประจำอาคาร และจัดการโดยการจำหน่ายให้กับพ่อค้าที่มารับซื้อ เพื่อนำไปจำหน่ายให้โรงงาน recycle ภายในจังหวัดปัตตานี และอีกบริเวณคือ โรงอาหาร ลานกิจกรรม และหอพักนักศึกษาภายในสถาบัน มีประเภทขยะที่เกิดจากกิจกรรมอุปโภคและบริโภค ประกอบด้วยเศษอาหาร และเศษวัสดุเหลือใช้จากการปรุงอาหาร ตลอดจนบรรจุภัณฑ์ประเภทพลาสติก กระดาษ ไม้ ยางรัด และอื่น ๆ ขยะเหล่านี้มีการเก็บรวบรวมโดยใช้ถังขยะขนาด 200 ลิตร และมีการคัดแยกเพียงบางส่วน เช่น เศษอาหาร เศษวัสดุเหลือใช้จากการปรุงอาหาร และพลาสติก จากผลการศึกษาองค์ประกอบของขยะพบว่าขยะประเภทที่ย่อยสลายได้ง่าย ได้แก่ เศษอาหาร เศษ

วัสดุเหลือใช้จากการปรุงอาหาร และเศษกระดาษมีมากถึงร้อยละ 72.64 ส่วนที่เหลือเป็นมูลฝอยที่ย่อยสลายได้ยากหรือไม่ย่อยสลาย มีเพียงร้อยละ 27.36 อย่างไรก็ตามมูลฝอยประเภทนี้มีสัดส่วนของมูลฝอยประเภทพลาสติกสูงถึงร้อยละ 18.20 อีกทั้งมีค่าความชื้นสูงมากกว่าร้อยละ 70 แสดงให้เห็นการคัดแยกขยะที่ยังไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร นอกจากนี้จากการสัมภาษณ์พนักงานเจ้าหน้าที่เทศบาลเมืองปัตตานี พบว่ายังคงมีมูลฝอยตกค้างภายในสถาบัน พนักงานประจำรถเก็บขนขยะสามารถคัดแยกเศษแก้ว ขวดพลาสติก และโลหะได้จำนวนมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าขยะส่วนที่เหลือสามารถคัดแยกเพื่อนำขยะที่มีมูลค่ามาจำหน่ายได้

จากข้อมูลการจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี วิเคราะห์ได้ว่าแหล่งกำเนิดมูลฝอยแบ่งออกเป็น 4 แหล่งกำเนิดตามกิจกรรมที่เกิดขึ้นได้แก่ 1. โรงอาหาร 2. อาคารเรียนรวม สำนักงาน 3. ลานกิจกรรม และ4. หอพักนักศึกษา โดยแต่ละแหล่งกำเนิดมีลักษณะของมูลฝอยแตกต่างกัน สรุปดังนี้

1. โรงอาหารจะมีขยะประเภทเศษอาหาร ขวดพลาสติก เศษพืชผัก ผลไม้ และขยะทั่วไป โดยมีภาชนะเก็บรวบรวมที่แยกประเภทชัดเจน มีการดำเนินการเก็บรวบรวม และเก็บขนโดยเจ้าหน้าที่ประจำโรงอาหาร ส่วนวิธีการกำจัด เศษอาหารมีการจำหน่ายเพื่อนำไปประกอบอาหารสัตว์ โดยมีผู้รับซื้อประจำ ส่วนเศษวัสดุเหลือใช้จากการปรุงอาหาร ผู้ประกอบการเก็บรวบรวม และนำไปกำจัดภายนอกสถาบัน ส่วนขยะทั่วไป มีการเก็บรวบรวมในถัง 200 ลิตร และดำเนินการเก็บขนโดยรถแบบเปิดอัดท้ายโดยเจ้าหน้าที่เทศบาลเมืองปัตตานี ขยะประเภทนี้มีความชื้นสูงกว่าร้อยละ 70 มีสมบัติในการย่อยสลายได้ง่าย และมีสารอาหารคงเหลือ สามารถนำไปผลิตเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ และหมักทำปุ๋ย แต่อย่างไรก็ตามควรมีการคัดแยกมูลฝอยที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ออกก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

2. อาคารเรียนรวม ลักษณะมูลฝอยเป็นกระดาษ เอกสารประกอบการสอน ของเสียอันตราย และขยะทั่วไป ซึ่งเอกสารประเภทกระดาษจะมีผู้รับซื้อภายนอกมารับซื้อ ส่วนขยะทั่วไป มีระบบการจัดการเหมือนโรงอาหาร แนวทางการจัดการที่ดีที่สุด ควรมีการลดการใช้กระดาษ ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการใช้กระดาษ รณรงค์ให้ใช้กระดาษ 2 หน้า และงดการแจกเอกสารคำสอน ให้เปลี่ยนเป็นการอัพโหลดเป็นไฟล์เอกสารแทน

3. ลานกิจกรรม และลานกีฬา ประกอบด้วยขยะทั่วไป และขยะอินทรีย์ เช่น เศษอาหาร ภาชนะบรรจุอาหาร ซึ่งบริเวณนี้ไม่มีการคัดแยกขยะ จะทั้งรวมเป็นขยะทั่วไป ดังนั้น วิธีการจัดการควรมีการคัดแยกประเภทของถังขยะ เพื่อให้ง่ายในการกำจัด และการนำกลับไปใช้ประโยชน์สูงสุด และลดการปนเปื้อนของมูลฝอย

4. หอพักนักศึกษา ประกอบด้วยขยะทั่วไป เศษอาหาร เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งบริเวณนี้ไม่มีการคัดแยกขยะจะทิ้งรวมเป็นขยะทั่วไป มีการเก็บรวบรวม และกำจัดเช่นเดียวกับลานกิจกรรม บริเวณนี้ควรมีการรณรงค์เช่นเดียวกับลานกีฬา

สรุป

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี มีปริมาณมูลฝอยรวมเกิดขึ้นเฉลี่ย 3,303 กิโลกรัมต่อวัน มีอัตราการเกิดมูลฝอย 4.5 กิโลกรัมต่อคนต่อวัน มีค่าความหนาแน่น 0.02 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร มีแหล่งกำเนิดมูลฝอยประกอบด้วย 4 แหล่ง ได้แก่ 1.โรงอาหาร 2.อาคารเรียนรวม สำนักงาน 3.ลานกิจกรรม และ 4.หอพักนักศึกษา บริเวณโรงอาหารมีการคัดแยกมูลฝอยมากที่สุด คือ เศษอาหารเพื่อการนำไปผลิตอาหารสัตว์ เศษพลาสติกเพื่อจำหน่าย ส่วนมูลฝอยทั่วไปบริเวณอื่น ๆ ไม่มีการคัดแยก มีการรวบรวมโดยใช้ถัง 200 ลิตร

องค์ประกอบมูลฝอยพบว่า มูลฝอยที่ย่อยสลายได้มีมากถึงร้อยละ 71.57 ประกอบด้วยเศษอาหารที่มีความชื้นมากที่สุด และมีปริมาณมากที่สุดร้อยละ 54.00 ซึ่งเหมาะสมสำหรับการนำไปหมักทำปุ๋ย ส่วนมูลฝอยประเภทกระดาษและไม้มีปริมาณรองลงมา แต่ไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่หรือจำหน่ายได้ เนื่องจากมีลักษณะเปียกและไม่มีการคัดแยก ดังนั้น การจัดการมูลฝอยภายในมหาวิทยาลัยควรเริ่มจากการรณรงค์ในการคัดแยกขยะที่แหล่งกำเนิด ผ่านกิจกรรมการเรียนการสอนในแต่ละวิชา โดยเฉพาะกระดาษ และพลาสติก ส่วนเศษอาหาร และเศษวัสดุเหลือใช้จากการปรุงอาหารควรนำกลับมาแปรรูปในรูปแบบการหมักทำปุ๋ยด้วยวิธีการอย่างง่าย เพื่อเป็นสารปรับปรุงคุณภาพดิน และนำกลับมาใช้ภายในสถาบันต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีผู้วิจัยขอขอบคุณ อ.ดร. นภารัตน์ ไวยเจริญ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษาต่าง ๆ ในการทำงานวิจัยฉบับนี้ และตรวจสอบความถูกต้องของเอกสาร และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนงบประมาณวิจัย เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่ในการทำการทดลองในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

วัสสา คงนคร, จรีรัตน์ สกุลรันต์, และมุกดา ศรีสวัดิ์. 2553. **แนวทางการจัดการขยะมูลฝอยแบบครบวงจรและการมีส่วนร่วมของชุมชนในเขตพื้นที่เทศบาลเมืองท่าข้าม จังหวัดสุราษฎร์ธานี**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี.

สรศักดิ์ แสงเพ็ชร. 2550. **ความรู้และความเข้าใจเรื่องการคัดแยกขยะมูลฝอยของนักเรียนระดับชั้นประถมปีที่ 6 โรงเรียนสังกัดกรุงเทพมหานคร เขตจตุจักร**. วิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นภารัตน์ ไวยเจริญ. 2544. **การทำปุ๋ยหมักของมูลฝอยสดในเขตเทศบาลนครหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.** วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การจัดการสิ่งแวดล้อม), มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 15^{th} ed. U.S.A. : AOAC, Inc.

สำนักทะเบียนมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2559. **สำนักทะเบียนมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.** แหล่งที่มา: http://www.pn.psu.ac.th, 12 กรกฎาคม 2559

เทศบาลเมืองปัตตานี. 2558. **เทศบาลเมืองปัตตานี.** แหล่งที่มา: http://www.pattanicity.go.th, 12 กรกฎาคม 2559.

Culm Density and Fiber Morphology of *Dendrocalamus asper* and *Dendrocalamus membranaceus*

Korawit Chitbanyong[1], Sawitree Pisuttipiched[1] and Buapan Puangsin[1*]

ABSTRACT

Culm density and fiber morphology of *Dendrocalamus asper* and *Dendrocalamus membranaceus* were investigated. Basic density were calculated from oven-dried mass and green volume of the samples. Bamboo fibers were prepared by Franklin's method and its morphological properties were analyzed by FQA and microscopy. It has been found that 1) Basic density of *D. asper* and *D. membranaceus* were 658±0.04 kg/m^3 and 702±0.05 kg/m^3, respectively, which are similar to tropical hardwoods and higher than softwoods. 2) The fiber length of *D. asper* and *D. membranaceus* were 2.89±0.04 mm and 2.16±0.04 mm, respectively, which are longer than many other natural plant fibers such as hardwoods and softwoods fiber. The results have shown that bamboos could be a good source for papermaking fibers and other fields. 3) Fiber morphology varied between species. 4) Maceration method could be used to separate fibers for morphology analysis.

Key words: Dendrocalamus asper, Dendrocalamus membranaceus, FQA, basic density, fiber morphology

*Corresponding author; email address: fforbpp@ku.ac.th

[1]Department of Forest Products, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok, 10900

INTRODUCTION

Properties of material and fiber play an important role to pulp and paper properties. Various characteristics of material give different quality of the products, even among the same species. However, it makes succession for each other, which reduce cost and create customer-desired product. Density of pulpwood is important for pulping process because it refers to pulp yield and quality. Pulp and paper property are mainly influenced from fiber morphology since it indicates interfiber bonding ability which directly affects the strength property of paper (Molteberg and HØibØ, 2006).

Bamboo is one of the fastest growing plant in the world and is ready for use as multi-purpose material. As an alternatives of wood celluloses, non-wood plants have been increasing great interest particularly in developing country since it can be used also for production of paper, board, textile, and other functionalized and commodity goods (Dransfield and Widjaja, 1995). *Dendrocalamus asper* and *Dendrocalamus membranaceus* are native and are widely utilized in Thailand. Research team aims to investigate culm density and fiber morphological properties of two bamboo species in order to be used as cellulose resources for nanocellulose production in advance biomaterials and pulp and paper production.

MATERIALS AND METHODS

1. Sample preparation

Two bamboo species (*D. asper* and *D. membranaceus*) were used in this work. The sample of 2-3 year-old bamboo culms were collected from bamboo plantation in Nakhon Ratchasima, Thailand. Bamboo ring with about 1 inch-thick were cut at diameter at breast height (DBH) approximately 1.3 m above ground level and equally separated to four pieces. Two pieces of bamboo sample were for basic density determination. The remains were split into small sticks and kept in freezer.

2. Basic density

Basic density determination was carried out immediately after received. It was calculated from oven-dried mass and green volume of the samples according to TAPPI T258 om-11 — Basic density and moisture content of pulpwood.

3. Fiber Preparation

The small stick samples were chosen randomly approximately 3 g and macerated by using Franklin's method (Franklin, 1945; Safdari and Devall, 2012). Mixture of 30% hydrogen peroxide solution and glacial acetic acid (1:1 by vol) were reacted with the stick samples at 75°C for 48 hours. After this treatment, the sticks samples were turned to white or light yellow. Then washed the macerated stick samples with water until pH 7 or odorless and keep at 4°C.

