



วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal

เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม

ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2568

ISSN 2985-1653 (Online)

Volume 11 No.1 January-June 2025



บทความวิจัย

- การเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณสำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากรในการสำรวจตัวอย่าง
- การสังเคราะห์ การวิเคราะห์คุณลักษณะและประสิทธิภาพการกักเก็บสารของอนุภาคลิโฟโซมสำหรับสารประกอบกลุ่มแคปไซซินอยด์
- Production Planning for Pineapple Canned with Reinforcement Learning
- ระดับสารต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ของสารสกัดไมยราบ
- Optimization and characterization of synthesis of silver nanoparticles from Manihot esculenta Crantz L. petiole and leaf aqueous extracts and its antibacterial activity
- การย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมัก
- พันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาชิวควายในแม่น้ำมูล จังหวัดสุรินทร์

บทความวิชาการ

- สาหร่ายขนาดใหญ่และแนวทางประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร



วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ปีที่ 11 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2568

ISSN 2985-1653 (Online)

วัตถุประสงค์

เพื่อเผยแพร่บทความวิจัยและบทความวิชาการทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประกอบด้วยสาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาศาสตร์กายภาพ วิทยาศาสตร์สุขภาพ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร วิทยาการคอมพิวเตอร์ และเทคโนโลยีสารสนเทศ และอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งเพื่อส่งเสริมให้เกิดความรู้ทางวิชาการแก่สังคมทั่วไป และสนับสนุนให้ คณาจารย์ นักวิชาการ ผู้ทรงคุณวุฒิในด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และนักศึกษาเสนอผลงานวิชาการ

กำหนดเผยแพร่ ปีละ 2 ฉบับ

ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน

ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร.อุไรพรรณ เจนวาณิชยานนท์

อาจารย์ ดร.จำรูญศรี พุ่มเทียน

หัวหน้ากองบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรสิริ วนรัฐกาล

รองหัวหน้ากองบรรณาธิการ

อาจารย์ ดร.สุกัญญา เพชรศิริเวทย์

กองบรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร.บังอร ฉางทรัพย์

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

รองศาสตราจารย์ ดร.ประยูรศักดิ์ เปลื้องผล

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

อาจารย์ ดร.สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

อาจารย์ ดร.ชัชวาลย์ ช่างทำ

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

อาจารย์ ดร.นพมาศ อัครจันทโชติ

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ สุขสำราญ

มหาวิทยาลัยรามคำแหง

ศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ ดร.อรรพรรณ ชัยลภากุล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ ดร.พีรพรรณ ตันอารีย์

มหาวิทยาลัยมหิดล

ศาสตราจารย์ ดร.โกสุม จันทรศิริ

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ศาสตราจารย์ ดร.อรษา สุตเธียรกุล

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ศาสตราจารย์ ดร.วิไล รังสาดทอง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ



รองศาสตราจารย์ ดร.วิมลยุตต์ วรรณสว่าง
รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ภาวนันต์
รองศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์
รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจภรณ์ ประภักดี
รองศาสตราจารย์ ดร.สิริธร สโมสร
รองศาสตราจารย์ ดร.สมฤดี สายหยุดทอง
รองศาสตราจารย์ ดร.มาลินี พงศ์เสวี
รองศาสตราจารย์ ดร.กิตติพงศ์ ไชยนอก
รองศาสตราจารย์ ดร.จันทนา จันทราพรชัย
รองศาสตราจารย์ ดร.สุธาทิพย์ ศิริไพศาลพัฒน์
รองศาสตราจารย์ ดร.วราภา มหากาญจนกุล
รองศาสตราจารย์ ดร.ธิติมา รุกขไชยศิริกุล
รองศาสตราจารย์ ดร.อุดมศิลป์ ปิ่นสุข
รองศาสตราจารย์ นพ.สมพล สงวนรังศิริกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา จูอนุวัฒน์กุล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
สถาบันวิทยสิริเมธี
มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยรามคำแหง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฝ่ายพิสูจน์อักษรและตรวจการเขียนรายการอ้างอิง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ชุ่มบัวทอง
อาจารย์ ดร.นพมาศ อัครจันทโชติ
อาจารย์ยุคลธร สถาปนศิริ

อาจารย์ ดร.สุรีย์พร หอมวิเศษวงศา
อาจารย์ ดร.สุกัญญา เพชรศิริเวทย์
อาจารย์ภัททิศา เลิศจริยพร

ฝ่ายเว็บไซต์และศิลปกรรมวารสาร

คุณอาคม สิมโสม

ฝ่ายการเงิน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรสิริ วนรวิภาล

คุณอริศรา สิทธิพงษ์

ฝ่ายสมาชิการสารและประชาสัมพันธ์

อาจารย์ตติภรณ์ ภัทรานุรักษ์โยธิน

เลขานุการกองบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิการ์ แก้วกิม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์จันทเพ็ญ บางสำรวจ

อาจารย์ยุคลธร สถาปนศิริ

บทความในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติเป็นความคิดเห็นของผู้เขียนโดยเฉพาะ
กองบรรณาธิการไม่มีส่วนกับความคิดเห็นในข้อเขียนเหล่านั้น



รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิกลั่นกรองบทความ (peer review)

ผู้ทรงคุณวุฒิกลั่นกรองบทความภายนอก

ศาสตราจารย์ ดร.บุษบา ยงสมิทธิ์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.เอกสิทธิ์ สมสุข	มหาวิทยาลัยมหิดล
รองศาสตราจารย์ ดร.ภญ.วริศรา ปาริชาติกานนท์	มหาวิทยาลัยมหิดล
รองศาสตราจารย์ ดร.ภญ.วารี ลิ้มปวีกรานต์	มหาวิทยาลัยมหิดล
รองศาสตราจารย์ ดร.ชัชวาล ปานรักษา	มหาวิทยาลัยมหิดล
รองศาสตราจารย์ ดร.วิณา เสี่ยงเพราะ	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
รองศาสตราจารย์ ดร.จิตบรรจง ตั้งปอง	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
รองศาสตราจารย์ ดร.ทรงยศ อนุชปรีดา	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์ ดร.นุชนิภา นันทะวงศ์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์ ดร.ดร.ณัฏฐ์ วัฒนศิริเวช	มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เศรษฐเสถียร	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์ ดร.วิไลลักษณ์ ศิริพรอดุลศิลป์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์ ดร.พรพรม ย่อยสูงเนิน	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.ภทวรรณ แสงนวกิจ	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.อรพินท์ จินตสถาพร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รองศาสตราจารย์ ดร.อริวิชญ์ กุมพล	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา เตือนฉาย	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รองศาสตราจารย์ ดร.วิราวรรณ ชินวิริยสิทธิ์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รองศาสตราจารย์ ดร.ทรงเกียรติ ภัทรปัทมวงศ์	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รองศาสตราจารย์ ดร.มนฤดี ผ่องอักษร	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
รองศาสตราจารย์ ดร.ชานนท์ พรหมสกล	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
รองศาสตราจารย์ ดร.อัชฌา อระวีพร	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
รองศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ โพธิ์ชัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร จำเนียรสวัสดิ์	มหาวิทยาลัยบูรพา
รองศาสตราจารย์ ดร.จุฑามาศ แหนจอน	มหาวิทยาลัยบูรพา
รองศาสตราจารย์ ดร.รัชฎาพร อุ่นศิริไธย	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
รองศาสตราจารย์ ดร.กรรณิการ์ ขำพึงสน	มหาวิทยาลัยพะเยา
รองศาสตราจารย์ ดร.สุริวัลย์ ดวงจิตต์	มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิโรจน์ บุญรัตนกรกิจ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิราพรพรณ สุทรโชติ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรพจน์ กนกกันตพงษ์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุศราภา สิละวัฒน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภารดี แสงวัฒนกุล	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปริญดา เพ็ญโรจน์	มหาวิทยาลัยศิลปากร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนิษฐพร วังโน	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กฤษณมณ ญ จอม
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล เจริญสิทธิ์
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาวิณี อารีศรีสม
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิสมัย วัฒนสิทธิ์
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นราทิพย์ จันสกุล
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชรินทร์ ชัยสุวรรณ
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชฎาพร อุ่นศิริไธย
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกสิทธิ์ ปันรัตน์
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาวิตรี เจริญพานิชกุล
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐจิรา อินตะใส
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณย์ อินทโกสม
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวดี กล่อมวิเศษ
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนากานต์ เกียรติอร่ามกุล
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรัญ แสนราช
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.งามรยุ งามดอกไม้
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาพร มัชฌิมะปุระ
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นุชนาถ แซ่มซ้อย
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เตมีย
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาพร แนวบุตร
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทิมา นาคาพงศ์ อัครวิทย์
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไผ่แดง ขวัญใจ
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวัฒน์ พรหมเด่น
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิญา สวัสดิ์
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พิมพ์ชนก พริกบุญจันทร์
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปุณญาเพชร เดชเพชรธักษ์
 อาจารย์ ดร.วิวิธินท์ สุขมาศ
 ดร.นันทน์ภัส ลายทิพย์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
 มหาวิทยาลัยรามคำแหง
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
 มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
 มหาวิทยาลัยนเรศวร
 มหาวิทยาลัยนเรศวร
 มหาวิทยาลัยนเรศวร
 มหาวิทยาลัยพะเยา
 มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
 มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
 มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ

ผู้ทรงคุณวุฒิกลั่นกรองบทความภายใน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิการ์ แก้วกิม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวรรณา เสมศรี
 อาจารย์ ดร.ศิลา เต็มศิริฤกษ์กุล



บรรณาธิการแถลง

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ในฐานะเป็นสื่อกลางสำคัญในการแลกเปลี่ยนความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รวมทั้งเผยแพร่บทความวิจัย บทความวิชาการของคณาจารย์ นักศึกษา นักวิจัย และนักวิชาการ เพื่อก่อให้เกิดการสร้างสรรค์ผลงานวิชาการทั้งทางด้านการศึกษาและการวิจัยให้ก้าวหน้าต่อไป วารสารฉบับนี้เป็นฉบับที่ 1 ของปี พ.ศ. 2568 (มกราคม - มิถุนายน) ซึ่งเป็นปีที่ 11 ของการดำเนินงานวารสาร มีจำนวนบทความทั้งหมด 8 เรื่อง ประกอบด้วยบทความวิจัย 7 เรื่อง และบทความวิชาการ 1 เรื่อง ซึ่งบทความเหล่านี้ได้ผ่านกระบวนการกลั่นกรองทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิจำนวน 3 ท่าน ในแต่ละสาขาวิชาเรียบร้อยแล้ว เพื่อให้ได้คุณภาพและถูกต้องทางวิชาการ ตามเกณฑ์มาตรฐานของศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Journal Citation Index-TCI) โดยวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ได้ผ่านการรับรองคุณภาพอยู่ในฐานข้อมูล TCI กลุ่มที่ 1 จากการประเมินคุณภาพวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI รอบที่ 5 พ.ศ. 2568-2572

กองบรรณาธิการวารสารจะยังคงรักษาคุณภาพและมาตรฐานของวารสาร โดยปรับปรุงการดำเนินงานของกองบรรณาธิการวารสารในทุกฝ่าย เพื่อให้สอดคล้องกับเกณฑ์การประเมินคุณภาพวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูล TCI โดยเฉพาะอย่างยิ่งบทความทุกบทความจะต้องผ่านการพิจารณาโดยผู้ทรงคุณวุฒิในการประเมินบทความ (Peer-review) ตรวจสอบบทความอย่างน้อย 3 ท่าน โดยไม่อยู่ในสังกัดเดียวกับผู้วิจัย วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ได้รับความร่วมมือเป็นอย่างดีจากผู้ทรงคุณวุฒิที่กรุณาให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์เพื่อควบคุมคุณภาพบทความของวารสารให้ได้มาตรฐานระดับสูง รวมทั้งผู้เขียนบทความในการแก้ไขบทความจนสำเร็จได้ด้วยดี จึงขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

กองบรรณาธิการหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวารสารฉบับนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้อ่านและผู้สนใจ เพื่อนำประโยชน์ไปใช้ในการอ้างอิง พัฒนางานวิจัย ตลอดจนสามารถนำมาปรับปรุงเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวัน ทั้งนี้กองบรรณาธิการใคร่ขอเชิญชวนท่านผู้สนใจส่งบทความมาตีพิมพ์ที่วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โดยสามารถส่งต้นฉบับตามรายละเอียดในท้ายเล่มนี้ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะได้รับความอนุเคราะห์จากท่าน ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรสิริ วนรัฐีกาล

บรรณาธิการวารสาร



สารบัญ

บทความวิชาการ	หน้า
● สาหร่ายขนาดใหญ่และแนวทางประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร..... Macroalgae and food products application กิตติยา ตรีเย็น พรหมมน แจ่มสกุล และ วนิตา ปานอุทัย	1
บทความวิจัย	
● การเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณสำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร..... ในการสำรวจตัวอย่าง An Enhanced the Efficiency of Ratio-cum-product Estimator for Estimating the Population Mean in the Sample Survey ณภัทน์จันทร์ ด้านสวัสดิ์ และ เอกภพ เกตุสมบุญ	15
● การสังเคราะห์ การวิเคราะห์คุณลักษณะและประสิทธิภาพการกักเก็บสารของอนุภาคลิโปโซม..... สำหรับสารประกอบกลุ่มแคปไซซินอยด์ Synthesis, Characterization, and Encapsulation Efficiency of Liposome Particles for Capsaicinoid Compounds สุวัชชัย มิสุนา และ นิรมล ศรีชนะ	27
● Production Planning for Pineapple Canned with Reinforcement Learning..... Payungsak Klasantia, Noppadol Amm-Dee and Chidchanok Choksuchat	40
● ระดับสารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ของสารสกัดไมยราบ.... Antioxidant Levels Antioxidant Anti-Inflammatory and Anti-Senescence cells Activities of <i>Mimosa Pudica</i> L. พิชาพัชร ฐิติธนะอภิพงษ์ ศุภรัตน์ ดวนใหญ่ อัจฉรา แก้วน้อย อ้อมบุญ วลลิสุต และ จันทนา ยะหัวฝาย	53
● Optimization and characterization of synthesis of silver nanoparticles from <i>Manihot esculenta</i> ... Crantz L. petiole and leaf aqueous extracts and its antibacterial activity Bung-on Prajanban, Sirilak Kamonwannasit, Santi Phosi, Agarat Kamcharoen	70
● การย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมัก..... Degradation of PBAT plastics during the composting process สุทธยศ ยิ้มพูลทรัพย์	85
● พันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาชีวกวายในแม่น้ำมูล จังหวัดสุรินทร์..... Cytogenetic Characterization of Myers' silver rasbora (<i>Rasbora myersi</i>), in Mun River, Surin Province กษมา ตำนวันดี, สำเนาวิ เสาวกุล, ศรีณย์ จำรัสธนสาร และ กฤติมา กษมาวุฒิ	99



สาหร่ายขนาดใหญ่และแนวทางประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

Macroalgae and food products application

กิตติยา ตรีเย็น¹ พรธมน แจ่มสกุล¹ และ วนิดา ปานอุทัย^{2*}

¹ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10140

²ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

Kitiya Treeyen¹ Passamon Jamsakul¹ and Wanida Pan-utai^{2*}

¹Department of Microbiology, Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

²Department of Applied Microbiology, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Bangkok 10900

*Corresponding author: ifrwdp@ku.ac.th

Received: 8 August 2024/ Revised: 28 October 2024/ Accepted: 14 November 2024

บทคัดย่อ

สาหร่ายขนาดใหญ่ หรือ สาหร่ายทะเล เป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันมาอย่างยาวนาน โดยเฉพาะในประเทศแถบเอเชีย โดยสามารถใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารและผลิตภัณฑ์อาหารได้ เนื่องจากสาหร่ายทะเลในรูปแบบสดไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน จึงมีรายงานการศึกษากระบวนการทำแห้งสาหร่ายและผลิตภัณฑ์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและคงคุณสมบัติสำคัญของสาหร่าย อีกทั้งยังมีคุณประโยชน์ทางโภชนาการทางอาหารที่หลากหลาย จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญได้ บทความนี้ได้รวบรวมเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำแห้งสาหร่ายทะเลและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยครอบคลุมถึงสาหร่ายขนาดใหญ่ หรือ สาหร่ายทะเล แปรรูปสาหร่ายทะเลโดยใช้เทคนิคการทำแห้ง คุณค่าทางอาหารและคุณสมบัติเชิงชีวภาพต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อสุขภาพ และแนวทางการประยุกต์ใช้สาหร่ายทะเลในผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ โดยเน้นที่สาหร่ายทะเลสีแดงซึ่งประกอบด้วยโปรตีน ไฟโคอิริทริน ตลอดจนกรณีศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารจากสาหร่ายทะเลในปัจจุบัน

คำสำคัญ: สาหร่ายทะเล สาหร่ายสีแดง รังควัตถุ การทำแห้ง ผลิตภัณฑ์อาหาร ไฟโคอิริทริน

Abstract

Over the years, macroalgae, or seaweed, has been a popular ingredient in Asian cuisine. To extend its shelf life and retain its essential properties, various studies have explored the drying process of seaweed and its application in food products. This article consolidates information on seaweed drying techniques, its nutritional value, biological properties that contribute to health, and recommendations for incorporating seaweed into products to enhance their functional properties. This review focuses on red seaweed, which



contains phycoerythrin protein, and includes case studies illustrating the current utilization of seaweed in food products.

Keywords: Macroalgae, Red macroalgae, Pigment, drying, Food products, Phycoerythrin

บทนำ

สาหร่ายขนาดใหญ่ หรือ สาหร่ายทะเล เป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่น่าสนใจและมีความหลากหลายทางชีวภาพ ในแง่ของมูลค่าตลาดรวมของสาหร่ายทะเล มีการคาดการณ์ถึงศักยภาพการเติบโตได้อีก 11.8 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ ภายในปี 2030 [1, 2] และในปี 2024 ขนาดของตลาดสาหร่ายทะเลเชิงพาณิชย์ทั่วโลกอยู่ที่ 12.7 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ โดยมีอัตราการเติบโตต่อปี (CAGR) ที่ 6% ตั้งแต่ปี 2024 ถึงปี 2034 การเติบโตของตลาดสาหร่ายขนาดใหญ่มุ่งเน้นไปที่ผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายต่าง ๆ เช่น คุณค่าทางโภชนาการที่สูงและคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลให้มีการนำสาหร่ายทะเลหรือสาหร่ายขนาดใหญ่มาใช้มากขึ้น ซึ่งมีการประยุกต์ใช้สาหร่ายทะเลที่เพิ่มขึ้นในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น ทางเภสัชกรรม ยา อาหาร เครื่องดื่ม และอาหารสัตว์ [3] ในปัจจุบันผู้บริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ จะพิจารณาการเลือกซื้ออาหารสุขภาพจากคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อลดความเสี่ยงต่อกลุ่มโรคต่าง ๆ และกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่อาจเกิดได้จากพฤติกรรมการรับประทานอาหาร [4] โดยความสนใจของผู้บริโภคที่มีต่ออาหารเพื่อสุขภาพกระตุ้นให้ผู้ผลิตอาหารพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ [5] ในบทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลความสำคัญของสาหร่ายทะเล โดยเน้นเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับสาหร่ายขนาดใหญ่สีแดง องค์ประกอบของสาหร่ายสีแดง ไฟโคอิริทรินในสาหร่ายสีแดง การยืดอายุการเก็บรักษา แนวทางการประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดใหญ่ในผลิตภัณฑ์อาหาร และคุณสมบัติทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เพื่อเป็นแนวทางในการนำสาหร่ายทะเลมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารและคงคุณค่าของสาหร่ายทะเลไว้ให้มากที่สุด

1. สาหร่ายทะเล

สาหร่ายทะเลเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ที่อาศัยอยู่ในน้ำหรือในที่ชื้น และเป็นสาหร่ายที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า สาหร่ายทะเลเหล่านี้มีคลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุอินทรีย์ที่สามารถดูดซับและนำพาพลังงานจากแสงอาทิตย์มาใช้มีความสามารถสังเคราะห์แสงได้ นั่นคือการแปลงพลังงานแสงอาทิตย์ให้เป็นพลังงานเคมี จับคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อสร้างสารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อนพร้อมทั้งน้ำและเกลือแร่ และปล่อยก๊าซออกซิเจน ในระหว่างกระบวนการสังเคราะห์สารอินทรีย์สาหร่ายจึงเป็นกลุ่มที่สามารถผลิตอาหารเองได้ผ่านกระบวนการสร้างสารอนาโบลิก (anabolic) [6] โดยสาหร่ายทะเลมีองค์ประกอบของสายพันธุ์ที่เปลี่ยนแปลงไปตามความลึกที่เพิ่มขึ้น [7] โดยประกอบด้วยกลุ่มสิ่งมีชีวิตยูคาริโอตหลายเซลล์ที่สังเคราะห์แสงได้หลากหลายกลุ่ม ซึ่งจัดอยู่ในอาณาจักร Plantae หรือ Chromista สิ่งมีชีวิตเหล่านี้ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในทะเล [8] สาหร่ายขนาดใหญ่หรือที่เรียกกันทั่วไปว่าสาหร่ายทะเล เป็นส่วนประกอบทางโภชนาการที่เป็นทางเลือกใหม่และมีมูลค่าเพิ่มในอาหาร รวมทั้งนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ [9] โดยสาหร่ายทะเลสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ดังนี้ 1. สาหร่ายสีเขียว (green algae) 2. สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae) และ 3. สาหร่ายสีแดง (red algae)

1.1 สาหร่ายสีเขียว (green algae)

ในปัจจุบันเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายทั่วโลก สาหร่ายขนาดใหญ่สีเขียว (Chlorophyta) มีปริมาณน้อยที่สุด (<1%) [8] สาหร่ายสีเขียวอยู่ในอาณาจักร Plantae ประกอบด้วย Phyla Charophyta และ Chlorophyta เช่นเดียวกับพืชลิเวอร์เวิร์ต ฮอว์นเวิร์ด มอส และสาหร่ายสีเขียว ที่เรียกกันทั่วไปว่า คลอโรไฟต์ จะปรากฏเป็นลักษณะหญ้าสีเขียวและมีลักษณะคล้ายพืชบก ซึ่งหน่วยอนุกรมวิธานในสาหร่ายทะเลสีเขียวทั้ง 2 ไฟลัม (Phylum) ประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอเป็นลักษณะพิเศษ [10]

1.2 สาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae)

สาหร่ายสีน้ำตาลจัดอยู่ใน Phaeophyceae และเป็นสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ที่แตกต่างกันในอาณาจักร Protista สาหร่ายสีน้ำตาลมีรูปร่างตั้งแต่เส้นใยขนาดเล็กไปจนถึงสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ที่ซับซ้อน [11] ตัวอย่างสาหร่ายกลุ่มนี้ที่มีการบริโภค



กันอย่างแพร่หลาย เช่น สายพันธุ์ *Laminaria ochroleuca* (kombu), *Undaria pinnatifida* (wakame) *Himanthalia elongate* และ *Phaeophyceae* มีสารไฟโตเคมีคัลที่หลากหลายในปริมาณสูงและมีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพ ช่วยในการรักษาโรค ซึ่งทำให้สาหร่ายทะเลชนิดนี้เป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในอุตสาหกรรมต่าง ๆ รวมถึงตลาดอาหารเพื่อสุขภาพ [12, 13]

1.3 สาหร่ายสีแดง (red algae)

สาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) เป็นยูคาริโอตที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ (photosynthetic eukaryotes) [14] สาหร่ายสีแดงเป็นแหล่งไฟโคบิลิโปรตีน ไฟโคอิทริน ไฟโคไซยานิน และอัลโลไฟโคไซยานิน แคโรทีน แคโรทีนอยด์ แซนโทฟิลล์ และคลอโรฟิลล์เอ รงควัตถุเหล่านี้มีศักยภาพทางเทคโนโลยีชีวภาพที่สำคัญ [15] โดยองค์ประกอบหลักของสาหร่ายสีแดงประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และใยอาหารเป็นหลัก ซึ่งสาหร่ายสีแดงแต่ละสายพันธุ์มีองค์ประกอบแตกต่างกัน โดยจะมีค่าโปรตีนอยู่ร้อยละ 8.00 - 47.00 ของน้ำหนักแห้ง [16] โปรตีนในสาหร่ายสีแดงสามารถเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลได้ เช่น ในสาหร่ายสีแดง *Palmaria palmata* ซึ่งปริมาณโปรตีนตั้งแต่ร้อยละ 8 - 35 ของน้ำหนักแห้ง [17] คาร์โบไฮเดรตมีค่าสูงสุดอยู่ประมาณร้อยละ 79 ของน้ำหนักแห้ง [18] ไขมันมีค่าอยู่ประมาณร้อยละ 0.20 - 8.00 ของน้ำหนักแห้ง [19] เนื่องจากในงานวิจัยต่าง ๆ ส่วนใหญ่ไม่มีการทดสอบปริมาณใยอาหาร แต่ในงานวิจัยบางส่วน [20, 21] ได้กล่าวถึงใยอาหารของสาหร่ายสีแดงมีค่าร้อยละ 35.00 - 63.20 ของน้ำหนักแห้ง และองค์ประกอบหลักเหล่านี้สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อป้องกันและรักษาโรคบางชนิดได้ [22, 23] จากผลรายงานการศึกษาก่อนหน้าพบว่ามีความแตกต่างทางอาหารของสาหร่ายสีแดงแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน [20, 21, 24] ดังแสดงตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของสาหร่ายขนาดใหญ่สีแดง (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)

สายพันธุ์สาหร่าย	คุณค่าทางอาหาร (ร้อยละน้ำหนักแห้ง)				เอกสารอ้างอิง
	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	ไขมัน	ใยอาหาร	
<i>Chondrus crispus</i>	26.40	53.30	1.00	-	[25]
<i>Osmundea pinnatifida</i>	23.80	32.40	0.90	-	[24]
<i>Ahnfeltia plicata</i>	31.10	59.10	1.10	-	[25]
<i>Porphyra spp.</i>	26.36	43.99	3.03	-	[26]
<i>Phycodrys rubens</i>	28.80	40.20	1.30	-	[25]
<i>Furcellaria lumbricalis</i>	20.60	55.40	1.00	-	[25]
<i>Gracilaria spp.</i>	23.60	46.90	0.70	40.60	[20]
<i>Gracilaria Vermiculophylla</i>	17.80	61.90	1.30	-	[25]

2. องค์ประกอบของสาหร่ายสีแดง

สาหร่ายสีแดง Rhodophyta เป็นกลุ่มสาหร่ายขนาดใหญ่ที่สำคัญซึ่งมีอยู่ประมาณ 7,000 สายพันธุ์ เป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยองค์ประกอบชีวภาพที่มีโครงสร้างหลากหลาย เช่น โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ซัลเฟต รงควัตถุ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน วิตามิน แร่ธาตุ และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีความสำคัญทางโภชนาการ ทางเภสัช และทางอุตสาหกรรม [27] สาหร่ายสีแดงมีพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณสูง (แป้งพอลิเดียนและซัลเฟตกาแลกแทน เช่น คาร์ราจีแนนหรืออะกาแรน (Agarans) โปรตีนและเปปไทด์ (ไฟโคบิลิโปรตีน ไฟโคเลคติน และกรดอะมิโนคล้ายโมโคสปอริน) แร่ธาตุ และสารประกอบอื่น เช่น ไขมัน และพอลิฟีนอล ซึ่งสาหร่ายสีแดงถูกใช้เป็นอาหารมาตั้งแต่ดั้งเดิม ในขณะที่วุ้นและคาร์ราจีแนนถูกสกัดออกมาเพื่อใช้เป็นอาหาร และมีการประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์และทางเทคโนโลยีชีวภาพ [28]

สาหร่ายทะเลใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานและรงควัตถุมีบทบาทสำคัญในการรวบรวมพลังงานแสงอาทิตย์ รงควัตถุเหล่านี้ดูดซับแสงจากสเปกตรัมที่มองเห็นได้ แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุสีส้มหรือสีแดงที่ดูดซับพลังงานแสงแล้วส่งต่อไปยังคลอโรฟิลล์



ดังนั้นจึงมีบทบาททองในการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยสาหร่ายทะเลจะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์และ แคโรทีนอยด์ ขึ้นอยู่กับระดับรังสีอัลตราไวโอเลตที่ได้รับ ตลอดทั้งรงควัตถุคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ [29] รงควัตถุหลักของสาหร่ายทะเลที่ใช้เชิงพาณิชย์ในปัจจุบัน ได้แก่ เบต้าแคโรทีน แอสตาแซนธิน ลูทีน ไฟโคบิลิโปรตีน คลอโรฟิลล์ และฟูโคแซนทิน [30]

ตารางที่ 2 แสดงรงควัตถุที่พบได้ในสาหร่ายสีแดง ซึ่งมีความสำคัญที่ส่งผลต่อร่างกายมนุษย์ โดยในสาหร่ายสีแดงจะมี รงควัตถุอยู่หลายชนิด เช่น ไฟโคไซยานิน ไฟโคอีริทริน คลอโรฟิลล์ ดี แอลฟา ครีปโทแซนธิน บีตา ครีปโทแซนธิน ฟูโคแซนธิน ลูทีน ซีแซนธิน รูบิแซนธิน ไดโนแซนธิน ไดอาโทแซนธิน แอนเทอราแซนธิน ไฟโคบิลิโปรตีน ไฟโคบิลิโธโรไบลิน ไฟโคบิลินส์ และโบรมอฟีนอล รงควัตถุเหล่านี้เป็นสารออกฤทธิ์ช่วยในการรักษาโรคต่าง ๆ และมีประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ทางอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ไฟโคอีริทริน ส่วนใหญ่นำไปใช้งานในฐานะสีธรรมชาติในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องสำอาง และเป็น สารเคมีสำหรับการทดสอบภูมิคุ้มกัน [31] แต่เนื่องจากการสกัดสารรงควัตถุเหล่านี้จำเป็นต้องทำให้เข้มข้นและบริสุทธิ์ก่อน นำไปใช้ เนื่องจากต้องใช้หลายขั้นตอนจึงส่งผลให้มีราคาสูง [32]

ตารางที่ 2 สายพันธุ์และรงควัตถุที่พบในสาหร่ายสีแดง

สาหร่ายสีแดง	รงควัตถุ	เอกสารอ้างอิง
<i>Chondrus crispus</i>	ไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) ไฟโคอีริทริน (Phycoerythrin)	[33]
<i>Porphyra umbilicalis</i>	ไฟโคไซยานิน ไฟโคอีริทริน	[33]
<i>Jania rubens</i>	คลอโรฟิลล์ ดี (Chlorophyll d) แอลฟา ครีปโทแซนธิน (α -cryptoxanthin) บีตา ครีปโทแซนธิน (β -cryptoxanthin) ฟูโคแซนธิน (Fucoxanthin)	[33]
<i>Eucheuma denticulatum</i>	ลูทีน (Lutein) ซีแซนธิน (zeaxanthin) รูบิแซนธิน (rubixanthin) ไดโนแซนธิน (dinoxanthin) ไดอาโทแซนธิน (diatoxanthin) แอนเทอราแซนธิน (antheraxanthin)	[34]
<i>Heterosiphonia japonica</i>	ไฟโคบิลิโปรตีน (Phycobiliprotein)	[33]
<i>Corallina elongata</i>	ไฟโคอีริทริน	[33]
<i>Corallina ofcinalis</i>	ไฟโคอีริทริน	[33]
<i>Gracilaria longa</i>	ไฟโคบิลิโธโรไบลิน (Phycoerythrobilins) ไฟโคบิลิน (Phycourobilins) ไฟโคอีริทริน	[32]
<i>Gracilaria fsheri</i>	ไฟโคอีริทริน	[33]
<i>Palmaria palmata</i>	ไฟโคอีริทริน	[33]
<i>Corallina elongata, Jania rubens</i>	แอนเทอราแซนธิน	[33]
<i>Mastocarpus stellatus, Mesophyllum lichenoides</i>	ลูทีน	[33]



สาหร่ายสีแดง	รงควัตถุ	เอกสารอ้างอิง
<i>Gastroclonium ovatum</i> , <i>Phyllophora sicula</i> <i>Plocamium cartilagineum</i> <i>Ahnfeltia plicata</i>		
<i>Osmundea pinnatifida</i>	ซีแซนธิน	[33]
<i>Polysiphonia morrowii</i>	โบรโมฟินอล (Bromophenols)	[35]
<i>Mazzaella japonica</i>	ไฟโคอิริทริน ไฟโคไซยานิน อัลโลไซยานิน	[36]
<i>Portieria hornemannii</i>	ไฟโคอิริทริน	[37]
<i>Halymenia durvillei</i>	ไฟโคอิริทริน ไฟโคไซยานิน	[38]

3. กระบวนการทำแห้ง

สาหร่ายทะเลเป็นแหล่งทรัพยากรชีวภาพทางทะเลที่มีความสำคัญและอุดมไปด้วยคุณค่าหลายชนิด ซึ่งสามารถนำไปใช้ในอาหาร ยา อาหารสัตว์ และเครื่องสำอาง เนื่องจากสามารถหาได้ง่ายตามชายฝั่งทะเลจึงเป็นวัตถุดิบที่มีต้นทุนต่ำ [39] โดยปกติวัตถุดิบสาหร่ายทะเลจะปริมาณน้ำเป็นองค์ประกอบสูง เกิดการเน่าเสียง่าย และมีอายุการเก็บรักษาที่จำกัด ดังนั้นการอบแห้งจึงถูกนำมาใช้เพื่อลดปริมาณความชื้น ทั้งยังเป็นขั้นตอนสำคัญในการเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้นเพื่อคงคุณค่าทางโภชนาการ นอกจากนี้การอบแห้งยังถือเป็นวิธีสำคัญในการเก็บรักษาหลังจากเก็บเกี่ยวสาหร่ายทะเล เพื่อยืดอายุและคุณภาพให้ได้นานยิ่งขึ้น รวมทั้งสามารถเก็บไว้บริโภคได้นานยิ่งขึ้น [40] กระบวนการทำแห้งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ ได้แก่ อุณหภูมิ เวลา และความชื้นของตัวผลิตภัณฑ์ เป็นต้น กระบวนการทำแห้งแต่ละวิธีและแนวทางการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแสดงดังตารางที่ 3 ซึ่งการเลือกใช้กระบวนการทำแห้งแต่ละวิธีนั้นขึ้นอยู่กับ การนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารด้วย โดยข้อดีของกระบวนการทำแห้งช่วยในการเก็บรักษาสาหร่ายทะเลได้ยาวนานมากยิ่งขึ้น โดยการเลือกวิธีการอบแห้งจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์สาหร่าย ต้นทุน และการขนส่งสำหรับการแปรรูป [41]

ตารางที่ 3 การแปรรูปสาหร่ายด้วยกระบวนการทำแห้ง

กระบวนการทำแห้ง	สายพันธุ์สาหร่าย	อุณหภูมิ	ผลิตภัณฑ์	ผลจากการใช้สาหร่าย	เอกสารอ้างอิง
Freeze drying	<i>Gracilaria</i> spp.	- 25 °C	บะหมี่ แป้งข้าวสาลี (Wheat noodles)	- ผสมสาหร่ายในผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 3 สามารถเพิ่ม ปริมาณใยอาหาร โปรตีน แร่ ธาตุ และ เป็นที่ยอมรับได้ ของผู้บริโภค	[42]
	<i>Ascophyllum nodosum</i> <i>Fucus vesiculosus</i>	- 20 °C	ผลิตภัณฑ์นม	- ยืดอายุการเก็บรักษาและ พัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์ - เพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	[43]
Vacuum drying	<i>Pyropia orbicularis</i>	40-80 °C	สาหร่ายอบกรอบ	- ยืดอายุการเก็บรักษา	[44]



กระบวนการทำแห้ง	สายพันธุ์สาหร่าย	อุณหภูมิ	ผลิตภัณฑ์	ผลจากการใช้สาหร่าย	เอกสารอ้างอิง
Solar drying	<i>Sargassum wightii</i>	45 °C	เจอร์กี้ (Jerky)	- ผสมในผลิตภัณฑ์ร้อยละ 3 ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส - เพิ่มปริมาณแร่ธาตุหลัก โดยเฉพาะใยอาหาร และแร่ธาตุรอง (Trace elements) รวมทั้งปรับปรุงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยลดค่า IC50-DPPH ของผลิตภัณฑ์ จาก 0.98 เป็น 0.68 มก./มล.	[45]
Sun drying	<i>Kappaphycopsis cottonii</i>	50 °C	ขนมปังกรอบ (Biscuit)	- การเติมผงสาหร่ายร้อยละ 5 ส่งผลกระทบต่อลักษณะปรากฏ รส กลิ่นรส เนื้อสัมผัสที่ดี	[46]
Oven drying	<i>Monostroma nitidum</i>	55 °C	บะหมี่แป้งข้าวสาลี (Wheat noodles)	- เพิ่มร้อยละผลผลิตที่ได้ (Cooking yield) และความสามารถในการดูดซับน้ำ	[47]
Hot air oven	<i>Himanthalia elongata</i>	40 °C	เนื้อวุ้นเต้าน้ำ (Beef patties)	- ลดค่าการสูญเสียน้ำหนักจากการประกอบอาหาร (Cooking loss) - ผสมสาหร่ายร้อยละ 40 ส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์สูงสุด - ช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์และออกซิเดชันของไขมันระหว่างการเก็บรักษา	[48]

4. การประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดใหญ่ในผลิตภัณฑ์อาหาร

สาหร่ายขนาดใหญ่ที่เปรียบเสมือนเป็นโปรตีนจากธัญพืช และมักใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับสัตว์ ปลา และมนุษย์ โดยโปรตีนจากสาหร่ายขนาดใหญ่มีกรดอะมิโนที่จำเป็น และเป็นแหล่งของสารชีวภาพอื่นๆ มากมาย [49] เนื่องจากคุณค่าทางโภชนาการที่สมดุลและสารประกอบชีวภาพที่มีมากมาย สาหร่ายขนาดใหญ่จึงเป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในอุตสาหกรรมอาหาร [50] ในปัจจุบัน สาหร่ายสีน้ำตาลเป็นสาหร่ายที่ถูกบริโภคมากที่สุดในบรรดาสาหร่ายขนาดใหญ่ทั้ง 3 ประเภท [51] สาหร่ายขนาดใหญ่ถูกบริโภคในเอเชียเป็นส่วนหนึ่งของอาหารประจำวัน ปัจจุบันสาหร่ายสีน้ำตาล ร้อยละ 66.5 เป็นชนิดที่บริโภคมากที่สุด รองลงมาคือ สาหร่ายสีแดง ร้อยละ 33 และสาหร่ายสีเขียว ร้อยละ 5 ปัจจุบัน ญี่ปุ่น จีน และเกาหลีใต้ เป็นประเทศที่มีการบริโภคสาหร่ายทะเลมากที่สุด [48, 51] จากข้อมูลขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) พบว่าการผลิตสาหร่ายทะเลในระดับโลกเพิ่มขึ้นตั้งแต่ ปี 1950 ถึง 2019 ความสนใจที่เพิ่มขึ้นในสาหร่ายทะเลเกิดจากศักยภาพที่สำคัญและการมีส่วนสนับสนุนต่ออุปทานอาหารที่เพียงพอ



และดีต่อสุขภาพทั่วโลกสำหรับประชากรที่คาดว่าจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 70 ก่อนปี 2050 ในยุโรปการผลิตสาหร่ายทะเลยังอยู่ในช่วงเริ่มต้น โดยมีสัดส่วนร้อยละ 0.8 ของการผลิตทั่วโลกในปี 2019 อย่างไรก็ตามการใช้สาหร่ายทะเลในยุโรปมีศักยภาพที่จะเป็นประโยชน์ต่อทั้งสามด้านของความยั่งยืน ได้แก่ ผู้คน โลก และผลกำไร [52, 53] และจากแนวโน้มที่ผ่านมา คาดว่าจำนวนประชากรโลกจะสูงถึงประมาณ 11 พันล้านคน ภายในปี 2100 ซึ่งจะต้องมีการผลิตอาหารเพิ่มเติมสำหรับประชากรที่เพิ่มขึ้นนี้ สาหร่ายอาจเป็นแหล่งอาหารทางเลือกสำหรับทั้งมนุษย์และปศุสัตว์ ดังนั้นทั้งการเพาะปลูกสาหร่ายหรือเก็บเกี่ยวจากแหล่งธรรมชาติ ควบคู่ไปกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่จากสาหร่ายทะเลที่บริโภคได้ จึงเป็นทางเลือกที่เป็นไปได้ สำหรับบรรลุการพัฒนาเศรษฐกิจ ในประเทศกำลังพัฒนาตลอดจนการพัฒนาที่ยั่งยืน [54] มีรายงานการศึกษาก่อนหน้าที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้สาหร่ายในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ในอาหารและคุณสมบัติทางชีวภาพ ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีการนำสาหร่ายขนาดใหญ่ไปประยุกต์ใช้

สายพันธุ์	ผลิตภัณฑ์	ผลจากการประยุกต์ใช้	เอกสารอ้างอิง
สาหร่ายสีเขียว			
<i>Monostroma nitidum</i>	เส้นก๋วยเตี๋ยว	- เส้นก๋วยเตี๋ยวที่เติมผงสาหร่ายร้อยละ 6 จะให้ร้อยละผลผลิตที่สูงกว่าเส้นก๋วยเตี๋ยวที่เติมผงสาหร่ายร้อยละ 3 - พอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารในสาหร่ายดูดซับน้ำระหว่างการผลิต ทำให้เส้นก๋วยเต๋วยมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มและฟูมากขึ้น	[55]
สาหร่ายสีน้ำตาล			
<i>Laminaria digitata</i>	เนื้อหมู	- ใช้สารสกัด 100 มก./ก.เนื้อหมู	[56]
<i>Fucus vesiculosus</i>		- ฟุคอยแดน (Fucoidan) ช่วยลดการเกิดออกซิเดชันของไขมัน - ผลลัพธ์ที่ได้จากการเติมสารสกัดสาหร่ายย่ำถึงศักยภาพว่าเป็นส่วนผสมที่มีประโยชน์ (Functional ingredients) เนื่องจากการลดลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH หลังผ่านไป 4 ชั่วโมง ที่ร้อยละ 44.15 และหลังผ่านไป 20 ชั่วโมง ที่ร้อยละ 36.63 บ่งชี้ให้เห็นถึงการดูดซึมเชิงทฤษฎีของสารต้านอนุมูลอิสระลามินาริน (Laminarin) และฟุคอยแดนในสารสกัดสาหร่าย	
<i>Himanthalia elongata</i>	เนื้อวุ้นเต๋น (Patties)	- เติมหาสาหร่ายร้อยละ 10-40 - ช่วยลดการสูญเสียจากการปรุงอาหารและเพิ่มใยอาหาร ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้เกือบร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับเนื้อวุ้นเต๋นกลมที่ไม่มีสาหร่าย - เนื้อวุ้นเต๋นที่มีสาหร่ายร้อยละ 40 มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสสูงสุด เมื่อเทียบกับเนื้อวุ้นเต๋นที่เติมหาสาหร่ายในปริมาณร้อยละ 10-30	[48]



สายพันธุ์	ผลิตภัณฑ์	ผลจากการประยุกต์ใช้	เอกสารอ้างอิง
		- ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและระดับออกซิเดชันของไขมันต่ำกว่าในเนื้อวุ้นบดแผ่นกลมที่มีสาหร่ายร้อยละ ≥ 20	
<i>Laminaria ochroleuca</i>	แป้งพาสต้าปราศจากกลูเตน (Gluten-free pasta)	- เติมน้ำสาหร่ายขนาด < 0.25 มม. ร้อยละ 20 และขนาด 0.25-2 มม. ใช้อัตราส่วน 1/30 (สาหร่าย/น้ำ) - ลักษณะเชิงกลและเนื้อสัมผัสคล้ายคลึงกับพาสต้าควบคุมหรือพาสต้าปกติ - เพิ่มปริมาณแร่ธาตุและไฟเบอร์ในพาสต้าจากสาหร่าย	[57]
สาหร่ายสีแดง			
<i>Porphyra umbilicalis</i>	ไส้กรอกแฟรงค์เฟิร์ตเตอร์ (Frankfurter)	- เติมน้ำสาหร่าย ร้อยละ 1 - ลดความเค็ม - เกลือลดลงร้อยละ 50 และไขมันลดลงร้อยละ 21 - สีผลิตภัณฑ์เข้มข้น โดยค่า CIE L* เท่ากับ 64.79 และตัวควบคุม เท่ากับ 70.93 (L*=0 ให้ผลเป็นสีดำ และ L*=100 ให้ผลเป็นสีขาวแบบกระจาย)	[58]
<i>Porphyra umbilicalis</i>	ผลิตภัณฑ์เนื้อหมู	- เติมน้ำสาหร่ายร้อยละ 2.5 และ 5 วัตถุแห้ง (Dry matter) - เพิ่มใยอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระ - เพิ่มเนื้อสัมผัสการเคี้ยว ค่าความแข็ง (Hardness) และค่าความเคี้ยวได้ (Chewiness) - ปรับปรุงตัวผลิตภัณฑ์ในเรื่องการจับน้ำและไขมัน	[55]
<i>Palmaria palmata</i>	ขนมปัง	- การผสมโปรตีนไฮโดรไลเสตของ <i>Palmaria palmata</i> ร้อยละ 4 ลงในขนมปังบัควีท (Buckwheat) ไม่ส่งผลต่อเนื้อสัมผัสหรือสมบัติทางประสาทสัมผัสของขนมปัง - มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ยับยั้งเอนจินหลังกระบวนการอบ	[59]
<i>Gracilaria verrucosa</i>	เยลลี่ (Jelly)	- ปริมาณสีจากสาหร่ายเท่ากับ 0.1 0.5 และ 1.6 มก. - สีของเยลลี่ที่ใช้สีจากสาหร่ายคงอยู่ในตู้เย็นได้นาน 30 วัน และคงตัวได้นานกว่าสามเดือนโดยไม่เปลี่ยนสีเมื่อเติมกรดซิตริกเข้มข้นร้อยละ 5 - สีจากสาหร่ายช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากมีสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าสีสังเคราะห์	[60]
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	ผลิตภัณฑ์ปราศจากกลูเตน (Gluten-Free) เช่น แป้งพาสต้า	- เติมน้ำสาหร่ายพูเร (Puree) ร้อยละ 0-40 ของแป้งทั้งหมด - เพิ่มความยืดหยุ่นและความหนืด เมื่อเทียบกับแป้งพาสต้าทั่วไป - เพิ่มแคลเซียมและใยอาหาร	[61]