4. Fiber morphology analysis by fiber quality analyzer (FQA)

Macerated stick samples were defibered and fines were removed by using handsheet former. The handsheets will be conditioned at 23°C and 50% relative humidity overnight. When the dry mass of the sample were determined, re-dispersed the fiber samples and dilute the suspension to 0.01% consistency. Fiber length, fiber width and fiber coarseness were measured by FQA (Figure 1). Slenderness ratio (fiber length/fiber width) was calculated according to measured value.

Figure 1 Fiber quality analyzer (FQA-360; Optest Equipment Inc, Canada)

5. Fiber morphology analysis by microscopy

Macerated fiber was diluted to 0.05% (wt./vol) and 0.5 ml suspension was pipetted onto clean slide glass and cover with cover slip. Fiber diameter, fiber lumen diameter and fiber wall thickness were measured. Two derived values include Runkel's ratio [(2 × fiber wall thickness)/fiber lumen diameter] and flexibility (fiber lumen diameter/fiber width) were also calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Bamboo culm density

The culm density of *D. asper* and *D. membranaceus* at DBH were 658 kg/m^3 and 702 kg/m^3, respectively (Table 1). Bamboo culms possessed medium density and are similar to tropical hardwoods density and higher than softwoods density. In pulping process, material cost is the main cost which is bought in volume, thus density has been used to convert volume to mass. (Magaton *et al*., 2009). High density material could give more pulp yield, however, cumulating of lignin and other component could provide high density of the pulp material (Nogueira *et al*., 2005).

Table 1 Culm density and culm wall thickness of *D. asper* and *D. membranaceus*

Bamboo species	Basic density (kg/m^3)*	Culm wall thickness (mm)*
D. asper	658±0.04	20.78±0.71
D. membranaceus	702±0.05	11.11±1.37

* mean value with standard error

The microstructure of both bamboo culm are mostly similar (Figure 2). The vascular bundle distributed across parenchyma tissue in the culm. The vascular bundle of *D. asper* was less dense even it has greater culm wall thickness than *D. membranaceus* (Table 1). Hence, it makes *D. membranaceus* culm density higher than *D. asper*.

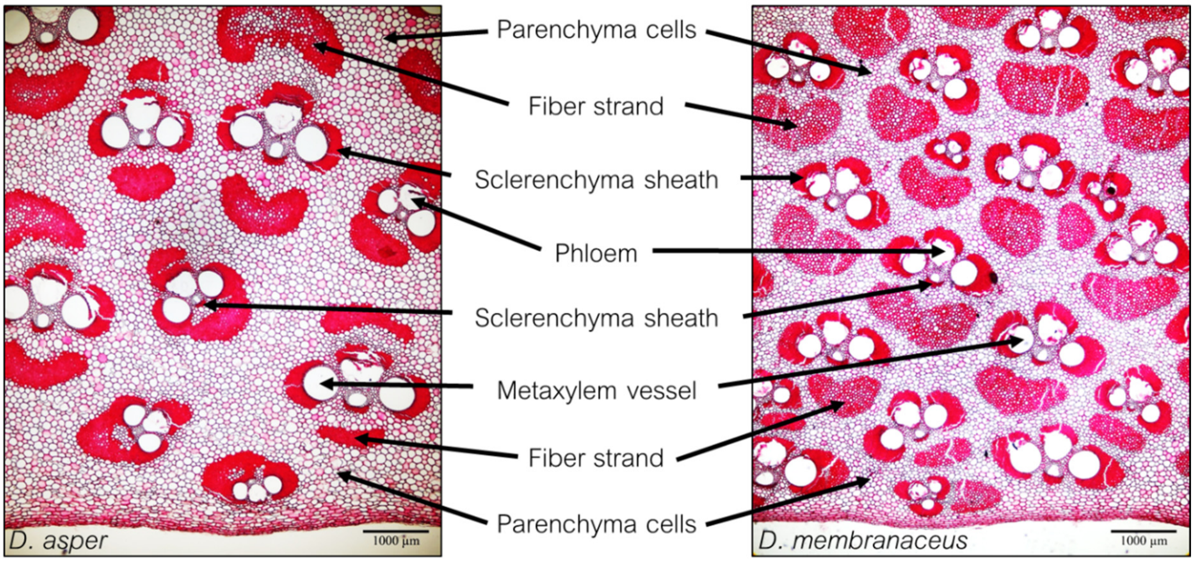


Figure 2 Microstructure of *D. asper* and *D. membranaceus*

2. Bamboo fiber morphology

Fiber length of *D. asper* and *D. membranaceus* are 2.89 mm and 2.16 mm, respectively (Table 2), which could compare to softwoods fiber and were longer than hardwoods fiber. For softwoods, the fiber length of *Picea abies* and *Pinus sylvestris* were 2.27 mm and 3.10 mm, respectively, while hardwoods fiber such as *Fagus sylvatica, Quercus robur* and *Populus* spp. were 0.95 mm, 1.10 mm and 1.20 mm, respectively (Koch, 2006). For *Eucalyptus camaldulensis*, which is the main material for pulping industry in Thailand, has the average fiber length of 1.10 mm (Pattanopast, 1995; Kamthai and Puthson, 2005).

Table 2 Fiber morphology of *D. asper* and *D. membranaceus*

Properties/Fiber type	*D. asper*	*D. membranaceus*
Fiber length (mm)*	2.89±0.04	2.16±0.04
Fiber width (μm)*	41.90±0.63	36.89±0.62
Fiber lumen diameter (μm)*	6.66±0.25	5.62±0.29
Fiber wall thickness*	17.62±0.28	15.63±0.25
Slenderness ratio*	116.34±1.73	91.17±1.34
Runkel's ratio*	7.06±0.17	8.26±0.20
Flexibility*	0.16±0.00	0.14±0.00
Fiber coarseness (mg/m)*	0.15±0.01	0.13±0.01

* mean value with standard error

Fiber width (or fiber diameter) of *D. asper* and *D. membranaceus* are 41.90 μm and 36.89 μm, respectively. For fiber lumen diameter are 6.66 μm and 5.62 μm, respectively. Slenderness ratio were116.34 and 91.17, respectively (Table 2). Normally, slenderness ratio of wood fibers are between 50 and 100. Slenderness ratio of *D. asper* fiber was higher than wood fiber, while the slenderness ratio of *D. membranaceus* fiber was similar to wood fiber, however, it was high. High slenderness ratio provided fiber bending ability, tearing strength, flexibility and softness (Zhan *et al.*, 2016). *D. asper* and *D. membranaceus* fiber were long and have more bonding area, which leads to the stronger sheet. However, when compare two equal-mass sample, Long fiber has less surface area that could reflect light less efficient than shorter fiber.

Runkel's ratio indicates collapsibility of fiber and related to fiber wall thickness, which could also reveal bonding ability of fiber, fiber strength as well as paper strength. Fiber with high Runkel's ratio tends to provide more open, porous and bulk structure followed by low tensile and bursting strength paper, but with longer fiber, paper becomes higher in tearing strength (Clark, 1978). *D. membranaceus* fiber has higher Runkel's ratio, however, *D. asper* fiber showed higher flexibility since it has greater fiber wall thickness even they were similar in fiber width. Hence, *D. membranaceus* fiber was more flexible, which provides good formation to paper. However, thick wall of both bamboo fiber could cause collapsing problem while forming. On the other hand, fiber coarseness, a modern method to describe collapsibility and formation of papermaking fiber, were also evaluated. Fiber coarseness of *D. asper* and *D. membranaceus* are 0.15 mg/m and 0.13 mg/m, respectively (Table 2), which are mostly similar. *D. asper* fiber has higher coarseness, which has poorer collapsibility and flexibility as mentioned above. Fiber cells of *D. asper* and *D. membranaceus* are shown in Figure 3.

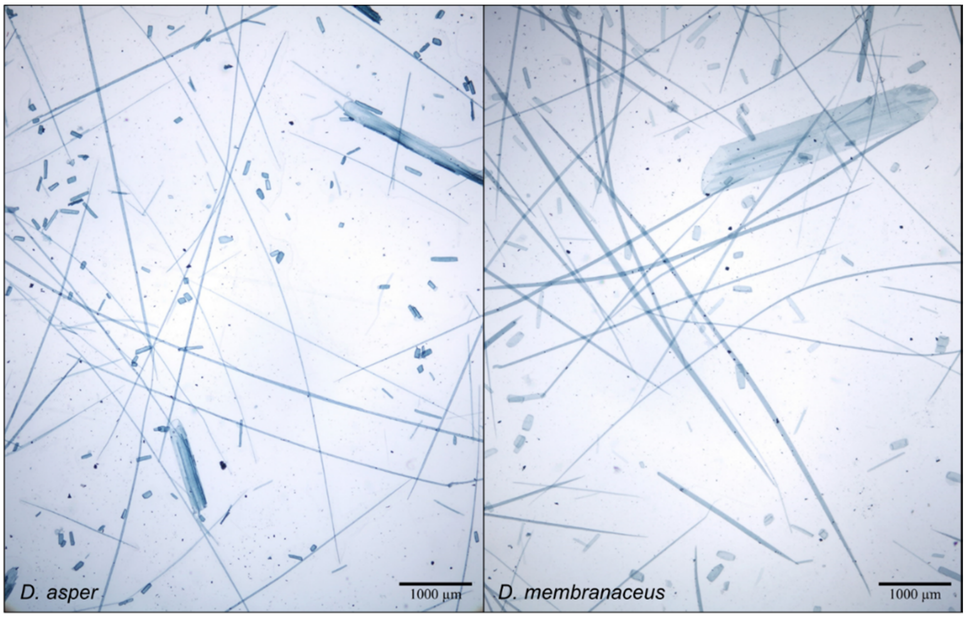


Figure 3 Fiber cells of *D. asper* and *D. membranaceus*

CONCLUSION

Bamboos are potential material for pulp and paper production. High in culm density can provide more fiber yield. On the other hand, cumulating of lignin, extractives or inorganic compounds causes high density. The fibers of bamboo which are extracted by maceration reveals that bamboo fibers are suitable for papermaking, which the produced paper will be high in tensile and tear strength. However, it might provide some problem from its thick wall while forming. Thus, chemical composition of the material, pulping condition and fiber treatment should be also determined.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by Center of Excellence for Bamboos, Kasetsart University.

REFERENCES

Clark, J.A. 1978. **Pulp Technology and Treatment for Paper, 2nd ed.** Miller Freeman Publications Inc., San Francisco.

Dransfield, S. and E. A. Widjaja. eds. 1995. **Plant Resources of South-East Asia No 7 Bamboos**. Prosea Foundation, Indonesia.

Franklin, G. L. 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature** 155: 51-59.

Kamthai, S. and P. Puthson. 2005. The physical properties, fiber morphology and chemical compositions of sweet bamboo (*Dendrocalamus asper* Backer). **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 39: 581-587.

Koch, G. 2006. pp. 21-68 .Raw material for pulp. *In* Sixta, H. ed. **Handbook of Pulp**. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim.

Magaton, A. D. S., J. L. Colodette, A. D. F. Gouvea, J. L. Gomide. M. C. D. S. Muguet and C. Pedrazzi. 2009. Eucalyptus wood quality and its impact on kraft pulp production and use. **TAPPI Journal**: 32-40.

Molteberg, D. and O. Høibø. 2006. Development and variation of wood density, Kraft pulp yield and fibre dimensions in young Norway spruce (*Picea abies*). **Wood Sci Technol** 40: 173-189.

Nogueira, E. M., B.W. Nelson and P.M. Fearnside. 2005. Wood density in dense forest in central Amazonia, Brazil. **Forest Ecology and Management** 208: 261–286.

Pattanopast, S. 1995. **Effect of Sulfidity on Chemical Properties of Sulfate Pulp from the River Red Gum (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.).** M.S. thesis, Kasetsart University, Bangkok.

Safdari, V. and M.S. Devall. 2012. Identification of important Iranian hardwoods vessels-ray pits and vessel element shapes (maceration process). **Lignocellulose** 1(1): 55-70.

Technical Association of the Pulp and Paper Industry. 2011. **TAPPI T258 om-11 — Basic density and moisture content of pulpwood.** Georgia, USA.

Zhan, H., L. Zhang, Z. Niu, C. Wang and S. Wang. 2016. Chemical properties and fiber morphology of *Dendrocalamus hamiltonii* as potential pulp material. **Eur. J. Wood Prod.** 74: 273-276.