สายพันธุ์	ผลิตภัณฑ์	ผลจากการประยุกต์ใช้	เอกสารอ้างอิง
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	แป้งโด (Dought)	- เติมผงสาหร่ายร้อยละ 2-8 - เพิ่มอัตราการดูดซึมน้ำของแป้ง - ความเหนียว (Stickiness) ลดลง - ปรับปรุงความแน่น (Firmness) ของเนื้อสัมผัส	[62]
<i>Chondrus crispus</i>	ขนมปังโฮลวีท	- เติมสาหร่ายร้อยละ 2-8 - เพิ่มใยอาหารและแร่ธาตุ	[63]

จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าการนำสาหร่ายทะเลไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารนี้ส่งผลดี ในด้านการใช้งานที่มากกว่าแค่คุณค่าทางโภชนาการและสุขภาพทั่วไป [64] จึงทำให้สาหร่ายทะเลเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม และเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาและวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารใหม่ ๆ คุณสมบัติเฉพาะตัวของสาหร่ายทะเลเปิดโอกาสให้สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้มากมาย เช่น สามารถใช้ทดแทนเกลือในเนื้อสัตว์ ทั้งยังช่วยปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์สูตรเดิมอย่างขนมปัง แป้งพาสต้าและเส้นก๋วยเตี๋ยวได้ ซึ่งการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ก็ถือเป็นส่วนสำคัญในการพัฒนาอุตสาหกรรมในอนาคต [17]

ตารางที่ 5 สมบัติทางชีวภาพของสาหร่ายสีแดง

สายพันธุ์	สารออกฤทธิ์	คุณสมบัติ	เอกสารอ้างอิง
<i>Solieria filiformis</i>	พอลิฟีนอล (Polyphenols)	พอลิฟีนอลที่ 5 มก./มก. มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อไวรัส	[65]
<i>Chondrus crispus</i>	พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides)	ผลได้จากการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ร้อยละ 15.36 ของน้ำหนักสาหร่ายแห้ง ส่งผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันในหอยแมลงภู่สายพันธุ์ <i>Mytilus</i> spp.	[66]
<i>Pterocladia capillacea</i>	พอลิแซ็กคาไรด์	มีผลได้ของสารสกัดด้วยน้ำ ร้อยละ 2.87 แสดงฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด	[67]
<i>Kappaphycus striatus</i>	โปรตีนและเปปไทด์ (Proteins & peptides)	แลคติน เคเอสแอล ที่ได้จากสาหร่ายในช่วง 0.5 - 4.0 มกม. มีฤทธิ์ต่อต้านเซลล์มะเร็ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ HT29, Hela, MCF-7, SK-LU-1 และ AGS และค่า IC50 ของเซลล์มะเร็ง 0.80-1.94 มกม.	[68]
<i>Gracilaria edulis</i>	กรดไขมัน (Fatty acids)	กรดไขมันเฮกซะเดคาโนอิก (hexadecanoic acid) ที่ฤทธิ์ด้านแบคทีเรียก่อโรคในปลาโดยต้านทาน <i>Vibrio</i> spp. และ <i>Aeromonas hydrophila</i> มีค่า MIC 1.25-2.5 มก./มล.	[69]

สาหร่ายทะเลได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากการยอมรับว่ามีสารประกอบทางชีวภาพใหม่มากมาย และสารเหล่านี้มีคุณสมบัติที่สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดได้ ทั้งสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านจุลินทรีย์ สารต้านการอักเสบ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สารต้านมะเร็ง เป็นเพียงคุณสมบัติบางส่วนที่ยกตัวอย่างมาจากตารางที่ 5 ที่สาหร่ายสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งในอาหาร ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ยาและเครื่องสำอาง โดยการตรวจสอบคุณสมบัติการออกฤทธิ์เหล่านี้เป็นการใช้กระบวนการการตรวจสอบทางการแพทย์ [70]



บทสรุป

องค์ประกอบในสาหร่ายทะเลมีคุณสมบัติต่อสุขภาพหลายประการ และคุณค่าทางโภชนาการที่ได้จากทะเลที่มาจากกระบวนการการแปรรูปของสาหร่ายทะเลมีความสำคัญต่อผู้บริโภคและมีความคุ้มค่าสำหรับการศึกษา เพื่อให้ได้สาหร่ายที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุด การเตรียมการแปรรูปที่นำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะเพิ่มมูลค่าให้กับสาหร่ายทะเลได้ นอกจากนี้ความสามารถในการแปรรูปและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารในอุตสาหกรรม โดยมีปัจจัยในการยืดอายุการเก็บรักษาและคงสภาพเดิมไว้ และยังคงมีคุณสมบัติทางโภชนาการอาหารที่คงเดิมจากสาหร่ายทะเลเป็นวัตถุดิบต่างๆ สามารถสร้างจุดเด่นให้กับผลิตภัณฑ์หรืออาหารชนิดนั้นได้ แล้วยังมีต้นทุนที่ไม่สูงมากเพราะสาหร่ายทะเลสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายตามชายฝั่งทะเล แต่ในด้านของกระบวนการอบแห้งจะมีต้นทุนที่สูงเนื่องจากราคาเครื่องในกระบวนการผลิตมีราคาที่สูง แต่ด้วยคุณสมบัติในด้านต่าง ๆ ที่โดดเด่นและการศึกษาที่เปิดกว้างมากขึ้นในปัจจุบัน ทำให้สาหร่ายทะเลมีแนวโน้มที่จะเป็นที่รู้จักมากขึ้นในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Deepika C, Ravishankar GA, Rao AR. Potential products from macroalgae: an overview. 1st ed. Cham: Springer International Publishing; 2022.
2. Bank W. Global Seaweed: New and Emerging Markets Report. [Internet]. 2023. [cited 2024 October 4]. Available from: <https://openknowledge.worldbank.org/entities/publication/4ac8c40c-cc4d-4f38-90a9-01b7bbaad3eb>
3. Jha SN. Global Commercial Seaweed Market Trends Study by Red Seaweed, Brown Seaweed, and Green Seaweed in Powder, Liquid, Flakes Form From 2024 to 2034. 2024:170. [Internet]. [cited 2024 October 4]. Available from: <https://www.factmr.com/report/4493/commercial-seaweed-market>
4. Huang Z, Zhu Y-D, Deng J, Wang C-L. Marketing healthy diets: the impact of health consciousness on Chinese consumers' food choices. Sustainability 2022;14(4):2059.
5. Silva PCd, Toledo T, Brião V, Bertolin TE, Costa JAV. Development of extruded snacks enriched by bioactive peptides from microalgae *Spirulina* sp. LEB 18. Food Biosci 2021;42:101031.
6. Pereira L. Macroalgae. Ency 2021;1(1):177-88.
7. Spalding HL, Amado-Filho GM, Bahia RG, Ballantine DL, Fredericq S, Leichter JJ, et al. Macroalgae. 1st ed. Cham: Springer International Publishing; 2019.
8. Moreira A, Cruz S, Marques R, Cartaxana P. The underexplored potential of green macroalgae in aquaculture. Rev Aquacu 2022;14(1):5-26.
9. Wan AHL, Davies SJ, Soler-Vila A, Fitzgerald R, Johnson MP. Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. Rev Aquac 2019;11(3):458-92.
10. Dawes C. Chapter 4 - macroalgae systematics. 1st ed. San Diego: Academic Press; 2016.
11. Wehr JD. Chapter 19 - Brown Algae. 2nd ed. Boston: Academic Press; 2015.
12. Catarino MD, Silva AMS, Cardoso SM. Phytochemical constituents and biological activities of *Fucus* spp. Mar Drugs 2018;16(8):249.
13. Catarino MD, Silva AMS, Cardoso SM. Fucaceae: a source of bioactive phlorotannins. Int J Mol Sci 2017;18(6):1327.
14. Borg M, Krueger-Hadfield SA, Destombe C, Collén J, Lipinska A, Coelho SM. Red macroalgae in the genomic era. New Phytol 2023;240(2):471-88.



15. Freitas MV, Pacheco D, Cotas J, Mouga T, Afonso C, Pereira L. Red seaweed pigments from a biotechnological perspective. *Phycol* 2022;2(1):1-29.
16. Brien R, Hayes M, Sheldrake G, Tiwari B, Walsh P. Macroalgal proteins: a review. *Foods* 2022;11(4):571.
17. Healy LE, Zhu X, Pojić M, Sullivan C, Tiwari U, Curtin J, et al. Biomolecules from macroalgae—nutritional profile and bioactives for novel food product development. *Biomol* 2023;13(2):386.
18. Yun EJ, Kim HT, Cho KM, Yu S, Kim S, Choi I-G, et al. Pretreatment and saccharification of red macroalgae to produce fermentable sugars. *Bioresour Technol* 2016;199:311-8.
19. Lopes D, Melo T, Rey F, Meneses J, Monteiro FL, Helguero LA, et al. Valuing bioactive lipids from green, red and brown macroalgae from aquaculture, to foster functionality and biotechnological applications. *Mol* 2020;25(17):3883.
20. Neto RT, Marçal C, Queirós AS, Abreu H, Silva AMS, Cardoso SM. Screening of *Ulva rigida*, *Gracilaria* sp., *Fucus vesiculosus* and *Saccharina latissima* as functional ingredients. *Int J Mol Sci* 2018;19(10):2987.
21. Cherry P, O'Hara C, Magee PJ, McSorley EM, Allsopp PJ. Risks and benefits of consuming edible seaweeds. *Nutr Rev* 2019;77(5):307-29.
22. Abu-Khudir R, Ismail GA, Diab T. Antimicrobial, antioxidant, and anti-tumor activities of *Sargassum linearifolium* and *Cystoseira crinita* from Egyptian mediterranean coast. *Nutr Cancer* 2021;73(5):829-44.
23. Gómez-Guzmán M, Rodríguez-Nogales A, Algieri F, Gálvez J. Potential role of seaweed polyphenols in cardiovascular-associated disorders. *Mar Drugs* 2018;16(8):250.
24. Rodrigues D, Freitas AC, Pereira L, Rocha-Santos TAP, Vasconcelos MW, Roriz M, et al. Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal. *Food Chem* 2015;183:197-207.
25. Parjikolaei BR, Bruhn A, Eybye KL, Larsen MM, Rasmussen MB, Christensen KV, et al. Valuable biomolecules from nine North Atlantic red macroalgae: amino acids, fatty acids, carotenoids, minerals and metals. *Nat Resour* 2016;7(4):157-183.
26. Smith JL, Summers G, Wong R. Nutrient and heavy metal content of edible seaweeds in New Zealand. *N Z J Crop Hortic Sci* 2010;38(1):19-28.
27. Ismail MM, Alotaibi BS, El-Sheekh MM. Therapeutic uses of red macroalgae. *Mol* 2020;25(19):4411.
28. Torres MD, Flórez-Fernández N, Domínguez H. Integral utilization of red seaweed for bioactive production. *Mar Drugs* 2019;17(6):314.
29. Koutsaviti A, Ioannou E, Roussis V. Bioactive Seaweed Substances. In: Qin Y, editor. *Bioactive Seaweeds for Food Applications*: Academic Press; 2018. p. 25-52.
30. Biris-Dorhoi E-S, Michiu D, Pop CR, Rotar AM, Tofana M, Pop OL, et al. Macroalgae - a sustainable source of chemical compounds with biological activities. *Nutrients* 2020;12(10):3085.
31. Hsieh-Lo M, Castillo G, Ochoa-Becerra MA, Mojica L. Phycocyanin and phycoerythrin: strategies to improve production yield and chemical stability. *Algal Res* 2019;42:101600.
32. Nguyen HPT, Moránçais M, Délérís P, Fleurence J, Nguyen-Le CT, Vo KH, Dumay J. Purification of R-phycoerythrin from a marine macroalga *Gracilaria gracilis* by anion-exchange chromatography. *J Appl Phycol* 2020;32(1):553-61.



33. Priyanka KR, Rajaram R, Sivakumar SR. A critical review on pharmacological properties of marine macroalgae. *Biomass Convers Biorefin* 2022.
34. Balasubramaniam V, June Chelyn L, Vimala S, Mohd Fairulnizal MN, Brownlee IA, Amin I. Carotenoid composition and antioxidant potential of *Eucheuma denticulatum*, *Sargassum polycystum* and *Caulerpa lentillifera*. *Heliyon* 2020;6(8):e04654.
35. Michalak I, Chojnacka K. Algae as production systems of bioactive compounds. *Eng Life Sci* 2015;15(2):160-76.
36. Kitade Y, Miyabe Y, Yamamoto Y, Takeda H, Shimizu T, Yasui H, et al. Structural characteristics of phycobiliproteins from red alga *Mazzaella japonica*. *J Food Biochem* 2018;42(1):e12436.
37. Senthilkumar N, Suresh V, Thangam R, Kurinjimalar C, Kavitha G, Murugan P, et al. Isolation and characterization of macromolecular protein R-Phycoerythrin from *Portieria hornemannii*. *Int J Biol Macromol* 2013;55:150-60.
38. Rula NAM, Ganzon-Fortes ET, Pante MJR, Trono GC. Influence of light, water motion, and stocking density on the growth and pigment content of *Halymenia durvillei* (Rhodophyceae) under laboratory conditions. *J Appl Phycol* 2021;33(4):2367-77.
39. Santhoshkumar P, Yoha KS, Moses JA. Drying of seaweed: approaches, challenges and research needs. *Trends Food Sci Technol* 2023;138:153-63.
40. Nagahawatta DP, Sanjeeva KKA, Jayawardena TU, Kim H-S, Yang H-W, Jiang Y, et al. Drying seaweeds using hybrid hot water goodle dryer (HHGD): comparison with freeze-dryer in chemical composition and antioxidant activity. *Fish Aquat Sci* 2021;24(1):19-31.
41. Amorim AM, Nardelli AE, Chow F. Effects of drying processes on antioxidant properties and chemical constituents of four tropical macroalgae suitable as functional bioproducts. *J Appl Phycol* 2020;32(2):1495-509.
42. Keyimu XG. The effects of using seaweed on the quality of Asian noodles. *J Food Process Technol* 2013;4:1-4.
43. O'Sullivan AM, O'Callaghan YC, O'Grady MN, Waldron DS, Smyth TJ, O'Brien NM, et al. An examination of the potential of seaweed extracts as functional ingredients in milk. *Int J Dairy Technol* 2014;67(2):182-93.
44. Zhu X, Healy L, Zhang Z, Maguire J, Sun D-W, Tiwari BK. Novel postharvest processing strategies for value-added applications of marine algae. *J Sci Food Agric* 2021;101(11):4444-55.
45. Hanjabam MD, Zynudheen AA, Ninan G, Panda S. Seaweed as an ingredient for nutritional improvement of fish jerky. *J Food Process Preserv* 2017;41(2):e12845.
46. Lestari P, Sulistiyati T. The substitution of *Eucheuma cottonii* seaweed flour to the acceptability and color characteristics of biscuit. *Int J Sci Res Pub* 2019;9(6):97-101.
47. Chang H-C, Chen H-H, Hu H-H. Textural changes in fresh egg noodles formulated with seaweed powder and full or partial replacement of cuttlefish paste. *J Texture Stud* 2011;42(1):61-71.
48. Cox S, Abu-Ghannam N. Enhancement of the phytochemical and fibre content of beef patties with *Himanthalia elongata* seaweed. *Int J Food Sci Technol* 2013;48(11):2239-49.



49. Garcia-Vaquero M, Hayes M. Red and green macroalgae for fish and animal feed and human functional food development. *Food Rev Int* 2016;32(1):15-45.
50. Afonso NC, Catarino MD, Silva AMS, Cardoso SM. Brown macroalgae as valuable food ingredients. *Antioxidants* 2019;8(9):365.
51. Lorenzo JM, Agregán R, Munekata PES, Franco D, Carballo J, Şahin S, et al. Proximate composition and nutritional value of three macroalgae: *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* and *Bifurcaria bifurcata*. *Mar Drugs* 2017;15(11):360.
52. van den Burg SWK, Dagevos H, Helmes RJK. Towards sustainable European seaweed value chains: a triple P perspective. *ICES J Mar Sci* 2021;78(1):443-50.
53. Food and Agriculture Organization of the United Nation. Global seaweeds and microalgae production, 1950-2019. [Internet]. 2021 [cited 2024 October 4]. Available from: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/97409d09-2f8e-4712-b11e-60105d89959b/content>
54. Rogel-Castillo C, Latorre-Castañeda M, Muñoz-Muñoz C, Agurto-Muñoz C. Seaweeds in food: current trends. *Plants* 2023;12(12):2287.
55. Roohinejad S, Koubaa M, Barba FJ, Saljoughian S, Amid M, Greiner R. Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food Res Int* 2017;99:1066-83.
56. Moroney NC, Grady MN, Lordan S, Stanton C, Kerry JP. Seaweed polysaccharides (laminarin and fucoidan) as functional ingredients in pork meat: an evaluation of anti-oxidative potential, thermal stability and bioaccessibility. *Mar Drugs* 2015;13(4):2447-64.
57. Fradinho P, Raymundo A, Sousa I, Domínguez H, Torres MD. Edible brown seaweed in gluten-free pasta: technological and nutritional evaluation. *Foods* 2019;8(12):622.
58. Vilar EG, Ouyang H, O'Sullivan MG, Kerry JP, Hamill RM, O'Grady MN, Mohammed HO, Kilcawley KN. Effect of salt reduction and inclusion of 1% edible seaweeds on the chemical, sensory and volatile component profile of reformulated frankfurters. *Meat Sci* 2020;161:108001.
59. Fitzgerald C, Gallagher E, Doran L, Auty M, Prieto J, Hayes M. Increasing the health benefits of bread: assessment of the physical and sensory qualities of bread formulated using a renin inhibitory *Palmaria palmata* protein hydrolysate. *LWT - Food Sci Technol* 2014;56(2):398-405.
60. Jayasinghe P, Pahalawattaarachchi V, Ranaweera KKDS. Seaweed extract as a natural food coloring agent in Jelly desserts on chemical, microbial and sensory quality. *Acad Agri J* 2016;1(3):65-9.
61. Sholichah E, Kumalasari R, Indrianti N, Ratnawati L, Restuti A, Munandar A. Physicochemical, sensory, and cooking qualities of gluten-free pasta enriched with Indonesian edible red seaweed (*Kappaphycus Alvarezii*). *J Food Nutr Res* 2021;9(4):187-92.
62. Mamat H, Matanjun P, Ibrahim S, Amin SFM, Hamid MA, Rameli AS. The effect of seaweed composite flour on the textural properties of dough and bread. *J Appl Phycol* 2014;26(2):1057-62.



63. Lamont T, McSweeney M. Consumer acceptability and chemical composition of whole-wheat breads incorporated with brown seaweed (*Ascophyllum nodosum*) or red seaweed (*Chondrus crispus*). J Sci Food Agric 2021;101(4):1507-14.
64. Tavares JO, Cotas J, Valado A, Pereira L. Algae food products as a healthcare solution. Mar Drugs 2023;21(11):578.
65. Morán-Santibañez K, Peña-Hernández MA, Cruz-Suárez LE, Ricque-Marie D, Skouta R, Vasquez AH, et al. Virucidal and synergistic activity of polyphenol-rich extracts of seaweeds against measles virus. Viruses 2018;10(9):465.
66. Rudtanatip T, Lynch SA, Wongprasert K, Culloty SC. Assessment of the effects of sulfated polysaccharides extracted from the red seaweed Irish moss *Chondrus crispus* on the immune-stimulant activity in mussels *Mytilus* spp. Fish Shellfish Immunol 2018;75:284-90.
67. Abou Zeid AH, Aboutabl EA, Sleem AA, El-Rafie HM. Water soluble polysaccharides extracted from *Pterocladia capillacea* and *Dictyopteris membranacea* and their biological activities. Carbohydr Polym 2014;113:62-6.
68. Hung LD, Trinh PTH. Structure and anticancer activity of a new lectin from the cultivated red alga, *Kappaphycus striatus*. J Nat Med 2021;75(1):223-31.
69. Kasanah N, Amelia W, Mukminin A, Triyanto, Isnansetyo A. Antibacterial activity of Indonesian red algae *Gracilaria edulis* against bacterial fish pathogens and characterization of active fractions. Nat Prod Res 2019;33(22):3303-7.
70. Leandro A, Pereira L, Gonçalves AMM. Diverse applications of marine macroalgae. Mar Drugs 2020;18(1):17.



การเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณสำหรับการประมาณค่าเฉลี่ย ประชากรในการสำรวจตัวอย่าง

An Enhanced the Efficiency of Ratio-cum-product Estimator for Estimating the Population Mean in the Sample Survey

ณภัทน์จันทร์ ด่านสวัสดิ์^{1*} และ เอกภพ เกตุสมบุญ²

¹ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10140

²ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10140

Napattchan Dansawad^{1*} and Ekkaphop Ketsombun²

¹Department of Mathematics, Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

²Department of Physics, Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

*Corresponding author: napattchan.dan@kmutt.ac.th

Received: 9 December 2024/ Revised: 6 February 2024/ Accepted: 10 February 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและนำเสนอตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณ สำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ในการสำรวจตัวอย่าง โดยใช้สารสนเทศจากตัวแปรช่วย ภายใต้วิธีการเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน ซึ่งตัวประมาณที่นำเสนอจะมีความครอบคลุมตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทุกตัวที่ศึกษาในงานวิจัย อีกทั้งผู้วิจัยจะทำการศึกษาคูณสมบัติที่สำคัญบางประการของตัวประมาณนำเสนอขึ้นมาใหม่ ได้แก่ ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย และค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยต่ำสุด จากนั้นจะทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่กับตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทั้งในทางทฤษฎี การประยุกต์จากข้อมูลจริง และการจำลองข้อมูล โดยจะพิจารณาจากค่าร้อยละประสิทธิภาพสัมพัทธ์ ผลการวิจัยพบว่า ภายใต้สถานการณ์ที่ศึกษาเดียวกัน ตัวประมาณนำเสนอขึ้นมาใหม่มีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่ทำการศึกษาทั้งหมด ซึ่งผลที่ได้มีความสอดคล้องทั้งทางทฤษฎี การประยุกต์จากข้อมูลจริง และการจำลองข้อมูล

คำสำคัญ: ตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณ ค่าเฉลี่ยประชากร การสำรวจตัวอย่าง ร้อยละประสิทธิภาพสัมพัทธ์

Abstract

This research aims to develop and propose a combined ratio and product estimator for accurately estimating the population mean in sample surveys. It leverages auxiliary variable information within the framework of simple random sampling without replacement. The proposed estimator is structured to encompass all previously studied related estimators. Additionally, the researcher analyzes key properties of the proposed estimator, including the mean squared error (MSE) and the minimum mean squared error. The efficiency of the proposed estimator is assessed against other related estimators through theoretical analysis, real data applications, and data simulations, using relative efficiency as the evaluation criterion. The findings reveal that, under identical study conditions, the proposed estimator exhibits superior efficiency compared to all other estimators examined in this study. These results are consistently observed across theoretical analyses, real data applications, and simulations.

Keywords: Ratio-cum-product estimator, Population mean, Sample survey, Mean squared error

บทนำ

ในการศึกษาวิจัยเชิงสำรวจ บ่อยครั้งที่นักวิจัยมักเผชิญกับความท้าทายหรือข้อจำกัดต่าง ๆ ในการเก็บข้อมูลจากประชากรที่สนใจศึกษา เช่น ขนาดของประชากรที่ใหญ่เกินไป งบประมาณอาจไม่เพียงพอ หรือมีข้อจำกัดด้านเวลาในการเก็บข้อมูล เป็นต้น เพื่อแก้ไขปัญหาในกรณีที่ไม่สามารถเก็บข้อมูลจากประชากรทั้งหมดได้ นักวิจัยจำเป็นต้องเลือกตัวอย่าง (Sample) ที่สามารถใช้เป็นตัวแทนของประชากรให้เหมาะสม โดยการเลือกตัวอย่างจำเป็นต้องอาศัยวิธีการทางสถิติ เพื่อให้มั่นใจว่าตัวอย่างที่เลือกมาจะมีลักษณะใกล้เคียงกับประชากรเป้าหมายมากที่สุด และเมื่อได้ข้อมูลที่ต้องการจากตัวอย่างแล้ว นักวิจัยจึงจะนำข้อมูลที่ได้ออกมาคำนวณค่าต่าง ๆ ที่สนใจศึกษา ซึ่งเรียกว่า ค่าสถิติ (Statistic) แล้วนำค่าสถิติที่คำนวณได้เหล่านั้นไปสร้างตัวประมาณ (Estimator) สำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์ อธิบาย และสรุปผลเกี่ยวกับคุณลักษณะของประชากรที่สนใจศึกษา ซึ่งเรียกว่าค่าพารามิเตอร์ (Parameter) โดยตัวประมาณที่นิยมศึกษามากที่สุดในปัจจุบัน ได้แก่ ตัวประมาณสำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร

แต่ในบางครั้งนักวิจัยมักจะพบว่า ตัวประมาณที่สร้างขึ้นไม่ได้มีค่าใกล้เคียงหรือเท่ากับค่าที่คำนวณได้จากประชากรโดยตรง ซึ่งเหตุการณ์ดังกล่าวทำให้ตัวประมาณนั้นมีคุณสมบัติเป็นตัวประมาณที่มีความเอนเอียง (Bias Estimator) ซึ่งความเอนเอียงดังกล่าวจะส่งผลทำให้ค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณมีค่าสูงขึ้น และทำให้ตัวประมาณดังกล่าวไม่มีความแม่นยำในการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร และเพื่อแก้ไขปัญหาความเอนเอียงและปัญหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาข้างต้น นักวิจัยและนักสถิติหลายท่านจึงนิยมนำสารสนเทศจากตัวแปรช่วย (Auxiliary Variable: X) มาช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณที่สร้างขึ้น ตัวอย่างเช่น นักพฤกษศาสตร์จะใช้ตัวแปรช่วย X ซึ่งได้แก่ วงปีของต้นไม้มาช่วยในการประมาณอายุเฉลี่ยซึ่งถือเป็นตัวแปรที่สนใจศึกษา (Study Variable: Y) ของต้นไม้ในป่า หรือนักสัตวบาลจะใช้จำนวนของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นตัวแปรช่วย X สำหรับช่วยในการประมาณจำนวนน่านมโดยเฉลี่ยซึ่งถือเป็นตัวแปรที่สนใจศึกษา Y ของฟาร์มปศุสัตว์พื้นที่แห่งหนึ่ง เป็นต้น

นอกจากจะใช้ตัวแปรช่วย X มาช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณที่สร้างขึ้นแล้ว นักสถิติอีกหลาย ๆ ท่านนิยมนำข้อมูลที่ทราบค่าจากตัวแปรช่วย X เช่น ค่าเฉลี่ย (Population Mean: $\bar{X}$) ค่าควอไทล์ (Quartile: Q_x) ค่าเดซิล์ (Decile: D_x) ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ (Percentile: P_x) ค่าขนาดตัวอย่าง (Sample Size: n) ค่ามัธยฐาน (Median: M_d) ค่าส่วนเบี่ยงเบน



มาตรฐาน (Standard Deviation: σ_x) ค่าสัมประสิทธิ์การแปรผัน (Coefficient of Variation: C_x) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient: ρ) ค่าสัมประสิทธิ์ความเบ้ (Coefficient of Skewness: $\beta_1(x)$) และค่าสัมประสิทธิ์ความโด่ง (Coefficient of Kurtosis: $\beta_2(x)$) เป็นต้น มาช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณ สำหรับประมาณค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่สนใจศึกษา ดังเห็นได้จากงานวิจัยของ Nazir และคณะ [1], Ahmed และคณะ [2], Dansawad [3], Subzar และคณะ [4] เป็นต้น

ทั้งนี้ประสิทธิภาพของตัวประมาณที่สร้างขึ้นนั้น จะขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่สนใจศึกษา Y กับตัวแปรช่วย X กล่าวคือ ถ้าหากผู้วิจัยทราบว่าคุณสมบัติของตัวแปรที่สนใจศึกษา Y มีความสัมพันธ์กับตัวแปรช่วย X ไปในทิศทางเดียวกัน (Positively Correlation) จะพบว่าตัวประมาณในรูปแบบอัตราส่วน (Ratio Estimator) จะมีประสิทธิภาพและมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการประมาณค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่สนใจศึกษา ในขณะที่ถ้าหากผู้วิจัยทราบว่าคุณสมบัติของตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และตัวแปรช่วย X มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้าม (Negatively Correlation) จะพบว่าตัวประมาณในรูปแบบผลคูณ (Product Estimator) จะมีประสิทธิภาพและมีความเหมาะสมที่สุด ([5], [6])

ภายใต้วิธีการเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน (SRSWOR) ผู้วิจัยจะทำการเลือกตัวอย่างขนาด n จากประชากรขนาด N และเมื่อต้องการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร (Population Mean: $\bar{Y}$) ของตัวแปรที่สนใจศึกษา Y ผู้วิจัยจะใช้ค่าเฉลี่ยตัวอย่าง (Sample Mean: $\bar{y} = \sum_{i=1}^n y_i / n$) เป็นตัวประมาณ ซึ่งในทางทฤษฎีพบว่าค่าเฉลี่ยตัวอย่าง ($\bar{y}$) มีคุณสมบัติเป็นตัวประมาณที่ไม่เอนเอียง (Unbiased Estimator) โดยมีความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยดังต่อไปนี้

$$MSE(\bar{y}) = \lambda \bar{Y}^2 C_y^2 \quad (1)$$

$$\text{โดยที่ } \lambda = (N-n)/Nn, \quad C_y = S_y / \bar{Y}, \quad S_y^2 = \sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2 / (N-1)$$

เมื่อ C_y และ S_y คือ สัมประสิทธิ์การแปรผันและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของตัวแปรที่สนใจศึกษา Y ตามลำดับ

จากตัวประมาณ $\bar{y}$ ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ยังมีนักวิจัยอีกหลายท่าน อาทิ Singh และคณะ [7] Sabo และคณะ [8] Cochran [9] Sisodia และ Dwivedi [10] Upadhyaya และ Singh [11] Singh และ Tailor [12] Singh และคณะ [13] Yan และ Tian [14] Subramani และ Kumarpandian [15] Jerajuddin และ Kishun [16] Pandey and Dubey [17] Singh และ Agnihotri [18] Singh และคณะ [19] และ Gupta และ Yadav [20] ได้พัฒนาตัวประมาณ $\bar{y}$ ให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยใช้สารสนเทศจากตัวแปรช่วย X ในการสร้างตัวประมาณทั้งในรูปแบบอัตราส่วนและรูปแบบผลคูณ สำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร โดยรายละเอียดต่าง ๆ ของตัวประมาณแต่ละตัวแสดงดังตารางที่ 1 และเพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณต่าง ๆ สำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ดังตัวประมาณที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณ โดยจะนำเสนอตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณ สำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ซึ่งผู้วิจัยจะพัฒนาจากตัวประมาณที่นำเสนอโดย Singh และคณะ [7] และ Sabo และคณะ [8] ภายใต้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน โดยตัวประมาณที่จะนำเสนอจะเป็นตัวประมาณที่มีความครอบคลุมตัวประมาณที่ถูกนำเสนอในตารางที่ 1 นอกจากนี้ผู้วิจัยจะศึกษาคุณสมบัติที่สำคัญบางประการของตัวประมาณนำเสนอขึ้นมาใหม่ ได้แก่ ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย และค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยต่ำสุด จากนั้นผู้วิจัยจะทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่กับตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทั้งในทางทฤษฎี การประยุกต์จากข้อมูลจริง และการจำลองข้อมูล



ตารางที่ 1 ตัวประมาณอัตราส่วน และความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่เกี่ยวข้องในงานวิจัย

ลำดับที่	ตัวประมาณ	ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย
1	$t_1 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X}}{\bar{x}} \right)$ Cochran [9]	$MSE(t_1) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + C_x^2 - 2\rho C_y C_x]$
2	$t_2 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + C_x}{\bar{x} + C_x} \right)$ Sisodia และ Dwivedi [10]	$MSE(t_2) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_1^2 C_x^2 - 2\theta_1 \rho C_y C_x]$
3	$t_3 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} C_x + \beta_2(x)}{\bar{x} C_x + \beta_2(x)} \right)$ Upadhyaya และ Singh [11]	$MSE(t_3) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_2^2 C_x^2 - 2\theta_2 \rho C_y C_x]$
4	$t_4 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + \rho}{\bar{x} + \rho} \right)$ Singh และ Tailor [12]	$MSE(t_4) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_3^2 C_x^2 - 2\theta_3 \rho C_y C_x]$
5	$t_5 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + \beta_2(x)}{\bar{x} + \beta_2(x)} \right)$ Singh และคณะ [13]	$MSE(t_5) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_4^2 C_x^2 - 2\theta_4 \rho C_y C_x]$
6	$t_6 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + \beta_1(x)}{\bar{x} + \beta_1(x)} \right)$ Yan และ Tian [14]	$MSE(t_6) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_5^2 C_x^2 - 2\theta_5 \rho C_y C_x]$
7	$t_7 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + M_d}{\bar{x} + M_d} \right)$ Subramani และ Kumarpandiyam [15]	$MSE(t_7) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_6^2 C_x^2 - 2\theta_6 \rho C_y C_x]$
8	$t_8 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + n}{\bar{x} + n} \right)$ Jerajuddin และ Kishun [16]	$MSE(t_8) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_7^2 C_x^2 - 2\theta_7 \rho C_y C_x]$
9	$t_9 = \bar{y} \left(\frac{\bar{x} + C_x}{\bar{X} + C_x} \right)$ Pandey and Dubey [17]	$MSE(t_9) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_1^2 C_x^2 + 2\theta_1 \rho C_y C_x]$
10	$t_{10} = \bar{y} \left(\frac{\bar{x} C_x + \beta_2(x)}{\bar{X} C_x + \beta_2(x)} \right)$ Upadhyaya และ Singh [11]	$MSE(t_{10}) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_2^2 C_x^2 + 2\theta_2 \rho C_y C_x]$
11	$t_{11} = \bar{y} \left(\frac{\bar{x} + \rho}{\bar{X} + \rho} \right)$ Singh และ Tailor [12]	$MSE(t_{11}) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_3^2 C_x^2 + 2\theta_3 \rho C_y C_x]$
12	$t_{12} = \bar{y} \left(\frac{\bar{x} + \beta_2(x)}{\bar{X} + \beta_2(x)} \right)$ Singh และคณะ [13]	$MSE(t_{12}) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_4^2 C_x^2 + 2\theta_4 \rho C_y C_x]$
13	$t_{13} = \bar{y} \left(\frac{a\bar{X} + b}{a\bar{x} + b} \right)$ Singh และ Agnihotri [18]	$MSE(t_{13}) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_8^2 C_x^2 - 2\theta_8 \rho C_y C_x]$
14	$t_{14} = \bar{y} \left(\frac{a\bar{x} + b}{a\bar{X} + b} \right)$ Singh และ Agnihotri [18]	$MSE(t_{14}) = \lambda \bar{Y}^2 [C_y^2 + \theta_8^2 C_x^2 + 2\theta_8 \rho C_y C_x]$
15	$t_{15} = \bar{y} \left(\frac{a\bar{X} + b}{a\bar{x} + b} \right)^{2g-1}$ Singh และคณะ [7]	$MSE(t_{15}) = \lambda \bar{Y}^2 \left[C_y^2 + (2g-1)^2 \theta_8^2 C_x^2 - 2(2g-1) \theta_8 \rho C_y C_x \right]$
16	$t_{16} = \bar{y} \left[\alpha + (1-\alpha) \left(\frac{\bar{X}}{\bar{x}} \right) \right]$ Singh และคณะ [19]	$MSE(t_{16}) = \lambda \bar{Y}^2 \left[C_y^2 + C_x^2 - 2\rho C_y C_x + \alpha^2 C_x^2 + 2\alpha \rho C_y C_x - 2\alpha C_x^2 \right]$



ลำดับที่	ตัวประมาณ	ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย
17	$t_{17} = \bar{y} \left[\alpha + (1-\alpha) \left(\frac{\bar{X} + n}{\bar{X} + n} \right) \right]$	Gupta และ Yadav [20] $MSE(t_{17}) = \lambda \bar{Y}^2 \begin{bmatrix} C_y^2 + \theta_7^2 C_x^2 - 2\theta_7 \rho C_y C_x \\ + \alpha^2 \theta_7^2 C_x^2 + 2\alpha \theta_7 \rho C_y C_x \\ - 2\alpha \theta_7^2 C_x^2 \end{bmatrix}$
18	$t_{18} = \bar{y} \left[\alpha + (1-\alpha) \left(\frac{\bar{X} \rho + n}{\bar{X} \rho + n} \right) \right]$	Sabo และคณะ [8] $MSE(t_{18}) = \lambda \bar{Y}^2 \begin{bmatrix} C_y^2 + \theta_9^2 C_x^2 - 2\theta_9 \rho C_y C_x \\ + \alpha^2 \theta_9^2 C_x^2 + 2\alpha \theta_9 \rho C_y C_x \\ - 2\alpha \theta_9^2 C_x^2 \end{bmatrix}$

โดยที่ $\theta_1 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + C_x}$, $\theta_2 = \frac{\bar{X} C_x}{\bar{X} C_x + \beta_2(x)}$, $\theta_3 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + \rho}$, $\theta_4 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + \beta_2(x)}$, $\theta_5 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + \beta_1(x)}$, $\theta_6 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + M_d}$,
 $\theta_7 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + n}$, $\theta_8 = \frac{a\bar{X}}{a\bar{X} + b}$, $\theta_9 = \frac{\bar{X} \rho}{\bar{X} \rho + n}$

เมื่อ a และ b คือ ฟังก์ชันหรือค่าคงที่ใด ๆ ที่ทราบค่าจากตัวแปรช่วย X

g คือ ค่าคงที่ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้จะกำหนดให้มีค่าเท่ากับ -1 และ 1 เท่านั้น

วิธีดำเนินการวิจัย

จากตัวประมาณต่าง ๆ ในตารางที่ 1 และตัวประมาณที่นำเสนอโดย Singh และคณะ [7] และ Sabo และคณะ [8] ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะพัฒนาและนำเสนอตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณ สำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร โดยใช้สารสนเทศจากตัวแปรช่วย X ภายใต้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน โดยตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ มีรูปแบบดังนี้

$$t_{19} = \bar{y} \left[\alpha + (1-\alpha) \left(\frac{a\bar{X} + b}{a\bar{X} + b} \right)^{2g-1} \right] \quad (2)$$

เมื่อ α คือ ค่าคงที่ใด ๆ ที่จะทำให้ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณ t_{19} มีค่าต่ำที่สุด

ในการคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยและค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยต่ำสุดของตัวประมาณ t_{19} จากสมการที่ (1) ผู้วิจัยจะทำการจัดรูปแบบของตัวประมาณ t_{19} ให้อยู่ในพจน์ความคลาดเคลื่อน (Error Terms) โดยกำหนดให้ $\bar{y} = \bar{Y}(1+e_0)$ และ $\bar{x} = \bar{X}(1+e_1)$ เมื่อ $E(e_0) = E(e_1) = 0$, $E(e_0^2) = \lambda C_y^2$, $E(e_1^2) = \lambda C_x^2$ และ $E(e_0 e_1) = \lambda \rho C_y C_x$ นั่นคือจากสมการที่ (2) จะสามารถจัดสมการ ให้อยู่ในพจน์ของค่าคลาดเคลื่อนได้ดังนี้

$$t_{19} = \bar{Y}(1+e_0) \left[\alpha + (1-\alpha)(1+\theta_9 e_1)^{-(2g-1)} \right] \quad (3)$$

จากทฤษฎีบททวินาม (Binomial Theorem) ในกรณีที่เลขยกกำลังติดลบ พจน์ $(1+x)^{-n}$ สามารถกระจายโดยใช้อนุกรมเทย์เลอร์ได้ดังนี้ $(1+x)^{-n} = 1 - nx + \frac{n(n+1)}{2!} x^2 - \frac{n(n+1)(n+2)}{3!} x^3 + \dots + \frac{(-1)^r n(n+1)(n+2)\dots(n+r-1)}{r!} x^r + \dots$ และเมื่อเทียบกับพจน์ข้างต้น ดังนั้นพจน์ $(1+\theta_9 e_1)^{-(2g-1)}$ ที่อยู่ในสมการ (3) จะสามารถกระจายโดยใช้อนุกรมเทย์เลอร์ได้คือ



$$(1 + \theta_8 e_1)^{-(2g-1)} = 1 - (2g-1)\theta_8 e_1 + \frac{(2g-1)(2g-1+1)}{2!}(\theta_8 e_1)^2 - \frac{(2g-1)(2g-1+1)(2g-1+2)}{3!}(\theta_8 e_1)^3 + \dots$$

และพจน์ที่ยกกำลัง 3 เป็นต้นไป จะถูกกำหนดให้เป็นค่าคลาดเคลื่อนจากการตัดปลาย (Truncation Error) กล่าวคือเป็นค่าคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการตัดเทอมท้าย ๆ ของอนุกรมเทย์เลอร์ ซึ่งในทางทฤษฎีค่าคลาดเคลื่อนดังกล่าวจะเข้าสู่ศูนย์ ทำให้การกระจายของพจน์

$$(1 + \theta_8 e_1)^{-(2g-1)} \text{ จึงเหลือแค่ } (1 + \theta_8 e_1)^{-(2g-1)} = 1 - (2g-1)\theta_8 e_1 + \frac{(2g-1)(2g-1+1)}{2!}(\theta_8 e_1)^2 \text{ นั่นคือจากสมการที่ (3) จะได้}$$

$$t_{19} = \bar{Y}(1 + e_0) \left[\alpha + (1-\alpha)1 - (2g-1)\theta_8 e_1 + 2(2g-1)\theta_8^2 e_1^2 \right]$$

⋮

$$= \bar{Y} \left[1 - (2g-1)\theta_8 e_1 + (2g-1)g\theta_8^2 e_1^2 + (2g-1)\alpha\theta_8 e_1 - (2g-1)\alpha g\theta_8^2 e_1^2 + e_0 - (2g-1)\theta_8 e_0 e_1 + (2g-1)\alpha\theta_8 e_0 e_1 \right] \quad (4)$$

จากสมการที่ (4) สามารถหาค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณ t_{19} ได้จาก

$$MSE(t_{19}) = E[t_{19} - \bar{Y}]^2$$

$$= E \left[\bar{Y} \left[\begin{array}{l} 1 - (2g-1)\theta_8 e_1 + (2g-1)g\theta_8^2 e_1^2 + (2g-1)\alpha\theta_8 e_1 \\ - (2g-1)\alpha g\theta_8^2 e_1^2 + e_0 - (2g-1)\theta_8 e_0 e_1 + (2g-1)\alpha\theta_8 e_0 e_1 \end{array} \right] - \bar{Y} \right]^2$$

⋮

$$= \bar{Y}^2 E \left[(2g-1)^2 \theta_8^2 e_1^2 + (2g-1)^2 \alpha^2 \theta_8^2 e_1^2 + e_0^2 - 2(2g-1)^2 \alpha \theta_8^2 e_1^2 - 2(2g-1)\theta_8 e_0 e_1 + 2(2g-1)\alpha\theta_8 e_0 e_1 \right] \quad (5)$$

แทนค่า เมื่อ $E(e_0) = E(e_1) = 0$, $E(e_0^2) = \lambda C_y^2$, $E(e_1^2) = \lambda C_x^2$, และ $E(e_0 e_1) = \rho C_y C_x$ ลงในสมการที่ (5) จะได้

$$MSE(t_{19}) = \lambda \bar{Y}^2 \left[C_y^2 + (2g-1)^2 (1-\alpha)^2 \theta_8^2 C_x^2 - 2(2g-1)(1-\alpha)\theta_8 \rho C_y C_x \right] \quad (6)$$

$$\text{โดยสมการ (6) จะมีค่าที่ต่ำที่สุดเมื่อแทนค่า } \alpha \text{ ด้วย } \alpha = \frac{\theta_8 C_x (2g-1) - \rho C_y}{\theta_8 C_x (2g-1)} = \alpha_{opt} \quad (7)$$

เมื่อแทนค่า α_{opt} จากสมการที่ (7) ลงในสมการที่ (6) จะได้ค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยต่ำสุดของตัวประมาณ t_{19} ดังนี้

$$MMSE(t_{19}) = \lambda \bar{Y}^2 C_y^2 (1 - \rho^2) \quad (8)$$

ผลการวิจัย

ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ t_{19} กับตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัยจะเปรียบเทียบทางทฤษฎี การประยุกต์จากข้อมูลจริง และการจำลองข้อมูล ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณทางทฤษฎี

โดยตัวประมาณ t_{19} จะมีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอื่น ๆ ที่แสดงดังตารางที่ 1 เมื่อเงื่อนไขต่าง ๆ ที่แสดงดังตารางที่ 2 เป็นจริง



ตารางที่ 2 เงื่อนไขที่ใช้ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างตัวประมาณ t_{19} กับตัวประมาณตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

ลำดับที่	การเปรียบเทียบ	เงื่อนไข
1	$MMSE(t_{19}) < MSE(\bar{y})$	$C_y^2 \rho^2 > 0$
2	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_1)$	$(C_x - \rho C_y)^2 > 0$
3	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_i); i = 2, \dots, 8$	$(\theta_i C_x - \rho C_y)^2 > 0$
4	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_i); i = 9, 10, \dots, 12$	$(\theta_i C_x + \rho C_y)^2 > 0$
5	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_{13})$	$(\theta_8 C_x - \rho C_y)^2 > 0$
6	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_{14})$	$(\theta_8 C_x + \rho C_y)^2 > 0$
7	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_{15})$	$[(2g-1)\theta_8 C_x - \rho C_y]^2 > 0$
8	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_{16})$	$(C_x - \rho C_y)^2 + \alpha C_x^2 (\alpha + 2K - 2) > 0$
9	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_{17})$	$(\theta_7 C_x - \rho C_y)^2 + \alpha \theta_7 C_x^2 (\alpha \theta_7 + 2K - 2\theta_7) > 0$
10	$MMSE(t_{19}) < MSE(t_{18})$	$(\theta_9 C_x - \rho C_y)^2 + \alpha \theta_9 C_x^2 (\alpha \theta_9 + 2K - 2\theta_9) > 0$

โดยที่ $K = \rho C_y / C_x$

2. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณจากการประยุกต์จากข้อมูลจริง

เพื่อเทียบประสิทธิภาพระหว่างตัวประมาณ t_{19} กับตัวประมาณอื่น ๆ ที่แสดงดังตารางที่ 1 ผู้วิจัยใช้ข้อมูลจริงจำนวน 2 ชุด ซึ่งเก็บรวบรวมโดย วรวิทย์ พูลสวัสดิ์ [21] และสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร [22] ตามลำดับ โดยข้อมูลชุดที่ 1 เป็นข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณขยะที่จัดเก็บได้ในแต่ละหมู่บ้าน ภายใต้พื้นที่รับผิดชอบขององค์การบริหารส่วนตำบลหนองนมวัว อำเภอลาดยาว จังหวัดนครสวรรค์ (หน่วย: ตัน) ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2566 ทั้งนี้กำหนดให้ปริมาณขยะที่ถูกจัดเก็บ (หน่วย: ตัน) เป็นตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และจำนวนครัวเรือนในแต่ละหมู่บ้าน (หน่วย: ครัวเรือน) เป็นตัวแปรช่วย X รายละเอียดต่าง ๆ ของข้อมูลแสดงดังนี้

$$N = 37, \quad n = 15, \quad \bar{Y} = 73.3707, \quad \bar{X} = 532.0000, \quad \rho = 0.6585, \quad C_x = 10.8376, \quad C_y = 12.7633, \\ \beta_1(x) = 0.2619, \quad \beta_2(x) = -1.9158, \quad S_y = 9.3645, \quad S_x = 57.6489, \quad M_d = 502.0000$$

ในขณะที่ข้อมูลชุดที่ 2 เป็นข้อมูลปริมาณผลผลิตลำไยที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดเชียงราย ระหว่างปี พ.ศ. 2557 ถึง ปี พ.ศ. 2564 โดยกำหนดให้ปริมาณผลผลิตลำไย (หน่วย: ตัน) เป็นตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และพื้นที่ที่ใช้ในการปลูก (หน่วย: ไร่) เป็นตัวแปรช่วย X ข้อมูลลักษณะประชากรแสดงดังนี้

$$N = 144, \quad n = 70, \quad \bar{Y} = 3984.0714, \quad \bar{X} = 9608.1714, \quad \rho = 0.9682, \quad C_x = 130.2381, \quad C_y = 118.9505, \\ \beta_1(x) = 2.2745, \quad \beta_2(x) = 6.4327, \quad S_y = 4739.0736, \quad S_x = 12513.4962, \quad M_d = 5403.5000$$



ทั้งนี้ผู้วิจัยจะทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณแต่ละตัว โดยจะพิจารณาจากค่า PRE ซึ่งคำนวณจากสมการที่ (9) ดังนี้

$$PRE(t_i) = \frac{MSE(\bar{y})}{MSE(t_i)} \times 100 ; i = 1, 2, \dots, 19 \quad (9)$$

โดยผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณแต่ละตัวแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า PRE ของตัวประมาณแต่ละตัวภายใต้ประชากรที่ศึกษาจากข้อมูลชุดที่ 1 และ ชุดที่ 2

ข้อมูลชุดที่ 1		ข้อมูลชุดที่ 2	
ตัวประมาณ	PRE	ตัวประมาณ	PRE
$\bar{y}$	100.000	$\bar{y}$	100.000
t_1	165.893	t_1	1270.858
t_2	167.611	t_2	1329.955
t_3	165.864	t_3	1270.882
t_4	166.003	t_4	1271.310
t_5	165.569	t_5	1273.855
t_6	165.937	t_6	1271.919
t_7	162.457	t_7	1245.540
t_8	168.220	t_8	1303.055
t_9	35.863	t_9	23.481
t_{10}	35.210	t_{10}	23.154
t_{11}	35.260	t_{11}	23.157
t_{12}	35.106	t_{12}	23.170
t_{16}	165.940	t_{16}	1270.861
t_{17}	168.008	t_{17}	1596.652
t_{18}	168.783	t_{18}	1596.653
t_{19}	176.541	t_{19}	1596.667

จากตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาภายใต้ข้อมูลที่ทำการศึกษาคู่เดียวกัน พบว่าค่า PRE ของตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ t_{19} มีค่าสูงที่สุด ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าตัวประมาณ t_{19} เป็นตัวประมาณที่มีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทุกตัว และเมื่อพิจารณาจากข้อมูลชุดที่ 1 และข้อมูลชุดที่ 2 พบว่านอกจากตัวประมาณ t_{19} แล้ว ตัวประมาณ t_7 และตัวประมาณ t_{18} ที่มีการนำค่าสารสนเทศจากตัวแปรช่วย ได้แก่ ค่าขนาดตัวอย่าง (n) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (ρ) มาสร้างตัวประมาณในรูปแบบตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณ สำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร มีประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับตัวประมาณ t_{19} นำเสนอขึ้นมาใหม่มากที่สุด เนื่องจากมีค่า PRE ที่สูงใกล้เคียงรองลงมา โดยตัวประมาณ t_7 และตัวประมาณ t_{18} มีประสิทธิภาพด้อยกว่าตัวประมาณ t_{19} เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่ตัวประมาณ $\bar{y}$ เป็นตัวประมาณที่มีประสิทธิภาพด้อยกว่าตัวประมาณอื่น ๆ ทุกตัว เมื่อพิจารณาจากข้อมูลที่ทำการศึกษาทั้ง 2 ชุด



3. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณโดยการจำลองข้อมูล

ในการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณที่นำเสนอเกี่ยวกับตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องสำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ผู้วิจัยจะทำการจำลองข้อมูลโดยใช้โปรแกรม R เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณในเงื่อนไขต่าง ๆ ที่กำหนดในงานวิจัย โดยผู้วิจัยจะจำลองข้อมูลประชากร (X, Y) ที่มีการแจกแจงแบบปกติสองตัวแปร โดยที่ตัวแปรที่สนใจศึกษา Y มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2 มีความแปรปรวนเท่ากับ 1 และตัวแปรช่วย X มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1 มีความแปรปรวนเท่ากับ 1 กำหนดขนาดประชากรเท่ากับ 1,000 และกำหนดค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation Coefficient: ρ) เท่ากับ 0.35, 0.75 และ 0.95 ตามลำดับ จากนั้นจะทำการสุ่มตัวอย่างของตัวแปรช่วย X และตัวแปรที่สนใจศึกษา Y จากประชากรที่สร้างขึ้น โดยจะทำการเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน ด้วยขนาดตัวอย่างเท่ากับ 50 และ 100 ตามลำดับ โดยผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณ แสดงดังตารางที่ 4 ดังนี้

ตารางที่ 4 ค่า PRE ของตัวประมาณแต่ละตัวจากการจำลองข้อมูล

ตัวประมาณ	$\rho = 0.35$		$\rho = 0.75$		$\rho = 0.95$	
	$n = 50$	$n = 100$	$n = 50$	$n = 100$	$n = 50$	$n = 100$
$\bar{y}$	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
t_1	147.139	151.832	154.313	160.602	564.161	843.599
t_2	155.254	157.722	162.589	168.368	581.423	906.250
t_3	158.802	158.330	170.262	184.146	597.518	975.779
t_4	160.671	158.433	196.714	194.470	631.906	1018.818
t_5	163.710	164.674	217.043	210.456	652.482	1118.935
t_6	164.579	167.433	217.669	224.047	603.899	1171.086
t_7	174.706	175.059	218.456	284.653	698.942	1200.122
t_8	176.117	176.837	233.192	269.155	724.222	1293.029
t_9	86.779	91.517	96.343	104.790	99.320	107.500
t_{10}	83.502	89.375	93.484	98.584	97.071	99.867
t_{11}	86.746	91.173	94.206	101.313	98.439	104.979
t_{12}	83.205	89.112	92.381	92.771	96.932	98.641
t_{16}	179.610	189.876	207.762	290.041	716.888	1454.804
t_{17}	192.168	199.824	223.102	317.261	816.468	1478.088
t_{18}	199.950	202.606	235.463	324.677	913.982	1537.427
t_{19}	208.822	210.668	257.010	342.521	932.787	1564.567

จากตารางที่ 4 เมื่อขนาดตัวอย่างเท่ากัน แต่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าเพิ่มขึ้น คือ จาก $\rho = 0.35$ ไปเป็น $\rho = 0.95$ จะส่งผลให้ค่า PRE ของตัวประมาณต่าง ๆ ที่ศึกษามีค่าเพิ่มขึ้น โดยค่า PRE ของตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ t_9 จะมีค่ามากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับค่า PRE ของตัวประมาณอื่น ๆ ภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน และเมื่อพิจารณาค่า PRE ของตัวประมาณต่าง ๆ ภายใต้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เดียวกัน จะพบว่าขนาดตัวอย่าง (n) จะส่งผลโดยตรงต่อค่า PRE ที่คำนวณได้ กล่าวคือถ้าขนาด

ตัวอย่างมีขนาดใหญ่ (ขนาดตัวอย่างเปลี่ยนจาก $n = 50$ ไปเป็น $n = 100$) ทำให้ค่า PRE มีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย โดยตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ t_9 เป็นตัวประมาณที่มีค่า PRE สูงที่สุด ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ t_9 มีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอื่น ๆ ทุกตัว

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการนำเสนอตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณ สำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ในการสำรวจตัวอย่าง โดยใช้สารสนเทศจากตัวแปรช่วย ซึ่งพัฒนามาจากตัวประมาณที่นำเสนอโดย Singh และคณะ [1] Sabo และคณะ [2] โดยผู้วิจัยได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่กับตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทั้งในทางทฤษฎี การประยุกต์จากข้อมูลจริง และการจำลองข้อมูล โดยผลการวิจัยพบว่า การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ t_9 กับตัวประมาณต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในงานวิจัย ได้แก่ ตัวประมาณ $\bar{y}$, t_i , $i = 1, \dots, 18$ ในทางทฤษฎี ตัวประมาณที่นำเสนอ t_9 จะมีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ถ้าหากเงื่อนไขจากตารางที่ 2 เป็นจริง ในขณะที่การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณจากการประยุกต์จากข้อมูลจริง แสดงดังตารางที่ 3 พบว่า ค่า PRE ของตัวประมาณที่นำเสนอ t_9 ที่คำนวณจากข้อมูลชุดที่ 1 ซึ่งเก็บรวบรวมโดย วรวิทย์ พูลสวัสดิ์ [21] และข้อมูลชุดที่ 2 ซึ่งรวบรวมโดยสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร [22] มีค่ามากกว่าค่า PRE ของตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทุกตัว และจากค่า PRE ดังกล่าวทำให้ทราบว่าตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ t_9 มีค่า MSE ต่ำที่สุดในบรรดาตัวประมาณที่ศึกษาในงานวิจัยฉบับนี้ และสำหรับผลการเปรียบเทียบของตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่กับตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องจากการจำลองข้อมูล พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกันกับผลการเปรียบเทียบทั้งในทางทฤษฎีและการประยุกต์จากข้อมูลจริง โดยมีข้อสังเกตเพิ่มเติมคือ เมื่อขนาดตัวอย่างมีค่าที่เพิ่มขึ้น จะส่งผลโดยตรงต่อค่า PRE ที่คำนวณได้ กล่าวคือถ้าขนาดตัวอย่างมีขนาดใหญ่ ค่า PRE จะสูงขึ้นตามไปด้วย จากที่กล่าวมาข้างต้นจึงสามารถสรุปได้ว่า ภายใต้สถานการณ์ที่ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และตัวแปรช่วย X มีค่าเป็นบวก ตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณที่นำเสนอจะยังคงมีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอื่น ๆ ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า ตัวประมาณอัตราส่วนร่วมกับผลคูณที่นำเสนอมีประสิทธิภาพมากเพียงพอที่จะนำไปใช้เป็นตัวประมาณสำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ในกรณีที่ต้องแก้ไขปัญหาความเอนเอียงและปัญหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณ ภายใต้การศึกษาเดียวกับสถานการณ์ในงานวิจัยฉบับนี้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sharma และคณะ [23] และ Ahmad และคณะ [24]

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ศึกษาภายใต้สถานการณ์ที่ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และตัวแปรช่วย X มีค่าเป็นบวกเท่านั้น ในการวิจัยครั้งต่อไปอาจจะขยายสถานการณ์ที่ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และตัวแปรช่วย X เป็นรูปแบบอื่น ๆ
2. ในงานวิจัยนี้ยังมีขนาดของกลุ่มตัวอย่างน้อย ดังนั้นเพื่อให้ผลการวิจัยครอบคลุมมากกว่านี้ จึงควรเพิ่มขนาดตัวอย่างให้มากขึ้น และควรใช้วิธีการเลือกตัวอย่างสุ่มแบบอื่น ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณที่นำเสนอให้มีความแม่นยำมากขึ้น



เอกสารอ้างอิง

1. Nazir A, Maqbool S, Ahmad S. Modified linear regression estimators using quartiles and standard deviation. *J Stat Appl Probab* 2018;7(2):379-88.
2. Ahmed S, Arslan M, Khan A, Shabbir J. A generalized exponential-type estimator for population mean using auxiliary attributes. *PLOS ONE* 2019;16(5):1-29.
3. Dansawad N. New ratio estimators for estimating the population mean using the median and size of the sample. *BUU SCI J* 2022;27(1):120-34.
4. Subzar M, Lone SA, Ekpenyong EJ, Salam A, Aslam M, Raja TA. Efficient class of ratio cum median estimators for estimating the population median. *PLOS ONE* 2023;18(2):1-14.
5. Enang EI, Akpan VM, Ekpenyong EJ. Alternative ratio estimator of population mean in simple random sampling. *J Math Res* 2014;6(3):54-61.
6. Yadav VK, Prasad S. A simulation-based optimization of factor-type exponential estimators in sample surveys with coefficients of variation and kurtosis. *Franklin Open* 2023;5:1-8.
7. Singh HP, Solanki RS, Singh AK. A generalized ratio-cum-product estimator for estimating the finite population mean in survey sampling. *Commun Stat-Theory Methods* 2016;45(1):158-72.
8. Sabo SA, Musa IZ, Kibiya YI. Developed ratio estimator for estimating population mean from a finite population using sample size and correlation. *IJRASET* 2020;8(5):904-11.
9. Cochran WG. The estimation of the yields of the cereal experiments by sampling for the ratio of grain to total produce. *J Agric Sci* 1940;30:262-75.
10. Sisodia BVS, Dwivedi VK. A modified ratio estimator using coefficient of variation of auxiliary variable. *Jour Ind Soc Ag Statistics* 1981;33:13-8.
11. Upadhyaya LN, Singh HP. Use of transformed auxiliary variable in estimating the finite population mean. *Biom J* 1999;41:627-36.
12. Singh HP, Tailor R. Use of known correlation coefficient in estimating the finite population mean. *Stat Transit* 2003;6:555-60.
13. Singh HP, Tailor R, Kakaran MS. An estimator of population mean using power transformation. *Journal of Ind Soc Ag Statistics* 2004;58(2):223-30.
14. Yan Z, Tian B. Ratio method to the mean estimation using coefficient of skewness of auxiliary variable. *Commun Comput Inf Sci* 2010;106:103-10.
15. Subramani J, Kumarpandiyam G. New modified ratio estimation of population mean when median of auxiliary variable is known. *Pak J Stat Oper Res* 2013;2:137-45.
16. Jerajuddin M, Kishun J. Modified ratio estimators for population mean using size of the sample, selected from population. *IJSRSET* 2016;2(2):10-6.



17. Pandey BN, Dubey Vyas. Modified product estimator using coefficient of variation of auxiliary variate. Assam Statistical Rev 1988;2(2):64-6.
18. Singh HP, Agnihotri N. A general procedure of estimating population mean using auxiliary information in sample surveys. Stat Trans New Ser 2008;9(1):71-87.
19. Singh HP, Rathour A, Solanki RS. An improvement over regression method of estimation. Statistica 2012;72(4):415-29.
20. Gupta RK, Yadav SK. Improved estimation of population mean using information on size of the sample. Am J Math Stat 2018;8(2):27-35.
21. วรพลชัย พูลสวัสดิ์. รายงานผลข้อมูลสถิติการให้บริการด้านการจัดเก็บขยะมูลฝอยในครัวเรือน รอบ 6 เดือน (ตุลาคม 65- มีนาคม 66). องค์การบริหารส่วนตำบลหนองนมวัว อำเภอลาดยาว จังหวัดนครสวรรค์ [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 1 ต.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก https://www.nongnomwua.go.th/file_subject/20230411_131606.pdf
22. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 1 ต.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก <https://www.oae.go.th/view/1/ตารางแสดงรายละเอียดค่าใช้จ่าย/TH-TH>
23. Sharma R, Singh L, Yadav SK, Kumar S, Kumar S, Sangal PK. Two efficient class of ratio estimators for population mean estimation using auxiliary information in simple random sampling. Int J Agricult Stat 2022;18(1):1271-6.
24. Ahmad S, Zahid E, Shabbir J, Aamir M, Onyango R. Enhanced estimation of the population mean using two auxiliary variables under probability proportional to size sampling. Math Probl Eng 2023;2023(1):1-14.



การสังเคราะห์ การวิเคราะห์คุณลักษณะและประสิทธิภาพการกักเก็บสารของอนุภาคลิโปโซม
สำหรับสารประกอบกลุ่มแคปไซซินอยด์

Synthesis, Characterization, and Encapsulation Efficiency of Liposome
Particles for Capsaicinoid Compounds

สุวัชชัย มิสุนา* และ นีรมล ศรีชนะ

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย เลข 42000

Suwatchai Misuna* and Niramol Srichana

Chemistry Program, Department of Science, Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University,
Loei 42000

*Corresponding author: suwatchai.mis@lru.ac.th

Received: 28 December 2024/ Revised: 18 February 2025/ Accepted: 24 February 2025

บทคัดย่อ

อนุภาคลิโปโซมมีลักษณะเป็นถุงกลมประกอบด้วยชั้นลิพิดสองชั้นล้อมรอบน้ำที่เป็นแกนกลาง ประโยชน์ของอนุภาคลิโปโซมสามารถกักเก็บสารสำคัญไว้ในอนุภาคเพื่อป้องกันการเสื่อมสลาย เพิ่มความคงตัวและช่วยลดความเป็นพิษจากการใช้สารสำคัญโดยตรง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเคราะห์อนุภาคลิโปโซมกักเก็บแคปไซซินอยด์ (แคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซิน และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอักเสบ ลดการปวด แต่มีข้อจำกัดในด้านการเสถียรภาพและความเป็นพิษจากการใช้แคปไซซินอยด์ ทำการทดลองโดยสังเคราะห์อนุภาคลิโปโซมด้วยวิธีระเหยกลับวัฏภาคโดยใช้ฟอสโฟลิพิดเข้มข้น 1.0 %w/v ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค และประจุบนผิวอนุภาคด้วยเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต ศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ตรวจสอบประสิทธิภาพการกักเก็บด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และศึกษาความคงตัวของอนุภาคลิโปโซมที่เวลา 12 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าอนุภาคลิโปโซมที่สังเคราะห์ได้มีลักษณะเป็นสารผสมเนื้อเดียวสีเหลือง สัณฐานวิทยามีรูปร่างเป็นทรงกลม ขนาดอนุภาคอยู่ระหว่าง 409 - 560 nm ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 0.30 ถึง 0.34 และมีค่าประจุบนผิวอนุภาคตั้งแต่ -41 ถึง -55 mV ประสิทธิภาพการกักเก็บแคปไซซินอยด์ไว้ในอนุภาคลิโปโซมพบว่าแคปไซซินถูกกักเก็บได้มากที่สุด รองลงมาคือ ไดไฮโดรแคปไซซิน และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน มีประสิทธิภาพการกักเก็บร้อยละ 92.39 ± 11.02 , 58.17 ± 9.24 และ 34.95 ± 2.80 ตามลำดับ อนุภาคลิโปโซมมีความคงตัวสูงสุดที่เวลา 6 สัปดาห์ ผลการศึกษารูปได้ว่าอนุภาคลิโปโซมที่สังเคราะห์ได้มีขนาดอนุภาคสม่ำเสมอ มีความเสถียรที่ดีไม่เกาะกลุ่มและรวมตัวกันตกตะกอน และมีประสิทธิภาพในการกักเก็บแคปไซซินที่สูงสามารถนำอนุภาคลิโปโซมที่ได้ไปต่อยอดได้ในอนาคต

คำสำคัญ: เทคโนโลยีกักเก็บสารสำคัญ อนุภาคลิโปโซม สารประกอบแคปไซซินอยด์ วิธีระเหยกลับวัฏภาค

Abstract

Liposomes are spherical vesicles composed of lipid bilayer shells surrounding aqueous interior cores. These particles can encapsulate essential substances, prevent degradation, enhance stability and reduce toxicity or irritation associated with direct substance use. This research aims to synthesize liposomal particles encapsulating capsaicinoids (capsaicin, dihydrocapsaicin and nordihydrocapsaicin), which possess anti-inflammatory and pain-relieving properties but are limited by degradation and toxicity associated with the direct use of capsaicinoids. The liposomes were synthesized using the reverse-phase evaporation method with phospholipids at a concentration of 1.0 %w/v. Their physical properties, including particle size, polydispersity index and zeta-potential were analyzed using dynamic light scattering technique. Morphological characteristics were examined via transmission electron microscopy. Encapsulation efficiency was assessed using high-performance liquid chromatography and liposome stability was evaluated over a 12-week period. The results showed that the synthesized liposomal particles formed a homogeneous yellow mixture. The particles exhibited a spherical shape, with sizes ranging from 409 - 560 nm, a polydispersity index of 0.30 to 0.34 and a zeta-potential between -41 and -55 mV. Encapsulation efficiency analysis revealed that capsaicin had the highest encapsulation rate, followed by dihydrocapsaicin and nordihydrocapsaicin with efficiencies of $92.39 \pm 11.02\%$, $58.17 \pm 9.24\%$ and $34.95 \pm 2.80\%$, respectively. The liposomes demonstrated maximum stability for up to six weeks. In conclusion, the synthesized liposomal particles exhibited uniform size, high stability and minimal aggregation or sedimentation. Their high encapsulation efficiency for capsaicin highlights their potential for future applications.

Keywords: Encapsulation technology, Liposome particles, Capsaicinoid compounds, Reverse-phase evaporation method

บทนำ

ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารสำคัญที่ได้จากธรรมชาติ เช่น จากพืช ผักหรือสมุนไพร ซึ่งสารสำคัญถูกนำมาใช้ในรูปแบบของอาหารเสริมที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังโดยผ่านการสกัดให้มีความเข้มข้นและนำมาพัฒนารูปแบบให้เป็นเม็ดหรือแคปซูล อย่างไรก็ตามการศึกษาค้นคว้าจากธรรมชาติมีข้อจำกัดทางด้านกายภาพและทางเคมีที่ส่งผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ เช่น สลายตัวได้ง่ายเนื่องจากความชื้น ความร้อนและออกซิเจน หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีจากค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงไป [1] สารสำคัญบางชนิดมีความเป็นพิษและเกิดการระคายเคืองต่อผู้นำไปใช้ บางชนิดไม่สามารถถูกดูดซึมหรือถูกดูดซึมได้น้อยในระบบทางเดินอาหาร [2] จึงต้องมีการพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสารสำคัญให้ใช้ได้ทั้งภายนอกและภายในร่างกาย เช่น การพัฒนาตัวนำส่งสารคอร์ติโคสเตียรอยด์ซึ่งสกัดได้จากเหงือกปลาหมอโดยสังเคราะห์เป็นไมโครเอนแคปซูเลชันที่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารคอร์ติโคสเตียรอยด์และมีความคงทนเมื่ออยู่ในสภาวะกรดหรือสภาวะเหมือนในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถปลดปล่อยสารคอร์ติโคสเตียรอยด์เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นหรือมีสภาวะเหมือนในลำไส้เล็ก [2]

แคปไซซินอยด์ (capsaicinoids) เป็นกลุ่มของสารที่ให้ความเผ็ดร้อนพบมากในพริก ตัวอย่างของสารในกลุ่มแคปไซซินอยด์ เช่น แคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซิน นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน โฮโมแคปไซซิน และโฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน มีงานวิจัยได้ศึกษาแคปไซซินอยด์ (โดยเฉพาะแคปไซซิน) พบว่ามีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา มีฤทธิ์ระงับและบรรเทาอาการปวด ลดการติดเชื้อ ลดการอักเสบ และกระตุ้นการเคลื่อนตัวของทางเดินอาหาร [3] แต่การนำสารแคปไซซินอยด์ไปใช้ประโยชน์มีข้อจำกัดหลายประการ เช่น เมื่อให้สารแคปไซซินอยด์กับหนูขาวพบว่าการดูดซึมในระบบทางเดินอาหารอย่างรวดเร็วและ



เกิด เมแทบอลิซึมอย่างสมบูรณ์ก่อนเข้าสู่กระแสเลือด หรือหลังจากได้รับแคปไซซินใน 15 นาที พบระดับแคปไซซินในกระแสเลือดเพียง 5 % ของปริมาณที่ได้รับ [3] นอกจากนี้การดูดซึมแคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซินในระบบทางเดินอาหารพบว่าในเวลา 60 นาที สารทั้งสองจะหายไปจากกระเพาะอาหาร ถ้าใส่เล็กลูกชิ้นและไอเลียมประมาณ 50, 80 และ 70 % ตามลำดับ [4] การศึกษาผลของแคปไซซินในอาสาสมัคร 12 คน โดยให้รับประทานพริกขี้หนูสด 5 กรัม รับประทานอย่างเล็ดทุก 15 นาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วิเคราะห์ระดับแคปไซซินพบค่าเฉลี่ยจลนศาสตร์ ได้แก่ ค่าความเข้มข้นที่พบสูงสุด 2.47 ng/mL ช่วงเวลาที่พบสารความเข้มข้นสูงสุด 47.8 นาที ค่าครึ่งชีวิต 24.87 นาที [5] มีงานวิจัยได้ประยุกต์ใช้แคปไซซินในรูปของยาหม่องโดยผสมแคปไซซินเข้มข้น 0.025 % เพื่อใช้เป็นยาทาเฉพาะที่สำหรับลดอาการปวดข้อและปวดกล้ามเนื้อ พบว่ายาหม่องที่มีส่วนผสมของแคปไซซินสามารถลดอาการปวดข้อและปวดกล้ามเนื้อได้อย่างมีนัยสำคัญแต่อาการข้างเคียงทำให้ผู้ใช้เกิดความรู้สึกแสบร้อนบริเวณที่ทาซึ่งเป็นผลของแคปไซซินโดยตรง [6]

เทคโนโลยีการกักเก็บสารสำคัญ (encapsulation technology) เป็นเทคโนโลยีที่ทำให้สารถูกกักเก็บไว้ในสารอีกชนิดหนึ่ง สารที่ถูกกักเก็บไว้ภายในเรียกว่า core material, active agent หรือเฟสภายใน (internal phase) สารที่ใช้ห่อหุ้มเรียกว่าสารชั้นเคลือบหรือเฟสภายนอก (exterior phase) ประโยชน์ของเทคโนโลยีการกักเก็บสารสำคัญเพื่อป้องกันการสลายตัวของสารเมื่อถูกความร้อน ความชื้น แสง ออกซิเจน หรือเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช สารที่นิยมนำมาถูกกักเก็บมักเป็นสารที่มีคุณค่า ราคาแพง และเป็นสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา เช่น สารให้กลิ่น รส วิตามิน เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงสารสำคัญที่ได้จากธรรมชาติ [7, 8] ตัวอย่างของเทคโนโลยีการกักเก็บสารสำคัญที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม ได้แก่ การอัดผ่านเมมเบรน การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การดูดซับ การทำแห้งแบบพ่นฝอย อิมัลชันและลิโพโซม [9] มีรายงานว่า การกักเก็บสารสำคัญไว้ในอนุภาคลิโพโซมสามารถกักเก็บสารสำคัญได้มากกว่ารูปแบบอื่น [10] จึงมีประโยชน์ในการนำส่งสารสำคัญเฉพาะที่ ทำให้ลดปริมาณสารสำคัญที่จะใช้รวมถึงลดการเกิดอาการระคายเคืองจากการใช้สารสำคัญโดยตรง คุณสมบัติที่โดดเด่นของอนุภาคลิโพโซมคือ สามารถซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อหรืออวัยวะเป้าหมายได้อย่างง่ายดายและรวดเร็ว เนื่องจากส่วนประกอบของอนุภาคลิโพโซมที่มีฟอสโฟลิพิดและไกลโคสฟิงโกลิพิดมีความคงตัวและมีอัตราส่วนของลิพิดคล้ายคลึงกับลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ [11] ในปัจจุบันได้นำอนุภาคลิโพโซมมากักเก็บและนำส่งสารสำคัญ เช่น ใช้กักเก็บและนำส่งยารักษามะเร็งดอกโซรูบิซิน (doxorubicin) หรือยาต้านเชื้อราแอมโฟเทอริซินบี (amphotericin B) เป็นต้น [12] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่พัฒนาอนุภาคลิโพโซมให้สามารถกักเก็บสารสำคัญไว้ในอุตสาหกรรมเวชสำอาง เช่น ลิโพโซมกระชับแดง [13] ลิโพโซมน้ำนมราชำว [14] ลิโพโซมมะขามป้อม [15] ลิโพโซมวิตามินอี [16] และลิโพโซมขมิ้นชัน [17]

ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสังเคราะห์อนุภาคลิโพโซมกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ ได้แก่ แคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซิน และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ เช่น ขนาดอนุภาค (particle size) การกระจายตัวของขนาดอนุภาค (polydispersity index, PDI) ประจุบนผิวอนุภาค (zeta-potential) สัณฐานวิทยาของอนุภาค และประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ไว้ในอนุภาค รวมถึงศึกษาความคงตัวของอนุภาคลิโพโซมที่สังเคราะห์ได้ ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำอนุภาคลิโพโซมที่กักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ไว้ภายในไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้อนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสังเคราะห์อนุภาคลิโพโซม

สังเคราะห์อนุภาคลิโพโซมดัดแปลงจากวิธีของ Fotini และคณะ [18] และวิธีของ Azucena และคณะ [19] โดยนำเลซิทีน (lecithin) เข้มข้น 1.0 %w/v ผสมกับคลอเลสเทอรอล 0.001 g ที่ละลายในคลอโรฟอร์ม 5 mL และแคปไซซินอยด์ 50 µg ผสมในขวดกันกลม กำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบสุญญากาศที่ 40 °C, 80 rpm เติมนอร์เอทิลอีเทอร์ 3 mL และน้ำกลั่น 1 mL แรงการเกิดอนุภาคโดยคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 20 kHz, 25 °C เป็นเวลา 30 นาที กำจัดไดเอทิลอีเทอร์และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 50 mL อนุภาคที่สังเคราะห์ได้นำไปศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ขนาด

อนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค และประจุบนผิวอนุภาคด้วยเทคนิคการกระเจิงแสงแบบพลวัต (dynamic light scattering, DLS) ศึกษาสัณฐานวิทยาของอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านชนิด field-emission (field-emission transmission electron microscopy, FE-TEM)

2. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคลิโปโซม

2.1 ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค และประจุบนผิวอนุภาคลิโปโซม

เจือจางอนุภาคลิโปโซมด้วยน้ำปราศจากไอออน 10 เท่า ปิเปตอนุภาคมา 1 mL ใส่ลงในหลอดแคปิลลารีชนิด disposable folded capillary cells วัดและวิเคราะห์ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค และประจุบนผิวอนุภาค ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาค (รุ่น zetasizer nano zs) โดยวัดขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของขนาดอนุภาค 3 ครั้งต่อหนึ่งตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 25 °C ตั้งค่า equilibration time 20 วินาที ตั้งค่า number of runs และ run duration เป็น 11 ครั้ง และ 10 วินาที ตามลำดับ วัดประจุบนผิวอนุภาคที่อุณหภูมิ 25 °C ตั้งค่า minimum runs และ maximum runs เป็น 10 และ 20 ครั้ง ตามลำดับ วัด 3 ครั้งต่อหนึ่งตัวอย่าง เช่นเดียวกับขนาดและการกระจายตัวของขนาดอนุภาค

2.2 สัณฐานวิทยาของอนุภาคลิโปโซม

หยตอนุภาคลิโปโซมลงบนแผ่น carbon film copper grids ขนาด 200 เมช ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ยี่ห้อ Thermo Scientific โมเดล Talos F200X G2 โดยใช้กำลังไฟฟ้า 200 kV กำลังขยาย 1,500,000X ตั้งค่าความสว่างที่ 1.0×10^9 A/cm²

3. ความคงตัวของอนุภาคลิโปโซม

นำอนุภาคลิโปโซมที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดมาควบคุม (ไม่ได้กักเก็บแคปไซซินอยด์) และชุดทดลอง (กักเก็บแคปไซซินอยด์) ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C วัดขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาคและประจุบนผิวอนุภาคด้วยเครื่องวัดขนาดและประจุบนผิวอนุภาคทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลาทั้งสิ้น 12 สัปดาห์

4. ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ไว้ในอนุภาคลิโปโซม

ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ไว้ในอนุภาคลิโปโซมดัดแปลงจากวิธีของ Abdelnabi และคณะ [20] ทำได้โดยปิเปตสารผสมอนุภาคมา 3 mL นำไปแช่แข็งที่ -80 °C แล้วทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ความดัน 0.100 mbar, เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมเมทานอล 1 mL และปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 rpm, 25 °C เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำส่วนสารละลายใสมารองผ่านกระดาษกรองที่มีรูพรุน 0.45 µm ฉีดตัวอย่างที่กรองได้ 20 µL เข้าสู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ยี่ห้อ KNAUER รุ่น Azura HPLC Plus มีเฟสคงที่เป็น C18 reverse phase column ขนาด 300 mm x 4.5 mm x 5 µm แยกตัวอย่างออกจากเฟสคงที่โดยใช้เมทานอลในระบบไอโซเครติกอัตราไหล 1 mL/min อุณหภูมิ 25 °C สารที่แยกได้ถูกตรวจวัดด้วยแสงยูวีที่ 220 nm เทียบกับสารมาตรฐานแคปไซซินอยด์ คำนวณปริมาณของแคปไซซินอยด์โดยกราฟมาตรฐานของแคปไซซินอยด์แต่ละชนิด คำนวณประสิทธิภาพในการกักเก็บ (percent encapsulation efficiency, %EE) ดังสมการด้านล่าง

$$\text{ประสิทธิภาพในการกักเก็บ (\%EE)} = \frac{\text{ปริมาณสารแคปไซซินอยด์ที่ถูกกักเก็บจริง} \times 100}{\text{ปริมาณสารแคปไซซินอยด์ที่ใช้เริ่มต้นทั้งหมด}}$$

5. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนและตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS วิเคราะห์ผลทางสถิติ



ผลการวิจัย

1. คุณสมบัติทางกายภาพของอนุภาคลิโปโซม

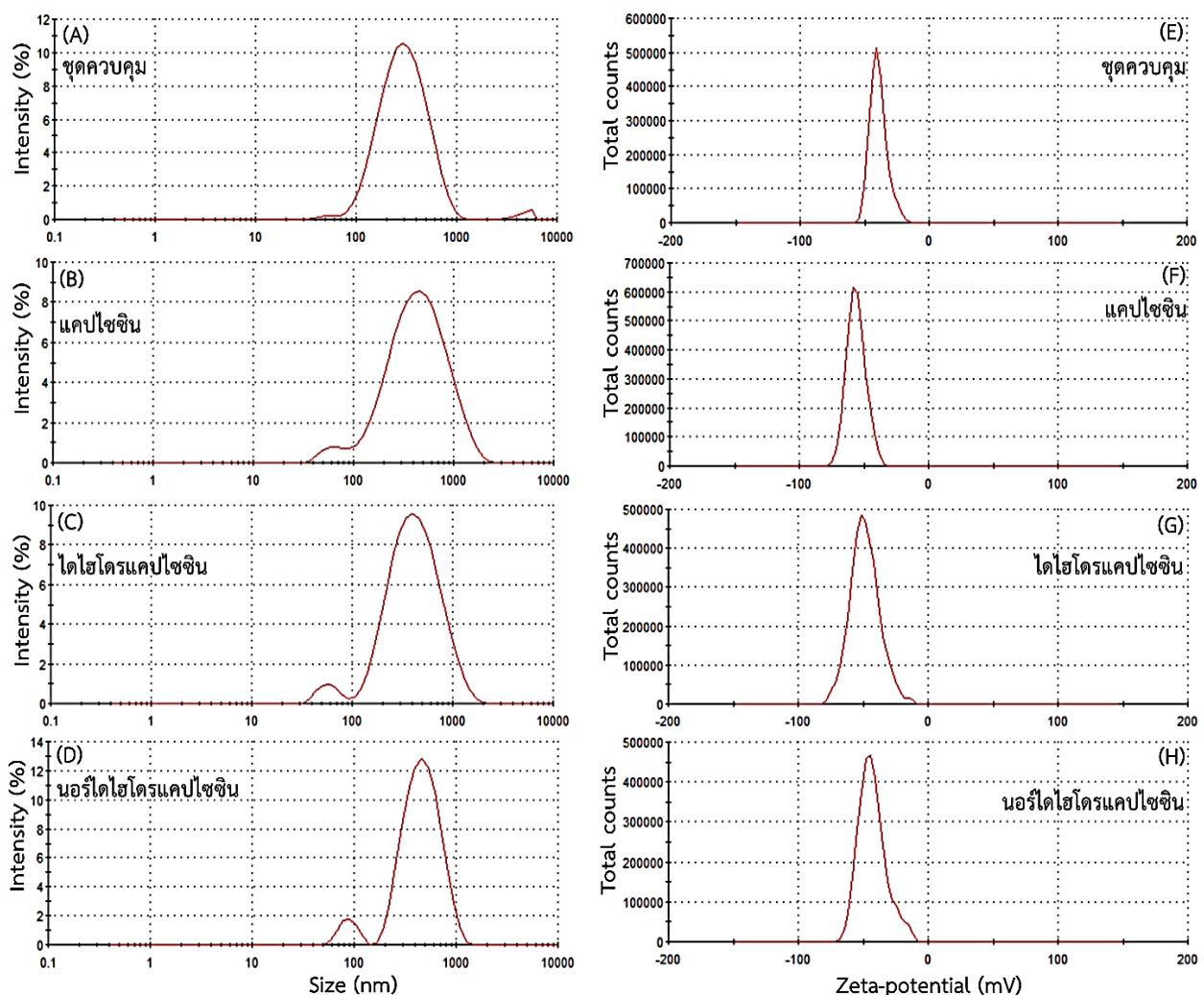
1.1 ขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค และประจุบนผิวอนุภาคลิโปโซม

ลักษณะของสารผสมที่มีอนุภาคลิโปโซมกระจายตัวอยู่เป็นสารผสมเนื้อเดียวสีเหลืองทั้งชุดทดลองที่กักเก็บและไม่ได้กักเก็บสารแคปไซซินอยด์ ขนาดของอนุภาคในชุดควบคุมมีขนาดเท่ากับ 409.53 ± 24.17 nm ขณะที่อนุภาคที่กักเก็บแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซินหรือนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 560.07 ± 22.19 , 480.23 ± 30.88 และ 464.30 ± 24.45 nm ตามลำดับ (ภาพที่ 1 (A-D) และตารางที่ 1)

ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคในชุดควบคุมเท่ากับ 0.30 ± 0.01 ในขณะที่ชุดการทดลองที่กักเก็บแคปไซซินไดไฮโดรแคปไซซินหรือนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน มีค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเท่ากับ 0.34 ± 0.01 , 0.31 ± 0.04 และ 0.31 ± 0.01 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ค่าประจุบนผิวอนุภาคในชุดควบคุมและชุดที่กักเก็บแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซินหรือนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน มีค่าเท่ากับ -41.70 ± 2.57 , -55.30 ± 2.21 , -48.90 ± 0.62 และ 48.40 ± 1.17 mV ตามลำดับ (ภาพที่ 1 (E-H) และตารางที่ 1)

1.2 สันฐานวิทยาของอนุภาคลิโปโซม

เมื่อนำอนุภาคลิโปโซมที่สังเคราะห์ได้ไปศึกษาสันฐานวิทยาพบลักษณะของอนุภาคที่ได้ในทุกการทดลองมีรูปร่างเป็นทรงกลม ขนาดประมาณ 500 nm ภายในอนุภาคปรากฏช่องว่างบ่งชี้ว่ามีโครงสร้างเป็นชั้นของลิพิดสองชั้นที่สามารถกักเก็บน้ำหรือสารละลายไว้ภายใน ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 1 กราฟแสดงผลการวัดขนาดอนุภาคลิโปโซม (A-D) และประจุบนผิวของอนุภาคลิโปโซม (E-H)

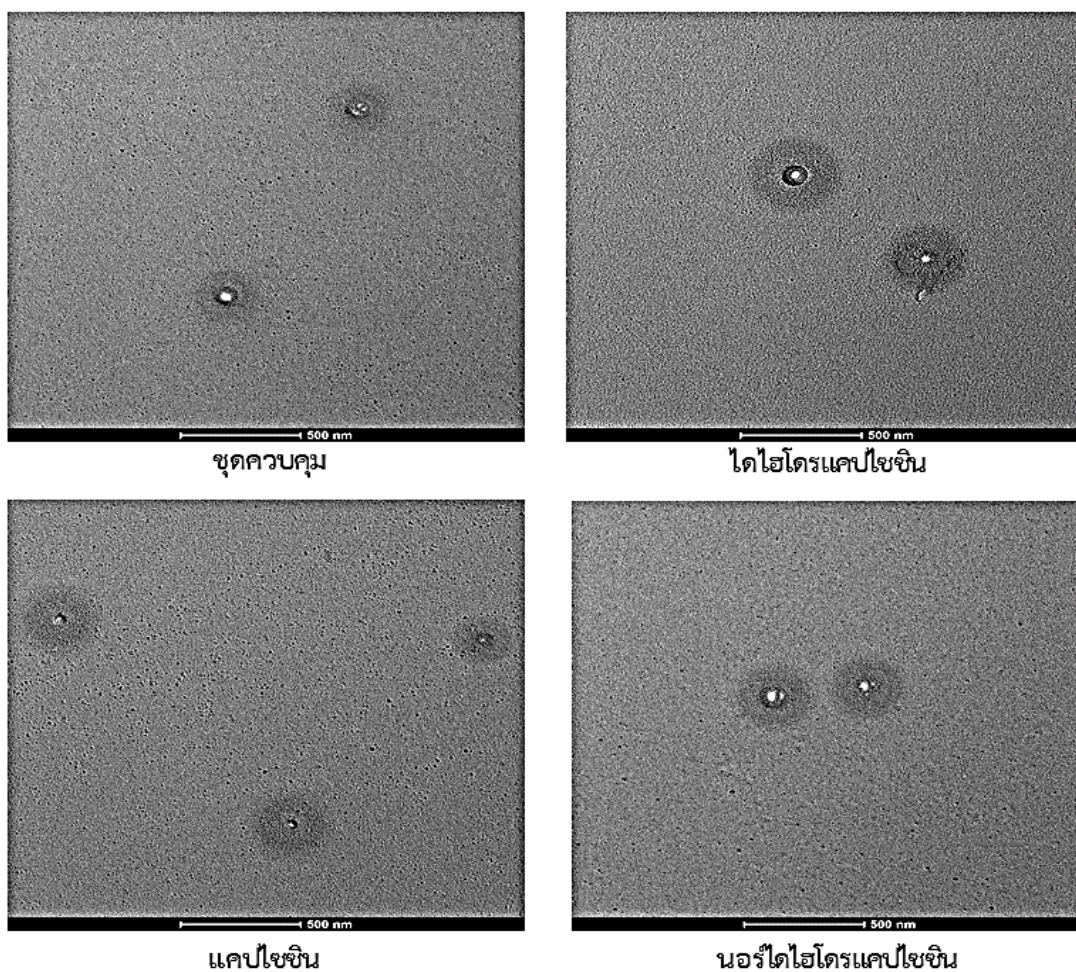
2. ความคงตัวของอนุภาคลิโปโซม

ความคงตัวของอนุภาคลิโปโซมที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าในช่วง 6 สัปดาห์แรก ขนาดอนุภาคเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (ภาพที่ 3) แสดงให้เห็นถึงความคงตัวของอนุภาค แต่เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 8 เป็นต้นไป ขนาดอนุภาคในทุกการทดลองเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน โดยพบว่าอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเทียบกับเวลาที่ 0, 2, 4 และ 6 สัปดาห์ (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคลิโปโซมที่กักเก็บแคปไซซินได้ดีไว้ใน

ชุดการทดลอง	ลักษณะทางกายภาพของอนุภาคลิโปโซม		
	ขนาดอนุภาค (nm)	การกระจายตัวของขนาดอนุภาค	ประจุบนผิวอนุภาค (mV)
ชุดควบคุม	409.53 ± 24.17 ^a	0.30 ± 0.01	-41.70 ± 2.57 ^a
แคปไซซิน	560.07 ± 22.19 ^b	0.34 ± 0.01	-55.30 ± 2.21 ^b
ไดไฮโดรแคปไซซิน	480.23 ± 30.88 ^c	0.31 ± 0.04	-48.90 ± 0.62 ^c
นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน	464.30 ± 24.45 ^c	0.31 ± 0.01	-48.40 ± 1.17 ^c