สมการมวลชีวภาพเหนือพื้นดินของไม้วงศ์โกงกางบางชนิด บริเวณสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งทะเลอันดามัน จังหวัดระนอง

Above Ground Biomass Equation of Some Rhizophoraceae in Andaman Coastal Research Station for Development, Ranong Province

วาทินี สวนผกา[1*] ขวัญเนตร ทองศรี[1] และเดชา ดวงนามล[2]
Wathinee Suanpaga[1*] Kwannate Tongsri[1] and Decha Duangnamon[2]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อพัฒนาสมการมวลชีวภาพที่เหมาะสมกับไม้วงศ์โกงกาง 4 ชนิด ได้แก่ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ถั่วขาว และถั่วดำในป่าชายเลนบริเวณสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งทะเลอันดามัน จังหวัดระนอง พบว่าโกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ถั่วขาว และถั่วดำ มีความหนาแน่นเฉลี่ย 161.19 106.13 15.38 และ 7.02 ต้น/ไร่ ตามลำดับ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอกเฉลี่ย 13.46 13.86 7.25 และ 10.66 เซนติเมตร ตามลำดับ และความสูงเฉลี่ย 12.13 13.97 7.17 และ 11.12 เมตร ตามลำดับ สมการมวลชีวภาพของโกงกางใบเล็กและโกงกางใบใหญ่มีความสัมพันธ์กับเส้นผ่านศูนย์กลางเหนือคอราก 20 เซนติเมตร และสมการมวลชีวภาพของถั่วขาวและถั่วดำมีความสัมพันธ์กับเส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอก ซึ่งสมการมวลชีวภาพนี้ไม่ได้ใช้ความสูงของต้นไม้เป็นตัวแปร จึงถือว่าเป็นสมการมวลชีวภาพที่สะดวกและง่ายต่อการนำไปใช้ประโยชน์เป็นอย่างสูง

ABSTRACT

This study aimed to develop the suitable biomass equations for four tree species in Rhizophoraceae, *Rhizophora mucronata* Blume, *R. apiculata* Blume, *Bruguiera cylindrica* (L.) Blume, and *B. parviflora* Roxb., in Andaman coastal research station for development, Ranong province. The results found that the tree densities of these species were 161.19, 106.13, 15.38, and 7.02 tree/rai, respectively. The average diameters at 1.30 m above ground level (DBH) of these species were 13.46, 13.86, 7.25, and 10.66 cm, respectively. The average heights of these species were 12.13, 13.97, 7.17, and 11.12 m, respectively. The biomass equations of *R. mucronata* and *R. apiculata* had a close relationship with the diameter at 20 cm above stilt root. The biomass equations of *B. cylindrica* and *B. parviflora* had a close relationship with DBH. These equations did not include tree heights as a variable. Thus, these equations are very comfortable and easy to use.

Key Words: biomass equation; Rhizophoraceae, mangrove forest

[*]Corresponding author; e-mail address: wathinee.s@ku.ac.th

[1]ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Department of Silviculture, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok 10900

[2]สถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดระนอง 85120

[2]Andaman Coastal Research Station for Development, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Ranong Province 85120

คำนำ

ป่าชายเลน คือ ป่าประเภทไม่ผลัดใบที่เกิดขึ้นบริเวณริมชายฝั่งที่มีน้ำทะเลท่วมถึงของพื้นที่บริเวณเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนของโลก โดยเฉพาะในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (สนิท, 2541) ป่าชายเลนเป็นแหล่งผลิตและบริการที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจและความเป็นอยู่ของประชาชน เป็นที่รวมของพันธุ์พืชและพันธุ์สัตว์จำนวนหลายชนิด โดยผลผลิตจากป่าชายเลนนั้นมีทั้งทางตรงและทางอ้อม ประโยชน์ทางตรง ซึ่งหมายถึง ผลผลิตจากเนื้อไม้ เช่น ถ่าน ไม้ทำเสาเข็ม ไม้ค้ำยัน เฟอร์นิเจอร์ หรืออุตสาหกรรมเกี่ยวกับการกลั่นไม้เพื่อเป็นสมุนไพร นอกจากนี้มนุษย์ยังได้รับประโยชน์ทางอ้อมอีกมากมาย เช่น ป่าชายเลนเป็นแหล่งอาหาร ที่อยู่อาศัย และแหล่งขยายพันธุ์ของสัตว์น้ำ ดังนั้นป่าชายเลนจึงเป็นแหล่งอาชีพที่สำคัญของชุมชนชายฝั่ง อีกทั้งในด้านสิ่งแวดล้อม ป่าชายเลนยังมีความสามารถในการกำบังคลื่นลมและกรองสิ่งปฏิกูลจากบนบกไม่ให้ไหลลงสู่ทะเลอย่างรวดเร็ว แต่ในปี พ.ศ. 2539 ประเทศไทยมีพื้นที่ป่าชายเลนเพียง 1,047,390 ไร่ คิดเป็นสัดส่วนการลดลงของพื้นที่ป่าชายเลนประมาณร้อยละ 50 ในช่วง 35 ปี โดยมีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ป่าชายเลนเพื่อการเพาะเลี้ยงชายฝั่ง (ธงชัย และ จิราวรรณ, 2540) หลังจากนั้นในปี พ.ศ. 2547 พบว่าพื้นที่ป่าชายเลนเพิ่มขึ้นเป็น 1,458,000 ไร่ หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 39 จากปี พ.ศ. 2539 โดยพบกระจายในภาคกลางประมาณ 50,000 ไร่ ภาคตะวันออก 152,000 ไร่ และภาคใต้ 1,256,000 ไร่ (สรายุทธ และ รุ่งสุริยา, 2554) จากการสำรวจของกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง (2556) พบว่าในปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยมีพื้นที่ป่าชายเลน 1,525,062.50 ไร่ โดยแบ่งเป็นพื้นที่ชายฝั่งทะเลอ่าวไทย 420,168.75 ไร่ และพื้นที่ฝั่งทะเลอันดามัน 1,104,893.75 ไร่

การแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของป่าชายเลนจึงมีความจำเป็นอย่างมากในปัจจุบัน โดยการแสดงให้เห็นนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายรูปแบบ ทั้งในเชิงคุณภาพซึ่งสามารถวัดออกมาได้จากความเป็นอยู่ของชุมชนโดยรอบ หรือในเชิงปริมาณ ซึ่งมีทั้งการวัดค่าความอุดมสมบูรณ์ของดิน ค่าความสะอาดของน้ำ ประมาณสัตว์น้ำที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ และอีกวิธีหนึ่ง คือ ผลผลิตของป่าในรูปของมวลชีวภาพ โดยความหมายของมวลชีวภาพนั้นคือน้ำหนักหรือปริมาณของส่วนที่มีชีวิต เป็นตัวบ่งชี้การเจริญเติบโตและความอุดมสมบูรณ์ของป่าชายเลน โดยแสดงเห็นถึงความสามารถในการผลิตของป่าชายเลน (สนิท, 2541) เนื่องจากพื้นที่ป่าชายเลนในแต่ละพื้นที่มีความแปรผันของปัจจัยในการเกิดป่าชายเลนเป็นอย่างมาก (Chapman, 1976) การวัดปริมาณมวลชีวภาพของป่าชายเลนที่นิยมคือการใช้สมการมวลชีวภาพของพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมและปริมาณของปัจจัยที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อสร้างสมการตัวแทนในการคำนวณปริมาณมวลชีวภาพที่เหมาะสมกับไม้วงศ์โกงกาง 4 ชนิด ได้แก่ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ถั่วขาว และถั่วดำ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ข้อมูลทุติยภูมิด้านการเติบโตของสังคมพืชป่าชายเลน

นำข้อมูลทุติยภูมิที่สถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งทะเลอันดามัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งทำการเก็บข้อมูลสังคมพืชป่าชายเลนจากการสำรวจ 3 แนวสำรวจ (line transect method) แต่ละแนวสำรวจมีแปลงย่อยขนาด 10 เมตร x 10 เมตร จำนวน 70 แปลงย่อย รวมทั้งสิ้น 210 แปลงย่อย ตั้งฉากกับแนวชายคลองตั้งแต่ชายฝั่งทะเลจนถึงแนวเขตป่าบก โดยให้ครอบคลุมทุกลักษณะของสังคมพืชในพื้นที่คลองกำพวน อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง ซึ่งทำการเก็บข้อมูลในปี พ.ศ. 2555

2. การเก็บข้อมูล

จัดลำดับชั้นความโตของไม้ยืนต้นเพื่อจัดทำตารางแจกแจงความถี่ตามชั้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง โดยนำข้อมูลดังกล่าวประกอบในการเลือกไม้ตัวแทน อันตรภาคชั้นละ 1 ต้น โดยเลือกจากไม้ขอบแปลงหรือที่อยู่บริเวณใกล้เคียง ทำการตัดไม้ตัวอย่างโดยตัดที่ระดับชิดดิน ทำการตัดทอนลำต้น ไม้ตัวอย่างออกเป็นท่อน ๆ จากโคนขึ้นไปยาวท่อนละ 1 เมตร จนถึงปลายยอด โดยใช้วิธี stratified clip technique (Monsi and Saeki, 1953) และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณโคนและปลายท่อนของไม้ที่ทำการตัดทอนแต่ละท่อน บันทึกน้ำหนักสด โดยแยกเป็นส่วนของลำต้น กิ่ง ใบ และรากเหนือพื้นดิน แล้วทำการสุ่มเก็บตัวอย่างแยกเป็นส่วน ๆ เพื่อนำไปหาปริมาณความชื้น โดยการอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือ จนกว่าน้ำหนักแห้งจะคงที่ บันทึกน้ำหนักแห้ง ในเดือนมิถุนายน – สิงหาคม 2557

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 คำนวณหาความชื้นส่วนต่าง ๆ จากสูตร

ความชื้น (ร้อยละ) = [(น้ำหนักสด (กรัม) – น้ำหนักแห้ง (กรัม)) / น้ำหนักแห้ง (กรัม)] x 100

3.2 คำนวณหามวลชีวภาพหรือน้ำหนักแห้งของชิ้นส่วนตัวอย่าง จากสูตร

น้ำหนักแห้ง(กรัม) = [100xน้ำหนักสด (กรัม)] / [ความชื้น (ร้อยละ) + 100]

3.3 นำข้อมูลผลผลิตมวลชีวภาพส่วนต่าง ๆ ของไม้แต่ละชนิด ไปหาความสัมพันธ์กับขนาดของต้นไม้ที่วัดได้ โดยใช้สมการแอลโลเมตริก (allometric equation) (Kira and Shidei, 1967) ในรูปของ $Y = AX^h$ เมื่อ Y เป็นข้อมูลทางด้านมวลชีวภาพ (ตัวแปรตาม) ได้แก่ น้ำหนักแห้งของส่วนต่าง ๆ A และ h เป็นค่าคงที่ X เป็นข้อมูลทางด้านขนาดของต้นไม้ (ตัวแปรอิสระ) เช่น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นที่ระดับความสูงต่าง ๆ ความสูงทั้งหมด (H) เป็นตัวแปรอิสระ และเลือกสมการโดยพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดกับปริมาตรน้ำหนักแห้งแต่ละส่วนที่มีค่าสัมประสิทธิ์ของตัวกำหนด (coefficient of determination, R^2) สูงสุด และเหมาะสมในการเก็บข้อมูลในพื้นที่จริง

ผลและวิจารณ์ผล

1. ลักษณะทั่วไปของสังคมพืชในป่าชายเลน

ป่าชายเลนในบริเวณที่ทำการศึกษาเป็นป่าชายเลนมีขนาดใหญ่ถึง 3,474 ไร่ ซึ่งเคยถูกรบกวนจากการเกิดคลื่นสึนามิในปี พ.ศ. 2547 มีพื้นที่ป่าชายเลนส่วนหนึ่งที่ติดกับปากแม่น้ำเกิดการสูญเสียเป็นอย่างมาก และเป็นป่าชายเลนรุ่นที่สองที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มีการแบ่งเขตกันอย่างชัดเจนในพื้นที่ส่วนหน้าใกล้กับปากแม่น้ำของป่าเป็นพื้นที่ของไม้โกงกางใบเล็ก ไม้โกงกางใบใหญ่ โดยในพื้นที่ที่มีกลุ่มของไม้ถั่วขาวและถั่วดำกระจายอยู่น้อยโดยไม้ส่วนใหญ่ที่เกิดเป็นกลุ่ม มีการขึ้นลงของน้ำวันละ 2 ครั้ง ระดับความแตกต่างของน้ำขึ้นน้ำลงอยู่ในช่วง 1-4 เมตร ไม้โกงกางขนาดใหญ่ เกือบทุกต้นมีการแตกนางขนาดใหญ่เท่า ๆ กัน 2-3 นาง ส่วนถั่วดำขนาดใหญ่ในพื้นที่มีลักษณะลำต้นบิด เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวในอดีตมีการทำสัมปทานป่าไม้ ทำให้ไม้ที่มีลักษณะดีได้ถูกตัดออกไป เหลือแต่ไม้ที่มีลักษณะที่ไม่ค่อยดี

2. ความหนาแน่นและการกระจายของเส้นผ่านศูนย์กลางระดับอก

โกงกางใบเล็กมีความหนาแน่นเฉลี่ย 161.19 ต้น/ไร่ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 13.46 เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ย 12.13 เมตร โกงกางใบใหญ่มีความหนาแน่นเฉลี่ย 106.13 ต้น/ไร่ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 13.86 เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ย 13.97 เมตร ถั่วขาวมีความหนาแน่นเฉลี่ย 15.38 ต้น/ไร่ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 7.25 เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ย 7.17 เมตร ถั่วดำมีความหนาแน่นเฉลี่ย เป็น 7.02 ต้น/ไร่ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 10.66 เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ย 11.12 เมตร เมื่อหาความสัมพันธ์ของจำนวนของไม้ตัวอย่างในแต่ละอันตรภาคชั้นของเส้นผ่านศูนย์กลาง (Figure 1) พบว่า การกระจายทางเส้นผ่านศูนย์กลางของโกงกางใบเล็กและถั่วดำ มีลักษณะการกระจายตัวแบบอายุไม่สม่ำเสมอ (uneven-aged stand) Daniel *et al.* (1979) สันนิษฐานว่าเป็นการกระจายทางเส้นผ่านศูนย์กลางของหมู่ไม้ที่เกิดขึ้นในบริเวณที่มีพื้นที่ว่าง เมล็ดไม้ และสภาพภูมิอากาศที่เชื่อมโยง ในขณะที่โกงกางใบใหญ่และถั่วดำ มีการกระจายของข้อมูลในแบบกราฟระฆังคว่ำ ซึ่ง Daniel *et al.* (1979) ได้อธิบายไว้ว่าเป็นการกระจายตัวของหมู่ไม้แบบอายุสม่ำเสมอ (even-aged stand) แต่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษาเป็นป่าธรรมชาติรุ่นที่สอง ซึ่งการเติบโตของไม้ต่อปี เช่น ไม้โกงกางมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเหนือคอรากเพิ่มขึ้น 0.5 - 1 เซนติเมตร จึงวิเคราะห์ได้ว่าอาจถูกรบกวนจากภายนอกในช่วงเวลาหนึ่ง ทำให้ไม้ขนาดเล็กตายหรือปัจจัยการเติบโตที่ไม่เหมาะสม ส่งผลให้ไม้ขนาดเล็กมีจำนวนลดลง

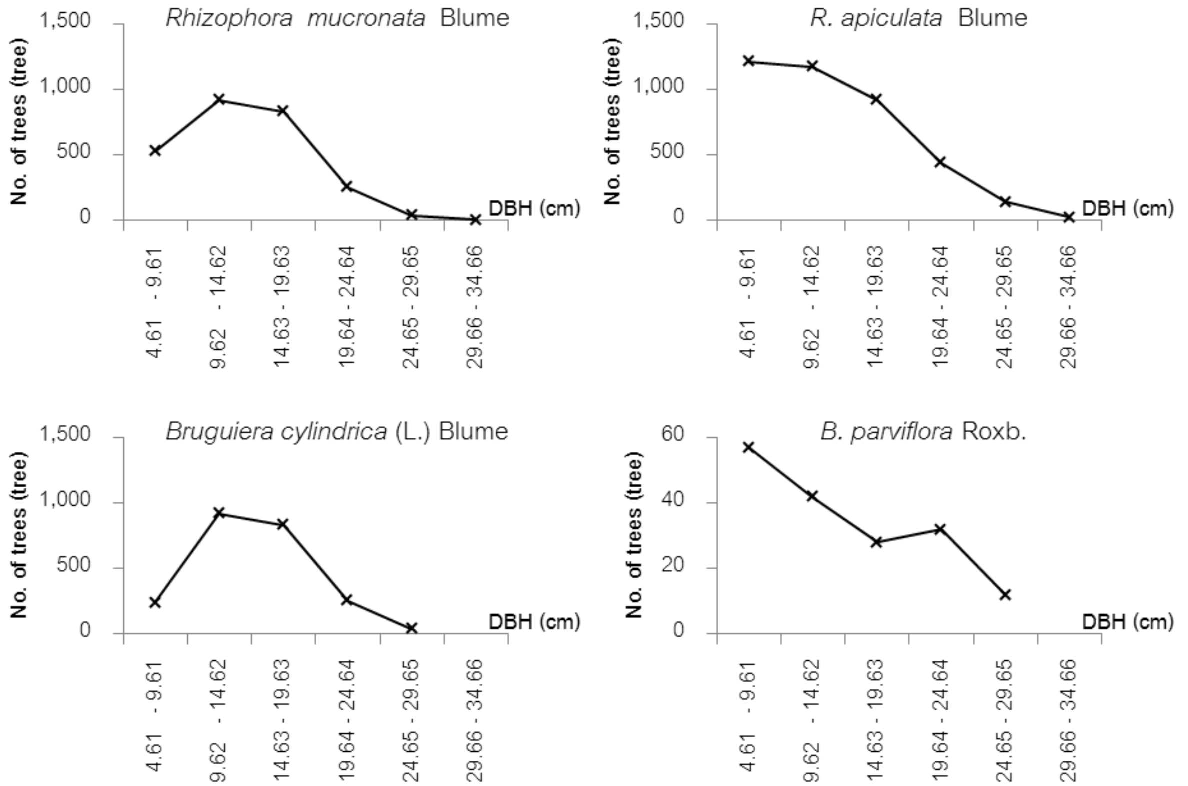


Figure 1 Distribution of Diameter at 1.30 m above ground level (DBH) of *Rhizophora mucronata* Blume, *R. apiculata* Blume, *Bruguiera cylindrica* (L.) Blume, and *B. parviflora* Roxb.

3. สมการมวลชีวภาพ

Table 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์เหนือคอราก 20 เซนติเมตร (D_{20}) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเหนือคอราก 20 เซนติเมตรร่วมกับความสูง (D_{20}^2H) กับปริมาณมวลชีวภาพส่วนต่าง ๆ ของไม้โกงกางใบเล็กและโกงกางใบใหญ่ พบว่าค่า R^2 ของทั้งสองรูปแบบมีความสัมพันธ์แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย โดยค่า R^2 ของสมการมวลชีวภาพที่เกิดจากความสัมพันธ์กับ D_{20}^2H มีค่ามากกว่าค่า R^2 ของสมการมวลชีวภาพที่เกิดจากความสัมพันธ์กับ D_{20} เพียง 3 สมการ คือ มวลชีวภาพของรากเหนือพื้นดินของโกงกางใบเล็ก มวลชีวภาพของลำต้นและมวลชีวภาพรวมเหนือพื้นดินของโกงกางใบใหญ่ ส่วนการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระดับอก (DBH) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระดับอกร่วมกับความสูง (DBH^2H) กับปริมาณมวลชีวภาพส่วนต่าง ๆ ของไม้ถั่วขาวและไม้ถั่วดำ พบว่าสมการมวลชีวภาพส่วนต่าง ๆ ของไม้ถั่วขาวและถั่วดำที่เกิดจากความสัมพันธ์กับ DBH มีค่า R^2 มากกว่าสมการมวลชีวภาพที่มีความสัมพันธ์กับ DBH^2H ยกเว้นสมการมวลชีวภาพลำต้นของไม้ถั่วขาวและถั่วดำ จะเห็นได้ว่า สมการมวลชีวภาพของไม้สกุลโกงกางทั้ง 4 ชนิด ไม่ได้นำความสูงมาเป็นตัวแปรในสมการ ซึ่งสอดคล้องกับสมการมวลชีวภาพของ Sitoe *et al.* (2014) Komiyama *et al.* (2005) Soares and Schaeffer-Novelli (2005) Ketterings *et al.* (2001) Clough (1992) และ Clough and Scott (1989) และเมื่อพิจารณาการปฏิบัติงานจริงในป่าชายเลน จะพบว่าการวัดค่าความสูงของไม้แต่ละต้นเป็นไปได้ลำบาก จึงเกิดความคลาดเคลื่อนได้ง่าย ดังนั้น การเลือกใช้สมการมวลชีวภาพที่เกิดจากความสัมพันธ์กับเส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอย่างเดียว จึงมีความเหมาะสมกว่าการใช้สมการมวลชีวภาพที่เกิดจากความสัมพันธ์ที่มีความสูงมาเกี่ยวข้องด้วย

สรุป

สมการมวลชีวภาพของไม้วงศ์โกงกางที่เหมาะสมสำหรับป่าชายเลนบริเวณบริเวณสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งทะเลอันดามัน จังหวัดระนอง มีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเป็นตัวแปรเพียงอย่างเดียว โดยโกงกางใบใหญ่และโกงกางใบเล็กใช้เส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับ 20 เซนติเมตรเหนือคอรากเป็นตัวแปร ส่วนถั่วขาวและถั่วดำใช้เส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอกเป็นตัวแปร

Table 1 Biomass equations and coefficient of determination (R^2) of Rhizophoraceae in Andaman Coastal Research Station for Development, Ranong Province.

Species	x			
	D_{20} 1/		D_{20}^2H 2/	
	Equation	R^2	Equation	R^2
Rhizophora apiculata Blume	W_L 3/ $= 0.0605(x^{1.9768})$	0.9534	$W_L = 0.0203(x^{0.7751})$	0.9300
	W_B 4/ $= 0.0139(x^{2.8657})$	0.9650	$W_B = 0.0026(x^{1.1342})$	0.9592
	W_S 5/ $= 0.8380(x^{1.8943})$	0.9772	$W_S = 0.2770(x^{1.1342})$	0.9709
	W_{RA} 6/ $= 0.2110(x^{2.1145})$	0.9914	$W_{RA} = 0.0585(x^{0.8421})$	0.9978
	W_A 7/ $= 0.4655(x^{2.2046})$	0.9870	$W_A = 0.1279(x^{0.8728})$	0.9816
Rhizophora mucronata Blume	$W_L = 0.0626(x^{1.7579})$	0.9967	$W_L = 0.0329(x^{0.6530})$	0.9894
	$W_B = 0.0300(x^{2.4856})$	0.9803	$W_B = 0.0120(x^{0.9240})$	0.9745
	$W_S = 0.1335(x^{2.5108})$	0.9694	$W_S = 0.0504(x^{0.9391})$	0.9756
	$W_{RA} = 0.0542(x^{2.3903})$	0.8590	$W_{RA} = 0.0258(x^{0.8729})$	0.8240
	$W_A = 0.1777(x^{2.4797})$	0.9876	$W_A = 0.0686(x^{0.9263})$	0.9914

Species	x			
	DBH 8/		DBH^2H	
	Equation	R^2	Equation	R^2
Bruguiera cylindrica (L.) Blume	$W_L = 0.0195(x^{2.1666})$	0.9974	$W_L = 0.0090(x^{0.8053})$	0.9764
	$W_B = 0.0223(x^{2.6346})$	0.9985	$W_B = 0.0088(x^{0.9789})$	0.9768
	$W_S = 0.9699(x^{1.5480})$	0.7983	$W_S = 0.5059(x^{0.5886})$	0.8179
	$W_A = 0.1276(x^{2.5942})$	0.9957	$W_A = 0.0477(x^{0.9721})$	0.9908
Bruguiera parviflora Roxb.	$W_L = 0.0418(x^{1.7864})$	0.7735	$W_L = 0.0206(x^{0.6614})$	0.7377
	$W_B = 0.1166(x^{1.9899})$	0.7402	$W_B = 0.0589(x^{0.7230})$	0.6798
	$W_S = 0.1606(x^{2.4799})$	0.9814	$W_S = 0.0492(x^{0.9444})$	0.9902
	$W_A = 0.2418(x^{2.3909})$	0.9945	$W_A = 0.0818(x^{0.9031})$	0.9872

1/= Diameter at 20 cm above stilt root (cm), 2/= height (m), 3/= leaf biomass (kg), 4/= branch biomass (kg), 5/= stem biomass (kg), 6/= root above-ground (kg), 7/= above-ground biomass (kg), 8/= Diameter at 1.30 m above ground level (cm)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งทะเลอันดามัน จังหวัดระนอง ที่ช่วยเก็บข้อมูลในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2556. **พื้นที่ป่าชายเลนในอดีต**. แหล่งที่มา:http://marinegiscenter.dmcr.go.th/km/mangroves_doc08/#.VQ04l9KsWxU. 21 มีนาคม 2558.