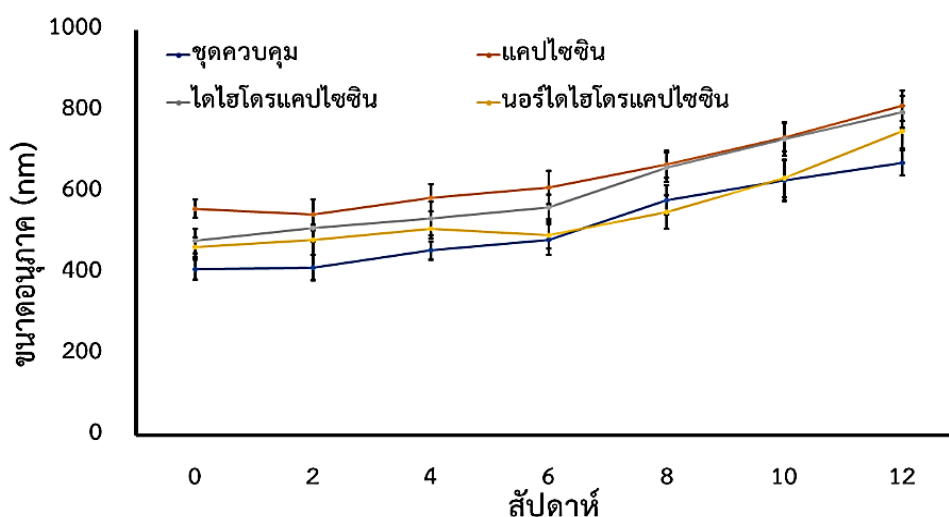
หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันแต่ตัวอักษรต่างกัน^(a-c) หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ละค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของอนุภาคลิโปโซมเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน



ค่าประจุบนผิวอนุภาคเป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความคงตัวของอนุภาค ค่าประจุบนผิวอนุภาคมากกว่า ± 30 mV บ่งบอกถึงอนุภาคมีแรงผลักกันสูงและป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาค การทดลองพบว่าในชุดควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงของค่าประจุบนผิวอนุภาคอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 เป็นต้นไป (ตารางที่ 2) ในขณะที่ชุดกักเก็บแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซินหรือนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ประจุบนผิวอนุภาคเริ่มเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 2) แต่การเปลี่ยนนั้นยังทำให้ค่าประจุบนผิวอนุภาคมากกว่า ± 30 mV แสดงให้เห็นว่าอนุภาคยังมีเสถียรภาพที่ดี ไม่จับกลุ่มกันตกตะกอนหรือรวมตัวกันให้ขนาดใหญ่อขึ้นในช่วงเวลาไม่เกิน 6 สัปดาห์หลังจากการสังเคราะห์ (ภาพที่ 3 และตารางที่ 2)



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของขนาดอนุภาคลิโปโซมในระยะเวลาดังกล่าว

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงประจุบนผิวอนุภาคลิโปโซมในระยะเวลาดังกล่าว (mV)

ชุดการทดลอง	สัปดาห์ที่						
	0	2	4	6	8	10	12
ชุดควบคุม	-41.7±2.57 ^a	-41.8±4.32 ^a	-42.9±5.74 ^a	-40.7±6.88 ^a	-32.9±1.57 ^b	-24.7±4.14 ^c	-22.1±3.16 ^c
แคปไซซิน	-55.3±2.21 ^a	-54.1±1.14 ^a	-50.4±4.20 ^a	-43.9±2.21 ^b	-31.3±5.83 ^c	-26.3±1.59 ^d	-20.3±2.53 ^e
ไดไฮโดรแคปไซซิน	-48.9±0.62 ^a	-46.6±2.34 ^a	-40.3±1.67 ^b	-35.4±3.27 ^c	-25.2±2.56 ^d	-21.4±4.18 ^d	-16.7±3.41 ^e
นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน	-47.4±1.17 ^a	-45.1±2.45 ^a	-41.2±1.83 ^b	-33.1±3.61 ^c	-27.2±3.45 ^d	-21.5±2.34 ^e	-18.3±4.04 ^f

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในแถวเดียวกันแต่ตัวอักษรต่างกัน^(a-f) หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ละค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์

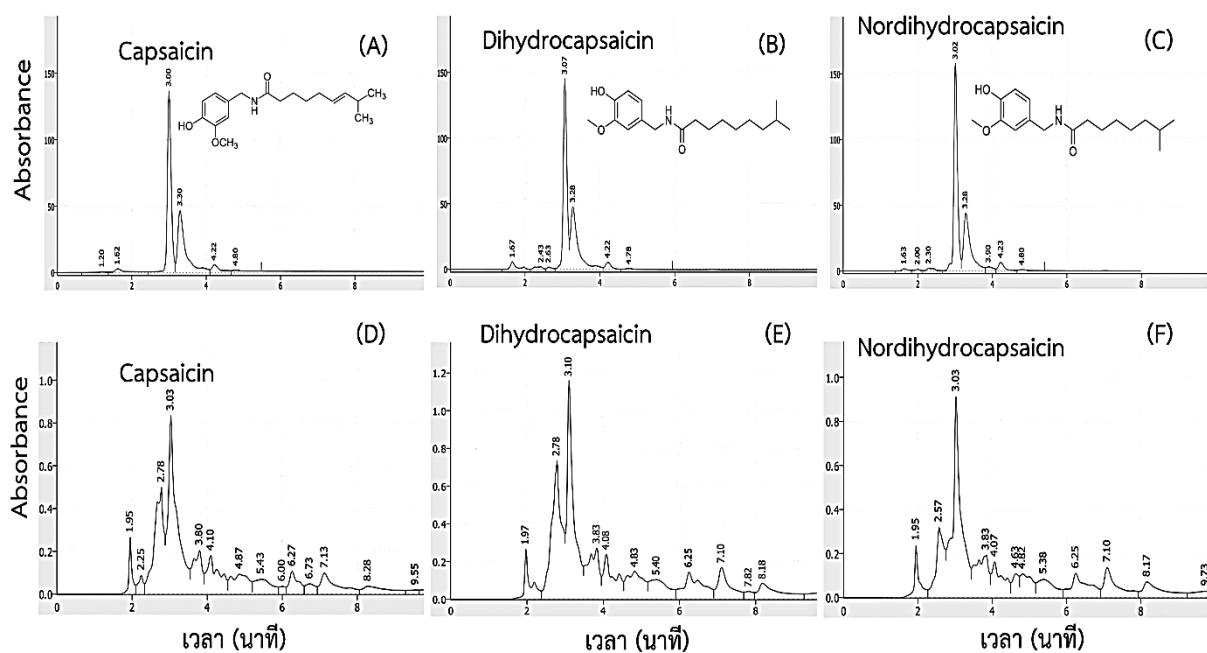
เมื่อนำสารมาตรฐานแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซินและนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 100 $\mu\text{g/mL}$ ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซินและนอร์ไดไฮโดรแคปไซซินออกจากคอลัมน์ที่เวลา 3.00, 3.07 และ 3.02 นาที ตามลำดับ ภาพที่ 4 (A, B, C) สมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานแคปไซซินอยด์แต่ละชนิดแสดงในตารางที่ 3



ตารางที่ 3 ระยะเวลาสารเคลื่อนผ่านคอลัมน์ สมการเส้นตรงของสารมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของแคปไซซินอยด์แต่ละชนิด

แคปไซซินอยด์	ระยะเวลาสารเคลื่อนผ่านคอลัมน์ (นาที)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
แคปไซซิน	3.00	$Y=48.249X+8.2771$	0.9967
ไดไฮโดรแคปไซซิน	3.07	$Y=80.999X+18.935$	0.9974
นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน	3.02	$Y=108.45X+27.956$	0.9996

เมื่อนำแคปไซซินอยด์ที่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคลิโปโซมไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโครมาโทแกรมที่เกิดขึ้นแสดงพีคของแคปไซซินอยด์ที่เวลาใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน ยืนยันพีคที่เกิดขึ้นโดยเดิมสารมาตรฐานชนิดละ 5 μg พบว่าพีคที่เกิดขึ้นเป็นพีคของแคปไซซินอยด์ที่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคลิโปโซม ดังแสดงในภาพที่ 4 (D, E, F) ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ในอนุภาคลิโปโซมพบว่าแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซิน และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคในปริมาณที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) แคปไซซินอยด์ที่ถูกกักเก็บไว้มากที่สุดคือ แคปไซซิน ($92.39 \pm 11.02 \%$) ไดไฮโดรแคปไซซิน ($58.17 \pm 9.24 \%$) และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ($34.95 \pm 2.80 \%$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4)



ภาพที่ 4 HPLC-UV โครมาโทแกรม (A) สารมาตรฐานแคปไซซิน (B) สารมาตรฐานไดไฮโดรแคปไซซิน (C) สารมาตรฐานนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน (D) แคปไซซินที่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคลิโปโซม และเติมสารมาตรฐานแคปไซซิน (E) ไดไฮโดรแคปไซซินที่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคลิโปโซม และเติมสารมาตรฐานไดไฮโดรแคปไซซิน (F) นอร์ไดไฮโดรแคปไซซินที่ถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคลิโปโซม และเติมสารมาตรฐานนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน



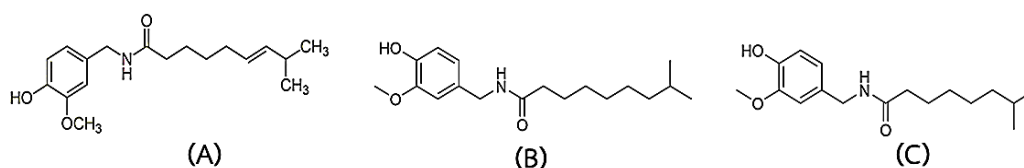
ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพในการกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ไว้ในอนุภาคลิโปโซม

แคปไซซินอยด์	ประสิทธิภาพในการกักเก็บ (%)
แคปไซซิน	92.39 ± 11.02 ^a
ไดไฮโดรแคปไซซิน	58.17 ± 9.24 ^b
นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน	34.95 ± 2.80 ^c

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันแต่ตัวอักษรต่างกัน^(a-c) หมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ละค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

เมื่อสังเคราะห์อนุภาคลิโปโซมด้วยวิธีระเหยกลับวัฏภาคโดยใช้ฟอสโฟลิปิดเข้มข้น 1.0 %w/v เพื่อกักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์ทั้งสามชนิด พบว่าอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีขนาดที่ต่างกันขึ้นกับชนิดของแคปไซซินอยด์ (ตารางที่ 1) อนุภาคที่กักเก็บแคปไซซินให้ขนาดใหญ่กว่านอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ไดไฮโดรแคปไซซิน และชุดควบคุมตามลำดับ (ตารางที่ 1) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของแคปไซซินอยด์ส่งผลต่อขนาดของอนุภาค แคปไซซินมีโครงสร้างแตกต่างจากไดไฮโดรแคปไซซิน และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ในด้านความอึดตัวของพันธะในสายโซ่คาร์บอนและความยาวโมเลกุล (ภาพที่ 5) พันธะคู่บนโครงสร้างของแคปไซซินส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวบนเยื่อหุ้มลิโปโซมที่แตกต่างออกไปเมื่อเทียบกับไดไฮโดรแคปไซซิน และนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ที่มีพันธะเดี่ยวมากกว่าส่งผลให้อนุภาคลิโปโซมที่กักเก็บแคปไซซินมีขนาดใหญ่กว่า



ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของแคปไซซินอยด์ทั้ง 3 ชนิด

(A) แคปไซซิน (B) ไดไฮโดรแคปไซซิน (C) นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน

แคปไซซินมีโครงสร้างที่ไม่อึดตัวส่งผลให้โมเลกุลของฟอสโฟลิปิดเรียงตัวในลักษณะที่ต้องใช้พื้นที่มากกว่าเมื่อเทียบกับสารที่มีโครงสร้างอึดตัวอย่างไดไฮโดรแคปไซซินและนอร์ไดไฮโดรแคปไซซินทำให้ขนาดของลิโปโซมใหญ่ขึ้น [21] นอกจากนี้สมบัติทางกายภาพของแคปไซซินที่มีจุดหลอมเหลวและความสามารถในการละลายน้ำที่แตกต่างจากไดไฮโดรแคปไซซินและนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน เนื่องจากแคปไซซินมีความเป็นโพลาร์น้อยกว่าและมีความยืดหยุ่นน้อยกว่าเมื่อถูกเก็บไว้ในอนุภาคทำให้เกิดความเครียด (stress) ภายในเยื่อหุ้มอนุภาคมากขึ้น ส่งผลให้อนุภาคต้องปรับโครงสร้างให้มีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อรองรับสถานะนี้ [22]

ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเป็นค่าที่บอถึงความสม่ำเสมอของขนาดอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ ค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่มีค่าน้อยบอถึงขนาดอนุภาคมีความสม่ำเสมอมากกว่าค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่มีค่ามาก ซึ่งเกณฑ์มาตรฐานของค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ยอมรับได้สำหรับอนุภาคลิโปโซมควรมีค่าน้อยกว่า 0.30 [23] นอกจากนี้อนุภาคที่มีค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคต่ำกว่า 0.30 ยังบ่งชี้ว่าอนุภาคมีขนาดใกล้เคียงกันส่งผลให้ระบบมีความเสถียรเหมาะสำหรับนำอนุภาคไปประยุกต์ใช้ในการกักเก็บหรือขนส่งสารสำคัญ [23] จากการทดลองพบว่าอนุภาคลิโปโซมที่สังเคราะห์ขึ้นทั้งหมดมีค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคระหว่าง 0.30 ถึง 0.34 (ตารางที่ 1) ใกล้เคียงกับเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อพิจารณาเฉพาะอนุภาคที่กักเก็บแคปไซซินพบค่าการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเป็น 0.34 ± 0.01 สูงกว่า

เกณฑ์มาตรฐานเล็กน้อย สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากกรรมวิธีการเตรียมอนุภาค มีรายงานว่าการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่นานเกินไปทำให้เยื่อหุ้มของอนุภาคเกิดความเสียหายและเพิ่มความหลากหลายของขนาดอนุภาค ส่งผลให้การกระจายตัวของขนาดอนุภาคเพิ่มสูงขึ้น [22, 24] หรือการใช้วิธีการสังเคราะห์หลายขั้นตอน เช่น การอัดผ่านเมมเบรนหลังการเตรียมอนุภาคขั้นต้นจะช่วยให้น้ำของอนุภาคมีความสม่ำเสมอมากขึ้น ลดการกระจายตัวของอนุภาคได้ดีกว่าการใช้วิธีเพียงขั้นตอนเดียว เช่น การละลายพอลิฟิติกในตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว [25]

ค่าประจุบนผิวอนุภาคบ่งชี้ถึงคุณภาพและความเสถียรของอนุภาคลิโปโซม ค่าประจุบนผิวอนุภาค 0 ถึง ± 10 mV อนุภาคมีโอกาสเกาะกลุ่มกันอย่างรวดเร็วเนื่องจากแรงยึดเหนี่ยวระหว่างอนุภาคสูงทำให้อนุภาคมีการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอมีแนวโน้มที่จะตกตะกอน ค่าประจุบนผิวอนุภาค ± 10 ถึง ± 30 mV อนุภาคเริ่มมีความเสถียรแต่ยังไม่เพียงพอในการป้องกันการเกาะกลุ่มมีโอกาสที่อนุภาคจะรวมตัวและตกตะกอนได้ ค่าประจุบนผิวอนุภาค ± 30 ถึง ± 40 mV อนุภาคมีความเสถียรที่ดีขึ้น ค่าประจุบนผิวอนุภาคในช่วง ± 40 ถึง ± 60 mV อนุภาคมีความเสถียรที่ดีโดยเฉพาะเมื่อค่ามากกว่า ± 60 mV อนุภาคมีความเสถียรที่ดีเยี่ยมทำให้อนุภาคมีความคงตัว ไม่รวมตัวกันตกตะกอน [26] ผลการทดลองพบว่าอนุภาคลิโปโซมที่สังเคราะห์ได้ในทุกการทดลองให้ค่าประจุบนผิวอนุภาคในช่วง ± 40 ถึง ± 60 mV (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่กักเก็บสารประกอบแคปไซซินอยด์มีความเสถียรที่ดีไม่เกาะกลุ่มหรือรวมตัวกันตกตะกอนได้ง่าย เนื่องจากมีค่าประจุลบในระดับสูงช่วยป้องกันการเกาะกลุ่มของอนุภาคจากแรงผลักดันทางไฟฟ้าสถิตเป็นผลดีต่อการคงเสถียรภาพของอนุภาคในระยะยาว โดยเฉพาะอนุภาคที่กักเก็บแคปไซซินให้ค่าประจุบนผิวอนุภาคมากกว่าที่กักเก็บไดไฮโดรแคปไซซินหรือนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากแคปไซซินสามารถแทรกเข้าสู่ชั้นลิพิดได้ดีกว่าส่งผลให้เกิดการเรียงตัวของลิโปโซมที่มีประจุมากขึ้นโดยเฉพาะการสร้างชั้นพอลิฟิติกที่มีความหนาแน่นสูง ทำให้อนุภาคที่กักเก็บแคปไซซินมีค่าประจุบนผิวอนุภาคสูงขึ้นด้วย [24-26]

ความคงตัวของอนุภาคลิโปโซมมีความสัมพันธ์กับประจุบนผิวและขนาดอนุภาค มีปัจจัยหลายประการที่ทำให้ประจุบนผิวอนุภาคเปลี่ยนแปลงไป เช่น การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในสารละลาย [27] การเสื่อมสภาพของพอลิฟิติกเมื่อสัมผัสกับแสงและความร้อน และการรวมตัวหรือการเกาะกลุ่มของอนุภาค [28] จากการทดลองพบว่าภายหลัง 6 สัปดาห์ ขนาดอนุภาคในทุกการทดลองใหญ่ขึ้นอย่างชัดเจน (ภาพที่ 3) สะท้อนถึงความเสถียรที่ลดลงเนื่องจากอนุภาคมีโอกาสเกาะกลุ่มกันมากขึ้น นอกจากนี้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 เป็นต้นไป ประจุบนผิวอนุภาคลดลงมาอยู่ในช่วง ± 30 ถึง ± 40 mV (ตารางที่ 1) เป็นช่วงที่บอกถึงความไม่เสถียรของอนุภาค จากการทดลองสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงประจุบนผิวอนุภาคที่กักเก็บสารในกลุ่มแคปไซซินอยด์ส่งผลให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคทำให้น้ำของอนุภาคใหญ่ขึ้น และความเสถียรของอนุภาคลดลงเมื่อเวลาผ่านไปเกิน 6 สัปดาห์ เพื่อปรับปรุงความคงตัวของอนุภาคลิโปโซมให้เสถียรขึ้นอาจทำได้โดยใช้สารคงตัวในกลุ่มโพลีเมอร์ เช่น โพลีเอทิลีนไกลคอลหรือโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ ที่สามารถช่วยลดการเกาะกลุ่มของอนุภาค หรืออาจควบคุมสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษา เช่น ควบคุมค่าพีเอช โดยเก็บอนุภาคลิโปโซมไว้ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชคงที่เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของประจุที่อาจทำให้อนุภาคไม่เสถียร [27]

สัณฐานวิทยาของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้ในทุกการทดลองมีลักษณะเป็นถุง รูปร่างทรงกลม มีขนาดในระดับนาโนเมตร โครงสร้างภายในอนุภาคปรากฏช่องว่างซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของลิโปโซมที่ประกอบด้วยชั้นของลิพิดสองชั้น สามารถกักเก็บน้ำหรือสารละลายไวภายใน (ภาพที่ 2) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Farouk และคณะ [29] ที่ศึกษาการกักเก็บสารยับยั้งอนุมูลอิสระในอนุภาคลิโปโซม วิเคราะห์สัณฐานวิทยาของอนุภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบว่าอนุภาคที่ได้มีโครงสร้างเป็นถุงกลมและมีขนาดระดับนาโนเมตร ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ขนาดและรูปร่างของอนุภาคที่สังเคราะห์ได้มีความสม่ำเสมอแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการควบคุมกระบวนการสังเคราะห์อนุภาคลิโปโซมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลักษณะดังกล่าวเป็นปัจจัยสำคัญต่อความเสถียรของอนุภาคและประสิทธิภาพในการกักเก็บสารออกฤทธิ์ไว้ในโครงสร้างลิโปโซม

ประสิทธิภาพในการกักเก็บแคปไซซินอยด์ไว้ในอนุภาคลิโปโซมแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของแคปไซซินอยด์ แคปไซซินถูกกักเก็บไว้ในอนุภาคได้มากที่สุด รองลงมาคือ ไดไฮโดรแคปไซซินและนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ตามลำดับ (ตารางที่ 4) สาเหตุ



ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของแคปไซซินอยด์ส่งผลต่อการเข้ากันได้กับฟอสโฟลิพิดที่ใช้ในการสังเคราะห์ [30] แคปไซซินมีความชอบน้ำและความชอบไขมันในระดับที่เหมาะสมทำให้แทรกตัวเข้าในชั้นฟอสโฟลิพิดของอนุภาคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่ไดไฮโดรแคปไซซินและนอร์ไดไฮโดรแคปไซซินมีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างเล็กน้อยทำให้มีความชอบน้ำและความชอบไขมันที่ไม่ต่างกันมาก ส่งผลให้การรวมตัวเข้ากับชั้นฟอสโฟลิพิดของอนุภาคมีประสิทธิภาพน้อยลงเมื่อเทียบกับแคปไซซิน [27] นอกจากนี้แคปไซซินยังสร้างอันตรกิริยาที่เหมาะสมกับหมู่ฟอสเฟตของฟอสโฟลิพิด เช่น การเกิดพันธะไฮโดรเจน ส่งผลให้มีความคงตัวสูงกว่าเมื่อกักเก็บไว้ในอนุภาค ขณะที่อนุพันธ์อื่นของแคปไซซินไม่สามารถสร้างอันตรกิริยาได้อย่างมีประสิทธิภาพเท่ากับแคปไซซิน [27] มีรายงานการวิจัยว่าการเตรียมอนุภาคลิโปโซมที่มีขนาดเฉลี่ย 150-200 nm เพื่อกักเก็บสารอาร์บูติน พบประสิทธิภาพการกักเก็บสารสูงสุดถึงร้อยละ 74.29 [31] ในขณะที่การเตรียมอนุภาคลิโปโซมที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 445.3 ± 11.3 nm เพื่อกักเก็บสารสกัดจากใบขมิ้น พบประสิทธิภาพการกักเก็บอยู่ร้อยละ 63.61 ± 2.58 [32] ดังนั้นขนาดอนุภาคจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่จะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ การปรับขนาดอนุภาคให้เหมาะสมจึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้วิธีสังเคราะห์ลิโปโซมที่ต่างกันส่งผลให้ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญแตกต่างกัน เช่น วิธีระเหยกลับวัฏภาค (reverse phase evaporation method) เป็นวิธีสร้างอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์แล้วระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้เกิดลิโปโซม มีข้อดีคือได้ลิโปโซมที่มีประสิทธิภาพกักเก็บสารในปริมาณสูงแต่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่อาจเป็นพิษและกระบวนการซับซ้อน ในขณะที่วิธีทำให้เกิดฟิล์มบาง (thin film hydration method) จะละลายฟอสโฟลิพิดในตัวทำละลายอินทรีย์แล้วระเหยตัวทำละลายออกจนเกิดฟิล์มบาง เติมน้ำละลายที่เป็นน้ำเพื่อให้ฟิล์มพองตัวและเกิดลิโปโซม ข้อดีคือกระบวนการง่ายไม่ต้องใช้เครื่องมือซับซ้อน แต่อนุภาคที่ได้ไม่สม่ำเสมอและประสิทธิภาพในการกักเก็บสารต่ำเมื่อเทียบกับวิธีระเหยกลับวัฏภาค [33]

จากการศึกษาการกักเก็บแคปไซซินอยด์ทั้งสามชนิดไว้ในอนุภาคลิโปโซมสรุปได้ว่า อนุภาคที่สังเคราะห์ได้สามารถกักเก็บแคปไซซินอยด์ได้ในปริมาณที่ต่างกันขึ้นกับชนิดของแคปไซซินอยด์ ขนาดของอนุภาคมีความสม่ำเสมอ มีความเสถียรที่ดีไม่เกาะกลุ่มและรวมตัวกันตกตะกอนได้ง่าย อนุภาคมีความคงตัวอย่างน้อย 6 สัปดาห์ ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำอนุภาคลิโปโซมที่กักเก็บแคปไซซินอยด์ไปใช้ในหลายอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมเวชสำอางในรูปของครีมบรรเทาอาการปวดที่ต้องการฤทธิ์ต้านอักเสบและลดความรู้สึกร้อนจากแคปไซซินโดยตรง ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการใช้งานที่นานขึ้น อุตสาหกรรมยาและการแพทย์ในรูปของแผ่นแปะหรือเจลสำหรับลดอาการปวดเรื้อรังหรือการใช้ลิโปโซมเป็นระบบนำส่งช่วยควบคุมการปลดปล่อยแคปไซซินอยด์ ลดการระคายเคืองที่อาจเกิดขึ้นกับผิวหนัง อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มในการควบคุมความเผ็ดของผลิตภัณฑ์อาหารที่มีแคปไซซินเป็นส่วนประกอบ โดยลิโปโซมช่วยปลดปล่อยแคปไซซินในอัตราที่ควบคุมได้ ช่วยลดการเสื่อมสภาพของแคปไซซินเมื่อสัมผัสกับอุณหภูมิสูงหรือแสง แต่เพื่อให้อนุภาคลิโปโซมที่กักเก็บแคปไซซินอยด์สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมให้ปลอดภัยมากขึ้น ยังต้องศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคลิโปโซม ผลกระทบของขนาดอนุภาคต่อความเป็นพิษ อิทธิพลของโครงสร้างแคปไซซินอยด์ต่อความเป็นพิษ ผลของวิธีการสังเคราะห์ลิโปโซมต่อความเป็นพิษ รวมทั้งการทดสอบความเป็นพิษทั้งในระดับเซลล์และสัตว์ทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. สุวิมล สุรัสโม, ชญานันท์ เอี่ยมสำอาง, คุณัช สุขธรรม, นารินทร์ ไพบูลย์, จักรวาท ยศถาวรกุล, อรุมา เกตุชาติ. อนุภาคนาโนเพื่อการนำส่งบัวบก มังคุด กานพลูสำหรับผลิตภัณฑ์เวชสำอาง. ใน: เอกสารประกอบการจัดงาน Thailand Tech Show 2019 “นวัตกรรม 360 องศา เพื่อความยั่งยืน (360° Innovation X Sustainability)” ครั้งที่ 5 วันที่ 5-6 กันยายน 2562. โรงแรมเซ็นทารา แกรนด์ แอท เซ็นทรัลเวิลด์. กรุงเทพฯ; 2562. หน้า 111.
2. คทาฐ นามดี, จักรวาท ยศถาวรกุล, มัตถกา คงขาว, ธีรพงศ์ ยะทา, สมฤดี แก้วมาลุน, วรุฒม์ และเก่งกิตติภัทร. ตัวนำส่งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมสำหรับสารสกัดถึงเข้า. ใน: เอกสารประกอบการจัดงาน Thailand Tech Show 2019



- “นวัตกรรม 360 องศา เพื่อความยั่งยืน (360° Innovation X Sustainability)” ครั้งที่ 5 วันที่ 5-6 กันยายน 2562. โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์ แอท เซ็นทรัลเวิลด์. กรุงเทพฯ; 2562. หน้า 108.
3. นุชรีย์ ถาปิ่นแก้ว. ผลของพริกต่อระบบเมแทบอลิซึมและระบบประสาทอัตโนมัติ. วารสารวิจัยสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2554;4(2):69-74.
 4. Rollyson DW, Stover AC, Brown CK, Perry EH, Stevenson DC, McNees AC, et al. Bioavailability of capsaicin and its implications for drug delivery. *J Control Release* 2014;28(0):96-105.
 5. Chaiyasit K, Khovidhunkit W, Wittayalertpanya S. Pharmacokinetic and the effect of capsaicin in *Capsicum frutescens* on decreasing plasma glucose level. *J Med Assoc Thai* 2009;92(1):108-13.
 6. วิศรุต บุตรอากาศ, วาสนา เนตรวิระ, พัฒนสิน อารีอุดมวงศ์, สุจิตรา กล้วยหอมทอง, เพชรรัตน์ แก้วดวงดี, พิรณันท์ พัฒนมงคล. ประสิทธิภาพของพริกต่อระดับความปวด ระดับขีดเริ่มของอาการปวดและองค์การเคลื่อนไหวของคอในผู้ป่วยที่มีอาการปวดหลังส่วนบนจากกลุ่มอาการปวดกล้ามเนื้อและพังผืด. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก 2562;17(2):228-38.
 7. Estevinho BN, Damas AM, Martins P, Rocha F. The influence of microencapsulation with a modified chitosan (water soluble) on β -galactosidase activity. *Drying Technol* 2014;32:1575-86.
 8. Estevinho BN, Damas AM, Martins P, Rocha F. Microencapsulation of β -galactosidase with different biopolymers by a spray-drying process. *Food Res Int* 2014;64:134-40.
 9. Madene A, Jacquot M, Scher J, Desobry S. Flavor encapsulation and controlled release—a review. *Int J Food Sci Technol* 2006;41:1-21.
 10. อัมพล ไมตรีเวช, ณรงค์ สาริสุต, ดวงมณี มณีโรจน์ภักดี, วสุ วิฑูรย์สฤษฎ์ศิลป์, โกศล แซ่ตั้ง. การพัฒนาอนุภาคนาโนและระบบนำส่ง. บทความวิชาการ [อินเทอร์เน็ต]. 2556. [เข้าถึงเมื่อ 3 ต.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/en/knowledge/article/112>
 11. Frick M, Schwieger C, Schmidt C. Liposomes as carriers of membrane-associated proteins and peptides for mass spectrometric analysis. *Angew Chem Int Ed* 2021;60:11523-30.
 12. ภาสวีร์ จันทรสุข, วิริยาพร ศิริกุล, ชุติมน หมั่นแก้ว. รูปแบบนวัตกรรมการนำส่งยาสมุนไพร. *ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์* 2555;12(1):38-47.
 13. Pinsuwan S, Ammuait T, Ungphaiboon S, Itharat A. Liposome-containing *Hibiscus sabdariffa* Calyx extract formulations with increased antioxidant activity, improved dermal penetration and reduced dermal toxicity. *J Med Assoc Thai* 2010;93(7):S216-26
 14. Hunthayung K, Klinkesorn U, Hongsprabhas P, Chanput W. Controlled release and macrophage polarizing activity of cold-pressed rice bran oil in a niosome system. *Food Funct J* 2019;10(6):3272-81.
 15. Utamo M, Haruthaithanasan V, Winitchai S, Rimkeeree H. Development of reduced dark and anti-aging skin care night cream containing liposome of Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica* L.) extract. In: *Agricultural Sciences: Leading Thailand to World Class Standards. Proceedings of the 2nd Kasetsart University Annual Conference; 2014 Feb 4-7; Kasetsart University, Bangkok, Thailand; 2014 Vol. 6.* p.162-9.
 16. Amiri S, Ghanbarzadeh B, Hamishehkar H, Hosein M, Babazadeh A, Adun P. Vitamin E loaded nanoliposomes: effects of gamma-oryzanol, polyethylene glycol and lauric acid on physicochemical properties. *Colloid Interface Sci Commun* 2018;26:1-6.



17. Kongkaneramt L, Aiemsum-ang P, Kewsuwan P. Development of curcumin liposome formulations using polyol dilution method. *Songklanakarin J Sci Technol* 2016;38(6):605-10.
18. Fotini M, Sophia H, Kostas D, Dimitrios K, Costas D. Liposome formulation from phospholipids of Greek almond oil, properties, and biological activity. *Zeitschrift für Naturforschung C* 2004;59(3-4):330-4.
19. Azucena GG, Saifuddin S, Kenji M, Zeinab H. Liposomal nanovesicles for efficient encapsulation of staphylococcal antibiotics. *ACS Omega* 2019;4(1):10866-76.
20. Abdelnabi H, Alshaer W, Azzam H, Alqudah D, Al-Samydai A, Aburjai T. Loading of capsaicin-in-cyclodextrin inclusion complexes into PEGylated liposomes and the inhibitory effect on IL-8 production by MDA-MB-231 and A549 cancer cell lines. *Zeitschrift für Naturforschung C* 2021;76(11-12):503-14.
21. Al-Samydai A, Alshaer W, Al-Dujaili EAS, Azzam H, Aburjai T. Preparation, characterization, and anticancer effects of capsaicin-loaded nanoliposomes. *Nutrients* 2021;13(11):3995-11.
22. Mozafari MR, Johnson C, Hatziantoniou S, Demetzos C. Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *J Liposome Res* 2008;18(4):309-27.
23. Danaei M, Dehghankhold M, Ataei S, Hasanzadeh DF, Javanmard R, Dokhani A, et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*. 2018;10(2):57-74.
24. Šturm L, Poklar UN. Basic methods for preparation of liposomes and studying their interactions with different compounds, with the emphasis on polyphenols. *Int J Mol Sci* 2021;22(12):6547-67.
25. Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: Classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett* 2013;8(1):1–9.
26. Németh Z, Csóka I, Semnani JR, Sipos B, Haspel H, Kozma G, et al. Quality by Design-driven zeta potential optimization study of liposomes with charge imparting membrane additives. *Pharmaceutics* 2022;14(9):1798-23.
27. Jiang Y, Li W, Wang Z, Lu J. Lipid-based nanotechnology: Liposome. *Pharmaceutics* 2024;16(1):34-61.
28. Lujan H, Griffin WC, Taube JH, Sayes CM. Synthesis and characterization of nanometer-sized liposomes for encapsulation and microRNA transfer to breast cancer cells. *Int J Nanomedicine* 2019;14:5159-73.
29. Farouk AE, Fahmy SR, Soliman AM, et al. A nano-liposomal formulation potentiates antioxidant, anti-inflammatory, and fibrinolytic activities of *Allolobophora caliginosa* coelomic fluid: formulation and characterization. *BMC Biotechnol* 2023;23(1):28-47.
30. Huang X, Li Z, Zhai G. The role of zeta potential in the stability of nanoemulsions. *J Nanobiotechnology* 2012;10(1):1-10.
31. ชูทับ รัชพล. การเตรียมและวิเคราะห์คุณลักษณะของอนุภาคลิโปโซมสำหรับกักเก็บสารอาร์บูตินด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์แรงดันสูง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ; 2563.
32. ขวัญจิตร อิศระสุข, และคณะ. การเตรียมลิโปโซมกักเก็บสารสกัดจากใบขมิ้นเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต* 2560;10(1):43-60.
33. Schmidt C, Lamprecht A. Nanocarriers in drug delivery: Design, manufacture and physicochemical properties. In: Lamprecht A, editor. *Nanotherapeutics – Drug Delivery Concepts in Nanoscience*. Singapore: Pan Stanford; 2009.



Production Planning for Pineapple Canned with Reinforcement Learning

Payungsak Klasantia^{1*} Noppadol Amm-Dee^{1*} and Chidchanok Choksuchat²

¹Department of Industrial Technology Management, Faculty of Industrial Technology,
Muban Chombueng Rajabhat University, Ratchaburi, 70150

²Division of Computational Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110

*Corresponding author: payungsakklasantia@gmail.com, noppadolamd@mcru.ac.th

Received: 22 September 2024/ Revised: 21 February 2025/ Accepted: 24 February 2025

Abstract

Pineapple is a significant economic crop in Thailand, and the pineapple processing industry is crucial for farmers, manufacturers, and customers. Production planning is challenging due to the complexity of customer demands and the increasing uncertainty of fresh pineapple yields. The researcher studied and experimented with algorithms for production planning for canned pineapple using reinforcement learning. The objective was to optimize production planning by finding the best values for just-in-time scheduling through reinforcement learning, based on the Markov Decision Process (MDP) used for sequential decision-making. After analyzing the problem and recognizing that production planning has such characteristics, the researcher proceeded as follows: 1) Designed a dataset from case study data and defined the objective function. 2) Developed a reinforcement learning model using the Advanced Actor Critic (A2C) algorithm to create the production plan for the case study. 3) Tuned the model's parameters, trained the model, and tested it. 4) Evaluated the model and found that the reward or the defined objective function increased by at least 40% compared to the initial model. Additionally, the sellable products' readiness improved by 120%, and the discrepancy between expected and actual returns decreased by 19% compared to the initial machine learning model.

Keywords: Production scheduling, reinforcement learning, Markov Decision Process, production planning, machine learning

Introduction

Pineapple is one of Thailand's important economic crops because Thailand can generate income from exporting pineapples, processed pineapple products, and canned pineapples. The Food and Agriculture Organization of the United Nations [1] has estimated the value of processed pineapple products of Thailand as the world's third largest pineapple exporter in 2021, as shown in Figure 1.

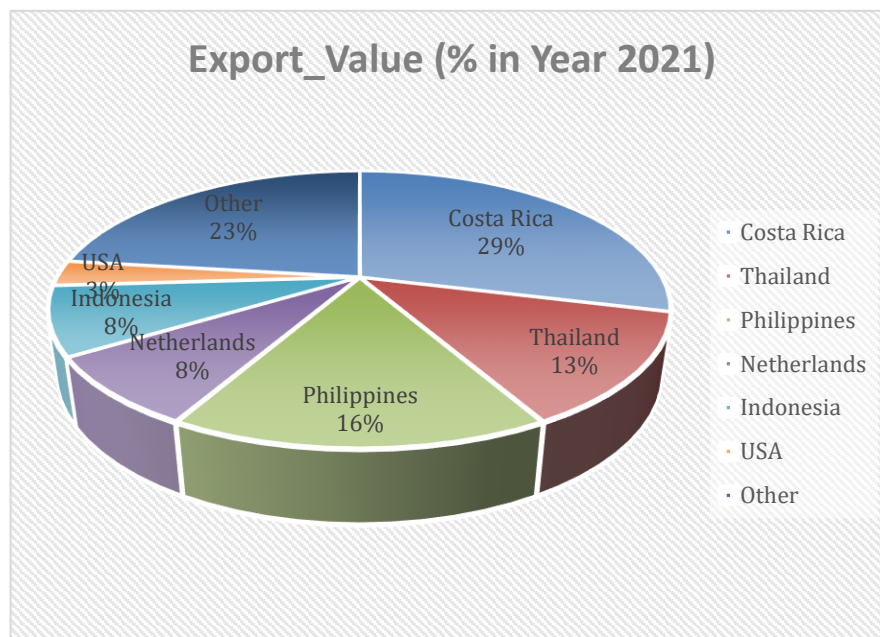


Figure 1 The percentage of pineapple product export value in 2021.

The pineapple processing industry can generate an average of 10 billion baht per year for the country from exports, considering data from each year from 2018 to 2022, referring to the database from the Office of Agricultural Economics, as shown in Table 1.

Table 1 Value and volume of exports of pineapples packed in airtight containers, 2018-2022

Year	Value (in million baht)	Value (in tonnes)
2018	10,418	313,142
2019	8,402	250,477
2020	7,429	150,755
2021	10,124	201,480
2022	12,144	211,321

Research findings [2, 3] indicate that the pineapple industry involves a link between farmers, processing plants, and customers. However, pineapple processing facilities face several challenges, including production inconsistencies that hinder accurate production planning and result in high error rates. Additionally, the cost of Thai pineapple products remains higher than that of competitors in the global market. In response to these issues and in alignment with the Pineapple Strategy 2017-2026, strategic policies have been established for processing plants to enhance production efficiency and decrease costs. Effective decision-making in production planning is crucial for helping factories meet production targets, maintain appropriate inventory levels, and prioritize products to satisfy fluctuating customer demand, ultimately minimizing total costs. Researchers have proposed various tools to address production planning challenges, such as enhancing sustainable supply chain efficiency for banana production using a mixed-integer linear

programming model [4], and employing a similar model for optimizing production schedules in canned fish factories, achieving near-optimal results in real-world scenarios [5]. Moreover, ongoing studies focus on developing artificial intelligence systems to autonomously optimize inventory management, resulting in lower overall costs compared to traditional systems. Reinforcement learning is a branch of machine learning focused on training agents to make decisions that maximize long-term rewards. These agents interact directly with their environment, using trial-and-error methods to discover optimal strategies based on feedback from their actions, including rewards and penalties. Previous studies have demonstrated that reinforcement learning has been effectively utilized to address production planning uncertainties across various industries [6-12]. This approach is rooted in the Markov Decision Process (MDP) framework proposed by Bellman in 1957 [13]. For instance, in 2020 [14], research applied a Deep Neural Network algorithm in Reinforcement Learning concept to tackle supply chain challenges in the Beer Game model developed by MIT, which encompasses the interactions between manufacturers, distributors, sellers, and retailers. The focus of this research was on minimizing supply chain costs and enhancing decision-making in real-world scenarios. By employing the Deep Q Network algorithm, specifically the Sharpened Reward DQN (SRDQN), the study was able to achieve strong results using a smaller data set, outperforming traditional base stock policies. Additionally, research addressing production system issues in complex manufacturing environments has highlighted the significant impact of order dispatching and maintenance management on overall production efficiency [14-18], especially when real-time decision-making is essential. Scholars have advocated for the use of reinforcement learning in this context due to its capability for autonomous operation, environmental adaptation, and optimal value discovery. Through reward and penalty analysis, one study constructed a model using the Trust Region Policy Optimization algorithm to evaluate reinforcement learning outcomes. The findings revealed that work dispatching to the production line using reinforcement learning achieved machine utilization rates exceeding 90%, significantly surpassing the efficiency of the First In First Out (FIFO) heuristic method. Furthermore, the overall production process time was reduced in comparison to FIFO. This indicates the potential of reinforcement learning to effectively resolve various industrial challenges. Researcher [19] studied the RL model using Q-Learning combined with the Knowledge-Driven Greedy Algorithm (KDQRL) for thermo-mechanical finite element analysis (FEA), comparing it with other methods such as Modified Low-Cost Search (MLCS), GA, and Exhaustive Search, which resulted in a 71% reduction.

This research aims to identify the most suitable values for just-in-time production planning in the canned pineapple processing industry, utilizing reinforcement learning to assess its effectiveness in various scenarios. Given the importance of this topic, the study seeks to provide insights into resolving production scheduling challenges commonly faced in the conventional pineapple processing industry, which often relies on the experience of skilled labor. By leveraging machine learning, specifically reinforcement learning, the research will extract insights from high-level data, such as forecasting and actual customer orders, to determine the optimal actions based on maximizing returns across diverse situations.



Materials and methods

1. Dataset Design and Target Function Definition

Reinforcement Learning uses feedback from interaction with the environment to learn the policy for the Markov Decision Process (MDP) through trial and error. The model requires extensive training, initially making mistakes, and learning which actions lead to optimal behavior. This approach is also applicable to more complex decision-making problems. The RL model uses the A2C algorithm, consisting of two components:

Actor: Learns a stochastic policy and selects actions with the highest probability of maximizing future rewards. **Critic:** Approximates the value of the current policy by estimating the expected sum of future discounted rewards. The system state, containing decision-making information such as inventory levels, actual demand, forecast data, the current schedule, and time, is passed from the environment to the algorithm. The agent uses a Deep Neural Network (DNN) to map states to actions, represented as a stochastic policy that provides a probability distribution of possible actions for each state. The reward function evaluates actions taken at specific states and times, aligning with the objective function to optimize the planning horizon. A diagram illustrates the A2C-based reinforcement Learning model, as shown in Figure 2.

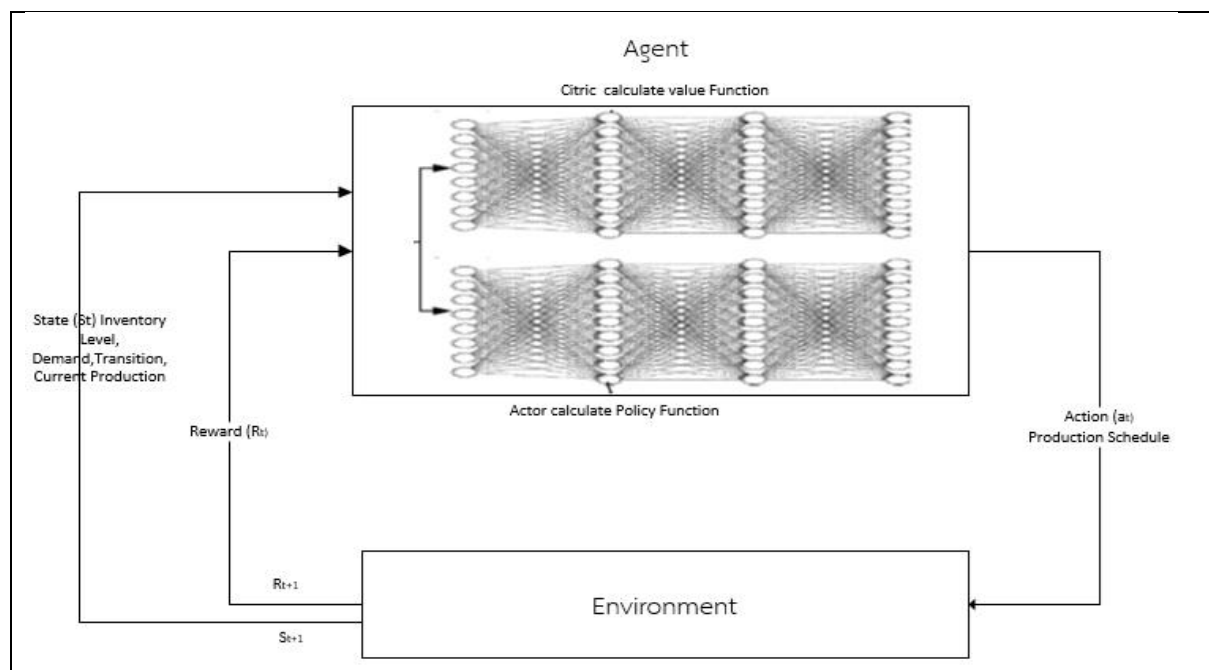


Figure 2 The diagram of Reinforcement Learning model with A2C algorithm for Canned Pineapple production planning

From the study of the general conditions and problems of the case study, the researcher can design a dataset related to the production planning and scheduling system. An important dataset example includes finished goods data (Table 2), inventory data (Table 3), transition probability data (Table 4) is a probability distribution over next possible successor states, given the current state, and customer order data (Table 5). The customer order data consists of the following attributes: order number, delivery date, ordered products, quantity ordered, profit per unit, creation date, and order type, among others.