ธงชัย จารุพพัฒน์ และ จิราวรรณ จารุพพัฒน์. 2540. การใช้ภาคถ่ายดาวเทียม Landsat-5 TM ติดตามสภาพความเปลี่ยนแปลงพื้นที่ป่าชายเลนในประเทศไทย, น. 1-8. *ใน* **การสัมมนาระบบนิเวศป่าชายเลนแห่งชาติ ครั้งที่ 10.** สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

สนิท อักษรแก้ว. 2541. **ป่าชายเลนนิเวศวิทยาและการจัดการ**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 277 น.

สรายุทธ บุณยะเวชชีวิน และ รุ่งสุริยา บัวสาลี. 2554. **ป่าชายเลน นิเวศวิทยาและพรรณไม้**. กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช กรุงเทพฯ.

Chapman, V.J. 1976. **Mangrove Vegetation**. J. Cramer, Vadue.

Clough, B. F. 1992. Primary productivity and growth of mangrove forests, pp. 225-249. *In* Alongi, D. M. and A. I. Robertson (Eds.). **Tropical Mangrove Ecosystem, coastal and estuarine studies, 41.** Washington, D.C.

Clough, B. F. and K. Scott. 1989. Allometric relationships for estimating above-ground biomass in six mangrove species. **Forest Ecology and Management** 27: 117–127.

Daniel, T.W., Helms, J.A., and Baker, F.S. 1979. **Principles of Silviculture**, 2nd ed. New York: McGrawHill.

Ketterings, Q., R. Coe, M. Noordwijk, Y. Ambagau and C. A. Palm. 2001. Reducing uncertainty in the use of allometric biomass equations for predicting above-ground tree biomass in mixed secondary forests. **Forest Ecology and Management** 146: 199–209.

Kira, T. and T. Shidei. 1967. Primary production and turn over of organic matter in different ecosystems of the Western Pacific. **Japanese Journal of Ecology** 17: 70–87.

Komiyama, A., S. Poungparn and S. Kato. 2005. Common allometric equations for estimating the tree weight of mangroves. **Journal of Tropical Ecology** 21: 471–477.

Monsi, M. and T. Saeki. 1953. **Uber den Lichtfaktor inden Pflanzengesell Schaften and Seine Bedeutung fur die Stoffproduktion.** อ้างโดย พงษ์ศักดิ์ สหุนาฬุ. ผลผลิตและการหมุนเวียนของธาตุอาหารในระบบนิเวศป่าไม้. ภาควิชาวนวัฒน์วิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 651 น.

Sitoe, A. A., L. J. C. Mandlate and B. S. Guedes. 2014. Biomass and carbon stocks of Sofala bay mangrove forests. **Forest** 5: 1967 – 1981.

Soares, M. L. G., and Y. Schaeffer-Novelli. 2005. Above-ground biomass of mangrove species. Analysis of models. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 65: 1–18.

คณะกรรมการฝ่ายวิชาการ

รองศาสตราจารย์ ดร.กล้าณรงค์ ศรีรอต		ที่ปรึกษา
รองศาสตราจารย์ ดร.ศักดา อินทรวิชัย		ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.สุทธิพันธ์ แก้วสมพงษ์		รองประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.สุรวิช วรรณไกรโรจน์	ประธานสาขาพืช	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ประสานพานิช	ประธานสาขาสัตว์	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงษ์เทพ วิไลพันธ์	ประธานสาขาประมง	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ น.สพ.ณัฐสิทธิ์ ตันสกุล	ประธานสาขาสัตวแพทยศาสตร์	กรรมการ
ดร.พัชราวดี ศรีบุญเรือง	ประธานสาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชติกา หยกทองวัฒนา	ประธานสาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.ชาติ เจียมไชยศรี	ประธานสาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ขนิษฐา วัชราภรณ์	ประธานสาขาอุตสาหกรรมเกษตร	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กอบศักดิ์ วันธงไชย	ประธานสาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัมปนาท เพ็ญสุภา	ประธานสาขาเศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ	กรรมการ
ดร.พิกุล เอกวรางกูร	ประธานสาขาศึกษาศาสตร์	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัชราภรณ์ อาจหาญ	ประธานสาขามนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์	กรรมการ
ผู้อำนวยการสำนักบริการคอมพิวเตอร์	ประธานฝ่ายสารสนเทศ	กรรมการ
ดร.นีรนุช ภาชนะทิพย์	ประธานฝ่ายสูจิบัตรและฝ่ายเลขานุการ	กรรมการ
นายจรูญศักดิ์ สวนสวรรค์	ประธานฝ่ายจัดพิมพ์เอกสารทางวิชาการ	กรรมการ
นางมัลลิกา เกตุชรารัตน์		กรรมการและเลขานุการ
นางสาวยลรวิวรร วิบูรณวงศ์		กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
นางสาวสุดธิดา มีสวัสดิ์		กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
นางสาวทิพวรรณ เขม้นกิจ		กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
นางสาวปนัดดา พรอนันต์รัตน์		กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
นางสาวพิชชาอรฐ์ สิริชีวเกษร		กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
นางสาวอรญา ศรีอนันต์		กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม : ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1. ผศ.ดร.ฉัตรชัย เปสี ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
2. ดร.จันฒิมา มากมูล ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
3. อาจารย์อังคณา ศรีพยัพ ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
4. ผศ.ดร.ธิตินันท์ กาพย์เกิด ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
5. ผศ.ดร.พจนารถ สุวรรณรุจิ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
6. ดร.จรรยา เจตนาเสน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
7. ดร.ไพบูลย์ เงินมีศรี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
8. ดร.ปณิทัต หาสิน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
9. รศ.ดร.ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
10. รศ.ดร.วิเชียร กิจปรีชาวนิช ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
11. ผศ.ดร.วรรณา มาลาพันธุ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
12. ผศ.ดร.กรรณิการ์ ดวงมาลย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
13. ผศ.ดร.นันทนา สีสุข ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
14. ผศ.ดร.อิงอร กิมกง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
15. ผศ.ดร.สาวิตร ตระกูลน่าเลื่อมใส ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
16. ดร.เยาวภา อร่ามศิริรุจิเวทย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
17. ดร.ชุรภา ธีรภัทรสกุล ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
18. ดร.เสรี เจริญกิจมงคล ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
19. ดร.พัชราภรณ์ ศิวายพราหมณ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
20. ดร.เจษฎา โพธิรัตน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
21. ดร.ปิ่นสุรางค์ ดีวงษ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
22. อาจารย์ปริศนา วิริยะจิตสมบูรณ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
23. รศ.ดร.เกียรติทวี ชูวงศ์โกมล ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
24. ผศ.ดร.โชติกา หยกทองวัฒนา ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
25. ผศ.ดร.ศศิมนัส อุณจักร์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
26. ผศ.ดร.ชลธิชา ตันติธาดาพิทักษ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
27. ผศ.ดร.ณัฐนันท์ ต.เทียนประเสริฐ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
28. ดร.ราตรี วงศ์ปัญญา ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์

29. ดร.นภชนก มงคลธำรงกุล ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
30. ดร.สุทธิดา ชูเกียรติศิริ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
31. ดร.ชมดาว สินธุวณิชย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
32. ดร.วรรณรัตน์ พรศิริวงศ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
33. ดร.นภพล ภู่พนิตพันธ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
34. ดร.พิชามญชุ์ เกียรติวุฒินนท์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
35. รศ.ดร.สรัญญา วัชโรทัย ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
36. ผศ.ดร.เฉลิมพล สุวรรณภักดี ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
37. ดร.จรัสวัน วารกานนท์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
38. ดร.ณรงค์ วงศ์กันทรากร ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
39. ผศ.ดร.สมพิศ สามิภักดิ์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
40. ผศ.ดร.ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
41. ผศ.ดร.อุไรวรรณ อรัญวาสน์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
42. ผศ.ดร.อัญชนี คูเบอร่า ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
43. ผศ.ดร.ปิยะดา จันทวงศ์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
44. ผศ.ดร.ครศร ศรีกุลนาถ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
45. ดร.อัญชลี ศิริขจรกิจ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
46. รศ.ประสิทธิ์ พยัคฆพงษ์ ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์
47. ผศ.ดร.อำไพ ทองธีรภาพ ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์
48. ผศ.ดร.ลี่ลี อิงศรีสว่าง ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์
49. ดร.ธิดาพร ศุภภากร ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์
50. รศ.วสกร บัลลังก์โพธิ์ ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
51. รศ.ดร.บุญเสฐียร บุญสูง ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
52. รศ.ดร.วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
53. สพ.ญ.ดร.สร้อยสุดา โชติมานุกูล ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
54. ดร.ปราโมทย์ ชำนาญปืน ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
55. ดร.เมษยะมาศ คงเสมา ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุวิศวกรรม : ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1. รศ.ดร.กาญจนา นาคะภากร คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
2. รศ.ดร.อัจฉรา อัศวรุจิกุลชัย คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
3. ดร.กุลวดี แก่นสันติสุขมงคล คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Editorial Board

Subject : Science and Genetic Engineering (internal)

1. Asst.Prof.Dr.Chatchai Pesee
2. Dr.Juntima Makmul
3. Lecturer Angkana Sripayap
4. Asst.Prof.Dr.Thitinun Karpkird
5. Asst.Prof.Dr.Potjanart Suwanruji
6. Dr.Junya Jettanasen
7. Dr.Paiboon Ngernmeesri
8. Dr.Panitat Hasin
9. Assoc.Prof.Dr.Kooranee Tuitemwong
10. Assoc.Prof.Dr.Vichien Kitpreechavanich
11. Asst.Prof.Dr.Wanna Malaphan
12. Asst.Prof.Dr.Kannika Duangmal
13. Asst.Prof.Dr.Nantana Srisuk
14. Asst.Prof.Dr.Ingorn Kimkong
15. Asst.Prof.Dr.Savitr Trakulnaleamsai
16. Dr.Yaovapa Aramsirirujiwet
17. Dr.Churapa Teerapatsakul
18. Dr.Saeree Jareonkitmongkol
19. Dr.Patcharaporn Siwayaprahm
20. Dr.Chetsada Pothiratana
21. Dr.Pinsurang Deevong
22. Lecturer Prissana Wiriyajitsomboon
23. Assoc.Prof.Dr.Kiattawee Choowongkomon
24. Asst.Prof.Dr.Chotika Yokthongwattana
25. Asst.Prof.Dr.Sasimanas Unajak
26. Asst.Prof.Dr.Chonticha Tantitadapitak
27. Asst.Prof.Dr.Nattanan T.Thienprasert
28. Dr.Ratree Wongpanya
29. Dr.Napachanok Mongkoldhumrongkul
30. Dr.Suttida Chukiatsiri
31 Dr.Chomdao Sinthuvanich
32. Dr.Wannarat Pornsiriwong.
33. Dr.Napapol Poopanitpan
34. Dr.Pichamon Kiatwuthinon
35. Assoc.Prof.Dr.Srunya Vajrodaya
36. Asst.Prof.Dr.Chalermpol Suwanphakdee
37. Dr.Jaruswan Warakanont
38. Dr.Narong Wongkantrakorn
39. Asst.Prof.Dr.Sompid Samipak
40. Asst.Prof.Dr.Chatchawan Jantrasuriyarat
41. Asst.Prof.Dr.Uraiwan Arunyawat
42. Asst.Prof.Dr.Anchanee Kubera
43. Asst.Prof.Dr.Piyada Juntawong
44. Asst.Prof.Dr.Kornsorn Srikulnath
45. Dr.Anchalee Sirikhachornkit
46. Assoc.Prof.Prasit Payakkapong
47. Asst.Prof.Dr.Ampai Tongteeraparp
48. Asst.Prof.Dr.Lily Ingsrisawang
49. Dr.Thidaporn Supapakorn
50. Assoc.Prof.Vasakorn Bullangpoti
51. Assoc.Prof.Dr.Boonsatien Boonsoong
52. Assoc.Prof.Dr.Watchariya Purivirojkul
53. Dr.Sroisuda Chotimanukul
54. Dr.Pramote Chumnanpuen
55. Dr.Mesayamas Kongsema

Subject : Science and Genetic Engineering (external)

1. Assoc.Prof.Dr.Kanchana Nakhapakorn
2. Asst.Prof.Dr.Achara Ussawarujikulchai
3. Dr.Kulvadee Kansuntisukmongkol

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์: ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1.	ผศ.ดร.ภัทรนันท์ ทักขนนท์	ภาควิชานวัตกรรมอาคาร คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์
2.	ดร.ศิรเดช สุริต	ภาควิชานวัตกรรมอาคาร คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์
3.	ดร.พิธาน ทองศาโรจน์	ภาควิชานวัตกรรมอาคาร คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์
4.	ผศ.ดร.นวลวรรณ ทวยเจริญ	ภาควิชานวัตกรรมอาคาร คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์
5.	รศ.ดร.ชุลีรัตน์ จรัสกุลชัย	ภาควิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์
6.	รศ.ดร.รังสินี โสธรวิทย์	ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
7.	ดร.กอบศักดิ์ กาญจนาพงศ์กุล	ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
8.	ผศ.อมรเดช พุทธิพิพัฒน์ขจร	ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
9.	ดร.วงศ์ผกา วงศ์รัตน์	ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
10.	รศ.ดร.เชาว์ อินทรประสิทธิ์	ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
11.	ดร.กฤษณันท์ มะลิทอง	ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
12.	ดร.อาทิตย์ พวงสมบัติ	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
13.	รศ.ดร.อนุพันธ์ เทอดวงศ์วรกุล	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
14.	ดร.วันรัฐ อับดุลลากาซิม	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
15.	ดร.ศิริศักดิ์ เชิดเกียรติพล	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
16.	ดร.สิรินาฏ น้อยพิทักษ์	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
17.	ผศ.ดร.วัชรพล ชยประเสริฐ	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
18.	ดร.ภวินท์ ธัญภัทรานนท์	ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
19.	รศ.ดร.อรรถศักดิ์ จารีย์	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
20.	รศ.ดร.เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
21.	ผศ.ดร.ประพจน์ ขุนทอง	ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์
22.	รศ.ชวลิต กิตติชัยการ	ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์
23.	ผศ.ดร.วิชัย ศิวะโกศิษฐ	ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์
24.	รศ.ดร.เกียรติไกร อายุวัฒน์	ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์
25.	ผศ.ดร.สิตางศ์ พิลัยหล้า	ภาควิชาวิศวกรรมทรัพยากรน้ำ คณะวิศวกรรมศาสตร์
26.	ผศ.ดร.สมปรารถนา ฤทธิ์พริ้ง	ภาควิชาวิศวกรรมทรัพยากรน้ำ คณะวิศวกรรมศาสตร์
27.	รศ.ชัยวัฒน์ ขยันการนาวี	ภาควิชาวิศวกรรมทรัพยากรน้ำ คณะวิศวกรรมศาสตร์
28.	ดร.เชาวลิต มิตรสันติสุข	ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์

29. รศ.ดร.เกียรติยุทธ กวีญาณ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์
30. ดร.สัญชัย เดชานุภาพฤทธา ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์
31. ผศ.ดร.ดุลย์พิเชษฐ์ ฤกษ์ปรีดาพงศ์ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์
32. ดร.กาญจนพันธุ์ สุขวิชชัย ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์
33. ผศ.ดร.สุภัทรชัย ชมพันธุ์ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ศรีราชา
34. ผศ.ดร.สาริณี อุ่ยตระกูล ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ศรีราชา
35. รศ.ดร.สุวิมล สัจจวาณิชย์ ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์
36. รศ.ดร.สันติ ชินานุวัติวงศ์ ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์
37. ผศ.ดร.สโรช บุญศิริพันธ์ ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์
38. รศ.ดร.วันชัย ยอดสุดใจ ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์
39. รศ.ดร.ปิยะ โชติกไกร ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์
40. ดร.จักรพันธ์ เทือกต๊ะ ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์
41. ผศ.ดร.กิจพัฒน์ ภู่วรวรรณ ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์
42. ผศ.ดร.ราชธีร์ เตชไพศาลเจริญกิจ ภาควิชาวิศวกรรมวัสดุ คณะวิศวกรรมศาสตร์
43. ดร.รติพร มั่นพรหม ภาควิชาวิศวกรรมวัสดุ คณะวิศวกรรมศาสตร์
44. รศ.ดร.วิไล เจียมไชยศรี ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์
45. รศ.ดร.วินัย เลียงเจริญสิทธิ์ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์
46. รศ.ดร.ฉัตรดนัย จิรเดชะ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์
47. ผศ.ดร.สุวิชภรณ์ วิชกูล ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์
48. ดร.ไอลดา ตรีรัตน์ตระกูล ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์
49. รศ.ดร.รุ่งรัตน์ ภิสัชเพ็ญ ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์
50. ดร.ชัชพันธ์ ขำญาติ ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์
51. ผศ.ดร.จักรพันธ์ อร่ามพงศ์พันธ์ ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์
52. ดร.นราภรณ์ เภาประเสริฐ ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์
53. ศ.อรศิริ ปาณินท์ ภาควิชาสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์
54. ดร.อรช กระแสอินทร์ ภาควิชาสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์
55. ผศ.ดร.ณรงพน ไล่ประกอบทรัพย์ ภาควิชาสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์
56. อาจารย์นนทวัฒน์ จันทร์เจริญ ศูนย์นิติสารสนเทศ คณะวิศวกรรมศาสตร์
57. รศ.ดร.ประเทือง อุษาบริสุทธิ์ สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน

สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์: ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1.	อาจารย์รักพงศ์ สายแก้ว	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์
2.	ผศ.ดร.ดัชกรณ์ ตันเจริญ	คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันการจัดการปัญญาภิวัฒน์
3.	ดร.อัฐวุฒิ จ่างวิทยา	คณะศิลปะและการออกแบบ มหาวิทยาลัยรังสิต
4.	ดร.เทอดพงศ์ ศรีสุขพันธุ์	คณะสาธารณสุขศาสตร์และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ วิทยาเขตบางพลี
5.	รศ.ดร.เอกชัย จันทสาโร	บัณฑิตวิทยาลัย วิศวกรรมศาสตร์นานาชาติสิรินธร ไทย-เยอรมัน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
6.	ดร.ปนันท์ โพธิพันธุ์ทอง	บัณฑิตศึกษาเทคโนโลยีโลจิสติกส์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
7.	ดร.ดนุชา ประเสริฐสม	ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
8.	รศ.ดร.ณชล ไชยรัตนะ	ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
9.	รศ.ดร.กฤติยา เลิศโภคะสมบัติ	ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
10.	ผศ.ดร.วสันต์ ธีระเจตกูล	ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
11.	รศ.ดร.สุธา ขาวเธียร	ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
12.	ดร.วนัฐฌพงษ์ คงแก้ว	ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่
13.	ศ.ดร.วีระ อินพันทัง	ภาควิชาสถาปัตยกรรม คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
14.	น.ท.รศ.ดร.โอฐศิลป์ นิลุบล	โรงเรียนนายเรืออากาศ นวมินทกษัตริยาธิราช
15.	ดร.อัญชลี มโนนุกุล	ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC)
16.	ผศ.ดร.ชาคริต สุวรรณจำรัส	สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
17.	ผศ.ดร.มาฤดี ผ่องพิพัฒน์พงศ์	สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
18.	รศ.ดร.สร้อยดาว วินิจนันทรัตน์	สายวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
19.	ดร.ณัฐวัฒน์ หงส์กาญจนกุล	สำนักงานพัฒนาเทคโนโลยีอวกาศและภูมิสารสนเทศ (GISTDA)

Editorial Board

Subject: Architecture and Engineering (internal)

1. Asst.Prof.Dr.Pattaranan Takkanon
2. Dr.Siradech Surit
3. Dr.Pithan Thongsarojana
4. Asst.Prof.Dr.Nuanwan Tuaycharoen
5. Assoc.Prof.Dr.Chuleerat Jaruskulchai
6. Assoc.Prof.Dr.Rungsinee Sothornvit
7. Dr.Kobsak Kanjanapongkul
8. Asst.Prof.Amorndej Puttipipatkajorn
9. Dr.Wongphaka Wongrat
10. Assoc.Prof.Dr.Chouw Inprasit
11. Dr.Kritsanun Malithong
12. Dr.Artit Paungsombat
13. Assoc.Prof.Dr.Anupun Terdwongworakul
14. Dr.Wanrat Abdullakasim
15. Dr.Silisak Chertkiattipol
16. Dr.Sirinad Noypitak
17. Asst.Prof.Dr.Watcharapol Chayaprasert
18. Dr.Pawin Thanpattranon
19. Assoc.Prof.Dr.Attasak Jaree
20. Assoc.Prof.Dr.Penjit Srinophakun
21. Asst.Prof.Dr.Prapot Kunthong
22. Assoc.Prof.Chawalit Kittichaikarn
23. Asst.Prof.Dr.Wichai Siwakosit
24. Assoc.Prof.Dr.Kiatkrai Ayuwat
25. Asst.Prof.Dr.Sitang Pilailar
26. Asst.Prof.Dr.Sompratana Ritphring
27. Assoc.Prof.Chaiwat Kayankannavy
28. Dr.Chowarit Mitsantisuk
29. Assoc.Prof.Dr.Kiatiyuth Kveeyarn
30. Dr.Sanchai Dechanupaprittha
31. Asst.Prof.Dr.Dulpichet Rerkpreedapong
32. Dr.Kanjanapan Sukvichai
33. Asst.Prof.Dr.Suphattharachai Chomphan
34. Asst.Prof.Dr.Sarinee Ouitrakul
35. Assoc.Prof.Dr.Suvimol Sajavanit
36. Assoc.Prof.Dr.Santi Chinanuwatwong
37. Asst.Prof.Dr.Saroch Boonsiripant
38. Assoc.Prof.Dr.Wanchai Yodsudjai
39. Assoc.Prof.Dr.Piya Chotickai
40. Dr.Chakrapan Tuakta
41. Asst.Prof.Dr.Kitjapat Phuvoravan
42. Asst.Prof.Dr.Ratchatee Techapiesancharoenkij
43. Dr.Ratiporn Munprom
44. Assoc.Prof.Dr.Wilai Chiemchaisri
45. Assoc.Prof.Dr.Winai Liengcharernsit
46. Assoc.Prof.Dr.Chatdanai Jiradecha
47. Asst.Prof.Dr.Suwitchaporn Witchakul
48. Dr.Ailada Treerattrakoon
49. Assoc.Prof.Dr.Roongrat Pisuchpen
50. Dr.Chatpan Khamyat
51. Asst.Prof.Dr.Chuckaphun Arampongphun
52. Dr.Naraphorn Paoprasert
53. Prof.Orsiri Panin
54. Dr.Aracha Krasae-in
55. Asst.Prof.Dr.Narongpon Laiprakobsup
56. Lecturer Nontawat Junjareon
57. Assoc.Prof.Prathuang Usaborisut

Editorial Board

Subject: Architecture and Engineering (external)

1. Lecturer Rakpong Saikaew
2. Asst.Prof.Dr.Datchakorn Tancharoen
3. Dr.Arttawut Changvittaya
4. Dr.Thirdpong Srisukphun
5. Assoc.Prof.Dr.Ekachai Juntasaro
6. Dr.Panan Potipantong
7. Dr.Danucha Prasertsom
8. Assoc.Prof.Dr.Nachol Chaiyaratana
9. Assoc.Prof.Dr.Krittiya Lertpokasombat
10. Asst.Prof.Dr.Wasan Teerajetkul
11. Assoc.Prof.Dr.Sutha Khaodhiar
12. Dr.Wanatchapong Kongkaew
13. Prof.Dr.Vira Inpuntung
14. Wg.Cdr.Assoc.Prof.Dr.Otsin Nilubol
15. Dr.Anchalee Manonukul
16. Asst.Prof.Dr.Chakrit Suvanjumrat
17. Asst.Prof.Dr.Maradee Phongpipatpong
18. Assoc.Prof.Dr.Soydoa Vinitnantharat
19. Dr.Natthawat Hongkarnjanakul

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร : ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1.	ดร.ศรันยา คุณะดิลก	ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร
2.	ดร.ศิริพร เรียบร้อย	ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร
3.	รศ.ดร.รังรอง ยกส้าน	ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุและวัสดุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
4.	ผศ.ดร.อำพร เสน่ห์	ภาควิชาเทคโนโลยีการบรรจุและวัสดุ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
5.	ดร.กิติพงษ์ รัตนาภรณ์	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
6.	ดร.ธนัท อ้วนอ่อน	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
7.	ผศ.ดร.ประมุข ภระกูลสุขสถิตย์	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
8.	ดร.มัสลิน นาคไพจิตร	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
9.	รศ.ดร.สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
10.	ผศ.ดร.สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
11.	ดร.สุมัลลิกา โมรากุล	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
12.	ดร.อุลัยวรรณ์ วิทยเกียรติ	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
13.	ดร.จุมพล วรสายัณห์	ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
14.	รศ.ดร.พรธิภา องค์คุณารักษ์	ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
15.	ดร.อภิชญา ลีลาวณิชกุล	ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
16.	ดร.อัจฉรา เกษสุวรรณ	ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
17.	รศ.ดร.กมลวรรณ แจ้งชัด	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
18.	ผศ.ดร.ทานตะวัน พิรักษ์	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
19.	ดร.เทพกัญญา หาญศีลวัต	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
20.	รศ.ดร.นันทวัน เทอดไทย	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
21.	ผศ.ดร.ปิติพร ฤทธิเรืองเดช	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
22.	ผศ.ดร.พิสิฏฐ์ ธรรมวิถี	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
23.	รศ.ดร.รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
24.	ดร.วรรณสวัสดิ์ รัฐพิทักษ์สันติ	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
25.	ผศ.ดร.วิษฐิดา จันทราพรชัย	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
26.	ดร.ศิวาพร โอเจริญ	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
27.	รศ.ดร.สุนทรี สุวรรณสิชณน์	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
28.	รศ.ดร.เสาวณีย์ เลิศวรสิริกุล	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