Table 2 Finished Good Data

FGCode	Description	UOM	Safety Quantity	Sale Price	Cost
A	FANCY SLICE 2T (F200)CASE 0.5	EA	10000	614	584
B	FANCY CHUNKS (F200)CASE 0.5	EA	10000	620	600
C	TIDBITS/CUBES (F200)CASE 0.5	EA	10000	638	606
D	CRUSH (F200)CASE 0.5	EA	4000	610	590

Table 3 Inventory

CalendarDay	FG_Code	Inventory_Balance
1	A	100000
1	B	20000
1	C	150755
1	D	201480

Table 4 Transition probability Data

From/To	To_A	To_B	To_C	To_D
A	0	100	100	200
B	0	0	100	200
C	0	0	0	300
D	0	0	0	0

Table 5 Value and volume of pineapples packed for demand from customer

Doc_num	Doc_create	Planned_gi	FG_code	Order_qty	Var_std	Cust_segment
9791	122	127	D	3024	31	1
9793	108	113	B	5040	30	1
9803	120	127	A	6300	34	1

Definition of variable of the model

Set and index variables

i = product i when $i=1,2,3,...I$

j = product j when $j=1,2,3,...J$

m = machine m when $m=1,2,3,...M$

t = index for time period t when $t=1,2,3,...T$

n = index for order number from customer n when $n=1,2,3,...N$

Continuous variables

M_{it} = quantity of product i produced at time t when $i=1,2,3,...I$



when $t = 1, 2, 3, \dots, T$

F_{it} = finished inventory level of product i at time t

when $i = 1, 2, 3, \dots, I$

when $t = 1, 2, 3, \dots, T$

O_{itm} = Sales from sales of product i for orders n made in the initial period until time $t = t$

when $i = 1, 2, 3, \dots, I$

when $n = 1, 2, 3, \dots, N$

when $t = 1, 2, 3, \dots, T$

Binary variables

x_{imtn} = Binary variable equal to 1 means that product i is shipped according to order n at machine m at time t , otherwise 0

y_{imt} = Product i is ordered at machine m at initial time t , when y_{imt} equals 1 means that product is ordered, otherwise 0

Z_{ijt} = When $Z_{ijt} = 1$ means that a change in the state of the product has occurred, otherwise 0

Parameter

D_{itm} = Demand for product i at time t for order from customer n

t_n = Due date t of order from customer n

G_{in} = Standard profit minus delay loss on each order day

δ_{it} = Product change from production plan from product i to product j

C_{im}^{Max} = Maximum production capacity of product i

Objective Function or Reward Function to be used in evaluating the representative of the model

$$Z = \sum_n \sum_i \sum_t G_{in} O_{itm} - \eta \sum_i \beta F_{it} \quad (3)$$

Z is the competitiveness level of the business, it is the cumulative profit from sales of goods minus the coefficient of return on goods multiplied by the average cost.

G_{in} is the profit from sales of product i for order n .

O_{imt} is the sales from sales of product i for order n in the period from the beginning to time $t = T$.

η is the coefficient of return on goods, calculated by dividing profit by the cost of goods, giving a value of 0.05.

F_{it} is the inventory level of product i at time t . The constraint on the level of available inventory for sale.

$$F_{it} = F_{it-1} + M_{it-2} - \sum_j \delta_{ij} Z_{ijt-2} - \sum_n \sum_{t \geq t_n} O_{in} \forall i, t \quad (4)$$

Equation 4 shows that the inventory level of product i at time t is the product inventory level from the previous period $t-1$ plus the volume produced two days ago, M_{it-2} , minus the change in product from the planned production at time $t-2$ $\delta_{ij} Z_{ijt-2}$, and minus the volume of product i sold to customer n at time t (O_{in}).

Sales constraints

$$O_{itn} = D_{itn} U_{itn} \forall n, i, t \geq t_n \quad (5)$$

$$\sum_i \sum_{t \geq t_n} x_{itn} \leq 1 \forall n \quad (6)$$

Equations 5 and 6 represent the sales volume that can satisfy the demand for a product at a given time.

D_{itn} represents the demand for product i for order n at a given time t_n

x_{itn} is a binary variable equal to 1, meaning that product i is delivered according to order n at time t , and 0 means that it cannot be delivered at the given time.

$t \geq t_n$ means that t must be greater than or equal to t_n , so the quantity of product that can fulfill the customer order.

Production limitations

$$\sum_i v_{it} = 1 \forall t \quad (7)$$

$$0 \leq M_{it} \leq C_{im}^{Max} \forall i, t \quad (8)$$

Equation 7 shows that if product i is produced at time t , where v_{it} is a binary variable, then if product i is produced, v_{it} equals 1, but if it is not produced, then v_{it} equal 0. Each production line can produce the product and the production capacity is equal to C_{im}^{max} for the quantity of production of that product i at machine m not to be greater than the production capacity of the production line, as shown in Equation 8.

2. Developing the model

The development of the production scheduling management model involves utilizing reinforcement learning through deep neural networks, specifically employing the Advanced Actor-Critic (A2C) algorithm. The researcher fine-tuned the parameters of the production scheduling model, as well as the training and testing models, using an enhanced development program from PVC Development, further supported by Python Version 3.11.1 on a Dell Latitude 3340 with an Intel Core(TM) i5-4200U processor, 4 GB RAM, and Windows 10 Pro.

The model was created specifically for the canned pineapple industry, using data from a case study of a company operating in Prachuapkhirikhan Province. This case study involved six products requiring production planning and utilized customer purchase order data from 2022, alongside the production capacity of the Number 2 canned production line. Additionally, the model accounted for the variability of new products based on the quality of fresh pineapples received at the factory and outlined the required planning period.

Results and discussion

The initial hyperparameters for the production planning model were defined, alongside custom hyperparameters, enabling the creation of a production schedule based on these parameters. The researcher generated a production schedule using the initial hyperparameter model, represented graphically



with the products on the vertical axis and production dates on the horizontal axis. Moreover, the results of the total reward from the initial hyperparameter model were plotted against the teaching episodes of the model, as illustrated in Figures 3 and 4.

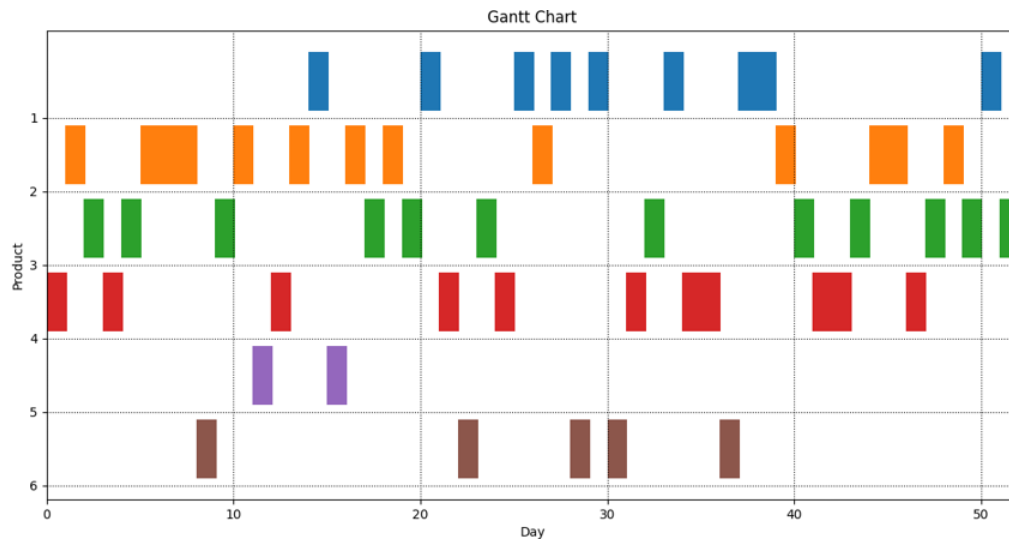


Figure 3 Production schedule from the initial hyperparameter model

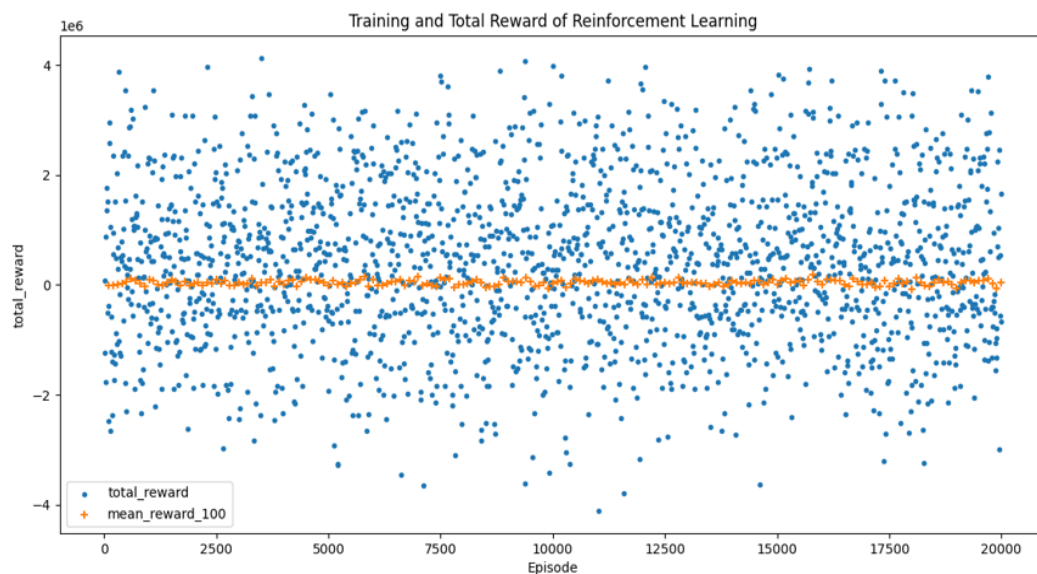


Figure 4 The results of the total return of the initial hyperparameter model with model training rounds.

The researcher adjusted the model by adjusting the hyperparameters and using the same training data as shown in Figure 5 which is the production schedule from the tuned hyperparameter model. Figure 6 is the graph showing the total returns of the tuned hyperparameter model. Figure 7 is the graph showing the returns in other parts including total returns, product cost, penalty effect for late delivery, and returns from on-time delivery. Figure 8 is the graph showing the products ready for delivery.

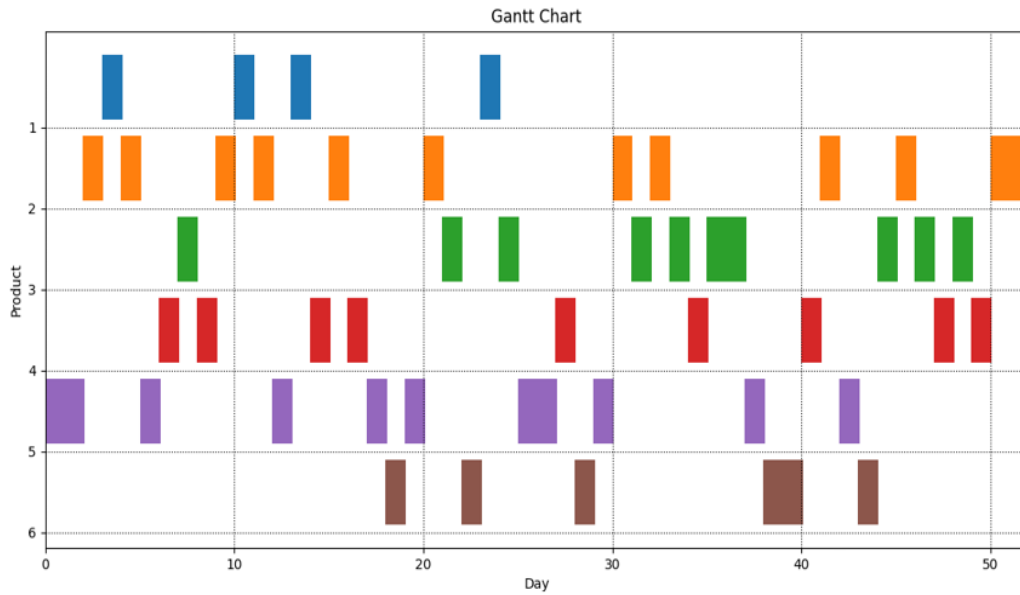


Figure 5 Production schedule from the optimized hyperparameter model.

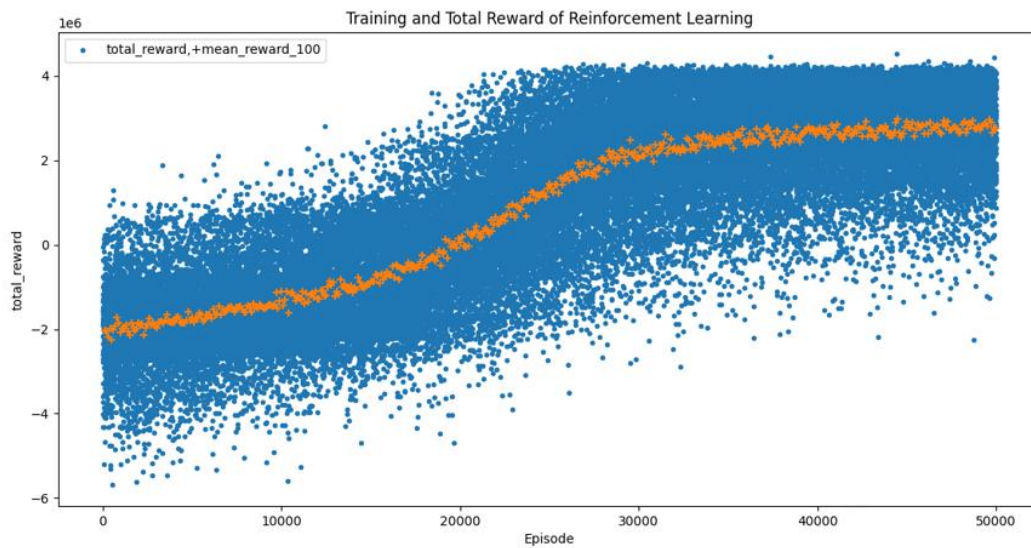


Figure 6 The total returns of the adjusted hyperparameter model

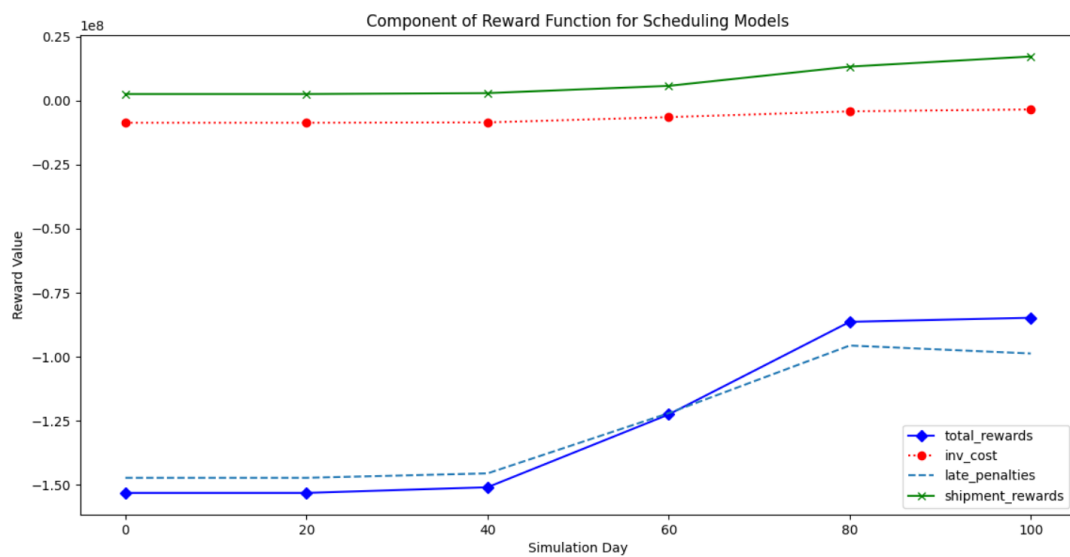


Figure 7 Returns in other sections

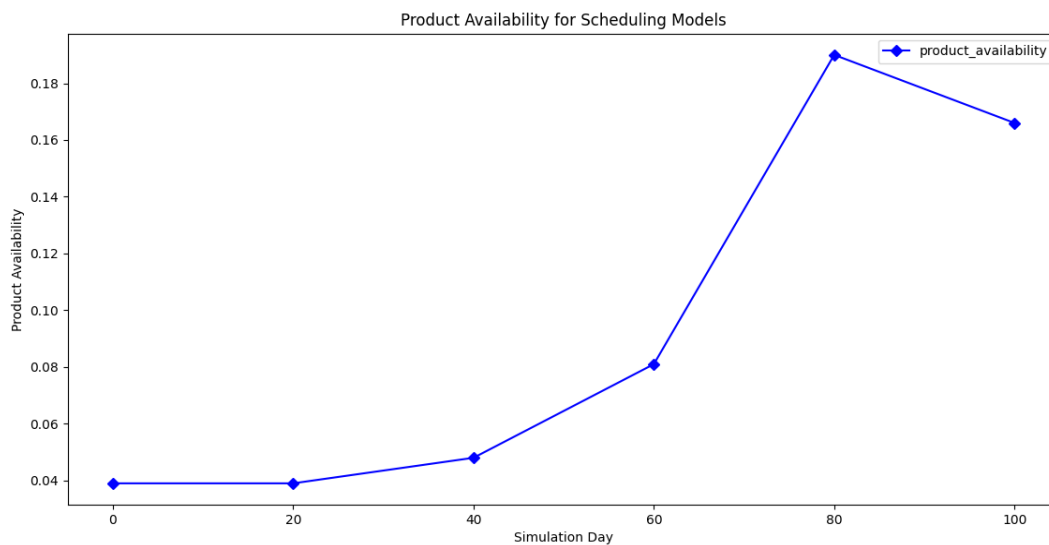


Figure 8 Ready-to-ship products

The research results on addressing the production planning challenges in the canned pineapple industry revealed significant improvements in the models before and after adjustments. The model representatives demonstrated a progressive learning curve, with their performance steadily increasing and stabilizing after approximately 40,000 training iterations. The adjusted model significantly enhanced operational performance, leading to a 44% increase in overall returns, while the error rate in return calculations decreased by 52%, ensuring greater accuracy in financial assessments. Additionally, the return on sales improved by 29%, reflecting higher profitability, and the inventory of ready-to-ship products expanded by a factor of 1.77, enhancing availability and responsiveness to market demand. These findings are summarized in Table 6.

Table 6 Results of Evaluation

Evaluation Items	Pre-Model(A)	Post-Model(B)	Difference $C=(B-A)*100/A$
Return Value	-153.21	-16.77	44%
Level of Return Deviation	0.11	0.24	52%
Return on Sales to Customer	13.36	17.32	29%
Product Availability	0.04	0.17	325%

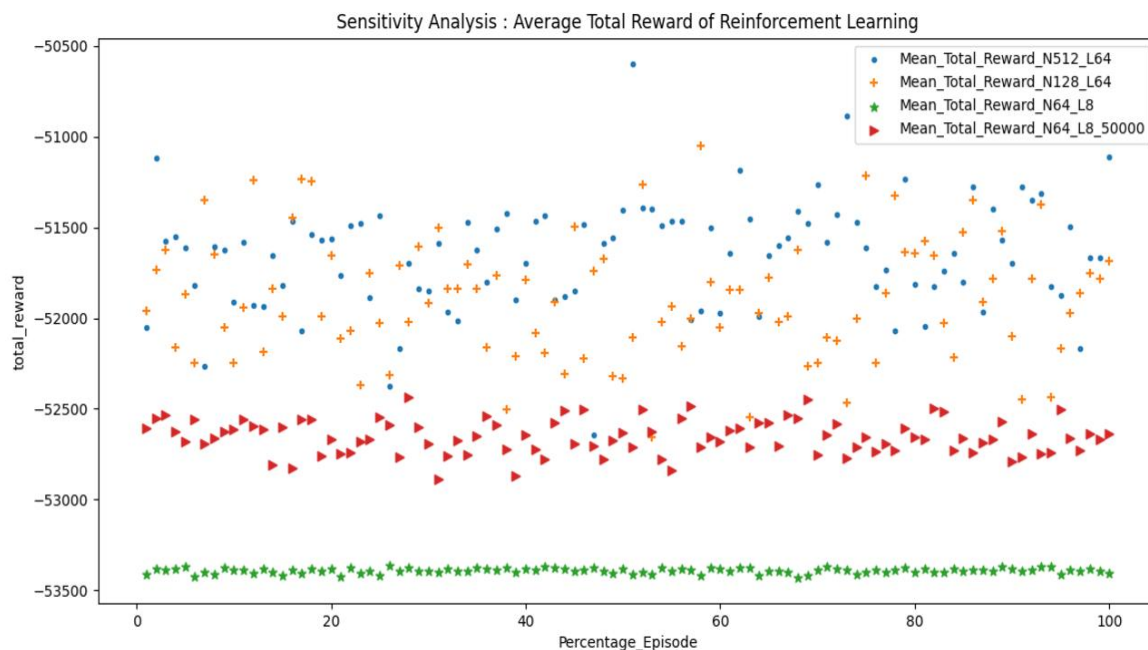
Mixed-Integer Linear Programming (MILP) model is one popular mathematical model that the researchers experimented with and compared against Posted training RL model. The results for Total Reward, Inventory Cost, Late Penalty, and Shipment Reward are shown, Table 7 demonstrates the comparison between RL and MILP. The table reveals that the RL model outperforms the MILP model by about 50.2%, with RL's inventory cost being approximately 55% lower than MILP's, and RL's Product Availability improving by 50.1%.

Table 7 Results of Evaluation comparison between Post RL and MILP

Evaluation Items	Post-RL Model(A)	MILP(B)	Percentage Difference $C=(A-B)*100/B$
Return Value	-84.77	-160.77	47%
Return on Sales to Customer	17.32	16.32	6.7%
Product Availability	0.17	0.13	30%

The parameters used for training the model are as follows: batch size = 1000, discount factor (γ) = 0.99, number of hidden nodes = 512, number of hidden layers = 64, activation function = ELU, learning rate = 0.95, actor learning rate = 5e-07, critic learning rate = 1e-05, bias = True, and beta = 1e-05.

Researcher presented a sensitivity analysis of hyperparameters. Changes in hyperparameters impacted the model's performance. It was found that as the number of iterations increased, the effect on returns became more significant. Additionally, adjusting the number of Layer and Node in Neural Network inspections resulted in higher returns show as in Figure 9


Figure 9 Sensitivity Analysis of RL Model

Conclusion

Production planning plays a crucial role in the manufacturing industry, particularly within the agricultural sector, where uncertainty levels are typically higher. Effective production planning that yields increased returns is regarded as a strong organizational strategy. The analysis of the production plan developed using the adjusted reinforcement learning model demonstrates improved returns compared to previous efforts, along with positive evaluations across other dimensions while adhering to business constraints related to canned pineapple production.



The long-term impact of the reinforcement learning model on the canned pineapple industry is significant. Economically, the model has the potential to stabilize production costs, enhance market responsiveness, and provide consistent financial benefits to stakeholders. [20] Environmentally, its ability to optimize production schedules can reduce resource wastage, energy consumption, and overproduction, aligning with sustainability goals. Socially, improved efficiency may benefit farmers by ensuring stable demand and fair pricing while fostering consumer satisfaction through reliable product availability.

The scalability of the model was also explored, demonstrating its potential for broader applications beyond the canned pineapple industry. The model's flexibility allows it to handle larger problem instances and adapt to more complex production planning scenarios, making it suitable for other agricultural and manufacturing contexts. However, challenges such as computational demands and data management must be addressed to fully realize its scalability.

Future research should focus on integrating the reinforcement learning model with other decision-making processes within the pineapple processing industry, such as inventory control, supply chain management, and quality assurance. This integration could create a unified framework that enhances decision-making efficiency and resilience, ensuring comprehensive operational improvements. Additionally, testing alternative algorithms and incorporating constraints such as raw material availability, labor resources, and storage capacity can further refine the model.

The implementation of reinforcement learning in real-world production environments requires addressing challenges like ensuring high-quality data collection, computational resource availability, and seamless integration with existing systems. Engaging industry stakeholders and demonstrating tangible benefits through pilot programs will be essential for gaining acceptance. Finally, ethical considerations such as potential job displacement and data privacy concerns must be proactively managed to ensure responsible AI deployment in production planning.

References

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT [Internet]. 2023 [cited 2023 May 6]. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/WCAD>.
2. Tantipipaphong K. Guidelines for promoting agricultural product processing for export. Thesis, National Defense Course, National Defense College. Thailand; 2020.
3. Saengchan S. Development of Marketing Strategy of Thai Canned Pineapple Exporters. Master of Business Administration Thesis, Burapha University College of Commerce. Thailand; 2017.
4. Chantaros P, Klaychey R, Limpianchob C. Optimization of a Sustainable Supply Chain Planning System for Cultivated Banana Production with a Mixed-integer Linear Programming Approach. TJOR 2023;11(1):21-3.
5. Georgiadis GP, Mario Pampin B, Cabo DA, Georgiadis MC. Optimal production scheduling of food process industries. Comput Chem Eng 2020;134:106682.
6. Hubbs CD, Li C, Sahinidis NV, Grossmann IE, Wassick JM. A deep reinforcement learning approach for chemical production scheduling. Comput Chem Eng 2020;141:106982.



7. Kumar A, Dimitrakopoulos R, Maulen M. Adaptive self-learning mechanisms for updating short-term production decisions in an industrial mining complex. *J Intell Manuf* 2020;31(6):1795–1811.
8. Guo F, Li Y, Liu A, Liu Z. A reinforcement learning method to scheduling problem of steel production process. *J Phys Conf Ser* 2020;1486:072035.
9. Woo JH, Kim B, Ju S, Cho YI. Automation of load balancing for Gantt planning using reinforcement learning. *Eng Appl Artif Intell*. 2021;101:104226.
10. Kemmer L, Kleist H, Rochebouet D, Tziortziotis N, Read J. Reinforcement learning for supply chain optimization. *EWRL* 2018;14(10):1-9.
11. Schwung D, Schwung A, Ding SX. Actor-critic Reinforcement Learning for Energy Optimization in Hybrid Production Environment. *IJC* 2019; 18(4):360-71.
12. Geevers K. Deep Reinforcement Learning in Inventory Management. Master Thesis, Industrial Engineering and Management, University of Twente. Netherlands; 2020.
13. Bellman R. A Markovian decision process. *J Math Mech*. 1957;6(5):679-84.
14. Oroojlooyjadid A, Nazari M, Snyder L, Takáč M. A Deep Q-Network for the Beer Game: A Deep Reinforcement Learning algorithm to Solve Inventory Optimization Problems [Internet]. 2020 [cited 2024 Nov 01]. Available from: <https://arxiv.org/abs/1708.05924>.
15. Kuhnle A, Kaiser JP, Theiß F, Stricker N, Lanza G. Designing an adaptive production control system using reinforcement learning. *J Intell Manuf*. 2021 ;32(3):855-76.
16. Martínez JY, Coto Palacio J, Nowé A. Multi-agent reinforcement learning tool for job shop scheduling problems. *Commun Comput Inf Sci* 2020;1173:3-12.
17. Lang S, Behrendt F, Lanzerath N, Reggelin T, Müller M. Integration of deep reinforcement learning and discrete-event simulation for real-time scheduling of a flexible job shop production. *Proc 2020 Winter Simul Conf (WSC) 2020*;3057-68.
18. Chang J, Yu D, Hu Y, He W, Yu H. Deep reinforcement learning for dynamic flexible job shop scheduling with random job arrival. *Processes* 2022;10(4):760.
19. Romero-Hdz J, Saha BN, Tsutsumi S, Fincato R. Incorporating domain knowledge into reinforcement learning to expedite welding sequence optimization. *Eng Appl Artif Intell* 2020;91:103612.
20. Modrak V, Sudhakarapandian R, Balamurugan A, Soltysova Z. A review on reinforcement learning in production scheduling: an inferential perspective. *Algorithms* 2024;17(8):343.



ระดับสารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านเซลล์แก่
ของสารสกัดไมยราบ

Antioxidant Levels Antioxidant Anti-Inflammatory and Anti-Senescence cells
Activities of *Mimosa Pudica* L.

พิชาพัชร ฐิตินอนภิกษณ์^{1*} ศุภรัตน์ ดวนใหญ่² อัจฉรา แก้วน้อย² อ้อมบุญ วลิสุต²
และ จันทนา ยะหัวฝาย³

¹สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร สกลนคร
47160

²สาขาแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร 10600

³งานวิจัยคลินิกและนวัตกรรม สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพมหานคร 10400

Pichapat Thititanaapipong^{1*}, Supharat Duanyai², Atchara Kaewnoi², Omboon Vallisuta²
and Jantana Yahuafai³

¹Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of
Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Sakon Nakhon 47160

²Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology Bansomdejchaopraya
Rajabhat University, Bangkok 10600

³Research Clinic and Innovation National Cancer Institute, Bangkok 10400

*Corresponding author: pichapat.th@rmuti.ac.th

Received: 1 November 2024/ Revised: 4 April 2025/ Accepted: 9 April 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้านการอักเสบและต้านเซลล์แก่ของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 จากการศึกษาพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 228.021 ± 0.91 และ 372.782 ± 1.49 mg GAE/g extract และพบสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม 13.422 ± 0.21 และ 49.010 ± 0.49 mg QE/g extract ตามลำดับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากลำต้นเหนือดินและราก พบค่า IC_{50} เท่ากับ 8.479 ± 0.19 และ 5.707 ± 0.49 μ g/mL ตามลำดับเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging capacity assay (DPPH assay) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS radical cation decolorization assay (ABTS^{•+}) เท่ากับ 17.772 ± 0.62 และ 14.589 ± 0.25 mg ascorbic acid equivalent/g extract ตามลำดับเมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS assay และมีค่า Ferric ion reducing antioxidant power assay (FRAP assay) เท่ากับ 3750.108 ± 18.17 และ 5243.727 ± 23.27 mM FeSO₄ equivalent/g extract ตามลำดับเมื่อทดสอบด้วยวิธี

FRAP assay ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยการยับยั้งการผลิต Nitric Oxide (NO), Prostaglandin E2 (PGE₂) และ Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-Alpha) ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ที่กระตุ้นการอักเสบด้วย lipopolysaccharide (LPS) พบว่าสารสกัดไมยราบส่วนลำต้นเหนือดินและราก ที่ความเข้มข้น 125, 250, 500 µg/mL สามารถลดการสร้าง NO, PGE₂ และ TNF-Alpha ในเซลล์มาโครฟาจได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลจากการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ พบว่าสามารถยับยั้งการเสื่อมของเซลล์มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดไมยราบส่วนลำต้นเหนือดินและราก มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ได้ ซึ่งเป็นการสนับสนุนการนำไมยราบมาใช้ประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพผิว และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับไมยราบในการพัฒนาเป็นเวชสำอางต่อไป

คำสำคัญ : ไมยราบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านอักเสบ ฤทธิ์ต้านเซลล์แก่

Abstract

This study aimed to investigate the Antioxidant Levels Antioxidant Anti-Inflammatory and Anti-Senescence cells activities of the 95% ethanol extracts of the aerial parts and roots of *Mimosa pudica* L. The results showed that both the aerial parts and roots of *M. pudica* contained total phenolic contents of 228.02 ± 0.91 and 372.78 ± 1.49 mg GAE/g extract, and total flavonoid content of 13.42 ± 0.22 and 49.01 ± 0.49 mg QE/g extract, respectively. The Antioxidant Activity of the *M. pudica* extracts from aerial parts and roots, when tested using the DPPH assay, yielded IC₅₀ values of 8.48 ± 0.19 and 5.71 ± 0.49 µg/ml, by ABTS assay yielded values of 16.65 ± 0.47 and 14.589 ± 0.25 mg ascorbic acid equivalent/g extract, and by FRAP assay yielded values of 3750.11 ± 18.17 and 5243.73 ± 23.27 mM FeSO₄ equivalent/g extract, respectively. The Anti-Inflammatory activity was tested by the production inhibition of nitric oxide, PGE₂ and TNF-Alpha in RAW264.7 macrophage cells stimulated with lipopolysaccharide. It was found that both extracts from aerial parts and roots of *M. pudica* at concentrations of 125, 250, and 500 µg/ml could significantly reduce nitric oxide production PGE₂ and TNF-Alpha in the macrophage cells. The results from the Anti-Senescence cells activity test showed that it could inhibit cell degeneration by more than 50 percent. This study indicates that the extracts from both aerial parts and roots of *M. pudica* possess Antioxidant Anti-Inflammatory and Anti-Senescence cells properties. These findings support the use of *M. pudica* as a natural resource for developing skincare products and add value to *M. pudica* for further development as a cosmeceutical.

Keywords: *Mimosa pudica* L., Antioxidation Activity, Anti-Inflammatory Activity, Anti-Senescence cells

บทนำ

อนุมูลอิสระ (Free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่ไม่มีคู่อิเล็กตรอน เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ร่างกายเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน [1] โดยอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากการสร้างภายในร่างกาย และเกิดจากปัจจัยภายนอกในร่างกาย ซึ่งส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อในระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจากอัตราเมแทบอลิซึมที่สูงขึ้น จึงทำให้ร่างกายเกิดความเสื่อมโทรมและความชรา และทำให้เกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ ได้ [2] ในสภาวะปกติร่างกายของมนุษย์มีกลไกในการต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้น เช่น โคเอนไซม์คิวเทรล วิตามินอี วิตามินซี วิตามินเค กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น [3] และหากเกิดอนุมูลอิสระภายในร่างกายเป็นระยะ



เวลานาน จะทำให้เกิดการอักเสบ (Inflammation) ภายในร่างกายขึ้น ซึ่งการอักเสบเป็นกระบวนการที่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายตอบสนองเมื่อเกิดการบาดเจ็บ การติดเชื้อ หรือมีสิ่งแปลกปลอม เช่น เชื้อโรค สารพิษ โดยร่างกายจะส่งสัญญาณให้เซลล์ภูมิคุ้มกันเข้ามาจัดการกับบริเวณที่เกิดปัญหา และปล่อยสารเคมี เช่น สารกลุ่มไซโตไคน์ (Cytokines) และสารก่อการอักเสบอื่น ๆ เพื่อช่วยกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้น [4] การอักเสบของร่างกายแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ การอักเสบเฉียบพลัน (Acute Inflammation) ซึ่งเกิดขึ้นทันทีหลังจากที่ร่างกายได้รับบาดเจ็บหรือเกิดการติดเชื้อ โดยอาการมักจะเกิดขึ้นเป็นระยะเวลาดสั้น ๆ เช่น อาการปวด บวม แดง ร้อน และการอักเสบเรื้อรัง (Chronic Inflammation) เป็นการอักเสบที่เกิดขึ้นเป็นเวลานานหลายเดือนหรือหลายปี [5] โดยอาจส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย แม้ว่าการอักเสบจะเป็นกลไกที่สำคัญของร่างกายในการรักษาและปกป้องตัวเองจากการบาดเจ็บหรือการติดเชื้อ แต่หากการอักเสบเกิดขึ้นอย่างไม่เหมาะสมหรือยาวนานเกินไป อาจทำให้เกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจ (Heart Disease) เบาหวาน (Diabetes) หรือโรคแพ้ภูมิตัวเอง (Autoimmune Diseases) [6] เมื่อร่างกายเกิดอนุมูลอิสระ และมีสภาวะการอักเสบที่ยาวนาน ย่อมส่งผลให้เอนไซม์ β -galactosidase (SA- β -gal) ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเผาผลาญของร่างกายเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้เกิดเซลล์แก่ (Senescence Cell) [7] หยุดการแบ่งตัว และเข้าสู่ภาวะหยุดการเจริญเติบโตของเซลล์อย่างถาวร โดยสาเหตุการเกิดเซลล์แก่สามารถเกิดจากปัจจัยภายในร่างกาย เช่น กระบวนการเสื่อมของเซลล์ (Cellular Senescence) ภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (Oxidative Stress) การลดลงของฮอร์โมนเอสโตรเจน การเกิด Advanced Glycation End-Products (AGEs) และปัจจัยภายนอกในร่างกาย เช่น การเปลี่ยนแปลงของเมทริกซ์นอกเซลล์ (Extracellular Matrix Changes) การเพิ่มขึ้นของ Matrix Metalloproteinases (MMPs) และการส่งสัญญาณเข้าสู่เซลล์ (Cellular Signal Transduction) [8]

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพโดยการนำมาทดสอบและวัดปริมาณ Senescence-Associated β -galactosidase จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ ซึ่งในปัจจุบันการใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาโรคเรื้อรังกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากจากกลุ่มผู้ป่วย [9] เนื่องจากมีประวัติการใช้รักษาโรคที่ยาวนาน จากหลากหลายวัฒนธรรมทั่วโลก และมีผลการศึกษาจำนวนมากที่สนับสนุนประสิทธิภาพของสมุนไพรในการรักษาโรคเรื้อรังซึ่งเป็นปัญหาทางสุขภาพที่ส่งผลกระทบต่อการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วยในระยะยาว โดยการรักษาโรคเรื้อรังมักใช้การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด การผ่าตัด และการรักษาแบบภูมิปัญญา อย่างไรก็ตามการใช้ยาทางเคมีอย่างต่อเนื่องอาจส่งผลข้างเคียงทั้งระยะสั้นและระยะยาว ทำให้ผู้ป่วยบางกลุ่มมองหาทางเลือกในการรักษาที่มีผลข้างเคียงน้อยกว่า เช่น การใช้สมุนไพรในการบำบัด โดยสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการใช้สมุนไพรเพิ่มมากขึ้น เป็นผลมาจากความเชื่อในความปลอดภัย และผลข้างเคียงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับยาสังเคราะห์ การรักษาด้วยสมุนไพรยังสอดคล้องกับแนวโน้มการดูแลสุขภาพแบบองค์รวม (Holistic Health) ซึ่งเน้นการปรับสมดุลของร่างกาย จิตใจ และจิตวิญญาณ โดยไม่มุ่งเน้นแต่เพียงการรักษาอาการของโรคเพียงอย่างเดียว [10]

ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) อยู่ในวงศ์ Fabaceae เป็นพืชล้มลุก เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่แฉะ มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ ในประเทศไทยพบเพียง 3 ชนิด ได้แก่ ไมยราบ *Mimosa Pudica* L. ไมยราบต้น *Mimosa Pigra* L. และ ไมยราบขาว *Mimosa diplotricha* C. [11] ไมยราบจัดเป็นวัชพืชที่ขึ้นอยู่ทั่วไป ทางกรมแพทย์แผนไทยใช้ทั้งต้น รสขมฝืดเล็กน้อย ต้ม น้ำดื่ม แก้บิด บำรุงร่างกาย ขับน้ำนม ขับปัสสาวะ แก้ทางเดินปัสสาวะอักเสบ แก้ไข้ แก้กระษัย แก้แผลฝีและฝีตามตัว ในตำรายาของหลวงพ่อบุช วัดมะขามเฒ่า ใช้ทั้งห้า คือ ต้น ใบ ดอก ลูก ราก สับเป็นชิ้น คั่วไฟให้สุก ชงน้ำร้อน รับประทานแก้โรคหัวใจสั้น หัวใจเต้นแรงผิดปกติ [12] ราก รสฝืดเย็น ใช้เป็นยาแก้ไอ ขับเสมหะ แก้ปวดประจำเดือน ลำต้น เป็นยาขับปัสสาวะ ขับระดูขาว ขับโลหิตเสีย แก้กระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง ระบายประสาท [13] ทางภาคอีสานมีรายงานการใช้ไมยราบในกลุ่มชาติพันธุ์ผู้ไท มาต้มอาบ เพื่อใช้ในการรักษา “มูมมาน” หรือลมพิษ [14] ใบของสารสกัดไมยราบมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และสามารถลดการอักเสบในอุ้งเท้าของหนู นอกจากนี้ในทางแพทย์พื้นบ้านของอินเดีย ใช้ในการรักษาอาการปวดศีรษะ อาการท้องเสีย แก้ไข้ รักษาอาการซึมเศร้า [15] จากผลการศึกษาพบว่าใบของไมยราบ พบสารกลุ่ม แอลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ รากของไมยราบพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ ซาโปนิน มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ รักษาบาดแผล ต้านจุลินทรีย์ แก้วตักกังวล ต้านมาลาเรีย [16] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากลำต้น และใบของ

ไมยราบสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *C. acnes* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสิว [17] เมล็ดของไมยราบสามารถต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน [18] ใช้ในการรักษาโรคท้องร่วง ไซซ้ออักเสบ ริดสีดวงทวาร วัณโรค การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ [16] จากข้อมูลสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทยและการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และสารฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดสมุนไพรส่วนใหญ่เป็นสารสกัดส่วนของใบ และลำต้นไมยราบ แต่รายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดส่วนของรากไมยราบยังมีรายงานการวิจัยไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และด้านเซลล์แก่ ของสารสกัดหยาบจากลำต้นเหนือดินและรากของไมยราบ โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 v/v จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการนำส่วนต่าง ๆ ของไมยราบไปใช้ในการพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพผิวและเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับไมยราบในการพัฒนาเป็นเวชสำอาง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำไมยราบทั้งต้นที่เก็บมาจากพื้นที่อำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร ช่วงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2566 จากนั้นส่งตัวอย่างพรรณไม้แห้งเพื่อใช้ในการอ้างอิงงานวิจัย โดยระบุลักษณะทางพฤกษศาสตร์ตามวิธีของ ฌ. พิพิธภัณฑสถานไพร กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กรุงเทพมหานคร หมายเลข voucher specimen คือ TTM No.0006790 มาล้างทำความสะอาดผึ่งให้แห้ง นำมีดสับส่วนของลำต้นเหนือดิน และส่วนรากแยกกัน แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50-55 °C เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นนำส่วนของลำต้นเหนือดิน และส่วนรากของไมยราบ บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดสมุนไพร นำส่วนที่บดเรียบร้อยแล้วผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 60 จากนั้นนำผงไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากไมยราบมาทำการสกัดด้วยวิธีการแช่ย่อย (Maceration) โดยซึ่งผสมสมุนไพรตัวอย่างละ 200 g สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 2,000 mL ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เขย่าทุกวัน ๆ ละ 2 ครั้ง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารสกัดที่ได้มาแยกตัวทำละลายออกด้วยวิธีการระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) นำสารสกัดที่ได้มาชั่งน้ำหนัก และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักของพืชสมุนไพร (% yield) [19]

2. การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์

2.1 การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ในการทดสอบใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน [20] โดยเตรียมสารสกัดไมยราบทั้งส่วนลำต้นเหนือดินและส่วนรากที่ความเข้มข้น 1 mg/mL ในเอทานอล จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยาโดยใช้สารสกัดปริมาตร 20 μ L และเติมสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์โพลิน-ซีโอแคลตู (เจือจาง 1:10 ด้วยน้ำกลั่น) ปริมาตร 100 μ L ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที เติม 7.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 μ L ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยกลุ่มควบคุมเปล่า (blank sample) คือ สารละลายตัวอย่าง 20 μ L กับเอทานอล 180 μ L นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ความเข้มข้นในช่วง 0.01-0.1 mg/mL คำนวณในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (Gallic acid equivalent, GAE/ g extract)

2.2 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium chloride method

วิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม [21] โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์เซติน (Quercetin) ความเข้มข้นที่ 100 μ g/mL เป็นสารละลายเริ่มต้น (stock solution) จากนั้นเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ 10, 20, 30, 40 และ 45 μ g/mL



และเตรียมตัวอย่างสารสกัดไมยราบทั้งส่วนลำต้นเหนือดินและส่วนราก ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL นำสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน ปริมาตร 100 μ L เติม 2 เปอร์เซ็นต์อะลูมิเนียมคลอไรด์ในเมทานอล ปริมาตร 100 μ L และเติมเอทานอล จำนวน 100 μ L ที่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท โดยกลุ่มควบคุมเปล่า (blank sample) คือ สารละลายตัวอย่าง 100 μ L กับเมทานอล 100 μ L โดยไม่มีอะลูมิเนียมคลอไรด์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐานของสารเคอซีทิน คำนวณในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของเคอซีทินต่อกรัมสารสกัด (mg Quercetin equivalent, QE/ g extract)

3. การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

3.1 DPPH radical scavenging capacity assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดลำต้นเหนือดินและรากของไมยราบ ด้วยวิธี DPPH assay [22] โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน เตรียมสารละลายสารสกัดของไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ความเข้มข้น 0.001-0.1 mg/mL นำสารสกัดปริมาตร 80 μ L มาทำปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย methanolic DPPH ที่ความเข้มข้น 152 mM ปริมาตร 120 μ L จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท จากนั้นนำมาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถลดปริมาณอนุมูลอิสระได้สมการ โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงในค่า IC_{50} (50% Inhibitory Concentration)

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_c - A_{bc}) - (A_s - A_{bs})}{(A_c - A_{bc})} \times 100$$

เมื่อ A_c = absorbance of control

A_b = absorbance of blank control

A_s = absorbance of sample

A_{bs} = absorbance of blank sample

3.2 ABTS radical cation decolorization assay

เตรียมสารละลาย ABTS⁺ เข้มข้น 7 mM และสารละลายโปแตสเซียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้น 2.45 mM จากนั้นผสมสารละลาย ABTS กับสารละลายโปแตสเซียมเปอร์ซัลเฟตอัตราส่วน 1:0.5 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 12 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ แล้วเจือจางสารละลาย ABTS⁺ ด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงช่วง 0.7 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 nm แล้วเตรียมสารละลายของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ที่ความเข้มข้น 0.003-0.1 mg/mL มาทำปฏิกิริยาโดยใช้สารละลายของสารสกัด 20 μ L เติมสารละลาย ABTS⁺ 180 μ L ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท จากนั้นคำนวณคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ABTS⁺ โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของวิตามินซีโดยสร้างกราฟมาตรฐานของวิตามินซีที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยกำหนดแกน y เป็น % Inhibition และแกน x เป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐานวิตามินซีแสดงค่าในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อกรัมสารสกัด (mg ascorbic acid equivalent/g extract) [23]