29. รศ.ดร.หทัยรัตน์ ริมคีรี ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
30. ผศ.ดร.กรทิพย์ วัชรปัญญาวงศ์ เตชะเมธีกุล ภาควิชาวิทยาการสิ่งทอ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
31. ผศ.ดร.จันทร์ทิพย์ เศรษฐยานนท์ ภาควิชาวิทยาการสิ่งทอ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
32. ผศ.ดร.อโนทัย ชลชาติภิญโญ ภาควิชาวิทยาการสิ่งทอ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
33. ดร.กนกรัตน์ ลิมปิโสภณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
34. ดร.กนิฐพร วังใน ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
35. ดร.กฤษกมล ณ จอม ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
36. ผศ.ดร.จิตศิริ ราชตนะพันธุ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
37. รศ.ดร.โชคชัย ธีรกุลเกียรติ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
38. รศ.ดร.ปริศนา สุวรรณาภรณ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
39. รศ.ดร.ปาริฉัตร หงสประภาส ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
40. ดร.ปิติยา กมลพัฒนะ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
41. ดร.วศะพร จันทร์พุฒ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
42. รศ.ดร.วีรเชษฐ์ จิตตาณิชย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
43. ดร.สาวิตรี รัตนสุมาวงศ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
44. ผศ.ดร.สิริชัย ส่งเสริมพงษ์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
45. ดร.สุดาทิพย์ แซ่ตั้น ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร

46.	ผศ.ดร.อุทัย กลิ่นเกษร	ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
47.	ผศ.ดร.พงษ์เทพ วิไลพันธ์	ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง
48.	ดร.พิลาณี ไวถนอมสัตย์	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
49.	ดร.สุคันธรส ธาดากิตติสาร	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
50.	ดร.อันธิกา บุญแดง	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
51.	ดร.อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
52.	ดร.ดาลัด ศิริวัน	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
53.	ดร.เนตรนภิส วัฒนสุชาติ	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
54.	ดร.วราภรณ์ ประเสริฐ	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
55.	ดร.สิรินันท์ ชมภูแสง	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
56.	ดร.สุมิตรา บุญบำรุง	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
57.	ดร.หทัยชนก กันตรง	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
58.	น.ส.อภิญญา จุฑางกูร	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
59.	ดร.อรไท สวัสดิชัยกุล	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

สาขาอุตสาหกรรมเกษตร: ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1.	รศ.ดร.กัลยา เลาหสงคราม	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (เกษียณอายุ)
2.	ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3.	ผศ.ดร.เกียรติศักดิ์ ดวงมาลย์	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4.	รศ.ดร.จิรารัตน์ อนันตกูล	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5.	ผศ.ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6.	ผศ.ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
7.	ศ.ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
8.	ผศ.ดร.พาสวดี ประทีปะเสน	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (เกษียณอายุ)
9.	ผศ.ดร.รมณี สงวนดีกุล	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (เกษียณอายุ)
10.	ดร.ศิริมา พ่วงประพันธ์	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
11.	รศ.ดร.สุเมธ ตันตระเธียร	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
12.	รศ.ดร.สีหนาท ประสงค์สุข	ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
13.	รศ.มยุรี จัยวัฒน์	ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เกษียณอายุ)
14.	รศ.ดร.สุนีย์ นิธิสินประเสริฐ	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เกษียณอายุ)
15.	รศ.ดร.เพ็ญขวัญ ชมปรีดา	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เกษียณอายุ)
16.	รศ.ดร.สุคนธ์ชื่น ศรีงาม	ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เกษียณอายุ)
17.	ดร.วิภาภรณ์ ณ ถลาง	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เกษียณอายุ)
18.	ผศ.ดร.คณิต วิชิตพันธุ์	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
19.	ผศ.สุกานดา วิชิตพันธุ์	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
20.	ผศ.ดร.วิชัย ลีลาวัชรมาศ	ศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

21.	รศ.ดร.อภิรักษ์ เพียรมงคล	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
22.	รศ.ดร.นิรมล อุตมอ่าง	ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
23.	ดร.พรพิมล มะยะเฉียว	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
24.	ดร.รัทรดา สมพงษ์	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
25.	ผศ.ดร.วิไลลักษณ์ กล่อมพงษ์	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
26.	รศ.ดร.สรรพสิทธิ์ กล่อมเกล้า	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
27.	ศ.ดร.สักกมน เทพหัสดิน ณ อยุธยา	ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
28.	รศ.ดร.อัมพวัน ตั้นสกุล	ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
29.	ผศ.ดร.ชุมพล มณฑาทิพย์กุล	บัณฑิตวิทยาลัยการจัดการและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
30.	รศ.ดร.ธนัญญา วสุศรี	บัณฑิตวิทยาลัยการจัดการและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
31.	รศ.ดร.ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์	ศูนย์ความปลอดภัยอาหาร สำนักวิจัยและบริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
32.	ผศ.ดร.กมลทิพย์ สัจจาอนันตกุล	ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
33.	ผศ.ดร.รัชนี เจริญ	ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตปราจีนบุรี
34.	ผศ.ดร.วรรณทิชา เศวตบวร	ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตรและการจัดการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตปราจีนบุรี

35. ผศ.ดร.ดิสนีย์ สิงหวรเศรษฐ์ — คณะอุตสาหกรรมเกษตรสิ่งทอ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ
36. ผศ.ดร.รัตนพล มงคลรัตนาสิทธิ์ — สาขาวิชาเทคโนโลยีเคมีสิ่งทอ คณะอุตสาหกรรมสิ่งทอและออกแบบแฟชั่น มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร
37. ผศ.ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก — สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
38. ผศ.ดร.ศิวัฒ ไทยอุดม — สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
39. รศ.ดร.สอาด ริยะจันทร์ — ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
40. รศ.ดร.วรางคณา สมพงษ์ — ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
41. ดร.สุธีรา วัฒนกุล — ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
42. ดร.วิไลลักษณ์ ชัยสิทธิ์ — ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
43. ดร.อุทัยวรรณ สุทธิศันสนีย์ — สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
44. ดร.จารุภัทร ลือชา — สาขาวิชาอุตสาหกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตกาญจนบุรี
45. ผศ.ดร.เอกชัย ชูเกียรติโรจน์ — สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
46. ดร.ปิยาภรณ์ เชื่อมชัยตระกูล — สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
47. ผศ.ดร.สาโรจน์ รอดคืน — สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
48. ดร.สิริรุ่ง วงศ์สกุล — สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
49. ผศ.ดร.สุภาณี ด่านวิริยะกุล — สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม
50. รศ.อรไท สุขเจริญ — สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

51.	รศ.ดร.มนัส ชัยจันทร์	สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
52.	ผศ.ดร.วรวรรณ พันพิพัฒน์	สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
53.	ผศ.ดร.บุศรินทร์ เฆษะปะบุตร	ภาควิชาวิทยาการและวิศวกรรมวัสดุ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
54.	รศ.มาณพ ปานะโปย	ภาควิชาวิทยาการและวิศวกรรมวัสดุ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
55.	รศ.ดร.ศุภศิลป์ มณีรัตน์	ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
56.	รศ.ดร.วรัญญู ศรีเดช	ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
57.	ผศ.ดร.ศุภชัย ภิสัชเพ็ญ	ภาควิชาเทคโนโลยีวัสดุภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
58.	ผศ.ดร.ปิยรัตน์ ศิริวงศ์ไพศาล	ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
59.	ผศ.ดร.พิทยา อดุลยธรรม	ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
60.	ผศ.ดร.มุทิตา มีนุ่น	ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
61.	ผศ.ดร.สันทัด วิเชียรโชติ	บัณฑิตวิทยาลัยสหวิทยาการผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารสุขภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
62.	ผศ.ดร.พิชญอร ไหมสุทธิสกุล	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย
63.	ผศ.ดร.เอกสิทธิ์ อ่อนสอาด	สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
64.	รศ.ดร.วลัยลักษณ์ อัตธีรวงศ์	คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
65.	รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
66.	ดร.เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ	ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

67. นายสมชาย ทรงศักดิ์เดชา บริษัท ธนูลักษณ์ จำกัด (มหาชน)

Editorial Board

Subject : Agro-Industry (internal)

1. Dr.Sarunya Khunadilok
2. Dr.Siriporn Riebroy
3. Assoc.Prof.Dr.Rangrong Yoksan
4. Asst.Prof.Dr.Amporn Sane
5. Dr.Kittipong Rattanaporn
6. Dr.Tanat Uan-On
7. Asst.Prof.Dr.Pramuk Parakulsuksatid
8. Dr.Massalin Nakphaichit
9. Assoc.Prof.Dr.Sarote Sirisansaneeyakul
10. Asst.Prof.Dr.Suttipun Keawsompong
11. Dr.Sumallika Morakul
12. Dr.Ulaiwan Withayagiat
13. Dr.Jumpol Vorasayun
14. Assoc.Prof.Dr.Pornthipa Ongkunaruk
15. Dr.Apichaya Lilavanichakul
16. Dr.Ajchara Kessuvan
17. Assoc.Prof.Dr.Kamolwan Jangchud
18. Asst.Prof.Dr.Tantawan Pirak
19. Dr.Thepkunya Harnsilawat
20. Assoc.Prof.Dr.Nantawan Therdthai
21. Asst.Prof.Dr.Pitiporn Ritthiruangdej
22. Asst.Prof.Dr.Pisit Dhamvithee
23. Assoc.Prof.Dr.Rungnaphar Pongsawatmanit
24. Dr.Wannasawat Ratphitagsanti
25. Asst.Prof.Dr.Withida Chantrapornchai
26. Dr.Siwaporn O'Charoen
27. Assoc.Prof.Dr.Suntaree Suwonsichon
28. Assoc.Prof.Dr.Saowanee Lertworasirikul
29. Assoc.Prof.Dr.Hathairat Rimkeeree
30. Asst.Prof.Dr.Kornthip Watcharapanyawong Techametheekul
31. Asst.Prof.Dr.Jantip Setthayanond
32. Asst.Prof.Dr.Anothai Cholachatpinyo
33. Dr.Kanokrat Limpisophon
34. Dr.Kanithaporn Vangnai
35. Dr.Kriskamol Na Jom
36. Asst.Prof.Dr.Chitsiri Rachtanapun
37. Assoc.Prof.Dr.Chockchai Theerakulkait
38. Assoc.Prof.Dr.Prisana Suwannaporn
39. Assoc.Prof.Dr.Parichat Hongsprabhas
40. Dr.Pitiya Kamonpatana
41. Dr.Wasaporn Chanput
42. Assoc.Prof.Dr.Weerachet Jittanit
43. Dr.Savitree Ratanasumawong
44. Asst.Prof.Dr.Sirichai Songsermpong
45. Dr.Sudathip Sae-tan
46. Asst.Prof.Dr.Utai Klinkesorn
47. Asst.Prof.Dr.Pongtep Wilaipun
48. Dr.Pilanee Vaithanomsat
49. Dr.Sukuntaros Tadakittisarn
50. Dr.Antika Boondaeng

51. Dr.Udomlak Sukatta
52. Dr.Dalad Siriwan
53. Dr.Nednapis Vatanasuchart
54. Dr.Waraporn Prasert
55. Dr.Sirinan Shompoosang
56. Dr.Sumitra Boonbumrung
57. Dr.Hataichanok Kantrong
58. Miss Apinya Chudhangkura
59. Dr.Orathai Sawatdichaikul

Subject : Agro-Industry (external)

1. Assoc.Prof.Dr.Kalaya Laohasongkram
2. Dr.Kitipong Assatarakul
3. Asst.Prof.Dr.Kiattisak Duangmal
4. Assoc.Prof.Dr.Jirarat Anuntagool
5. Asst.Prof.Dr.Chaleeda Borompichaichartkul
6. Asst.Prof.Dr.Thanachan Mahawanich
7. Prof.Dr.Pranee Anprung
8. Asst.Prof.Dr.Pasawadee Pradipasena
9. Asst.Prof.Dr.Romanee Sanguandeekul
10. Dr.Sirima Puangpraphant
11. Assoc.Prof.Dr.Sumate Tantratian
12. Assoc.Prof.Dr.Sehanat Prasongsuk
13. Assoc.Prof.Mayuree Chaiyawat
14. Assoc.Prof.Dr.Sunee Nitisinprasert
15. Assoc.Prof.Dr.Penkwan Chompreeda
16. Assoc.Prof.Dr.Sukoncheun Sringam
17. Dr.Vipaporn Na Thalang
18. Asst.Prof.Dr.Kanit Vichitphan
19. Asst.Prof.Sukanda Vichitphan
20. Asst.Prof.Dr.Vichai Leelavatcharamas
21. Assoc.Prof.Dr.Aphirak Phianmongkbol
22. Assoc.Prof.Dr.Niramon Utama-ang
23. Dr.Pornpimon Mayachiew
24. Dr.Rutrada Sompong
25. Asst.Prof.Dr.Vilailak Klompong
26. Assoc.Prof.Dr.Sappasith Klomklao
27. Prof.Dr.Sakamon Devahastin
28. Assoc.Prof.Dr.Ampawan Tansakul
29. Asst.Prof.Dr.Chumpol Monthatipkul
30. Assoc.Prof.Dr.Thananya Wasusri
31. Assoc.Prof.Dr.Pravate Tuitemwong
32. Asst.Prof.Dr.Kamontip Sajjaanantakul
33. Asst.Prof.Dr.Ratchanee Charoen
34. Asst.Prof.Dr.Wanticha Savedboworn
35. Asst.Prof.Dr.Disney Singhawuarasate
36. Asst.Prof.Dr.Rattanaphol Mongkholrattanasit
37. Asst.Prof.Dr.Piyawan Gasaluck
38. Asst.Prof.Dr.Siwatt Thaiudom
39. Assoc.Prof.Dr.Sa-Ad Riyajan
40. Assoc.Prof.Dr.Warangkana Sompongse
41. Dr.Suteera Vatthanakul
42. Dr.Wilailuk Chaiyasit
43. Dr.Uthaiwan Suttisansanee
44. Dr.Jarupat Luecha
45. Asst.Prof.Dr.Ekachai Chukeatirote
46. Dr.Piyaporn Chueamchaitrakun
47. Asst.Prof.Dr.Saroat Rawdkuen
48. Dr.Sirirung Wongsakul

49. Asst.Prof.Dr.Supanee Danviriyakul
50. Assoc.Prof.Oratai Sukcharoen
51. Assoc.Prof.Dr.Manat Chaijan
52. Asst.Prof.Dr.Worawan Punpipat
53. Asst.Prof.Dr.Bussarin Ksapabutr
54. Assoc.Prof.Manop Panapoy
55. Assoc.Prof.Dr.Suppasil Maneerat
56. Assoc.Prof.Dr.Waranyou Sridach
57. Asst.Prof.Dr.Supachai Pisuchpen
58. Asst.Prof.Dr.Piyarat Sirivongpaisal
59. Asst.Prof.Dr.Pitaya Adulyatham
60. Asst.Prof.Dr.Mutita Meenune
61. Asst.Prof.Dr.Santad Wichienchot
62. Asst.Prof.Dr.Pitchaon Maisuthisakul
63. Asst.Prof.Dr.Ekasit Onsaard
64. Assoc.Prof.Dr.Walailak Atthirawong
65. Assoc.Prof.Dr.Adisorn Swetwiwathana
66. Dr.Kuakoon Piyachomkwan
67. Mr.Somchai Songsakdecha

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม: ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1.	ศ.ดร.สาวิตรี ลิ่มทอง	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
2.	รศ.ดร.สิทธิชัย ตันธนะสฤษดิ์	ภาควิชาอนุรักษวิทยา คณะวนศาสตร์
3.	รศ.ดร.พัฒนา อนุรักษ์พงศธร	ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
4.	รศ.ดร.ภัทรา เพ่งธรรมกีรติ	ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
5.	รศ.ดร.มานพ เจริญไชยตระกูล	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
6.	รศ.ดร.วราห์ เทพาหุดี	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
7.	รศ.ดร.วินัย เลียงเจริญสิทธิ์	ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์
8.	รศ.ดร.วิพักตร์ จินตนา	ภาควิชาการจัดการป่าไม้ คณะวนศาสตร์
9.	รศ.ดร.สมศักดิ์ เพรียบพร้อม	ภาควิชาเศรษฐศาสตร์เกษตรและทรัพยากร คณะเศรษฐศาสตร์
10.	รศ.ดร.สันติ สุขสอาด	ภาควิชาการจัดการป่าไม้ คณะวนศาสตร์
11.	รศ.ดร.เอกสิทธิ์ โฆสิตสกุลชัย	ภาควิชาวิศวกรรมชลประทาน คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน
12.	รศ.คณิตา ตังคณารุรักษ์	ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
13.	ผศ.ดร.กาญจน์เขจร ชูชีพ	ภาควิชาการจัดากรป่าไม้ คณะวนศาสตร์
14.	ผศ.ดร.จีมา ศรลัมพ์	ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์
15.	ผศ.ดร.ไตรรัตน์ เนียมสุวรรณ	ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์
16.	ผศ.ดร.นันทิยา หาญศุภลักษณ์	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
17.	ผศ.ดร.ประไพพิศ ชัยรัตนมโนกร	ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
18.	ผศ.ดร.พิชิต สมบูรณ์	ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์
19.	ผศ.ดร.เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
20.	ผศ.ดร.รัชนี โพธิแท่น	ภาควิชาการจัดการป่าไม้ คณะวนศาสตร์
21.	ผศ.ดร.รุ่งเรือง พูลศิริ	ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์
22.	ผศ.ดร.วิชาญ เอียดทอง	ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์
23.	ผศ.ดร.วิวัฒน์ หาญวงศ์จิรวัฒน์	ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์
24.	ผศ.ดร.ศิริกาญจนา ทองมี	ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์
25.	ผศ.ดร.สคาร ทีจันทึก	ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์
26.	ผศ.ดร.สมนิมิตร พุกงาม	ภาควิชาอนุรักษ์วิทยา คณะวนศาสตร์
27.	ผศ.ดร.สราวุธ สังข์แก้ว	ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์
28.	ผศ.ดร.สุจิณณา กรรณสูต	ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม

29. ผศ.ดร.สุรัตน์ บัวเลิศ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
30. ผศ.ชัชชัย ตันตสิรินทร์ ภาควิชาอนุรักษวิทยา คณะวนศาสตร์
31. ดร.กิตติชัย ดวงมาลย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
32. ดร.ทัศนีย์ บุญประคอง ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
33. ดร.ธารรัตน์ แก้วกระจ่าง ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์
34. ดร.นพวรรณ เสมวิมล ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
35. ดร.นฤมล แก้วจำปา ภาควิชาอนุรักษวิทยา คณะวนศาสตร์
36. ดร.นิสา เหล็กสูงเนิน ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์
37. ดร.ปิยพงษ์ ทองดีนอก ภาควิชาอนุรักษ์วิทยา คณะวนศาสตร์
38. ดร.พงษ์ศักดิ์ เฮงนิรันดร์ ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์
39. ดร.วรัณทัต ดุลยพฤกษ์ ภาควิชาการจัดการประมง คณะประมง
40. ดร.วิเชียร ยงมานิตชัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
41. ดร.วีนัส ต่วนเครือ ภาควิชาอนุรักษวิทยา คณะวนศาสตร์
42. ดร.สุพนิดา วินิจฉัย ฝ่ายนาโนเทคโนโลยีและเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
43. ดร.สุภัทรา ถึกสถิตย์ ภาควิชาอนุรักษวิทยา คณะวนศาสตร์
44. ดร.สุรินทร์ อ้นพรม ภาควิชาการจัดการป่าไม้ คณะวนศาสตร์
45. ดร.ออ พรานไชย ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์
46. ดร.อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ ฝ่ายเทคโนโลยีชีวมวลและพลังงานชีวภาพ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
47. อาจารย์พฤทธิ์ ราชรักษ์ ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์
48. อาจารย์ยุทธพงษ์ คีรีมังคละ ภาควิชาอนุรักษวิทยา คณะวนศาสตร์

สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม: ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1. ศ.ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร นักวิชาการอิสระ
2. ผศ.ดร.บุญวงศ์ ไทยอุตส่าห์ นักวิชาการอิสระ

Editorial Board

Subject : Natural Resources and Environment (internal)

1. Prof.Dr.Savitree Limtong
2. Assoc.Prof.Dr.Sittichai Tantanasarit
3. Assoc.Prof.Dr.Patana Anurakpongsatorn
4. Assoc.Prof.Dr.Patthra Pengthamkeerati
5. Assoc.Prof.Dr.Manop Charoenchaitrakool
6. Assoc.Prof.Dr.Wara Taparhudee
7. Assoc.Prof.Dr.Winai Liengcharernsit
8. Assoc.Prof.Dr.Vipak Jintana
9. Assoc.Prof.Dr.Somsak Priebrom
10. Assoc.Prof.Dr.Santi Suksard
11. Assoc.Prof.Dr.Ekasit Kositsakulchai
12. Assoc.Prof.Kanita Tungkananuruk
13. Asst.Prof.Dr.Kankhajane Chuchip
14. Asst.Prof.Dr.Cheema Soralump
15. Asst.Prof.Dr.Trairat Neimsuwan
16. Asst.Prof.Dr.Nanthiya Hansupalak
17. Asst.Prof.Dr.Prapaipid Chairattanamanokorn
18. Asst.Prof.Dr.Phichit Somboon
19. Asst.Prof.Dr.Penjit Srinophakun
20. Asst.Prof.Dr.Rachanee Pothitan
21. Asst.Prof.Dr.Roongreang Poolsiri
22. Asst.Prof.Dr.Wichan Eiadthong
23. Asst.Prof.Dr.Wiwat Hanvongjirawat
24. Asst.Prof.Dr.Sirikanjana Thongmee
25. Asst.Prof.Dr.Sakhan Teejuntuk
26. Asst.Prof.Dr.Somnimirt Pukngam
27. Asst.Prof.Dr.Sarawood Sungkaew
28. Asst.Prof.Dr.Sujinna Karnasuta
29. Asst.Prof.Dr.Surat Bualert
30. Asst.Prof.Chatchai Tantasirin

32. Dr.Kittichai Duanmal

32. Dr.Thassanee Boonprakong
33. Dr.Tarnrat Kaewgrajang
34. Dr.Noppawan Semvimol
35. Dr.Naruemol Kaewjampa
36. Dr.Nisa Leksungnoen
37. Dr.Piyapong Tongdeenok
38. Dr.Pongsak Hengniran
39. Dr.Varunthat Dulyapurk
40. Dr.Wichien Yongmanitchai
41. Dr.Venus Tuankrua
42. Dr.Supanida Winitchai
43. Dr.Supattra Thueksathit
44. Dr.Surin Onprom
45. Dr.Aor Pranchai
46. Dr.Udomlak Sukatta
47. Lecturer Phruet Racharak
48. Lecturer Yutthaphong Kheereemangkla

Subject : Natural Resources and Environment (external)

1. Prof.Dr.Uthairat Na-Nakorn
2. Asst.Prof.Dr.Bunvong Thaiutsa

คณะกรรมการฝ่ายจัดพิมพ์เอกสาร

ดร.นีรนุช ภาชนะทิพย์
ที่ปรึกษา

นายจรูญศักดิ์ สวนสวรรค์
ประธานกรรมการ

นายปัญญา ซื่อตรง
รองประธานกรรมการ

นางสาวลิลา วุฒิวาณิชยกุล
รองประธานกรรมการ

นางสาวปฐมาวดี กุลวัฒนะไพศาล
รองประธานกรรมการ

นางสาวอุทัยวรรณ กิจวิเชียร
กรรมการ

นางวนิดา เสาะด้น
กรรมการ

นางวัชรี ทองทิพย์
กรรมการ

นางสาวยลรวิวรร วิบูรณวงศ์
กรรมการ

นายวิทยา วงษ์เอี่ยม
กรรมการ

นายภานุวัฒน์ บุญชัยกมลอากร
กรรมการ

นางปนัดดา ดีหะริง
กรรมการ

นายวัชระ นิลประพันธ์
กรรมการ

นางสาวจิราวรรณ สุริยกุล ณ อยุธยา
กรรมการ

นางสาวอุดมลักษณ์ พลอยสุวรรณ
กรรมการ

นางสาวธิดา จันทาพูน
กรรมการ

นางสาวสุดธิดา มีสวัสดิ์
กรรมการ

นางสาวศลิษา หวานวาจา
กรรมการและเลขานุการ

นางสาวกฤษฎี ปริวัตรกุล
กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

นางสุฌานี ศรีดี
กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

นางนฤมล อินถา
กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

นางสาวธัญญ์นัฐดา กุนอก
กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

ISBN (e-book) 978-616-278-368-5

ฝ่ายบริการการศึกษา สำนักทะเบียนและประมวลผล
อาคารระพีสาคริก ชั้น 7 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทร. 0 2942 8200 ต่อ 8211-8217 โทรสาร 0 2118 0145 E-mail : annualconference@ku.ac.th
http://www.annualconference.ku.ac.th