3.3 Ferric ion reducing antioxidant power assay

เตรียมสารละลาย FRAP reagent ผสมสารละลาย 300 mM อะซิโตนีฟเฟออร์ pH 3.6 สารละลาย 20 mM เพอร์ริกคลอไรด์และสารละลาย 10 mM TPTZ ใน 40 mM ของกรดไฮโดรคลอริกที่อัตราส่วน 10:1:1 และเตรียมสารละลายของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากความเข้มข้น 100 μ g/mL ในเอทานอล ปิเปตสารสกัดไมยราบ 20 μ L และเติม FRAP reagent 180 μ L เขย่าเล็กน้อยให้เข้ากัน นำไปตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm คำนวณค่าการดูดกลืนแสงดังสมการ ค่าที่ได้แสดงในรูปแบบ mM สมมูลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมสารสกัด (mM FeSO₄ equivalent/g extract) [23]



$$\text{Absorbance} = A - B - C$$

โดย A = sample 20 μL + FRAP reagent 180 μL

B = sample 20 μL + Acetate buffer pH 3.6 180 μL

C = Ethanol 20 μL + FRAP reagent 180 μL

4. การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ

4.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7

เตรียมตัวอย่างสารสกัด โดยนำสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก 100 mg จากนั้นละลายตัวทำละลาย Dimethylsulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich, Germany) ปริมาตร 1 mL นำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (ATCC, USA) ปริมาตร 9 mL เป็น Stock เริ่มต้น 10 mg/mL เจือจางสารละลายที่เป็น stock เริ่มต้นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ให้ได้ 7 ระดับความเข้มข้น คือ 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 (ATCC® CRL-2278, USA) ทดสอบด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ที่ความเข้มข้น 2×10^5 cells/mL ดูดเซลล์ปริมาตร 200 μL ใน 96-well plate (Corning, USA) บ่มเซลล์ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง ครอบคลุมเวลาอาหารเก่าทิ้ง เติมสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม สำหรับการทดลองในครั้งนี้กำหนดให้เซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดเป็นกลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มทดลองคือ เซลล์ที่ได้รับสารสกัดของไมยราบความเข้มข้นต่าง ๆ (62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$) ในตัวทำละลาย DMSO ความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 100 μL จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่สภาวะเดิมนาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารทดสอบออกแล้วเติมสารละลาย 4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate (WST-1) (GIBCO, USA) [24] ที่เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM อัตราส่วน 1:10 ปริมาตร 100 μL ลงในแต่ละหลุม นำเซลล์กลับไปที่ตู้บ่มต่อในสภาวะเดิมเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (% Cell viability) ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ จะถือว่ามีความเป็นพิษหากมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 80 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

$$\text{ร้อยละของการมีชีวิต} = (\text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบ} / \text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์กลุ่มควบคุม}) \times 100$$

4.2 การเตรียมสารสกัดไมยราบเพื่อทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ

เตรียมสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ความเข้มข้น 10 mg/mL จากนั้นนำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ให้ได้ความเข้มข้นที่ 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ เตรียมสารละลาย LPS (Sigma-Aldrich, Germany) ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นสารสื่ออักเสบ และกระตุ้นการเกิด NO ที่ระดับความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/mL}$ เป็นกลุ่มควบคุมบวก (positive control)

4.3 การทดสอบการยับยั้งสารสื่ออักเสบ

เลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ความเข้มข้น 2×10^5 cells/mL ให้ได้ปริมาตร 200 μL ลงใน 96-well plate นำเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ครอบคลุมเวลาอาหารเก่าทิ้ง แล้วเติม LPS ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในสภาวะเดิมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กระตุ้นให้เกิดการอักเสบเมื่อครบเวลาให้ดูดอาหารเก่าทิ้ง แล้วเติมสารสกัดไมยราบความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม นำเซลล์ไปบ่มในสภาวะเดิมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารทดสอบออก นำหาปริมาณสารสื่ออักเสบและ NO [25]

4.4 การทดสอบการยับยั้ง NO

ทดสอบการยับยั้ง NO (Lot: WW2082TB3126, USA) ด้วย Griess's reagent assay โดยการทำในที่มืดจากนั้นเติม nitrate reductase เพื่อเปลี่ยนไนเตรท (NO_3^-) เป็นไนไตรท์ (NO_2^-) ก่อนทำปฏิกิริยากับสารละลาย Griess reagent จากนั้น



ทดสอบการยับยั้ง NO ด้วยการเติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตรหลุมละ 85 μL จากนั้นเติมสารละลาย nitrate reductase (Abcam, USA) และ enzyme cofactor ปริมาตรหลุมละ 5 μL บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเติมสารละลาย enhancer ปริมาตรหลุมละ 5 μL นำกลับไปบ่มที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Griess's reagent R1 และ Griess's reagent R2 ปริมาตรหลุมละ 50 μL อ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 540 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader [25]

4.5 การทดสอบการยับยั้ง TNF-Alpha

เติมสารละลาย biotinylated Antibody reagent (Abcam, USA) ปริมาตร 50 μL ลงแต่ละหลุม จากนั้นเติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 50 μL ลงไป ปิด plate บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างด้วย wash buffer (เจือจาง wash buffer ปริมาตร 50 mL ต่อ ultrapure water ปริมาตร 1.5 ลิตร) จำนวน 3 ครั้ง เติมสารละลาย streptavidin-HRP (เจือจาง streptavidin-HRP ปริมาตร 30 mL: streptavidin-HRP dilution buffer ปริมาตร 120 mL ปริมาตร 100 μL ปิด plate บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ครบเวลาล้างด้วย wash buffer จำนวน 3 ครั้ง เติมสารละลาย TMB substrate ปริมาตร 100 μL บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมสารละลาย stop solution ปริมาตร 100 μL วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader เทียบความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานของไซโทโคน [26]

4.6 การทดสอบการยับยั้ง PGE₂

เติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 100 μL จากนั้นเติมสารละลาย PGE₂-AP conjugate (Cayman, USA) ปริมาตร 50 μL และเติมสารละลาย PGE₂-AP Antibody ปริมาตร 50 μL ลงแต่ละหลุม ปิด plate แล้วนำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ครบเวลาล้างด้วย wash buffer (เจือจาง wash buffer ปริมาตร 5 mL/น้ำ deionized water ปริมาตร 95 mL จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลาย pNpp Substrate ปริมาตร 100 μL ลงแต่ละหลุม ปิด plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ต้องเขย่านาน 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย Stop solution ปริมาตร 50 μL วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader [27]

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ (Anti- Senescence cells)

5.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบร بلاสต์

เตรียมตัวอย่างสารสกัด โดยนำสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก 100 mg จากนั้นละลายตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 1 mL นำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ปริมาตร 9 mL เป็น Stock เริ่มต้น 10 mg/mL เจือจางสารละลายที่เป็น stock เริ่มต้นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ให้ได้ 7 ระดับความเข้มข้น คือ 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบร بلاสต์ (Primary Dermal Fibroblast Normal Human) (ATCC® PCS-201-012™) (American type culture collection, USA) ทดสอบด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบร بلاสต์ ที่ความเข้มข้น 2×10^5 cells/mL ปริมาตร 200 μL ใน 96-well plate บ่มเซลล์ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ที่มี CO₂ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง ครบเวลาดูดอาหารเก่าทิ้ง เติมสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 62.50-4000 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 200 μL /หลุม จากนั้นนำเซลล์ไปบ่มในตู้บ่มที่สภาวะเดิมนาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทดสอบออกแล้วเติมสารละลาย WST-1 [24] ที่เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM อัตราส่วน 1:10 ปริมาตร 100 μL ลงในแต่ละหลุม นำเซลล์กลับไปบ่มต่อในสภาวะเดิมเป็นเวลานาน 30 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 450 nm ด้วยเครื่อง Microplate Reader คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (% Cell viability) ดังสมการ ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ จะถือว่ามีความเป็นพิษหากมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 80 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

$$\text{ร้อยละของการมีชีวิต} = (\text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบ} / \text{ค่าดูดกลืนแสงของเซลล์กลุ่มควบคุม}) \times 100$$



5.2 การประเมินฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ด้วยการวัดปริมาณ Senescence-Associated β -galactosidase (SA- β -gal)

นำเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาเติมสารละลายของสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ แล้วนำกลับไปบ่มในสภาวะเดิมภายในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเหนี่ยวนำให้เซลล์แก่โดยการเพิ่มรอบอายุของเซลล์ (Passage) ให้เร็วขึ้นทุก ๆ 48 ชั่วโมง จำนวน 3 รอบ [28] เมื่อครบรอบดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 1 mL 2 ครั้ง ดูด 1 mL ของ Fixation ใส่ลงไปในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ นาน 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ล้างเซลล์ด้วย 1 mL ของ PBS จำนวน 3 ครั้ง หลังจากนั้นดูด 1 mL ของ Staining Mixture ใส่ลงใน well plate บ่มสีย้อมข้ามคืนสภาวะ 37 °C ปราศจาก CO₂ นับจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีฟ้ามากกว่า 50 เพอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ไซโทพลาสซึม อย่างน้อย 200 เซลล์ต่อกลุ่ม จากภาพ 5 สนามสุม ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่มีกล้องติดอยู่ และใช้เลนส์ขยาย 10 เท่า [29] เพื่อคำนวณหาร้อยละการติดสี SA- β -gal-positive cells จากสูตร SA- β -gal = (จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสี SA- β -gal/จำนวนเซลล์ 200) x 100 และคำนวณหา % Inhibition Senescence ดังสมการ [30]

$$\% \text{ Inhibition Senescence} = \frac{(\% \text{ การต้านเซลล์แก่ของเซลล์กลุ่มควบคุม} - \% \text{ การต้านเซลล์แก่ของเซลล์ที่ได้รับสารทดสอบ})}{\% \text{ การต้านเซลล์แก่ของเซลล์กลุ่มควบคุม}} \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองในครั้งนี้ใช้ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD (n=3) วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS Statistics version 26 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) โดยใช้สถิติการวิเคราะห์การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างตัวแปร 2 ตัว ที่เป็นอิสระต่อกัน (Independent-Sample T Test) และการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One way ANOVA) ทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ โดยวิธี Duncan's test กำหนดค่า p<0.05 จึงจะถือว่ามีความสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัย

1. ผลของการสกัดไมยราบ

ผลการสกัดไมยราบส่วนของลำต้นเหนือดินและรากด้วยวิธีการหมักในเอทานอลร้อยละ 95 เป็นเวลา 7 วัน ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลวหนืดสีเขียวจากสารสกัดส่วนของลำต้นเหนือดิน และของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้มจากสารสกัดส่วนราก เมื่อคำนวณหาปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ได้เท่ากับ 5.72 และ 4.29 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

2. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากการหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ($R^2=0.9989$) โดยมีสมการเส้นตรง ($y=3.9283+0.0156x$) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 228.021 ± 0.91 และ 372.782 ± 1.49 mg GAE/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเควิตินด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ($R^2=0.9980$) โดยมีสมการเส้นตรง ($y=12.089x-0.0874$) ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดไมยราบทั้งส่วนของลำต้นเหนือดินและรากด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบ 13.422 ± 0.21 และ 49.010 ± 0.49 mg QE/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1



ตารางที่ 1 แสดงปริมาณสารฟีนอลิกรวม ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก (Mean $\pm$ S.D., n=3)

Extract	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract)	ปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวม (mg QE/g extract)	IC ₅₀ of DPPH (μ g/mL)	IC ₅₀ of ABTS (μ g/mL)	FRAP value (mM FeSO ₄ equivalent/g extract)
ลำต้นเหนือดิน	228.021 $\pm$ 0.91 ^a	13.422 $\pm$ 0.21 ^a	8.479 $\pm$ 0.19 ^a	17.772 $\pm$ 0.62 ^a	3750.108 $\pm$ 18.17 ^a
ราก	372.782 $\pm$ 1.49 ^b	49.010 $\pm$ 0.49 ^b	5.707 $\pm$ 0.49 ^b	14.589 $\pm$ 0.25 ^b	5243.727 $\pm$ 23.27 ^b
กรดแอสคอร์บิก	-	-	2.465	-	-

หมายเหตุ: ค่าที่มีตัวอักษร a และ b แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

3. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดส่วนของรากแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดส่วนของลำต้นเหนือดิน โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 8.479 $\pm$ 0.19 และ 5.707 $\pm$ 0.49 μ g/mL ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไมยราบกับสารมาตรฐานวิตามินซี 2.47 $\pm$ 0.12 μ g/mL พบว่าสารสกัดไมยราบทั้งส่วนของลำต้นเหนือดินและรากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 1

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบไมยราบของลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธี ABTS⁺ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซี จากการสร้างกราฟมาตรฐานวิตามินซีได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของกราฟ (R²=0.9964) โดยมีสมการเส้นตรง (y=88.032x-50.631) จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีค่า VEAC Value เท่ากับ 17.772 $\pm$ 0.62 และ 14.589 $\pm$ 0.25 mg ascorbic acid equivalent/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1

ผลการศึกษาความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ด้วยวิธี FRAP assay โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของเพอร์รัสซัลเฟต จากการสร้างกราฟมาตรฐานของเพอร์รัสซัลเฟตได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (R²=0.9996) โดยมีสมการเส้นตรง (y=0.6164x-0.0629) จากการทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน เท่ากับ 3750.108 $\pm$ 18.17 และ 5243.727 $\pm$ 23.27 mM FeSO₄ equivalent/g extract ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 1

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ

4.1 ผลของการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7

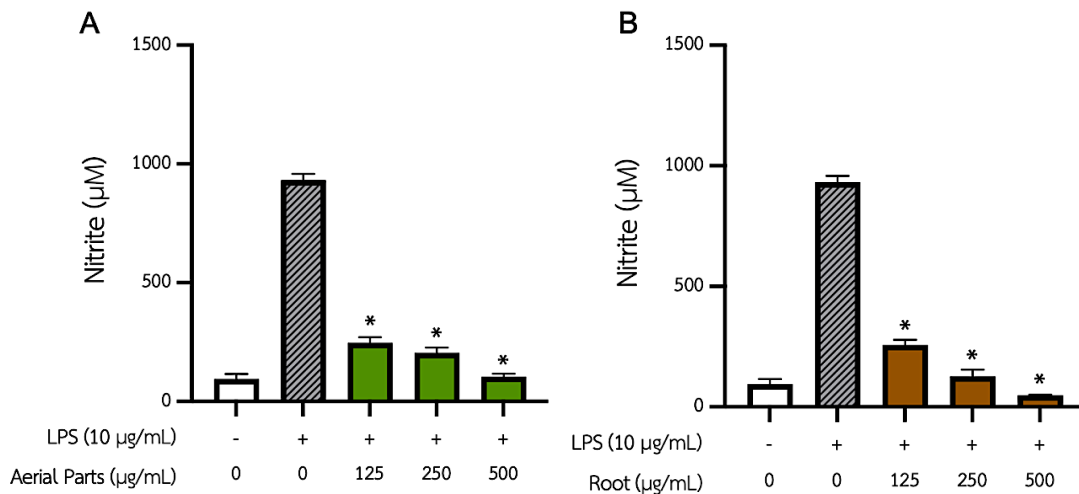
อัตราการมีชีวิตรอด (cell viability) ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ภายหลังได้รับตัวอย่างทดสอบสารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ที่ระดับความเข้มข้น 62.50, 125, 250, 500, 1000, 2000 และ 4000 μ g/mL เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยกลุ่มควบคุมหมายถึง เซลล์ปกติที่ไม่ได้รับสารทดสอบใด ๆ (คิดเป็น 100% cell viability) จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ 98.98 $\pm$ 6.32 ถึง 34.97 $\pm$ 0.89 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินที่ความเข้มข้น 125, 250, 500 μ g/mL มีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ที่ 90.74 $\pm$ 0.56, 86.20 $\pm$ 2.78 และ 84.88 $\pm$ 2.07 ตามลำดับ และสารสกัดจากรากที่ความเข้มข้น



125, 250, 500 $\mu\text{g/mL}$ มีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ที่ 91.27 ± 1.37 , 85.32 ± 1.84 และ 81.36 ± 1.26 ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้น พบว่าสารสกัดไมยราบทั้งสองส่วนมีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ จึงใช้ความเข้มข้นที่ 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ในการนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบ

4.2 ผลของการทดสอบการยับยั้ง NO

เมื่อบ่มสารทดสอบ NO ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และกระตุ้นการอักเสบด้วยสารละลาย LPS จากผลการทดสอบการสร้าง NO ด้วยวิธี Griess's reagent assay จากสารสกัดของลำต้นเหนือดินไมยราบมีค่าเท่ากับ 247.33 ± 23.63 , 204.00 ± 22.91 และ 104.00 ± 13.23 $\mu\text{M/mL}$ ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้งการสร้าง NO เท่ากับ 73.42 ± 3.24 , 78.15 ± 1.91 และ 88.83 ± 1.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากสารสกัดจากรากไมยราบมีค่าเท่ากับ 257.33 ± 20.21 , 126.50 ± 38.89 และ 46.50 ± 3.54 $\mu\text{M/mL}$ คิดเป็นอัตราการยับยั้งการสร้าง NO เท่ากับ 71.14 ± 0.66 , 87.40 ± 3.84 และ 96.06 ± 2.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งค่าอัตราการยับยั้ง NO เป็นไปในลักษณะแปรผันตามระดับของความเข้มข้น แสดงผลในภาพที่ 1 และตารางที่ 2



ภาพที่ 1 แสดงค่าร้อยละการยับยั้ง NO ของสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน (A) และราก (B) ของไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับการกระตุ้นด้วย LPS โดย * $p < 0.05$ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ LPS

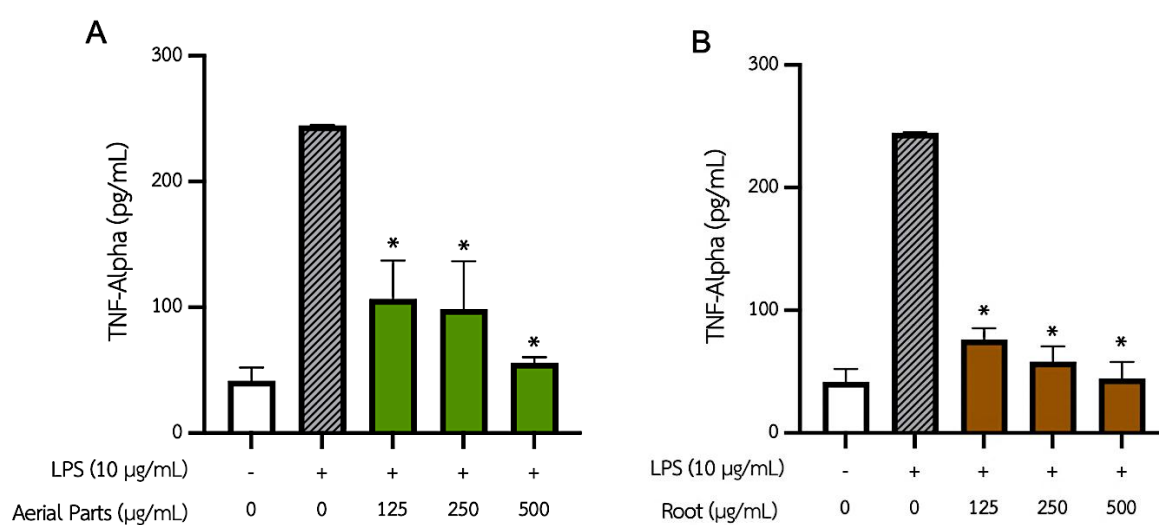
ตารางที่ 2 ความเข้มข้นและเปอร์เซ็นต์การสร้าง NO ของเซลล์ในเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 เมื่อได้รับสารสกัดไมยราบ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ด้วยวิธี Griess's reagent assay) (Mean $\pm$ S.D., n=3)

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาณ NO ($\mu\text{M/mL}$)	อัตราการยับยั้ง NO (% Inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	94.33 ± 20.82	-
กลุ่มควบคุมบวก LPS	-	932.33 ± 25.66	-
ลำต้นเหนือดิน	125	247.33 ± 23.63	73.42 ± 3.24
	250	204.00 ± 22.91	78.15 ± 1.91
	500	104.00 ± 13.23	88.83 ± 1.58
ราก	125	257.33 ± 20.21	71.14 ± 0.66
	250	126.50 ± 38.89	87.40 ± 3.84
	500	46.50 ± 3.54	96.06 ± 2.07



4.3 ผลของการทดสอบการยับยั้ง TNF-Alpha

ผลการทดสอบการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับสารสกัดหยาบไมยราบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และกระตุ้นการอักเสบด้วยสารละลาย LPS จากผลการทดสอบหาปริมาณ TNF-Alpha และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้าง TNF-Alpha (% inhibition) พบว่าสารสกัดไมยราบที่ระดับความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ในการยับยั้งสารสื่ออักเสบเมื่อเทียบกับตัวควบคุมบวกที่มีปริมาณ TNF-Alpha เท่ากับ 244.56 ± 0.66 pg/mL สารสกัดจากลำต้นเหนือดินไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีปริมาณการหลั่ง TNF-Alpha 106.56 ± 30.66 , 98.67 ± 37.87 และ 55.56 ± 4.66 pg/mL ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้ง TNF-Alpha เท่ากับ 56.43 ± 12.46 , 59.67 ± 15.37 และ 77.28 ± 1.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากรากไมยราบมีปริมาณการหลั่ง TNF-Alpha 76.01 ± 9.43 , 58.12 ± 12.50 และ 44.40 ± 15.31 pg/mL ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้ง TNF-Alpha เท่ากับ 68.92 ± 3.82 , 76.23 ± 5.08 และ 81.85 ± 5.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงผลในภาพที่ 2 และตารางที่ 3



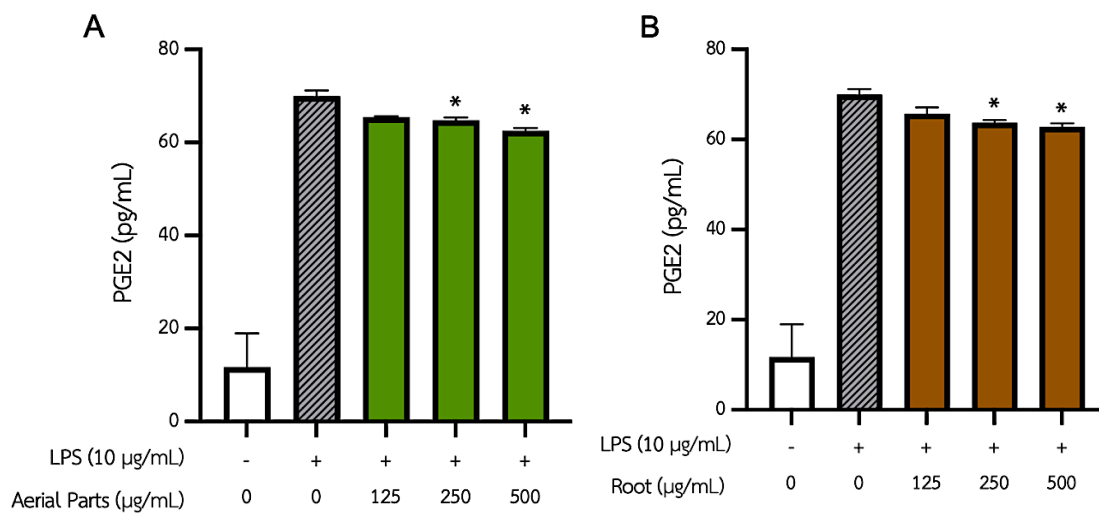
ภาพที่ 2 แสดงค่าร้อยละการยับยั้ง TNF-Alpha ของสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน (A) และราก (B) ของไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับการกระตุ้นด้วย LPS โดย * $p < 0.05$ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ LPS

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha ในเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 เมื่อได้รับสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (Mean $\pm$ S.D., $n=3$)

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาณเอนไซม์ TNF-Alpha (pg/mL)	อัตราการยับยั้ง TNF-Alpha (% Inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	41.56 ± 10.66	-
กลุ่มควบคุมบวก LPS	10	244.56 ± 0.66	-
ลำต้นเหนือดิน	125	106.56 ± 30.66	56.43 ± 12.46
	250	98.67 ± 37.87	59.67 ± 15.37
	500	55.56 ± 4.66	77.28 ± 1.87
ราก	125	76.01 ± 9.43	68.92 ± 3.82
	250	58.12 ± 12.50	76.23 ± 5.08
	500	44.40 ± 15.31	81.85 ± 5.47

4.4 ผลของการทดสอบการยับยั้ง PGE₂

ผลการทดสอบการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับสารสกัดไมยราบ 24 ชั่วโมง และกระตุ้นการอักเสบด้วยสารละลาย LPS จากผลการทดสอบ ปริมาณ PGE₂ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้าง PGE₂ (% inhibition) พบว่าสารทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL มีฤทธิ์ในการยับยั้งสารสื่ออักเสบเมื่อเทียบกับตัวควบคุมบวกที่มีปริมาณ PGE₂ เท่ากับ 69.95±1.18 pg/mL สารสกัดหยาบไมยราบจากลำต้นเหนือดินที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL มีปริมาณการหลั่ง PGE₂ 65.46±1.00, 64.74±1.18 และ 62.51±0.56 pg/mL ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการยับยั้ง PGE₂ เท่ากับ 6.39±1.82, 7.43±1.05 และ 10.61±2.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดหยาบไมยราบจากรากที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL มีปริมาณการหลั่ง PGE₂ 65.72±1.37, 63.35±1.23 และ 62.78±0.75 pg/mL คิดเป็นอัตราการยับยั้ง PGE₂ เท่ากับ 6.00±3.07 8.87±1.97 10.22±2.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงผลในภาพที่ 3 และตารางที่ 4



ภาพที่ 3 แสดงค่าร้อยละการยับยั้ง PGE₂ ของสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน (A) และราก (B) ของไมยราบที่ความเข้มข้น 125, 250 และ 500 µg/mL ต่อเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 หลังได้รับการกระตุ้นด้วย LPS โดย * p<0.05 แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ LPS

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ปริมาณ PGE₂ และการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ ในเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 เมื่อได้รับสารสกัดไมยราบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (Mean ± S.D., n=3)

ตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น (µg/mL)	ปริมาณ PGE ₂ (pg/mL)	อัตราการยับยั้ง PGE ₂ (% Inhibition)
กลุ่มควบคุม	-	11.73±7.21	-
กลุ่มควบคุมบวก LPS	10	69.95±1.18	-
ลำต้นเหนือดิน	125	65.46±1.00	6.39±1.82
	250	64.74±1.18	7.43±1.05
	500	62.51±0.56	10.61±2.27
ราก	125	65.72±1.37	6.00±3.07
	250	63.35±1.23	8.87±1.97
	500	62.78±0.75	10.22±2.33



5. ผลของการทดสอบต้านเซลล์แก่ (Anti- Senescence cells)

5.1 ผลของการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์

ผลของอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ภายหลังได้รับสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 62.50, 125, 250, 500, 1000, 2000 และ 4000 $\mu\text{g/mL}$ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยกลุ่มควบคุมหมายถึง เซลล์ปกติที่ไม่ได้รับสารทดสอบใด ๆ (คิดเป็น 100% cell viability) จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีอัตราการมีชีวิตของเซลล์ตั้งแต่ 128.74 ± 8.79 ถึง 33.15 ± 4.54 เปอร์เซ็นต์ โดยสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินที่มีความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ 108.94 ± 10.68 , 105.85 ± 8.87 และ 112.06 ± 14.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดไมยราบจากรากที่มีความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ 110.77 ± 5.30 , 111.05 ± 2.43 และ 122.89 ± 4.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้นพบว่าสารสกัดไมยราบทั้งสองส่วนมีอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แต่เนื่องจากต้องการใช้ความเข้มข้นของการทดสอบที่มีค่าความเข้มข้นเท่ากับการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ จึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่ 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ ในการนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านเซลล์แก่

5.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ (Anti- Senescence cells)

จากการทดสอบการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์บีต้ากาแลคโตซิเดส (β -galactosidase) ของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ภายหลังได้รับสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่มีความเข้มข้น 125, 250 และ 500 $\mu\text{g/mL}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มรอบอายุของเซลล์ (Passage) ทุก 48 ชั่วโมง จำนวน 3 รอบ จากผลการทดสอบการตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์ β -galactosidase และหาเปอร์เซ็นต์ด้านการเสื่อมของเซลล์ แสดงดังตารางที่ 5 พบว่าสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก มีฤทธิ์ยับยั้งการเสื่อมของเซลล์มากกว่า 50 %

ตารางที่ 5 แสดงฤทธิ์ต้านการเสื่อมของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ภายหลังได้รับสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (Mean $\pm$ S.D., n=3)

กลุ่มและตัวอย่างทดสอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	เซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ (เปอร์เซ็นต์)		เปอร์เซ็นต์ด้านการเสื่อมของเซลล์ (% Inhibition Senescence Cells)
		เซลล์ปกติ Non-Senescence Cell	เซลล์แก่ Senescence Cell	
กลุ่มควบคุม		33.40	66.59	0.00 $\pm$ 0.00
ลำต้นเหนือดิน	125	69.85	30.51	52.42 $\pm$ 13.05
	250	75.00	25.00	71.72 $\pm$ 9.58
	500	91.34	12.53	81.50 $\pm$ 5.30
ราก	125	68.05	31.95	52.03 $\pm$ 13.04
	250	72.67	27.33	57.64 $\pm$ 15.13
	500	81.48	18.52	70.00 $\pm$ 9.58

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ไมยราบเป็นพืชล้มลุกพบได้ในเขตร้อน เจริญเติบโตได้ทั้งดินเหนียวและดินทราย ทนต่อสภาพแล้งได้ดี ในประเทศไทยหม้อพื้นบ้านใช้ในการรักษาอาการเจ็บป่วยตามองค์ความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่นของแพทย์แผนไทยในการดูแลสุขภาพ เช่น การใช้ส่วนของไมยราบทั้งต้นเป็นหนึ่งในการรักษาอาการไพลามทุ่ง วิธีการใช้คือ นำมาบดเป็นผง ผสมน้ำพอกบริเวณที่มีอาการ [31] จะเห็นได้ว่าไมยราบเป็นสมุนไพรที่สามารถบรรเทาอาการอักเสบเฉพาะที่ได้ โดยผลการศึกษาฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม ฟีนอลิกรวมของสารสกัดไมยราบจากส่วนของลำต้นเหนือดินและราก ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 พบว่าสารสกัดจากรากไมยราบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ABTS assay และ FRAP assay และยังพบว่าสารสกัดเอทานอลร้อยละ 95 จากรากไมยราบมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวมที่สูงขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากขึ้น จากผลการศึกษาของ Tamilarasi T and et al. [32] ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้นของไมยราบ พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ ฟีนอล สเตอรอยด์ และฟลาโวนอยด์ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสารทั้งสามกลุ่มนี้มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดยผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ABTS⁺ assay และ FRAP assay ของสารสกัดไมยราบทั้งสองส่วน พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับผลการศึกษาของณมล เสี่ยงเล็ก [33] ที่พบว่าสารสกัดไมยราบด้วยเอทานอล มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินของไมยราบจะสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ แต่จากผลของการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากมาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดจากรากไมยราบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) จึงสรุปได้ว่าสารสกัดไมยราบทั้งส่วนของลำต้นเหนือดินและราก มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ แต่หากต้องการนำไปใช้ประโยชน์ทางยาควรใช้ส่วนของรากที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของลำต้นเหนือดิน หรืออาจใช้ทั้งห้า (ใบ, ลูก, ดอก, ลำต้น, ราก) ตามหลักการแพทย์แผนไทยในการใช้รักษาโรค

ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดไมยราบจากลำต้นเหนือดินและราก ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในการยับยั้งการผลิต NO ของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ที่กระตุ้นการอักเสบด้วย LPS ผลของการยับยั้งการสร้าง NO พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินที่ระดับความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/mL}$ และจากรากที่ระดับความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งไนตริกออกไซด์ (ตารางที่ 2) ผลการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 125 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งสารสื่ออักเสบ TNF-Alpha (ตารางที่ 3) ผลการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งสารสื่ออักเสบ PGE₂ (ตารางที่ 4) และผลการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ พบว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดินและรากที่ระดับความเข้มข้น 125 $\mu\text{g/mL}$ คือค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการต้านเซลล์แก่ (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับ Azam และคณะ [34] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดอาการบวมจากอุ้งเท้าของหนูถึง 43.48 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.001$) หลังจากได้รับสารสกัดในปริมาณ 300 mg/kg ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง สอดคล้องกับ Goli และคณะ [35] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดอาการบวมที่อุ้งเท้าหนูถึง 44.81 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) หลังได้รับสารสกัด 200 mg/kg ในระยะเวลา 4 ชั่วโมง สอดคล้องกับ Mistry และคณะ [33] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดอาการบวมที่อุ้งเท้าหนูหลังได้รับสารสกัดในปริมาณ 200 และ 400 mg/kg สอดคล้องกับ Arfiandi และคณะ [36] ที่พบว่าสารสกัดส่วนใบของไมยราบสามารถลดอาการบวมที่อุ้งเท้าหนูหลังได้รับสารสกัดในปริมาณ 1000 mg/kg การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดไมยราบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (ยับยั้ง NO, TNF-Alpha, PGE₂) และฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ โดยผลการศึกษาสารสกัดจากรากไมยราบมีความสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงกว่าสารสกัดจากลำต้นเหนือดิน ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม มีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ที่มีความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกัน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ijaz และคณะ [37] ที่พบว่าสารโพลีฟีนอลที่สกัดจากเมล็ดของไมยราบสามารถต้านอนุมูลอิสระและต้านไทโรซิเนส (Anti-Tyrosinase) ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มความชุ่มชื้นของผิว ลดอาการแดง ทำให้ผิวมีความยืดหยุ่นมากขึ้น ผลการศึกษาที่ได้จึงมี



แนวโน้มในการนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อป้องกันภาวะแก่แดด (Dermatoheliosis) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ชะลอการแก่ของผิวหนังได้

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปพัฒนาต่อยอดกระบวนการในการสกัดไมยราบ และ การใช้ประโยชน์จากลำต้นเหนือดินและรากของต้นไมยราบเกี่ยวกับฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านเซลล์แก่ แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของฤทธิ์การต้านอักเสบกับการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น Dexamethasone, Rapamycin การศึกษาในระดับโมเลกุล การศึกษาความเป็นพิษระยะยาวและผลในสัตว์ทดลอง เช่น ผลต่ออวัยวะอักเสบ (Inflammatory organ pathology) การลดการอักเสบในทางเดินหายใจ การศึกษาศักยภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในการรักษา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถอธิบายได้ตามกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ในการใช้รักษาโรคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. ประสาร สวัสดิ์ชิตัง. การตรวจวัดในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืช. กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์ จำกัด; 2561.
2. รัชชา เอื้อบุณยานนท์, สุพรรณ ปกป้อง, อจลา ชัยวิชาวาญ. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลต้นตาลโตนด. โครงการวิจัยเภสัชศาสตร์ปริญญาบัณฑิต สาขาเภสัชศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี; 2561.
3. นพวัฒน์ เพ็งคำศรี, จัตุพล กันทะมูล, ภัทราภรณ์ โด้วพัฒนกิจ, วชิรวิทย์ วงศ์ชารัฐ, วนิดา ใจหมั่น, นิภาพร เมืองจันทร์, และคณะ. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าลิ้ง. วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2554;6(3):195-201.
4. กล่าวขวัญ ศรีสุข, เอกรัฐ ศรีสุข, ณัฐกานต์ จิริมณัฐ. การประเมินศักยภาพของ 4-methoxycinnamyl 4-coumarate ที่แยกได้จากเหง้าเร่วหอมในการเป็นสารต้านอักเสบชนิดใหม่. BUUIR คลังปัญญา มหาวิทยาลัยบูรพา [อินเทอร์เน็ต]. 2562 [เข้าถึงเมื่อ 9 มี.ค. 2568]. เข้าถึงได้จาก: https://buuir.buu.ac.th/bitstream/1234567890/3905/3/2564_055.pdf
5. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature 2008;454:428–35.
6. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget 2017;9:7204-18.
7. Chen S, Liu M, Zi Y, He J, Wang L, Wu Y, et al. Rational design of near-infrared ratiometric fluorescent probes for real-time tracking of β -galactosidase in vivo. SAA 2023;285:1-8.
8. ธรรมนูญ รุ่งสังข์. ความแก่ของผิวหนัง: กลไกการเกิดระดับโมเลกุล การป้องกัน/การรักษา และสารธรรมชาติที่ใช้ในการต่อต้าน ความแก่ของผิวหนัง. บทความวิชาการ [อินเทอร์เน็ต]. 2559 [เข้าถึงเมื่อ 14 มีนาคม 2568]. เข้าถึงได้จาก: https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=195
9. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Front Pharmacol 2014;4:1-10.
10. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. Molecules 2016;21(5):1-18.
11. พรทิพย์ เต็มวิเศษ, บุชราภรณ์ ธนสีลังกูร, ธนาธิป ฉิมแพ ขวัญเรือน จันทิ. ประมวลสรรพคุณสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2555.
12. พระครูนนทประภากร. ตำรายาสมุนไพร หลวงพ่อศุข วัดมะขามเฒ่า เพิ่มตำรายาจีนแผนโบราณ. นนทบุรี: [ม.ป.ป.].



13. จิตทิพรณ ฉิมสุข. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากไมยราบต่อการควบคุมโรคแอนแทรกซ์ของมะม่วงน้ำดอกไม้ในระหว่างการเก็บรักษา. สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้ [อินเทอร์เน็ต]. 2557 [เข้าถึงเมื่อ 3 ต.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: http://webpac.library.mju.ac.th:8080/mm/fulltext/research/2558/thitiphan_chimsook_2557/fulltext.pdf
14. วิชัย โชควิวัฒน์, สุวิทย์ วิบุลผลประเสริฐ, ประพจน์ เกตุราภาศ, รัชณี จันทร์เกษ, วิชัย จันทร์กิติวัฒน์. รายงานการสาธารณสุขไทยด้านการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน และการแพทย์ทางเลือก. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจกรรมโรงพยาบาลองค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2553.
15. Mistry S, Patidar R, Vyas V, Jena J, Dutt KR. Anti-inflammatory activity of *Mimosa pudica* Linn. (Mimosaceae) Leaves: An Ethnopharmacological study. J Pharm Sci & Res 2012;4(3):1789-91.
16. Adurosakin OE, Iweala EJ, Otike JO, Dike ED, Uche ME, Owanta JI, et al. Ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological activities and toxicological effects of *Mimosa pudica* - A review. Pharmacol Res - Mod Chin Med 2023;7:1-18.
17. Sutti T. DEVELOPMENT OF ANTI-ACNE SOAP CONTAINING *MIMOSA PUDICA* L. EXTRACT. Master Degree Thesis, Naresuan University. Phitsanulok; 2021.
18. Ijaz S, Khan HMS, Anwar Z, Talbot B, Walsh JJ. HPLC profiling of *Mimosa pudica* polyphenols and their non-invasive biophysical investigations for anti-dermatoheliotic and skin reinstating potential. Biomed Pharmacother 2019;109:865-75.
19. อัจฉรา แก้วน้อย, ศุภรัตน์ ดวนใหญ่, รัตนะ รุ่งสุข, จันทนา ยะหัวฝ่าย, อ้อมบุญ วัลลิสต์, พิชาพัชร ฐิตินนอภิงษ์.ฤทธิ์ ด้านอักเสบในหลอดทดลองของสารสกัดเอทานอลจากสมุนไพรไทยที่ใช้ในตำรับยาไทยแก้ปวดและแก้ไข้. PBRU Science Journal 2567;21(2):25-37.
20. Chewchinda S, Kongkiatpaiboon S, Sithisarn P. Evaluation of Antioxidant Activities, Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Aqueous Extracts of Leaf, Stem, and Root of *Aerva lanata*. J Nat Sci 2019;18(3):345-57.
21. Sithisarn PO, Rojsanga P, Sithisarn PA, Kongkiatpaiboon S. Antioxidant Activity and Antibacterial Effects on Clinical Isolated *Streptococcus suis* and *Staphylococcus intermedius* of Extracts from Several Parts of *Cladogynos orientalis* and Their Phytochemical Screenings. Evid Based Complement Alternat Med 2015;2015(1):1-8.
22. ศุภรัตน์ ดวนใหญ่, ชารินทร์ แฉงกลาง, อัจฉรา แก้วน้อย, เพชรน้ำผึ้ง รอดโพธิ์, อาวุธ หงษ์ศิริ. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมุฏฐาน. วารสารหมอยาไทยวิจัย 2564;7(2):93-104.
23. สุชาติ มานอก, ปวีณา ลิ้มเจริญ. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. วารสารก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์ 2558;15(1):106-17.
24. Praphasawat R, Suttajit M, Charoensin S, Thongbuntho R, Kunsorn P, Jeerawut K, et al. Cytotoxicity evaluation of leaf-extract from *Moringa oleifera*, *Cratoxylum formosum*, and *Mangifera indica*. Naresuan Phayao Journal 2016;9(2):5-8.
25. Junlatat J, Nusawat S, Sangprapai W, Chaweerak S. Antioxidative and anti-inflammatory effects of Thai traditional topical herbal recipe for osteoarthritis of knee. Naresuan Phayao Journal 2022;15(1):11-22.



26. Hseu YC, Wu FY, Wu JJ, Chen JY, Chang WH, Lu FJ, Lai YC, Yang HL. Anti-inflammatory potential of *Antrodia Camphorata* through inhibition of iNOS, COX-2 and cytokines via the NF-kappaB pathway. *International Immunopharmacology* 2005;5:1914-25.
27. Jaengklang C, Muangmanb T, Pathtubtimb I, Jaroennon P. Development of Dosage form of Ya Kae Fok Buam Mueai Khop, a Thai Traditional Formula, and Its Phytochemical Contents and Anti-inflammatory Activity. *JFHB* 2024;17(2):33-43.
28. Geng YQ, Guan JT, Xu XH, Fu YC. Senescence-associated beta-galactosidase activity expression in aging hippocampal neurons. *BBRC* 2010;396(4):866-9.
29. Hooten NN, Evans M. Techniques to Induce and Quantify Cellular Senescence. *Visualized Experiments* 2017;123:1-14.
30. สีนสุตา เดชสุภา, วีรศักดิ์ สิงหนัดกิจ, วรวรรณ ลิ้มทองกุล, วิชาญ ยิ่งศักดิ์มงคล, ธันว์ อธิพานิชพงศ์. การเปลี่ยนแปลงความยาวเทโลเมียร์ และจำนวนชุดไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอจากเซลล์ชั้นเอ็นในโรครังไข่กระดูกสันหลังส่วนเอวตีบแคบ : กรณีศึกษานำร่อง. *Chulalongkorn Medical* 2560;61(4):407-509.
31. สุพรรณิกา สมคุณ, บดินทร์ ขาตะเวท, วัฒนาภรณ์ สมนึก, ชญาภาณต์ ปาโต, ณัฐนิชา สุษะ. การศึกษาภูมิปัญญาหมอพื้นบ้านไทยในการรักษาโรคเลือดโรคลม: กรณีศึกษาหมอฉันทน์ สิทธิพล อำเภอท้ายเหมือง จังหวัดพังงา. *J Thai Trad Alt Med* 2565;20(3):551-64.
32. Tamilarasi T, Ananthi T. Phytochemical Analysis and Anti Microbial Activity of *Mimosa pudica* Linn. *J Chem Sci* 2012;2(2):72-4.
33. นฤมล เสี่ยงเล็ก. ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสมบัติในการเป็นสารต้านเชื้อราของสารสกัดเอทานอลของไมยราบ. *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่; 2557.*
34. Azam S, Huda AF, Shams K, Ansari P, Mohamed MK, Hasan MM, et al. Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Study of Ethanolic Extract of *Mimosa pudica*. *Young Pharmacists* 2015;7(3):234-40.
35. Goli V, Bhaskar V, Macharla SP, Bhaskar J, Devi PS, Ramchander T. Effects of Anti-Inflammatory Activity of *Mimosa pudica*. *Asian Pharma Press* 2011;1(3):69-71.
36. Arfiandi A, Nofita D, Fadrija N. ANTIINFLAMMATORY EFFECTS OF ETHANOL EXTRACT LEAVES OF PUTRI MALU (*Mimosa pudica* Linn). *JPS* 2022;5(2):274-8.
37. Ijaz S, Khan HMS, Anwar Z, Talbot B, Walsh JJ. HPLC profiling of *Mimosa pudica* polyphenols and their non-invasive biophysical investigations for anti-dermatoheliotic and skin reinstating potential. *Biomed Pharmacother* 2019;109:865-75.



Optimization and characterization of synthesis of silver nanoparticles from *Manihot esculenta* Crantz L. petiole and leaf aqueous extracts and its antibacterial activity

Bung-on Prajanban¹, Sirilak Kamonwannasit², Santi Phosi³, Agarat Kamcharoen^{2*}

¹Division of Agricultural Innovation, Faculty of Agricultural Technology, Burapha University Sakaeo Campus, Sa Kaeo 27160

²Division of Agro-Industrial Product Development, Faculty of Agricultural Technology, Burapha University Sakaeo Campus, Sa Kaeo 27610

³Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University, Chonburi 20131

*Corresponding author: agratk@bua.ac.th

Received: 18 December 2024/ Revised: 12 April 2025/ Accepted: 18 April 2025

Abstract

The objective of this study was to investigate the structure and antibacterial activity of silver nanoparticles (AgNPs) synthesized from the petioles and leaves of *Manihot esculenta* Crantz L. using hot water extraction (PMH and LMH extract, respectively). Optimal synthesis of AgNPs was criticized from UV-vis absorption spectra. For AgNPs synthesized from PMH extract (AgPMH), the synthesis was carried out by addition of 2 mg/mL of the PMH extract pH 12.0 with 4 mM silver nitrate solution in a 2:8 (v/v) ratio at a temperature of 60 °C for 120 min. For AgNPs synthesized from LMH extract (AgLMH), the synthesis was carried by the addition 2 mg/mL of LMH extract pH 10.0 with 4 mM silver nitrate solution in 2:8 (v/v) ratio at temperature 80 °C for 120 min. The change of Fourier-transform infrared (FTIR) spectra indicated that the AgNPs of both extracts were synthesized. Transmission electron microscopy (TEM) analysis revealed that the synthesized nanoparticles were within 15.27 to 95.58 nm in size for AgPMH and 3.98 to 23.23 nm for AgLMH. X-ray diffraction (XRD) results showed that nanoparticle formed were crystalline with face centered cubic geometry. Both synthesized AgNPs did not show activity against *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*.

Keywords: *Manihot esculenta* Crantz L., Silver nanoparticles, Green synthesis, Hot water extraction

Introduction

There are a lot of methods for the synthesis of silver nanoparticles such as chemical and green synthesis. Compared to chemical methods, the green synthesis is an inexpensive, eco-friendly, easier alternative approach and less hazardous. The chemical method requires external stabilizer agent to protect nanoparticles from aggregation and reducing agents to reduce Ag^+ to Ag^0 to synthesize silver nanoparticles such as sodium borohydrate and sodium citrate. Plant extracts can act as both reducing and stabilizing



agents for metal nanoparticles [1]. Generally, organic substances in plant such as primary and secondary metabolites are able to reduce metal ions into nanoparticles and stabilize those of synthesized particles [2]. However, the properties of metallic nanoparticles synthesized through green methods are significantly influenced by the specific part of the plant utilized, because of the diverse phytochemical compositions' present [3]. Numerous variables including the concentration, pH, duration of incubation, and temperature of the plant extract effected to the formation of metal ions into nanoparticles and to regulate their size have documented [4].

Silver nanoparticles (AgNPs) have demonstrated highly antibacterial action against multiple Gram-positive and Gram-negative bacteria [5]. The stability of the product formed is a significant factor in the final antibacterial activity, along with the size and charge of the nanoparticles [6]. The bactericidal and bacteriostatic capacity of nanoparticles between 5 and 100 nm was evaluated against Gram-negative and Gram-positive bacteria [7]. The electrostatic attraction between AgNPs and negatively charged bacterial cells is crucial to their antibacterial effectiveness, and it is controlled by both AgNPs' and microorganisms' charges [8]. If AgNPs are unstable, they will tend to aggregate and form larger particles leading to lower antibacterial activity [6]. Interestingly, the highest uptake and translocation of silver (Ag) was observed in leaf extract [9], which has shown an antimicrobial activity. Ajitha et al. [10] prepared AgNPs using *Plectranthus amboinicus* leaf extract. The morphology of the nanoparticles showed the formation of nearly spherical nanoparticles which showed effective antibacterial capacity against *Escherichia coli* and *Penicillium* spp. The biosynthesis of AgNPs was conducted using the leaf extract of plant *Protium serratum*. The potential antibacterial activity of AgNPs (size 74.56 ± 0.46 nm) was studied against the food borne pathogens such as *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* and *Bacillus subtilis* [11]. The leaf aqueous extract of *Jatropha curcas* was used for the synthesis of AgNPs. The TEM analysis clearly showed variation in particle shape and size (20–50nm). While majority of the nanoparticles were spherical, some showed irregular shapes and edges. Which showed against *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella enterica* [12].

Manihot esculenta Crantz L. also called cassava is an economic crop of in Thailand. The leaf is not well known to serve as a major source of vegetable. Thus, it is often discarded as waste after harvesting the tubers [13]. Cassava leaves contain phytochemicals such as alkaloids [14], flavonoids [14-16], phenolic compounds [14, 16], tannins [14] and saponins [14] that may have the capability of capping and reducing the nanoparticles [17] for towards a potential commercial scale. Cassava leaves have the ability to against *S. epidermidis* and *Propionibacterium acnes* [15]. Velayutham et al. [18] reported that AgNPs synthesis using leaf aqueous extract of cassava against two important mosquito species, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. However, there has never been a report on the synthesis of AgNPs from cassava leaves for inhibiting bacteria. The objective of this work was to investigate the structure-activity relationship of green-synthesized AgNPs, derived from the petiole (PMH) and leaves (LMH) of *Manihot esculenta* Crantz L. through hot water extraction, with respect to their antibacterial properties.

Materials and Methods

1. Preparation of *Manihot esculenta* Crantz L.

Manihot esculenta Crantz L. Leaves were collected from agricultural lands at Huai Jot Subdistrict in Wattana Nakorn District, Sa Kaeo Province. A young and mature leaf was selected in each tree from cassava aged between 10 and 12 months in October to December 2023.

Petiole and leaf were separated and washed several times in water to remove dirt. These were cut into small pieces and then dried using a hot air oven at 50°C for 2 days. The dried pieces were mashed. Petiole and leaf were extracted by distilled water at 80°C for 1 h. The extraction liquid parts were filtrated, concentrated, and kept at 4°C. The extract from hot water extraction was called petiole of *M. esculenta* hot water extract (PMH) and leaf of *M. esculenta* hot water extract (LMH).

2. Synthesis of silver nanoparticles

Optimization of silver nanoparticles (AgNPs) production under different reaction conditions includes variations in pH (pH 5-12), silver nitrate concentrations (0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mM), extract concentrations (0.25, 0.5, 1.0 and 2 mg/ml), ratios of extract and silver nitrate (1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 and 9:1 v/v), temperature (40, 50, 60, 70 and 80°C) and time interval (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 360 and 480 min), respectively. While optimizing each parameter, the other parameters remain stable. All reactions were conducted in a dark environment to prevent the photoactivation of the mixture. Each experiment was carried out at least in triplicate. The AgNPs synthesis was monitored by recording UV-vis spectra (λ 300 - 600 nm) using a NanoDrop 2000 C spectrophotometer (Thermo Fischer, USA).

The AgNPs was isolated from the optimized mixture as follows. The obtained reaction mixture was centrifuged at 10,000 $\times$ g for 15 min. The pellet was purified using deionized water and washed repeatedly to ensure better separation of free entities from the AgNPs. The obtained AgNPs were lyophilized and used for further characterization and its antibacterial activity.

3. Characterization of AgNPs

Fourier transform infrared spectroscopy (Bruker Tensor 27 FT-IR spectrometer) spectra of the AgNPs were recorded in the diffuse reflectance mode at a resolution of 4 particles cm^{-1} , then were analyzed with Optical User Software (OPUS) 7.5 (Bruker Optics Ltd, Ettlingen, Germany). XRD analysis of AgNPs was carried out by EMPYREAN model, PANalytical instrument (45 kV, 40 mA) using $\text{CuK}\alpha$ radiation with λ of 1.5406 Å and a nickel monochromator filtering wave operating at a tube voltage of 45 kV and a tube current of 40 mA. The scanning was performed in the 2θ range of 5°– 90° at step size 0.02 degree with a time constant of 30 s/step. Moreover, the morphologies, crystalline natures, and size distributions of the AgNPs were determined using Transmission electron microscopy (TEM) and Image J program. The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation.

4. The disc diffusion method

The antimicrobial susceptibility of AgNPs was evaluated using the disc diffusion. This method was performed in Mueller Hinton Agar (MHA). Silver nanoparticles of 800 $\mu\text{g/mL}$ and the extract (PMH or LMH) of 10 mg/mL were filtered with a 0.2 μM syringe filter. Ten microliters of AgNPs and extracts were dropped



onto the sterile dish, and was placed on *E. coli* and *B. cereus* cultured agar plate, were then incubated for 24 h at 37°C and inhibition zone was monitored.

Results and Discussion

The change in the color of reaction mixture to dark brown after mixing a plant extract and silver nitrate is a general characteristic of silver nanoparticle biosynthesis [19]. The formation of AgNPs was observed using UV–visible spectroscopy. Figure 1a–f and Figure 2a–f shows the absorption spectra in the AgNPs synthesized under different reaction parameters such as pH, silver nitrate concentrations (AgNO_3), extract concentrations, ratios of extract and silver nitrate, temperature, and time of PMH extract and LMH extract, respectively. The first factor considered was pH; variations of pH 5–12 mixed with the extract at concentration of 1 mg/mL and silver nitrate concentration of 2 mM in a 1:1 ratio was incubated at room temperature for 1 h. The pH of the solution primarily affects the surface charge of phytochemical functional groups [20] of PMH and LMH extract. At acidic pH did not show the characteristic peak for the AgNPs synthesis using both PMH and LMH extracts. The alkaline pH 11–12 has exhibited peak for the AgNPs synthesis from PMH extract (AgPMH). The maximum absorption was determined at pH 12 as shown in Figure 1a, AgNPs in colloidal solutions display maximum absorption in the λ 350–500 nm range. The alkaline pH 8–12 has exhibited peak for the AgNPs synthesis from LMH extract (AgLMH). The maximum absorption was determined at pH 10 as shown in Figure 2a, AgNPs display maximum absorption in the λ 350–475 nm range. AgNPs synthesis occurs only at strongly alkaline conditions may be due to deposition of hydroxides on AgNPs [21]. The second factor considered was concentration of silver nitrate, the PMH concentration of 1 mg/mL at pH 12 or the LMH concentration of 1 mg/mL at pH 10 mixed with various AgNO_3 concentrations in a 1:1 ratio incubated at room temperature for 1 h. The peak absorbance persistently increased with increase in concentrations from 0.5 to 4.0 mM, representing the parallel relationship with the metal ion concentration of the AgPMH and AgLMH (Figure 1b and Figure 2b). Liaqat et al. [22] reported that the optimum concentration of AgNO_3 was 1mM because the shifting of the surface plasmon resonance (SPR) peaks of AgNPs at a high concentration of AgNO_3 (2 mM) indicated this was unsuitable for the synthesis of AgNPs. The UV spectrum exhibits the highest peak at an AgNO_3 concentration of 6 mM, indicating optimal synthesis conditions. Moreover, an increase in Ag^+ does not alter the position of the SPR peak within a concentration range of 4–8 mM AgNO_3 [23]. In addition, the position and width of the peaks also change, indicating that the higher AgNO_3 concentration does affect the size and morphology of AgNPs. For this reason, AgNO_3 concentration of 4 mM was selected to further study.

The third factor to evaluate the effect of plant extract concentrations (0.25–2 mg/mL) was mixed with 4 mM AgNO_3 at a pH of 12 for PMH or at a pH of 10 for LMH in a 1:1 ratio and room temperature for 1 h. The increase in the concentration of the leaf extract will also increase the absorbance intensity. This result may be due to an increase the number of bio-compounds requiring to reduce Ag^+ to Ag^0 [23]. The intensities of absorbance maximums increased with an increase in the concentrations of extract from 0.25 to 2.0 mg/mL of PMH (Figure 1c), and from 1.0 to 2.0 mg/mL of LMH (Figure 2c). We got a maximum yield and decreased width of the peaks with 2.0 mg/mL of both PMH and LMH extract concentrations.

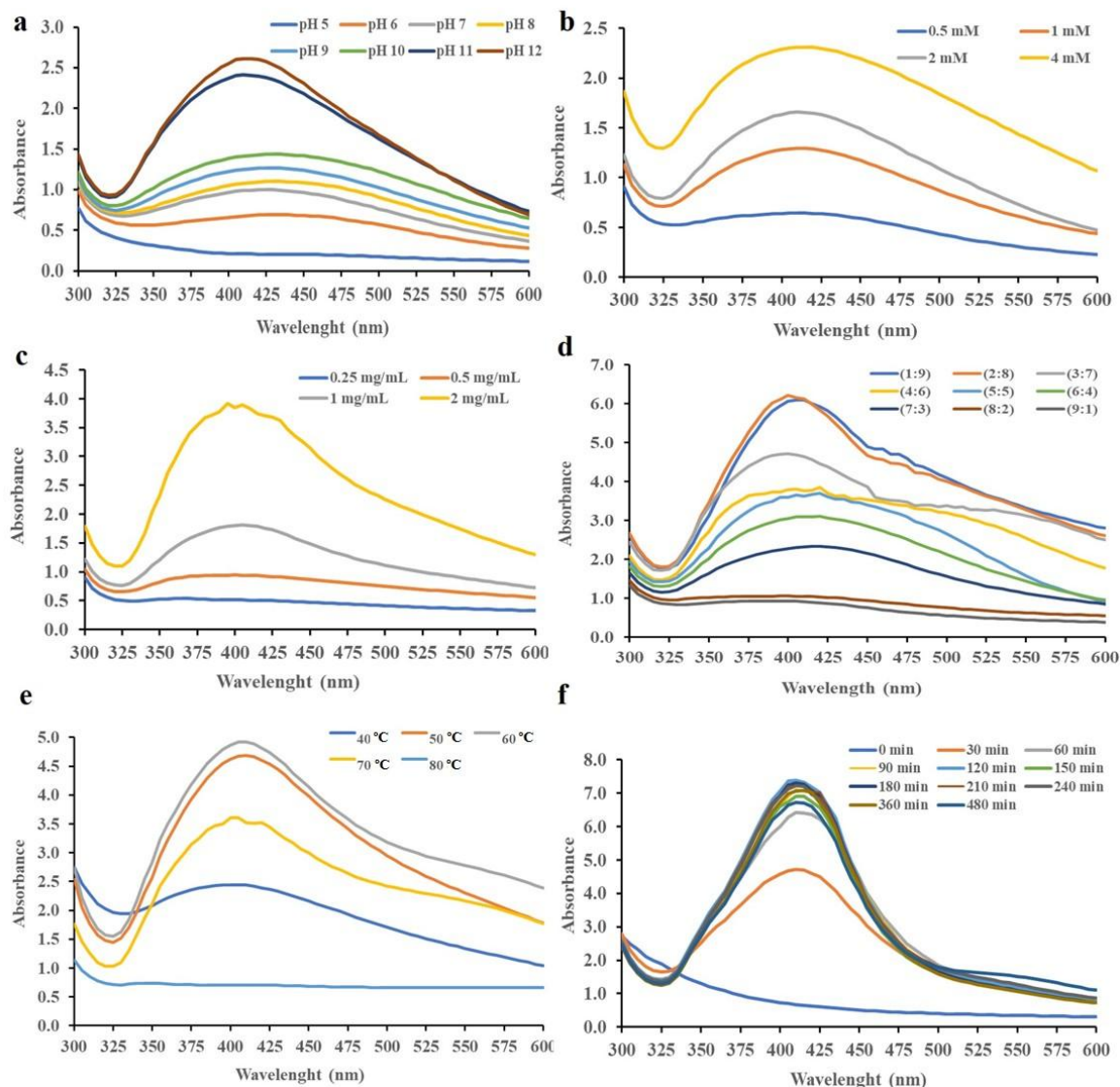


Figure 1 UV-vis absorption spectra of optimizing parameters to produce AgNPs with different pHs (a), concentrations of silver nitrate (AgNO_3) (b), concentrations of PMH (c), ratios of extract and silver nitrate (d), temperature (e) and time (f).

The fourth factor was the ratio of the extract concentrations of 2.0 mg/mL (pH 12 of PMH, pH 10 of LMH) and 4 mM AgNO_3 with different ratios and incubated at room temperature for 1 h. Which was altered to investigate the optimum composition to maximize of the AgNPs. In general, intensities of absorbance increased with in extract from 10 to 50%, whereas absorbance decreased with a decrease in extract from 60 to 10% [24]. For the PMH extract, the highest absorbance with a comparatively narrow peak was observed when both reactants were used in 2:8 (v/v) ratio (Figure 1 d). However, for the LMH extract, the highest absorbance with a comparatively broad peak was observed when both reactants were used in 2:8 (v/v) ratio (Figure 2 d). Ali et al. [24] reported that the highest absorbance with a comparatively narrow peak was observed when both reactants were used in 1:1 (v/v) ratio of plant extract and AgNO_3 . The shapes of the absorption peaks remain changed for AgNPs using PMH and LMH synthesis, indicating that the reaction ratio of plant extract with AgNO_3 does affect the size and morphology of AgNPs.



The fifth factor was various temperature. Both of 2 mg/mL of PMH at pH 12 and 2 mg/mL of LMH at pH 10 were mixed with 2 mM AgNO_3 in a 2:8 ratio at different temperatures for 1 h. The peaks were found in the range of 350–475 nm for AgNPs synthesized at 40–70°C using PMH extract. The highest absorbance peak was observed when temperature was used in 60°C (Figure 1e). The rise in temperature not only decreased the absorbance but also shifted the λ_{max} [23]. Under identical conditions, a temperature of 40–60°C yields decreased a more intense peak than synthesis at room temperature, suggesting the generation of a smaller amount of AgNPs. However, a temperature of 40–60°C shown smoot peak more than synthesis at room temperature. Ni et al. [20] reported a temperature of 90°C yields a more intense SPR peak than synthesis at room temperature, suggesting the generation of a larger amount of AgNPs. By the way, peaks were found in the range of 350–475 nm for silver nanoparticles synthesized at 40–80°C using LMH extract. The highest absorbance peak was observed when temperature was used in 80°C (Figure 2e).

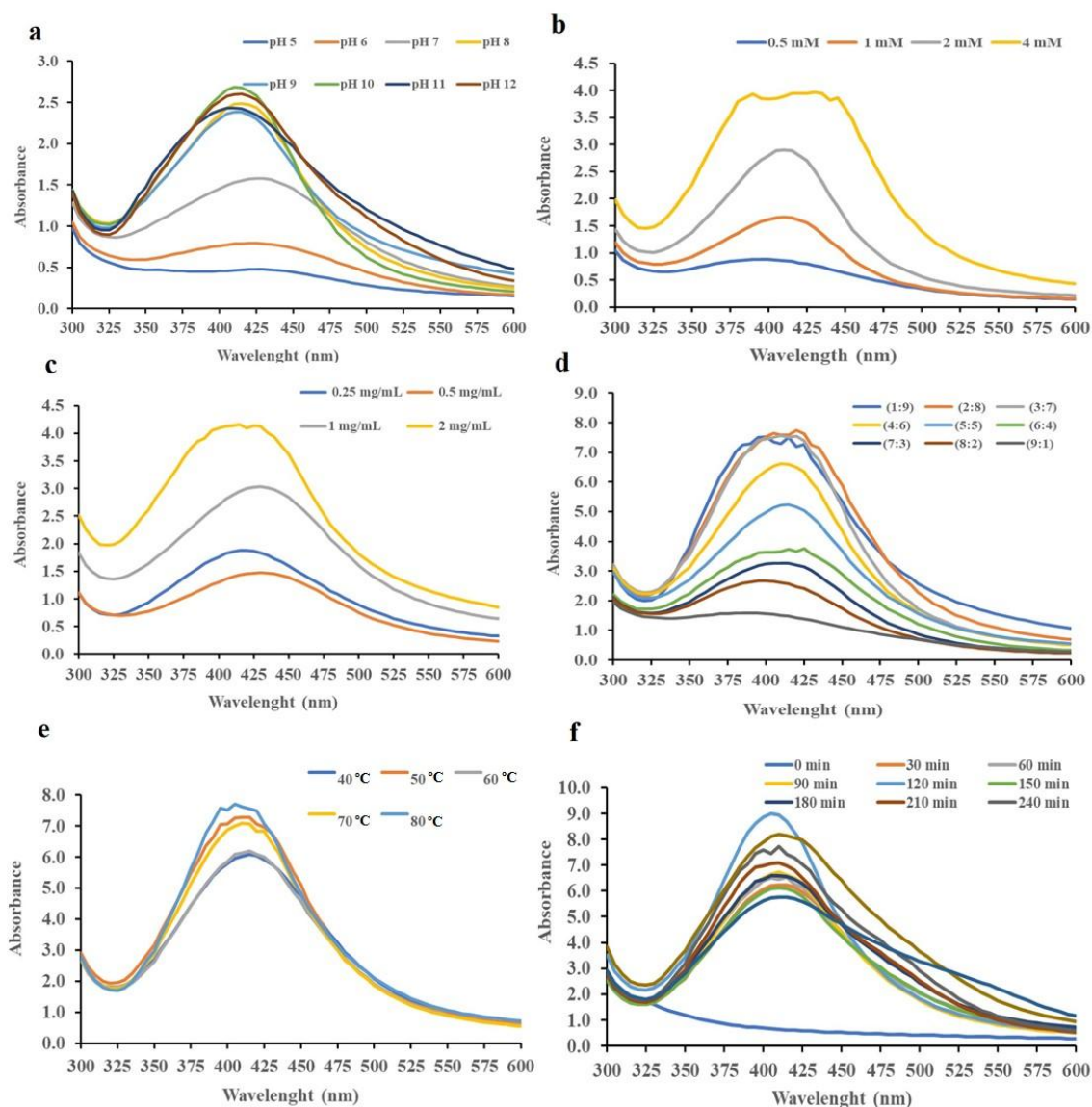


Figure 2 UV-vis absorption spectra of optimizing parameters to produce AgNPs with different pHs (a), concentration of silver nitrate (AgNO_3) (b), concentration of LMH (c), ratios of extract and silver nitrate (d), temperature (e) and time (f).

Increase in temperature from 25°C to 75°C resulted in an increase in the absorbance, indicating an increased synthesis rate of AgNPs [23]. Under identical conditions, a temperature of 80°C yields a similar synthesis at room temperature but a narrower peak than synthesis at room temperature. The position and width of the peaks also change, indicating that the temperature does affect the size and morphology of AgNPs. The sixth factor was the time required for the completion of the reaction: 2 mg/mL of PMH pH 12 or LMH pH 10 mixed with 4 mM AgNO₃ in a 2:8 ratio incubated at 60°C for PMH and at 80°C for LMH with different times.

As the duration of reaction increases, more silver nanoparticles are formed within 30 min and it continued turning darker with time. Time-course analysis of UV-vis data of plant extract:AgNO₃ (1:1 v/v) mixture showed accumulation of AgNPs within an hour of the reaction start time [23]. The results shown in Figure 1f and Figure 2f demonstrate that the synthesis of AgNPs is completed within 120 min. With increasing reaction time, the nucleation of NPs occurs at a slower rate. The shapes of the absorption peaks remain unchanged for AgNPs using PMH synthesis, indicating that the reaction time does not affect the size and morphology of AgNPs that correlated with previously reported [20]. However, the shapes of the absorption peaks remain changed for AgNPs using LMH synthesis, indicating that the reaction time does affect the size and morphology of AgNPs.

FTIR spectra of AgNO₃, PMH extract, LMH extract and synthesized AgNPs are shown in Figure 3. In AgNO₃, the peaks are observed at 808, 1034, 1280 and 1624 cm⁻¹. In PMH extract, the peaks are observed at 920, 989, 1047, 1407 and 1594 cm⁻¹. After reaction with AgNO₃, the peaks are shifted, such as 992, 1350 and 1559 cm⁻¹. In LMH extract, the peaks are observed at 1032, 1392 and 1599 cm⁻¹. After reaction with AgNO₃, the peaks are shifted, such as 1047, 1375 and 1579 cm⁻¹, respectively. The FTIR spectra of PMH and LMH extract shows the peaks at 1047 and 1032 cm⁻¹, respectively. These correspond to the position of sapogenin linked with oligosaccharides, consistent with the presence of saponin compounds as components in the extract. The FTIR spectra of saponin shows the peaks at 1076 cm⁻¹ (C-O-C stretching of glycoside linkage of oligosaccharide to sapogenin) [25]. Oligosaccharide linkage absorptions to sapogenins (C-O-C) were at 1074 cm⁻¹ and between 1045 cm⁻¹ to 1046 cm⁻¹. This result was similar with previous works, the C-O-C absorbance was observed at ~1034.78 cm⁻¹ and 1033.22 cm⁻¹ in the water extracts of *Sapindus rarak* and *Litsea glutinosa*, respectively [26]. In addition, In PMH extract, the peaks are observed at 920, 989, 1047, 1407 and 1594 cm⁻¹ while the LMH extract the peaks are observed at 1032, 1392, and 1599 cm⁻¹. These results may be due to the vibration of polysaccharide compounds in the PMH and LMH extracts, which are the absorption regions of polysaccharides: region II in the range of 1800–1500 cm⁻¹, region III in the range of 1500–1200 cm⁻¹, and region IV in the range of 1200–800 cm⁻¹ [27]. Therefore, when synthesized into AgNPs, the peaks are similar to the extract samples and resemble the AgNO₃.

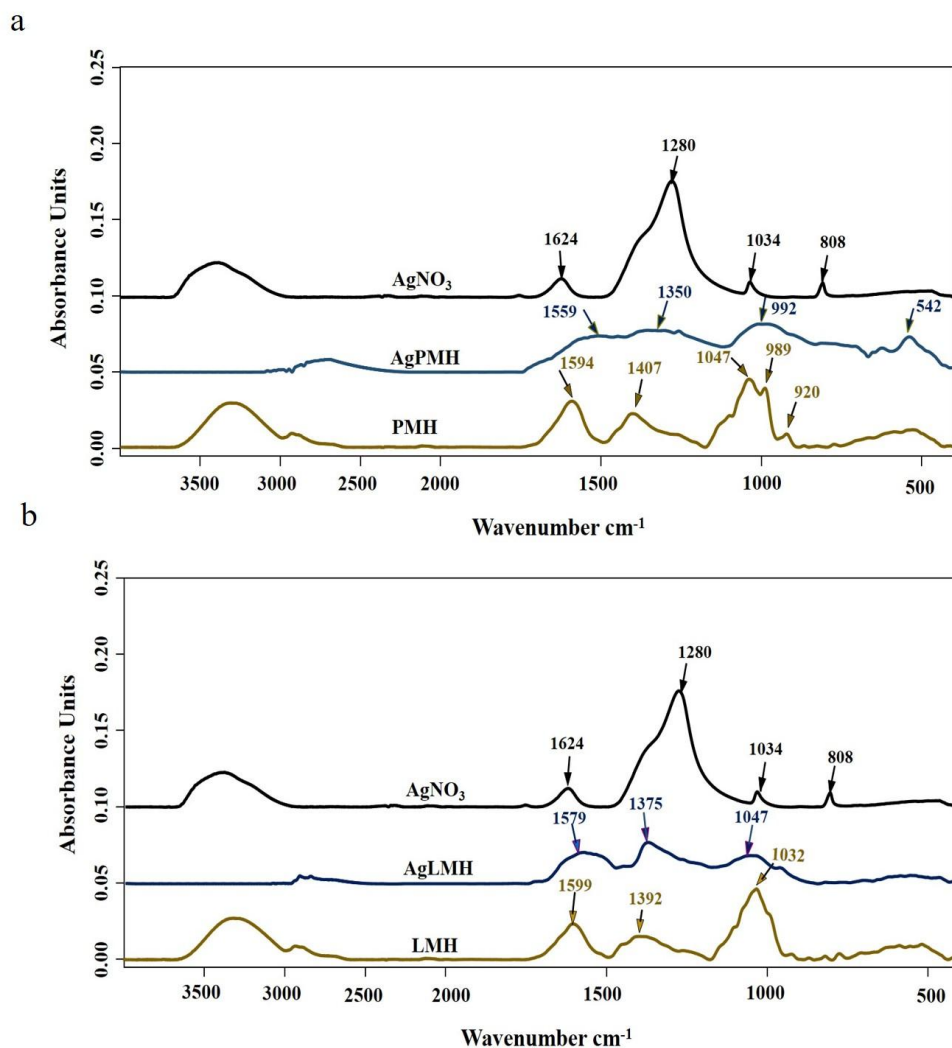


Figure 3 FTIR spectra of AgNO_3 , PMH extract and AgPMH synthesized at optimum parameters (a), LMH extract and AgLMH synthesized at optimum parameters (b).

The sizes and shapes of AgNPs were analyzed using TEM. The shape of AgPMH was spherical and oval-like spherical with an average size of 15.27–95.58 nm (40.46 ± 13.49 nm) with aggregation (Figure 4). The shape of the AgLMH was in spherical and oval like spherical with an average size of 3.98–23.23 nm (10.16 ± 2.8 nm) with little aggregation (Figure 5). The diameters of AgNPs produced by *M. esculenta* ranged from 13 to 38 nm, with an average of 23.0 nm [28]. The higher content of OH^- species in the basic condition may facilitate the deprotonation of $-\text{COOH}$ groups to $-\text{COO}^-$, allowing the adsorption of Ag^+ ions by electrostatic attraction or affinity interaction [29]. Basic pH generally formed AgNPs with smaller and narrower size distribution [29]. As a result, the formation of AgLMH will most likely occur in more small size and distribution than AgPMH. Nevertheless, the increasing particle size and narrower size distribution was proportionally affected by the increasing pH since the pattern observed was fluctuating in AgPMH. Small spherical particles are obtained at high pH values. However, in certain experimental scenarios described in the literature, higher pH levels have resulted in size growth, particle aggregation, and reduced synthesis rates of AgNPs [30]. The size of the synthesized silver particles increases with the rising concentration of AgNO_3 .

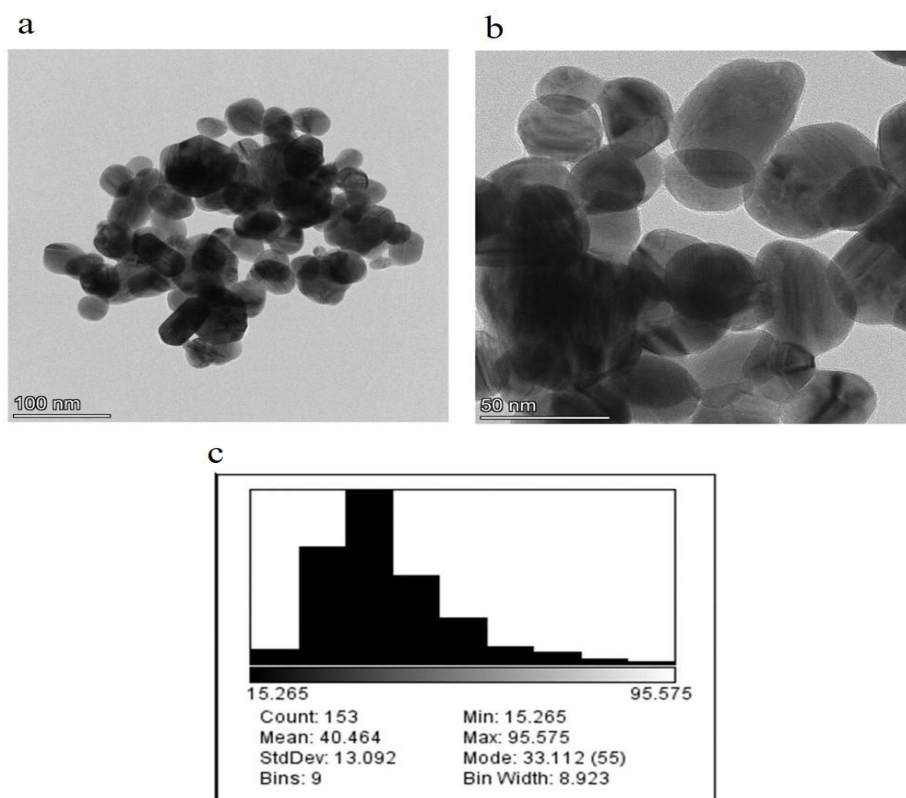


Figure 4 Transmission electron microscopy (TEM) images of AgNPs synthesized with PMH extract, at 100 nm (a), 50 nm (b) and particle distribution size (c).

The variation of AgNO_3 concentration (0.5, 1, 2, 4, 6, 8, and 10 mM) were investigated to synthesize AgNPs with using aqueous leaf extract of *Ziziphus spina-Christi*, indicates an increase in the size of particles (25-42 nm) as confirmed by TEM [31]. In addition, the plant extract concentration used also plays important role in the conversion of Ag^+ to Ag^0 . This deviation in particle size clearly suggests that at higher plant extract concentration, there is more presence of reducing agents present in the extract compared to reactant which tends to increase the particle size upon longer exposure duration [32]. In our study, it was used in a 2:8 (v/v) ratio of the extract concentration 2.0 mg/mL and silver nitrate concentration 4 mM. This suggests that small amounts of the extract can reduce silver ions, but do not protect most of the quasi-spherical nanoparticles from aggregation because of the deficiency of biomolecules to act as protecting agents. However, the biomolecules function as reducing agents and cap the nanoparticle surfaces at higher extract concentrations, preventing them from aggregation [33]. Moreover, a change in particle size was observed when higher concentrated AgNO_3 was used [34-35]. An average particle size of 33 nm at 50°C, 29 nm at 70°C, and 26 nm at 90°C, particle sizes was decreased with increasing temperature [36]. The TEM results indicate that the samples obtained over a longer period retained a narrower particle size distribution; the average size of all prepared Ag-NPs was less than 20 nm [37].

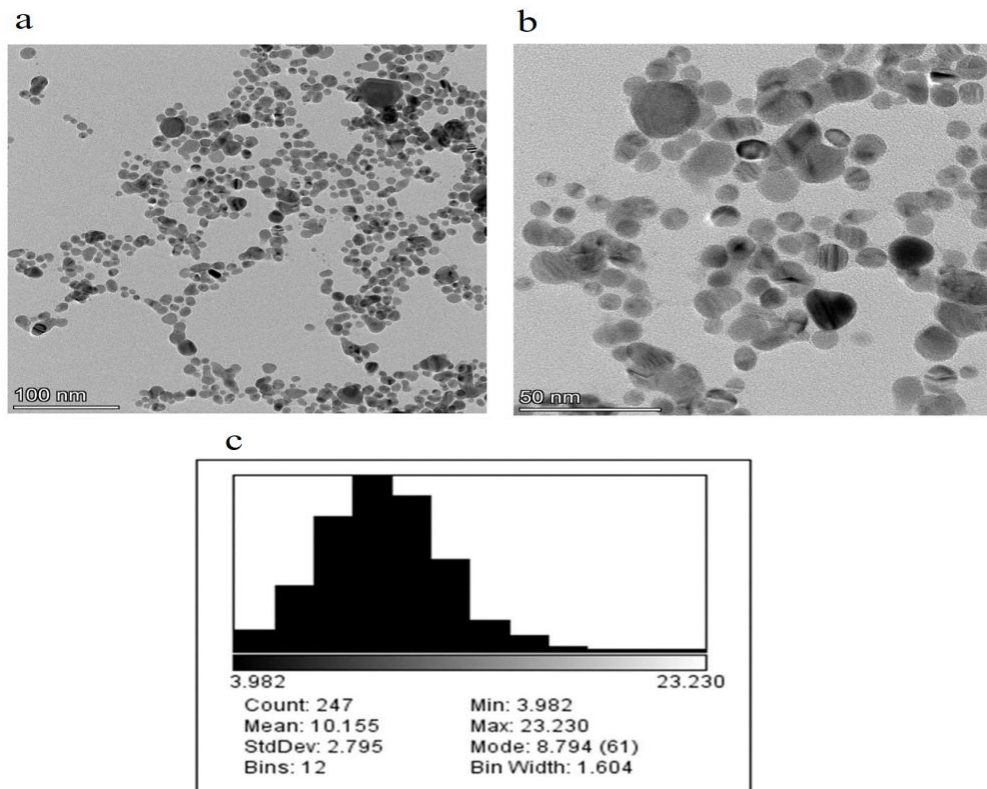


Figure 5 Transmission electron microscopy (TEM) images of AgNPs synthesized with LMH extract, at 100 nm (a), 50 nm (b) and particle distribution size (c).

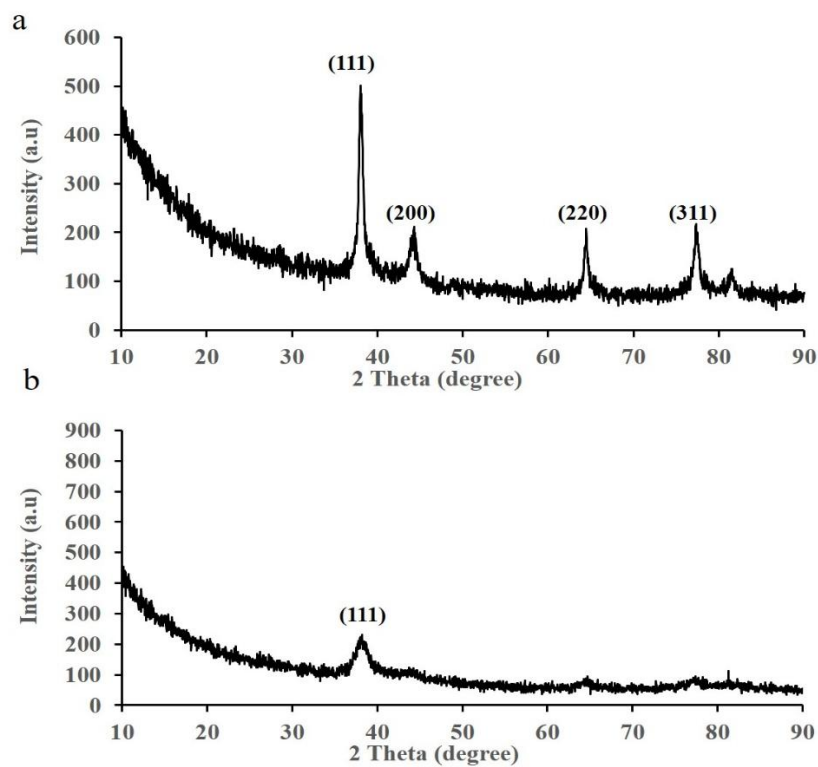


Figure 6 XRD patterns of the AgNPs synthesized at optimum parameters of PMH extract (a) and LMH extract (b).

Figure 6 shows the XRD pattern of silver nanoparticles. Figure 6a is apparent that characteristic diffraction peaks at (111), (200), (220) and (311) in 2θ corresponds to lattices of (38.03°), (44.28°), (65.33°) and (77.31°), respectively. These peaks and planes of reflections are matched with the ICDD (International Centre for Diffraction Data) PDF (Powder Diffraction File) 04-0783 for Ag [35]. A similar result was observed by Anandalakshmi et al. [23], who identified crystalline peaks 38.11, 44.22, 64.45 and 77.40 corresponding to the (111), (200), (220) and (311) planes, respectively. The typical pattern of green-synthesized AgNPs is found to possess a face-centered cubic (FCC) structure [23]. Figure 6b is apparent that characteristic diffraction peaks at (111) in 2θ corresponds to lattices of (38.21°). Raja et al. [38] reported that the XRD patterns of tannin-silver nanoparticles show a sharp peak at 38°, which corresponds to the peak at (111) of the cubic silver structures within experimental error. Due to the product's low silver nanoparticle concentration, only one or two peaks are visible [38].

AgNPs, PMH and LMH extracts have been shown to be not effective against *E. coli* and *B. cereus* (Figure 7). On the other hand, fresh and dried (*M. esculenta*) leaf extract was added with varying concentrations of 5%, 10%, 20% and 30% ethanol. These extracts have shown to be effective against *E. coli* [39]. AgNPs synthesized using *M. esculenta*, can act as an antibacterial agent against *E. coli* and *B. cereus* [28]. The antibacterial activity was significantly reliant on size, relation attributed to the larger surface area of the smaller nanoparticles, available to direct contact with the bacterial cell [7]. If the synthesized AgNPs have low stability, they will tend to aggregate and form bigger particles, and as has been shown, nanoparticles with bigger sizes have lower antibacterial activity [6]. AgNPs were synthesized from the leaf extract of Ginkgo biloba, exhibited a spherical morphology, uniform dispersion, and diameter ranging from ~8 to 9 nm which against both Gram-positive and Gram-negative strains at low AgNP concentrations [20].

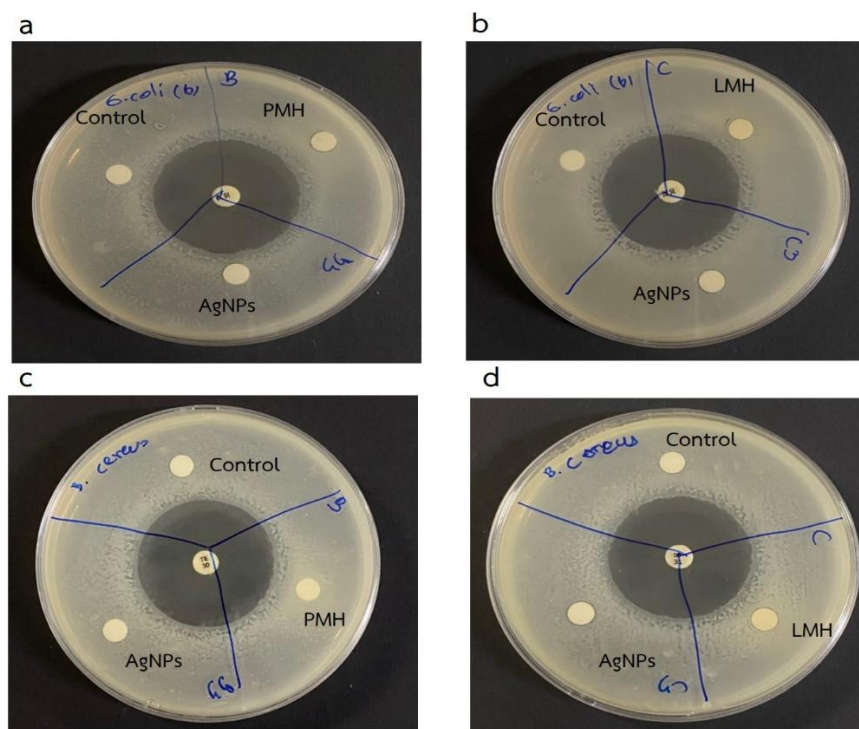


Figure 7 Zones of inhibition of AgNPs, PMH and LMH extracts against *E. coli* (a and b) and *B. cereus* (c and d).



Thus, AgNPs was synthesized from using PMH and LMH not effective against *E. coli* and *B. cereus* should be a cause of used high pH, high concentration of AgNO₃, high concentration of PMH, ratio of extract with AgNO₃ temperature and time leading to increased particle sizes and not uniform dispersion unavailable to contact with the bacterial cell.

Conclusion

In our study, the method for biological synthesis of silver nanoparticles by *M. esculenta* petiole and leaf aqueous extracts was established. AgNPs synthesized from PMH extract (AgPMH) was carried out by the addition of 2 mg/mL of the petiole extract pH 12.0 with 4 mM silver nitrate solution in a 2:8 (v/v) ratio at a temperature of 60 °C for 120 min. For AgNPs synthesized from LMH (AgLMH) extract, synthesis was carried by the addition 2 mg/mL of leaf extract pH 10.0 with 4 mM silver nitrate solution in 2:8 (v/v) ratio at temperature 80 °C for 120 min. The change of FTIR spectra indicated that the silver nanoparticles of both PMH and LMH were synthesized. TEM analysis revealed that the synthesized nanoparticles were within 15.27 to 95.58 nm in size for AgPMH with aggregation, and 3.98 to 23.23 nm for AgLMH with little aggregation. XRD results showed that nanoparticles formed crystalline with face centered cubic geometry. This result demonstrated that the silver nanoparticles obtained by extracts not effective against *E. coli* and *B. cereus*. This biogenic process of synthesis AgNPs by using PMH and LMH extracts will be helpful for adjusting methodologies for increase stability advantageous in against microorganisms. Moreover, another biological function should be further studied. That will develop AgNPs for biomedical applications and the food industry.

Acknowledgements

This work was financially supported by (i) Burapha University (BUU), (ii) Thailand Science Research and Innovation (TSRI), and (iii) National Science Research and Innovation Fund (NSRF) (Fundamental Fund: Grant no.53/2566). Thank you for Faculty of Agricultural Technology, Burapha University Sakaeo Campus and Faculty of Engineering, Burapha University, Chonburi, for instrumental facility.

References

1. Jalab J, Abdelwahed W, Kitaz A, Al-Kayali, R. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Acacia cyanophylla* and its antibacterial activity. *Heliyon*, 2021;7(9):e08033.
2. Miranda A, Akpobolokemi T, Chung E, Ren G, Raimi-Abraham BT. pH alteration in plant mediated green synthesis and its resultant impact on antimicrobial properties of silver nanoparticles (AgNPs). *Antibiotics (Basel)* 2022;11(11):1592.
3. Silva LP, Reis IG, Bonatto CC. Green synthesis of metal nanoparticles by plants: current trends and challenges. In *green processes for nanotechnology*; Springer: New York, NY, USA; 2015:259–75.
4. Patra JK, Baek KH. Green nanobiotechnology: factors affecting synthesis and characterization techniques. *J Nanomater* 2014;2014(1):417305.



5. Cavassin ED, de Figueiredo LFP, Otoch JP, Seckler MM, de Oliveira RA, Franco FF, Marangoni VS, Zucolotto V, Levin ASS, Costa SF. Comparison of methods to detect the in vitro activity of silver nanoparticles (AgNP) against multidrug resistant bacteria. *J Nanobiotechnol* 2015;13:1–16.
6. Chen J, Li S, Luo J, Wang R, Ding W. Enhancement of the antibacterial activity of silver nanoparticles against phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum* by stabilization. *J Nanomater* 2016;2016(1):7135852.
7. Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *RSC Adv* 2014;4:3974–83.
8. Abbaszadegan A, Ghahramani Y, Gholami A, Hemmateenejad B, Dorostkar S, Nabavizadeh M, Sharghi H. The effect of charge at the surface of silver nanoparticles on antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria: A Preliminary Study. *J Nanomater* 2015;2015:720654.
9. Marchiol L, Mattiello A, Pošćić F, Giordano C, Musetti R. In Vivo synthesis of nanomaterials in plants-location of silver nanoparticles and plant metabolism. *Nanoscale Res Lett* 2014;9:101.
10. Ajitha B, Ashok Kumar Reddy Y, Sreedhara Reddy P. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Plectranthus amboinicus* leaf extract and its antimicrobial activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2014;128:257-62.
11. Mohanta YK, Panda SK, Bastia AK, Mohanta TK. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Protium serratum* and investigation of their potential impacts on food safety and control. *Front Microbiol* 2017;8:626.
12. Chauhan N, Tyagi AK, Kumar P, Malik A. Antibacterial potential of *Jatropha curcas* synthesized silver nanoparticles against food borne pathogens. *Front Microbiol* 2016;7:1748.
13. Essien ER, Atasie VN, Okefor AO, Nwude DO. Biogenic synthesis of magnesium oxide nanoparticles using *Manihot esculenta* (Crantz) leaf extract. *Int Nano Lett* 2020;10(1):43-48.
14. Appiah H, Falah S, Dewi, LK. Effect of boiled cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) on total phenolic, flavonoid and its antioxidant activity. *Curr Biochem* 2016;3(3):116-27.
15. Mustarichie R, Sulistyaningsih S, Runadi D. Antibacterial activity test of extracts and fractions of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) against clinical isolates *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes* causing acne. *Int J Microbiol* 2020;19:75904.
16. Quartey E, Amoatey H, Achoribo E, Owusu-Ansah M, Nunekpeku W, Donkor S, Ofori ESKE. Phytochemical constituents and antioxidant activities in leaves of 14 breeding lines of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Am J Exp Agric* 2016;12(5):1-10.
17. Tesfaye M, Gonfa Y, Tadesse G, Temesgen T, Periyasamy S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Vernonia amygdalina* plant extract and its antimicrobial activities. *Heliyon*, 2023;9(6):e17356.
18. Velayutham K, Ramanibai R, Umadevi M. Green synthesis of silver nanoparticles using *Manihot esculenta* leaves against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *J Basic Appl Zool* 2016;74:37-40.
19. Velu M, Lee JH, Chang WS, Lovanh N, Park YJ, Jayanthi P, Palanivel V, Oh BT. Fabrication, optimization, and characterization of noble silver nanoparticles from sugarcane leaf (*Saccharum officinarum*) extract for antifungal application. *3 Biotech* 2017;7(2):147.



20. Ni Q, Zhu T, Wang W, Guo D, Li Y, Chen T, Zhang, X. Green synthesis of narrow-size silver nanoparticles using *Ginkgo biloba* leaves: condition optimization, characterization, and antibacterial and cytotoxic activities. *Int J Mol Sci* 2024;25(3):1913.
21. Maria BS, Devadiga A, Kodialbail VS, Saidutta MB. Synthesis of silver nanoparticles using medicinal *Zizyphus xylopyrus* bark extract. *Appl Nanosci* 2015;5:755–62.
22. Liaqat N, Jahan N, Khalil-Ur-Rahman, Anwar T, Qureshi H. Green synthesized silver nanoparticles: Optimization, characterization, antimicrobial activity, and cytotoxicity study by hemolysis assay. *Front Chem* 2022;10:952006.
23. Anandalakshmi K, Venugobal J, Ramasamy VJAN. Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Pedaliium murex* leaf extract and their antibacterial activity. *Appl Nanosci* 2016;6:399-408.
24. Ali M, Kim B, Belfield KD, Norman D, Brennan M, Ali GS. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Artemisia absinthium* aqueous extract-A comprehensive study. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2016;58:359-65.
25. Bajad PN, Pardeshi AB, Pagore VP. Extraction, isolation and quantification of saponin from *Dodonaea viscosa* JACQ. *Pharma Innovation* 2019;8(5):41-4.
26. Wisetkomolmat J, Suksathan R, Puangpradab R, Kunasakdakul K, Jantanasakulwong K, Rachtanapun P, Sommano SR. Natural surfactant saponin from tissue of *Litsea glutinosa* and its alternative sustainable production. *Plants* 2020;9(11):1521.
27. Hong T, Yin JY, Nie SP, Xie MY. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. *Food Chem X* 2021;12:100168.
28. Syafiuddin A, Salmiati, Hadibarata T, Salim MR, Kueh ABH, Sari AA. A purely green synthesis of silver nanoparticles using *Carica papaya*, *Manihot esculenta*, and *Morinda citrifolia*: synthesis and antibacterial evaluations. *Bioprocess Biosyst Eng* 2017;40(9):1349-1361.
29. Miranda A, Akpobolokemi T, Chung E, Ren G, Raimi-Abraham, BT. pH alteration in plant-mediated green synthesis and its resultant impact on antimicrobial properties of silver nanoparticles (AgNPs). *Antibiotics (Basel)* 2022;11(11):1592.
30. Nahar K, Rahaman MH, Khan GM, Islam M, Al-Reza, S. Green synthesis of silver nanoparticles from *Citrus sinensis* peel extract and its antibacterial potential. *Asian J Green Chem.* 2020;5:135–150.
31. Bamsaoud SF, Basuliman MM, Bin-Hameed EA, Balakhm SM, Alkalali AS. The effect of volume and concentration of AgNO₃ aqueous solutions on silver nanoparticles synthesized using *Zizyphus Spina-Christi* leaf extract and their antibacterial activity. *Phys Conf Ser* 2021;1900:012005
32. Mankad M. Patil G, Patel D, Patel P, Patel A. Comparative studies of sunlight mediated green synthesis of silver nanoparaticles from *Azadirachta indica* leaf extract and its antibacterial effect on *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Arab J Chem* 2020;13(1):2865-2872.
33. Khalil MM, Ismail EH, El-Baghdady KZ, Mohamed D. Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arub J Chem* 2014;7(6):1131-9.



34. Htwe YZN, Chow WS, Suda Y, Mariatti M. Effect of silver nitrate concentration on the production of silver nanoparticles by green method. *Mater Today: Pro* 2019;17(3):568-73.
35. Rathinavel S, Saravanakumar SS. Synthesis of silver nanoparticles through orange peel powder for antibacterial composite filler applications. *J Polym Environ* 2022;1-8.
36. Mamdooh NW, Naeem GA. The effect of temperature on green synthesis of silver nanoparticles. *AIP Conf Proc* 2022;2450.
37. Darroudi M, Ahmad MB, Zamiri R, Zak AK, Abdullah AH, Ibrahim NA. Time-dependent effect in green synthesis of silver nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 2011;677-81.
38. Raja PB, Rahim AA, Qureshi AK, Awang K. Green synthesis of silver nanoparticles using tannins. *Mater Sci-Pol* 2014 Sep;32:408-13.
39. Cruz ALD, Buendia NJL, Condes RBJ. Antibacterial activity of cassava *Manihot esculenta* leaves extract against *Escherichia coli*. *Am J Environ Sci* 2022;1(2):23-30.



การย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมัก

Degradation of PBAT plastics during the composting process

สุทธยศ ยิ้มพูลทรัพย์

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา พระนครศรีอยุธยา 13000

Suttayot Yimpoolsap

Division of Environmental Science, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University,

Phranakhon Si Ayutthaya 13000

Corresponding author: s.yimpoolsap@gmail.com

Received: 10 January 2025/ Revised: 25 April 2025/ Accepted: 28 April 2025

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการย่อยสลายพลาสติก polybutylene adipate-co-terephthalate (PBAT) ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักมูลโคผสมร่วมกับขุยมะพร้าว ผลการศึกษาพบว่าพลาสติก PBAT สามารถย่อยสลายได้ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักที่มีสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) และความชื้นเริ่มต้นเฉลี่ย 26.24% และ 62.27% ตามลำดับ ที่ระยะเวลาในการหมัก 42 วัน โดยชุดทดลองที่ 1 (P) และชุดทดลองที่ 2 (P+EM) มีน้ำหนักของพลาสติก PBAT ที่สูญหายไปในช่วงกระบวนการหมัก 17.10% และ 19.12% ตามลำดับ โดยการย่อยสลายพลาสติก PBAT เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 0 – 7 ของการศึกษา และมีแนวโน้มการย่อยสลายในอัตราที่คงที่ในช่วงวันที่ 7 – 42 ของการศึกษา ซึ่งในช่วงวันที่ 7 – 42 ชุดทดลองที่ 2 (P+EM) ย่อยสลาย (%) 0.2695/วัน สูงกว่าชุดทดลองที่ 1 (P) ที่ย่อยสลาย (%) 0.1954/วัน นอกจากนี้ยังพบว่าปุ๋ยหมักที่ได้จากการทดสอบการย่อยสลายพลาสติก PBAT ทั้งสองชุดการทดลองมีค่า pH, ไนโตรเจนทั้งหมด (TKN), โปแตสเซียมทั้งหมด (Total K) และดัชนีการงอกของเมล็ด (ข้าวพันธุ์ กข.81 และถั่วเขียว) อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร

คำสำคัญ: การย่อยสลายทางชีวภาพ พลาสติก PBAT ปุ๋ยหมัก

Abstract

The study investigated to the degradation of polybutylene adipate terephthalate (PBAT) during the composting process with cow manure and coconut coir. The results showed that PBAT was degradable during the composting process given the carbon to nitrogen ratio (C/N ratio) and the average initial moisture content of 26.24 and 62.27 percent, respectively and the fermentation period was 42 days. The experiment 1 (P) and experiment 2 (P + EM) have 17.10 and 19.12 percent of the weight of PBAT lost during the fermentation process, respectively. PBAT degraded rapidly during days 0 – 7 of the study and tended to degrade at a constant rate during days 7 – 42 of the study. The experiment 2 (P + EM) had a degradation

rate of 0.2695 % per day, higher than the experimental 1 (P), which had a degradation rate of 0.1954 % per day. Both sets of experiments had pH, total nitrogen (TKN), Total Potassium (Total K) and the germination index (such as 81 Rice RD and mung bean) was within the organic fertilizer standards of the Department of Agriculture.

Keywords: Biodegradation, PBAT plastic, Composting

บทนำ

ปี พ.ศ. 2566 ประเทศไทยมีขยะมูลฝอยประมาณ 26.95 ล้านตัน หรือประมาณ 73,840 ตันต่อวัน (เฉลี่ย 1.12 กิโลกรัมต่อคนต่อวัน) ซึ่งปริมาณขยะมูลฝอยเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2565 ประมาณร้อยละ 5 เนื่องจากปี พ.ศ. 2566 ที่ผ่านมามีประเทศไทยได้กลับเข้าสู่ภาวะปกติหลังจากสถานการณ์แพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 และได้เปิดประเทศเพื่อรองรับนักท่องเที่ยว แรงงาน และการลงทุน ซึ่งเป็นการกระตุ้นเศรษฐกิจ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการผลิตและการบริโภคของประชาชนที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างมาก โดยเฉพาะพฤติกรรมการสั่งสินค้าและอาหารออนไลน์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้มีปริมาณขยะพลาสติกเพิ่มขึ้น อีกทั้งร้านค้าและร้านสะดวกซื้อหลักของประเทศได้ผ่อนคลายมาตรการการใช้พลาสติกประเภทใช้ครั้งเดียวทำให้ปริมาณขยะพลาสติกเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก [1]

ปัจจุบันการใช้พลาสติกที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณขยะพลาสติกเพิ่มขึ้นเป็นเงาตามตัว แต่เนื่องจากพลาสติกมีคุณสมบัติที่ยากต่อการสลายตัวและเสื่อมสภาพ ทำให้ขยะมูลฝอยประเภทพลาสติกคงอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นานและก่อปัญหาสิ่งแวดล้อมตามมา ซึ่งอาจปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหารหรือเป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ พลาสติกเมื่อหมดอายุการใช้งานจะแตกออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ และอาจปนเปื้อนในดินและแหล่งน้ำ หากมีการเผาจะทำให้เกิดควันพิษในอากาศหรือ CO₂ ที่เป็นสาเหตุของปัญหาโลกร้อน [2] ดังนั้นภาครัฐควรรณรงค์เพื่อลดปริมาณขยะพลาสติก โดยส่งเสริมกลไกการคัดแยกขยะพลาสติกเพื่อนำกลับมาใช้ให้มากที่สุด และเร่งกำจัดขยะพลาสติกที่ตกค้างสะสมในสถานที่กำจัดขยะ รวมถึงสนับสนุนการแปรรูปเป็นเชื้อเพลิงขยะ (Refuse Derived Fuel: RDF) หรือมีนโยบายร่วมกับผู้ประกอบการ ร้านสะดวกซื้อ ห้างสรรพสินค้าต่าง ๆ เลิกแจกถุงพลาสติกให้แถมลูกค้า [3] รวมทั้งการสนับสนุนให้มีการนำพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพมาใช้ทดแทนพลาสติกทางการค้าทั่วไป ตามที่รัฐบาลให้ความสำคัญกับการเร่งรัดพัฒนาประเทศด้วยการใช้โมเดลทางเศรษฐกิจชีวภาพ เศรษฐกิจหมุนเวียน และเศรษฐกิจสีเขียว (Bio-Circular-Green Economy: BCG) ซึ่งเป็นการพัฒนา 3 เศรษฐกิจ ได้แก่ เศรษฐกิจชีวภาพ (Bio Economy) เศรษฐกิจหมุนเวียน (Circular Economy) และเศรษฐกิจสีเขียว (Green Economy) โดยพลาสติกชีวภาพ (Bioplastic) เช่น Polylactic acid (PLA), Polybutylene adipate terephthalate (PBAT), Polybutylene succinate (PBS), Polyhydroxyalkanoates (PHAs) เป็นต้น เป็นสินค้า/ผลิตภัณฑ์เป้าหมายในการพัฒนา [4]

การนำพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพมาใช้ทดแทนพลาสติกทางการค้าทั่วไปเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อม เพราะพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพส่วนใหญ่ผลิตจากแหล่งวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด น้ำตาล เป็นต้น ด้วยกระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ ซึ่งได้ออกแบบมาให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ทำให้สมบัติต่าง ๆ ของพลาสติกเปลี่ยนแปลงไป พลาสติกชีวภาพสามารถแบ่งประเภทได้ตามสารตั้งต้นหรือวัตถุดิบที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิต ได้แก่ พลาสติกชีวภาพที่ผลิตด้วยชีวมวลพืชและสัตว์ พลาสติกชีวภาพที่ผลิตโดยใช้จุลินทรีย์ เช่น PHAs, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) เป็นต้น และพลาสติกชีวภาพที่ผลิตจากกระบวนการเคมีโดยเปลี่ยนน้ำตาลจากแป้งพืชเป็นกรดแลคติก เช่น PLA [5] ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เช่น แคปซูลบรรจุยา บรรจุภัณฑ์สำหรับอาหาร บรรจุภัณฑ์ทั่วไป กระถางต้นไม้ ส่วนประกอบของคอมพิวเตอร์ เป็นต้น [6] ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเป็นลักษณะเด่นของพลาสติกชีวภาพคือ มาจากธรรมชาติ ไม่เป็นพิษ ย่อยสลายได้โดยการฝังกลบ และสามารถหาใหม่ทดแทนได้ นอกจากนี้งานวิจัยของปานิศา ศิริบุรณย์ [7] ยังพบว่า PLA สามารถย่อยสลายได้เมื่อหมักร่วมกับเศษอาหารในสภาวะมีและไร้ออกซิเจนในช่วงเวลา 90 วัน ซึ่ง PLA เกิดการสูญเสียน้ำหนักในปริมาณและ

ความเร็วใกล้เคียงกันทั้งสองสภาวะ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยสลาย (K) ของสภาวะมีและไร้ออกซิเจนเท่ากับ 0.0006 และ 0.0007 ต่อสัปดาห์ตามลำดับ ซึ่งต่างจากพลาสติกที่มีแหล่งกำเนิดจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี นอกจากพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่มาจากสิ่งมีชีวิตแล้วยังมีพลาสติกที่ได้จากการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันของมอนอเมอร์ฐานปิโตรเลียมซึ่งสามารถแตกหรือย่อยสลายได้ทางชีวภาพ เช่น PBAT เป็นต้น [8]

PBAT เป็นพลาสติกที่ได้จากผลิตภัณฑ์ปิโตรเคมีแต่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีหมู่ฟังก์ชันเอสเทอร์และวงอะโรมาติกเป็นองค์ประกอบบนสายโซ่หลัก (Synthetic aliphatic-aromatic polyester) ทำให้มีความแข็งแรง เหนียว ขึ้นรูปได้ง่าย และมีความยืดหยุ่น มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene: LDPE) ในปัจจุบันนิยมนำ PBAT มาประยุกต์ใช้งานในด้านต่าง ๆ [9] แต่ต้นทุนการผลิต PBAT และพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพอื่น ๆ มีต้นทุนในการผลิตที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตพลาสติกสังเคราะห์ที่ได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี อย่างไรก็ตามการใช้พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพถือได้ว่าเป็นวัสดุที่เหมาะสมและควรนำมาใช้แทนพลาสติกทางการค้าที่นิยมใช้กันอยู่ทั่วไป นอกจากนี้พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพเมื่อถูกฝังกลบลงในดินแล้วสามารถย่อยสลายได้จนหมดภายในเวลา 6 – 12 เดือน นอกจากนี้การใช้พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพในอุตสาหกรรมส่งออกจะส่งผลให้ช่วยลดอุปสรรคในแง่ของการกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศที่สหภาพยุโรป (EU) ได้มีมาตรการปฏิเสธบรรจุภัณฑ์จากพลาสติกปิโตรเคมีได้ [10]

อย่างไรก็ตามการส่งเสริมการใช้พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จำเป็นต้องมีมาตรการในการจัดการขยะที่เกิดขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งขยะพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพประเภทใช้ครั้งเดียวทิ้ง หากมีปริมาณสะสมหรือตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นจำนวนมากจะก่อให้เกิดผลกระทบไม่ต่างจากขยะอินทรีย์ทั่วไป อาจเป็นสาเหตุของพาหะนำโรค รวมถึงเป็นแหล่งเกิดก๊าซเรือนกระจก ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมัก และศึกษาคุณภาพของปุ๋ยหมักที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายพลาสติก PBAT เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดระยะเวลาในการย่อยพลาสติก PBAT ในกองปุ๋ยหมัก และแนวทางจัดการพลาสติก PBAT ประเภทใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้งต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมปุ๋ยหมัก

การเตรียมปุ๋ยหมักที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1.1 วัสดุชีวภาพสำหรับทำปุ๋ยหมักที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุชีวภาพสำหรับทำปุ๋ยหมักที่ใช้ในการศึกษานี้ ประกอบไปด้วยมูลโคนม ขุยมะพร้าว และถุงพลาสติก PBAT มูลโคนมและขุยมะพร้าวซื้อจากร้านขายสินค้าทางการเกษตรภายในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ส่วนพลาสติกพิจารณาใช้ถุงพลาสติก PBAT สั่งซื้อจากบริษัท ไบโอ-อีโค จำกัด ถุงพลาสติก PBAT ดังกล่าวได้รับการรับรองว่าเป็นวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้หมดภายในระยะเวลา 12 เดือน ดังภาพที่ 1 โดยก่อนการหมักวัสดุชีวภาพ นำมูลโคนมและขุยมะพร้าวไปตากให้แห้งในที่ร่มเป็นเวลา 7 วัน เพื่อลดความชื้น หลังจากนั้นนำมูลโคนมและขุยมะพร้าวมาผสมกันให้มีน้ำหนักรวม 3 kg ประกอบด้วย มูลโคนม 2.6 kg และขุยมะพร้าว 0.4 kg



ภาพที่ 1 ถุงพลาสติก PBAT



1.2 การผสมวัสดุชีวภาพในการทำปุ๋ยหมักที่ใช้ในการศึกษา

การผสมวัสดุชีวภาพในการทำปุ๋ยหมักที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 ชุดทดลอง ได้แก่ ชุดทดลองที่ 1) ผสมมูลโคนมและขุยมะพร้าวร่วมกับพลาสติก PBAT (P) และชุดทดลองที่ 2) ผสมมูลโคนม ขุยมะพร้าว และน้ำหมักชีวภาพ EM ร่วมกับพลาสติก PBAT (P+EM) หมักวัสดุชีวภาพในแต่ละชุดทดลองเป็นเวลา 42 วัน กำหนดการกลับกองปุ๋ยทุก ๆ 4 วัน [11] โดยมีรายละเอียดและขั้นตอนดังต่อไปนี้

ชุดทดลองที่ 1) ผสมมูลโคนมและขุยมะพร้าวร่วมกับพลาสติก PBAT (P)

1) ตัดถุงพลาสติก PBAT ให้มีขนาด 2×2 cm จำนวนรวม 1 g แล้วนำมาผสมให้เข้ากันกับมูลโคนมและขุยมะพร้าว
2) เติมน้ำกลั่นลงไป 4,500 ml แล้วบรรจุวัสดุหมักและพลาสติก PBAT ลงในถุงกระสอบขนาด 16×20 นิ้ว โดยทำทั้งหมดจำนวน 18 ถุง ดังรายละเอียดในตารางที่ 1 จากนั้นมัดปากถุงให้เรียบร้อยด้วยเชือกฟาง

3) ตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติก PBAT ทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 42 วัน

ชุดทดลองที่ 2) ผสมมูลโคนม ขุยมะพร้าว และน้ำหมักชีวภาพ EM ร่วมกับพลาสติก PBAT (P+EM)

1) ตัดถุงพลาสติก PBAT ให้มีขนาด 2×2 cm จำนวน 1 g แล้วนำมาผสมให้เข้ากันกับมูลโคนมและขุยมะพร้าว
2) เติมน้ำกลั่นที่ผสมน้ำหมักชีวภาพ EM ในอัตราส่วนน้ำหมักชีวภาพ EM ต่อน้ำกลั่น 1:1,000 (V/V) ปริมาณ 4,500 ml แล้วบรรจุวัสดุหมักลงในถุงกระสอบขนาด 16×20 นิ้ว จำนวน 18 ถุง ดังรายละเอียดในตารางที่ 1 จากนั้นมัด ปากถุงให้เรียบร้อยด้วยเชือกฟาง

3) ตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติก PBAT ทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 42 วัน

ตารางที่ 1 จำนวนถุงกระสอบที่บรรจุวัสดุอินทรีย์ (มูลโคนมและขุยมะพร้าว) สำหรับชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P+EM) และระยะเวลาในการหมักปุ๋ย

ลำดับที่	ระยะเวลาในการหมักปุ๋ย (วัน)	จำนวนถุงกระสอบที่บรรจุวัสดุอินทรีย์ แต่ละชุดการทดลอง (ถุง)
1	7	3
2	14	3
3	21	3
4	28	3
5	35	3
6	42	3

หมายเหตุ: ชุดทดลองที่ 1 (P) หมายถึง ปุ๋ยหมัก + พลาสติก PBAT

ชุดทดลองที่ 2 (P+EM) หมายถึง ปุ๋ยหมัก + พลาสติก PBAT + น้ำหมักชีวภาพ EM

2. การตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพ PBAT

ชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P+EM) มีการใส่แผ่นพลาสติก PBAT ขนาด 2×2 cm น้ำหนักรวม 1 g ลงไปในแต่ละชุดทดลอง เมื่อครบระยะเวลาในการหมักนำตัวอย่างของแผ่นพลาสติกมาถ่ายรูปเพื่อเปรียบเทียบการย่อยสลายของแผ่นพลาสติกในแต่ละช่วงเวลาในการหมัก แล้วชั่งน้ำหนักในแต่ละชุดทดลอง สำหรับการตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพ PBAT มีรายละเอียดและขั้นตอนดังนี้

1) การตรวจสอบการย่อยสลายของพลาสติก PBAT ในแต่ละชุดทดลองและแต่ละช่วงเวลาการศึกษา ให้คัดแยกพลาสติก PBAT ออกจากปุ๋ยหมักทันที จากนั้นให้นำปุ๋ยหมักมาตากให้แห้งในที่ร่มระยะเวลา 5 – 7 วัน เพื่อลดความชื้นและนำมาร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาดรู 4 mm และขนาดรู 2 mm ตามลำดับ เพื่อคัดแยกพลาสติก PBAT ส่วนที่เหลือในกรณีที่พลาสติกมีการแตกเป็นชิ้นเล็ก ๆ



2) รวบรวมพลาสติก PBAT ที่คัดแยก ในแต่ละชุดทดลองและระยะเวลาของการหมักที่กำหนดมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปตากในที่ร่มจนแห้ง จากนั้นนำไปกำจัดความชื้นในตู้ดูดความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักตัวอย่างที่คงที่ น้ำค่าน้ำหนักที่ได้ไปคำนวณร้อยละน้ำหนักพลาสติก PBAT ที่สูญหายในแต่ละระยะเวลาในการหมักปฏิกิริยา ดังสมการที่ (1) [6, 12]

$$\text{น้ำหนักพลาสติกที่สูญหาย (g)} = \left(\frac{\text{น้ำหนักพลาสติกเริ่มต้น (g)} - \text{น้ำหนักพลาสติกหลังฝังกลบ (g)}}{\text{น้ำหนักพลาสติกเริ่มต้น (g)}} \right) \times 100 \quad (1)$$

3. การวิเคราะห์สมบัติปุ๋ยหมัก

วิเคราะห์สมบัติปุ๋ยหมักชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P + EM) ในวันที่ 0 และวันที่ 42 โดยเพิ่มชุดควบคุม (C) คือ ชุดทดลองที่ไม่ใส่พลาสติก PBAT และน้ำหมักชีวภาพ EM โดยกำหนดให้ดำเนินการวิเคราะห์สมบัติปุ๋ยหมัก ดังพารามิเตอร์ที่แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์สมบัติปุ๋ยหมัก

พารามิเตอร์	หน่วย	วิธี	อ้างอิง
อุณหภูมิ	องศาเซลเซียส (°C)	Thermometer method	-
ความชื้น	ร้อยละ (%)	Oven – drying method	กรมวิชาการเกษตร [13]
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (OM)	ร้อยละ (%)	Walkley and Black method	กรมพัฒนาที่ดิน [14]
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	-	pH meter	กรมพัฒนาที่ดิน [14]
C/N ratio	-	-	-
การนำไฟฟ้า (EC)	เดซิซีเมนต่อเมตร (dS/m)	EC meter	กรมพัฒนาที่ดิน [14]
ไนโตรเจนทั้งหมด (TKN)	ร้อยละ (%)	Kjeldahl method	กรมพัฒนาที่ดิน [14]
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP)	ร้อยละ (%)	Colorimetry	กรมพัฒนาที่ดิน [14]
โพแทสเซียมทั้งหมด (TK)	ร้อยละ (%)	Atomic Emission Spectroscopy (ABS)	-
การย่อยสลายเสริมสมบูรณ์	ร้อยละ (%)	วิธีการทดสอบการงอกของเมล็ดพืช	กรมพัฒนาที่ดิน [14]

4. การย่อยสลายเสริมสมบูรณ์

การตรวจวัดการย่อยสลายเสริมสมบูรณ์ของปุ๋ยอินทรีย์เป็นวิธีที่บอกถึงคุณภาพของปุ๋ยในแง่ของความเป็นพิษต่อพืช บอกถึงสภาวะกระบวนการผลิตปุ๋ยว่าได้ออกซิเจนเพียงพอหรือขาดออกซิเจนระหว่างกระบวนการหมักปุ๋ย การประเมินเสถียรภาพการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ หากมีการย่อยสลายอยู่อาจทำให้เกิดสารสำคัญในระดับที่เป็นพิษ เช่น NH_4^+ , กรดอะซิติก เป็นต้น ตกค้างในดิน ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช (phytotoxicity) [15] ขั้นตอนในการตรวจวัดการย่อยสลายสมบูรณ์ของปุ๋ยอินทรีย์ ดัดแปลงจากกรมวิชาการเกษตร [14] ดังนี้

- 1) สกัดสารละลายปุ๋ยหมักที่ผ่านการผึ่งให้แห้งในที่ร่มจากชุดทดลองที่ 1, 2 และชุดควบคุม (C) โดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมัก 1 g เติมน้ำ 10 ml (อัตราส่วน 1 : 10 w/v) เขย่าด้วยเครื่องเขี่ยนาน 1 ชั่วโมง
- 2) กรองน้ำสกัดปุ๋ยหมักใส่ในขวดปรับปริมาตร โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 42
- 3) ตีตารางบนกระดาษเพาะเมล็ดจำนวน 10 ช่อง แล้วนำไปวางในจานเพาะเชื้อ
- 4) วางเมล็ดพืชช่องละ 1 เมล็ด รวม 10 เมล็ดต่อหนึ่งจานเพาะเชื้อ จำนวน 3 ซ้ำ ใช้เมล็ดข้าวพันธุ์ กข.81 เป็นตัวแทนของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และใช้เมล็ดถั่วเขียวเป็นตัวแทนของพืชใบเลี้ยงคู่
- 5) ใส่ น้ำสกัดปุ๋ยหมักจานเพาะเชื้อละ 5 ml ส่วนชุดควบคุมให้ใส่น้ำกลั่นแทนการใส่น้ำสกัดปุ๋ยหมัก



6) บ่มไว้ในที่มืด 48 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิห้อง

7) เก็บรวบรวมข้อมูลดังต่อไปนี้

7.1) ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดที่งอกทั้งหมดต่อจานเพาะเชื้อ (%)

7.2) ความยาวของรากแต่ละเมล็ดทั้ง 10 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ แล้วหาค่าเฉลี่ย (cm)

8) คำนวณหาค่าดัชนีการงอกของเมล็ด (Germination index: GI) ดังสมการที่ 2

$$GI (\%) = \left(\frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกของชุดทดลอง} (\%) \times \text{ความยาวรากของชุดทดลอง} (cm)}{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกของชุดทดลอง} (\%) \times \text{ความยาวรากของชุดทดลอง} (cm)} \right) \times 100 \quad (2)$$

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของการย่อยสลายพลาสติก PBAT (%) ในแต่ละชุดทดลองและแต่ละช่วงเวลาด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-way ANOVA) ที่นัยสำคัญ 0.05 และวิเคราะห์การถดถอย (regression analysis) ระหว่างระยะเวลาในการหมักปุ๋ย 7 – 42 วัน กับน้ำหนักพลาสติกที่สลาย (g) เพื่อหาอัตราการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในช่วงเวลาดังกล่าวของแต่ละชุดทดลอง

ผลการวิจัย

1. ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (OC) และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) ในวัสดุอินทรีย์

การศึกษการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักครั้งนี้ใช้มูลโคนม และขุยมะพร้าวเป็นวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการทำปุ๋ยหมัก โดยนำมูลโคนมและขุยมะพร้าวมาผสมกันให้มีน้ำหนักรวม 3 kg ประกอบด้วยมูลโคนม 2.6 kg และขุยมะพร้าว 0.4 kg ซึ่งผลการศึกษา OC และ TKN ของมูลโคนมและขุยมะพร้าว ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 OC TKN และ C/N ของมูลโคนม และขุยมะพร้าว

วัสดุอินทรีย์	OC (g/kg)	TKN (g/kg)	C/N
มูลโคนม	204.03	10.27	19.87
ขุยมะพร้าว	418.28	2.99	139.90

จากตารางที่ 3 พบว่าขุยมะพร้าวมี C/N ที่ค่อนข้างกว้างซึ่งจะทำให้เกิดการย่อยสลายที่ช้า ในขณะที่มูลโคนมมี C/N ที่แคบกว่าจะทำให้เกิดการย่อยสลายได้เร็วกว่า ดังนั้นในการกำหนดน้ำหนักของมูลโคนม 2,600 g : ขุยมะพร้าว 400 g ซึ่งสัดส่วนน้ำหนัkdังกล่าวจะทำให้มีสัดส่วน C/N เริ่มต้นอยู่ในช่วง 25.01 - 26.24 : 1 (ตารางที่ 4) ซึ่งช่วงดังกล่าวอยู่ในช่วง 20 - 30 : 1 โดยเป็นช่วงที่เหมาะสมในการเริ่มต้นทำปุ๋ยหมัก [16]

ตารางที่ 4 C/N และความชื้นเริ่มต้นในแต่ละชุดทดลอง

ชุดทดลอง	ความชื้นเริ่มต้น (%)	C/N เริ่มต้น
1	62.8	25.01
2	61.8	26.38

หมายเหตุ: ชุดทดลองที่ 1 (P) หมายถึง ปุ๋ยหมัก + พลาสติก PBAT

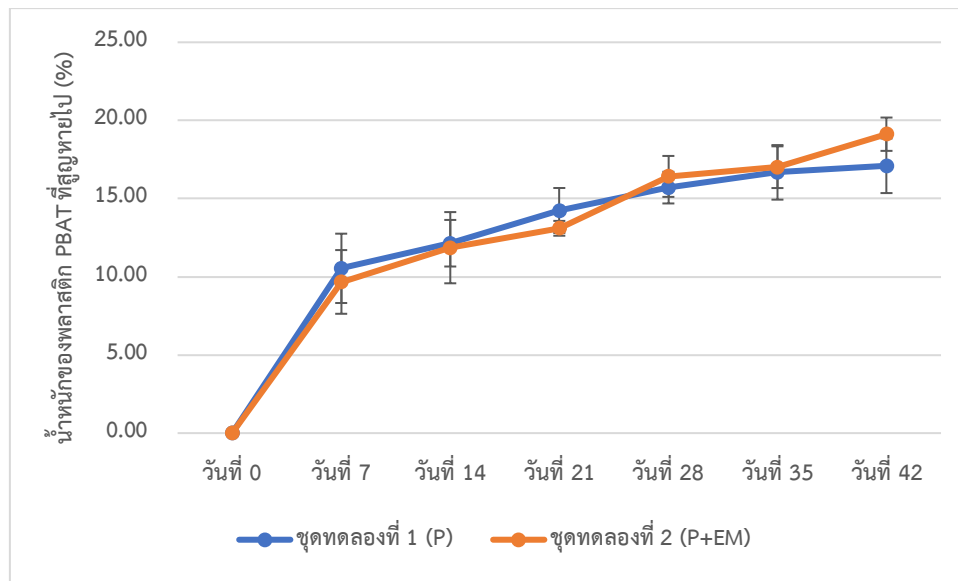
ชุดทดลองที่ 2 (P+EM) หมายถึง ปุ๋ยหมัก + พลาสติก PBAT ที่เติมน้ำหมักชีวภาพ EM

2. การย่อยสลายพลาสติก PBAT

การย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักมูลโคนมร่วมกับขุยมะพร้าวที่มีค่า C/N และความชื้นเริ่มต้นอยู่ในช่วง 25.01 - 26.24 : 1 และ 61.8 - 62.8% ตามลำดับ ที่ระยะเวลาในการหมัก 42 วัน และกำหนดให้มีการกลับกองปุ๋ยหมักทุก ๆ 4 วัน แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดทดลอง ได้แก่ ชุดทดลองที่ 1 (P) และชุดทดลองที่ 2 (P + EM)

โดยในแต่ละชุดทดลองใส่แผ่นพลาสติก PBAT ขนาด 2×2 cm ที่มีน้ำหนักรวม 1.0 g ในแต่ละชุดทดลอง ผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

ชุดทดลองที่ 2 (P+EM) มีการย่อยสลายพลาสติก PBAT ได้สูงกว่าชุดทดลองที่ 1 (P) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่นัยสำคัญ 0.05 ($F = 0.793$, $P > 0.05$) โดยพลาสติก PBAT ทั้ง 2 ชุดทดลอง มีการย่อยสลายอย่างรวดเร็วในช่วง 7 วันแรก ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมัก ซึ่งเร็วกว่าช่วงวันที่ 7 – 42 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่นัยสำคัญ 0.05 ($F = 134.13$, $P < 0.05$) โดยมีน้ำหนักลดลงเฉลี่ย 12.11% และ 11.04% ในชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P+EM) ตามลำดับ (ภาพที่ 2 ตารางที่ 5 และตารางที่ 6)



ภาพที่ 2 น้ำหนักของพลาสติก PBAT ที่สูญหายไป (%) ในระหว่างกระบวนการหมักมูลโคนมร่วมกับขุยมะพร้าวที่ระยะเวลา 0 – 42 วัน

ตารางที่ 5 น้ำหนักเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของพลาสติก PBAT ที่สูญหายไประหว่างกระบวนการหมักมูลโคนมร่วมกับขุยมะพร้าวที่ระยะเวลา 0 – 42 วัน

วันที่	น้ำหนักพลาสติกที่สูญหาย (%)	
	ชุดทดลองที่ 1 (P)	ชุดทดลองที่ 2 (P+EM)
0	0.00 (± 0.00)	0.00 (± 0.00)
7	10.54 (± 2.22)	9.67 (± 2.04)
14	12.15 (± 1.49)	11.86 (± 2.28)
21	14.24 (± 1.44)	13.10 (± 0.47)
28	15.70 (± 1.01)	16.42 (± 1.31)
35	16.68 (± 1.74)	17.01 (± 1.33)
42	17.10 (± 1.75)	19.12 (± 1.07)

หมายเหตุ: ชุดทดลองที่ 1 (P) หมายถึง ปุ๋ยหมัก + พลาสติก PBAT

ชุดทดลองที่ 2 (P+EM) หมายถึง ปุ๋ยหมัก + พลาสติก PBAT ที่เติมน้ำหมักชีวภาพ EM

ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึง ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

ตารางที่ 6 ภาพการเปรียบเทียบแผ่นพลาสติก PBAT ที่ใช้ในการหมักตามระยะเวลาที่กำหนด

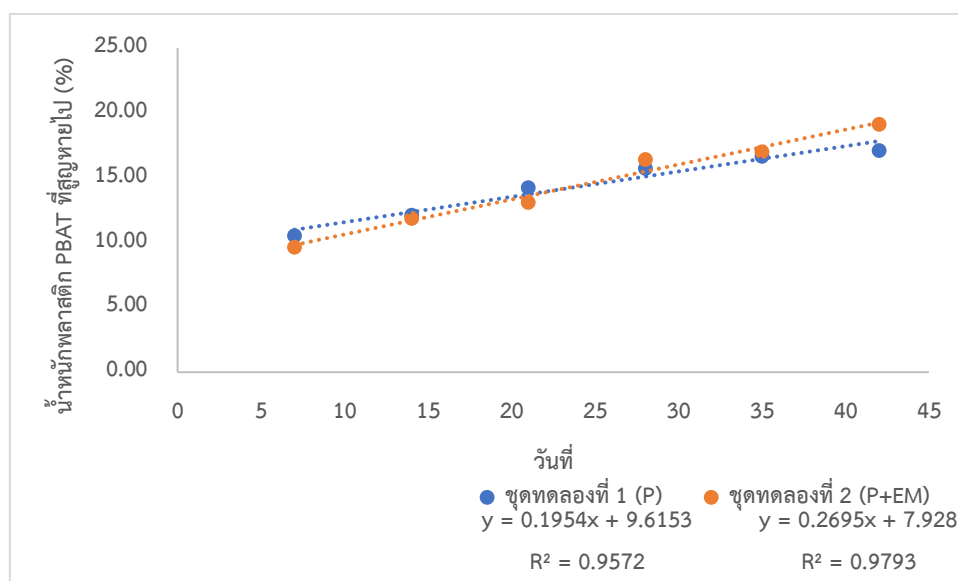
ชุดทดลอง	วันที่						
	0	7	14	21	28	35	42
P							
P + EM							

หมายเหตุ: P หมายถึง ชุดการทดลองที่ 1 ไม่มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM

P+E หมายถึง ชุดการทดลองที่ 2 มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM

จากตารางที่ 6 แสดงให้เห็นถึงการย่อยสลายของพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักมูลโคนมร่วมกับขุยมะพร้าว ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงของพลาสติกในปุ๋ยหมักทั้ง 2 ชุดทดลอง มีลักษณะคล้ายคลึงกันโดยในช่วงวันที่ 0 – 7 พลาสติกมีลักษณะเปื่อย ยุ่ย และมีรอยแตกเล็กน้อย ส่วนช่วงระยะเวลาหมักปุ๋ย 7 – 35 วัน พลาสติกเริ่มแตกและฉีกอย่างชัดเจน แต่ยังไม่ขาดออกจากกัน ในขณะที่ช่วงระยะเวลาหมักปุ๋ย 42 วัน พบว่าพลาสติกเริ่มมีการฉีกขาดออกจากกัน โดยเฉพาะในชุดการทดลองที่ 1 (P)

การย่อยสลายพลาสติก PBAT มีแนวโน้มย่อยสลายเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงวันที่ 7 – 42 ของกระบวนการทำปุ๋ยหมักทั้ง 2 ชุดทดลอง โดยมีอัตราการย่อยสลายในช่วงวันที่ 7 – 42 เท่ากับ 0.1219%/วัน และ 0.2346%/วัน ในชุดทดลองที่ 1 และ 2 ตามลำดับ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการหมักมูลโคนมร่วมกับขุยมะพร้าว (วันที่ 7 – 42) กับน้ำหนักของพลาสติก PBAT ที่สูญหายไป (%) ในชุดทดลองที่ 1 (P) และชุดทดลองที่ 2 (P + EM)

3. สมบัติของปุ๋ยหมัก

การศึกษาสมบัติของปุ๋ยหมักที่เกิดจากการหมักมูลโคนมร่วมกับขุยมะพร้าวที่ระยะเวลา 42 วัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดทดลอง ได้แก่ ชุดทดลองที่ 1 ไม่มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM (P) ชุดทดลองที่ 2 มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM



(P+EM) และชุดควบคุม (C) โดยตรวจวัดสมบัติของปุ๋ยหมักที่ระยะเริ่มหมัก (วันที่ 0) และหลังหมัก (วันที่ 42) เพื่อเปรียบเทียบสมบัติของปุ๋ยหมัก โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 สมบัติของปุ๋ยหมักมูลโคนมาร่วมกับขุยมะพร้าวที่ระยะเวลาก่อนหมัก (วันที่ 0) และระยะเวลาหลังหมัก (วันที่ 42)

พารามิเตอร์	ก่อนหมัก (วันที่ 0)			หลังหมัก (วันที่ 42)			เกณฑ์กำหนด [17]
	C	P	P + EM	C	P	P + EM	
T (°C)	29 (±0)	29 (±0)	29 (±0)	26 (±0)	27 (±0)	27 (±0)	-
ความชื้น (%)	62.3 (±1.7)	62.8 (±1.1)	61.8 (±1.7)	36.40 (±1.1)	41.67 (±0.81)	34.7 (±2.5)	<35%
OM (%)	50.47 (±4.16)	52.76 (±0.78)	56.34 (±0.67)	27.09 (±3.84)	31.50 (±5.26)	28.84 (±2.50)	≥30
OC (g/kg)	292.73 (±24.15)	306.04 (±4.52)	326.78 (±3.91)	157.12 (±22.29)	182.69 (±30.53)	167.31 (±14.52)	-
pH	7.68 (±0.05)	7.67 (±0.04)	7.67 (±0.01)	7.67 (±0.07)	7.63 (±0.06)	7.70 (±0.02)	5.5–8.5
C/N	27.34	25.01	26.45	13.78	16.76	15.93	≤20
EC (dS/m)	17.72	17.82	15.94	18.26	16.60	17.26	<6 ds/m
TKN (%)	2.55 (±0.12)	2.79 (±0.08)	2.64 (±0.05)	1.14 (±0.03)	1.09 (±0.02)	1.05 (±0.05)	≥1
NH ₄ ⁺ (mg/kg)	12.09 (±0.08)	12.09 (±0.12)	5.61 (±0.16)	16.02 (±7.69)	2.19 (±0.53)	2.61 (±1.18)	-
NO ₃ ⁻ (mg/kg)	4.97 (±0.05)	4.97 (±0.02)	3.42 (±0.01)	1.610 (±1.13)	1.81 (±0.14)	1.28 (±0.16)	-
TP (%)	0.120 (±0.20)	0.120 (±0.05)	0.142 (±0.08)	0.123 (±0.01)	0.121 (±0.13)	0.121 (±0.06)	≥0.5
TK (%)	2.04 (±0.02)	2.04 (±0.03)	2.10 (±0.03)	2.35 (±0.32)	1.97 (±0.27)	2.18 (±0.24)	≥0.5
การย่อยสลาย							
สมบูรณ์ (%)	53.19 (±10.15)	67.77 (±6.95)	79.23 (±4.06)	188.25 (±37.85)	147.74 (±33.21)	131.24 (±31.86)	>80
- ข้าวพันธุ์ กข81							
- ถั่วเขียว	56.75 (±8.91)	60.02 (±4.46)	68.90 (±4.98)	176.09 (±30.11)	166.61 (±39.31)	145.03 (±20.25)	

หมายเหตุ: P หมายถึง ชุดทดลองที่ 1 ไม่มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM
P+E หมายถึง ชุดทดลองที่ 2 มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM
C หมายถึง ชุดควบคุม
ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึง ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

3.1 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถบ่งชี้ถึงกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักที่ส่งผลต่อสมบัติของปุ๋ยหมัก [18] การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในกองปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงลดลง โดยในวันที่

0 ของการหมัก อุณหภูมิของปุ๋ยหมักมีค่าเฉลี่ย 29°C ทั้ง 3 ชุดทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองวันที่ 42 อุณหภูมิของปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง $26 - 27^{\circ}\text{C}$ ซึ่งโดยปกติแล้วอุณหภูมิของปุ๋ยหมักจะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วง 7 วันแรกของการหมักและจะลดลงหลังจากนั้นจะใกล้เคียงกับอุณหภูมิบรรยากาศเรียกว่า ช่วงการย่อยสลายสมบูรณ์ (maturation phase) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักเกิดจากการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในกองปุ๋ยหมัก

3.2 ความชื้น (Moisture)

ความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมัก เนื่องจากความชื้นบ่งบอกถึงปริมาณน้ำในกองปุ๋ยหมัก ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ที่ต้องใช้ในการดำรงชีวิตและกิจกรรมต่าง ๆ ความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักปุ๋ยควรอยู่ในช่วง 50 – 70% ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ความชื้นเริ่มต้นของทั้ง 3 ชุดทดลองอยู่ในช่วง 61.8 – 62.8% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม ภายหลังจากหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีความชื้นเฉลี่ยอยู่ในช่วง 34.7 – 41.7% โดยชุดทดลองที่ 1 (P) มีความชื้นสูงที่สุด อย่างไรก็ตามความชื้นของปุ๋ยหมักในวันที่ 42 ของทั้ง 3 ชุดทดลอง มีค่าเกินมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้มีความชื้นไม่เกิน 30%

3.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

pH ของปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง ในวันที่ 0 มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 7.67 – 7.68 ภายหลังจากการหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน ปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 7.63 – 7.70 ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้อยู่ในช่วง 5 – 9

3.4 การนำไฟฟ้า (EC)

ค่า EC ของปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง ในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 15.94 – 17.82 dS/m ภายหลังจากการหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน ปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 16.60 – 18.26 dS/m ซึ่งปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง ในวันที่ 42 มีค่า EC ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องไม่เกิน 6 dS/m

3.5 อินทรีย์วัตถุ (OM) และอินทรีย์คาร์บอน (OC)

ปริมาณ OM ของปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง ในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 50.76 – 56.34% ภายหลังจากหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปริมาณ OM ทั้ง 3 ชุดทดลอง มีแนวโน้มลดลงอยู่ในช่วง 27.09 – 31.50% ซึ่งมีเพียงชุดทดลองที่ 1 (P) เท่านั้นที่มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องไม่ต่ำกว่า 30% อาจเนื่องจากชุดทดลองที่ 1 (P) มีการเติมพลาสติก PBAT ลงไปในกระบวนการหมักซึ่งอาจส่งผลให้ส่วนผสมที่เป็นสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายออกมาทำให้มี OM สูงกว่าชุดทดลองอื่น ๆ ในขณะที่ชุดทดลองที่ 2 (P+EM) ถึงแม้ว่าจะมีการเติมพลาสติก PBAT ลงไปในกระบวนการหมักก็ตาม แต่ก็มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ EM ลงไปเพื่อช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ และ OM ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายส่วนหนึ่งอาจถูกนำไปใช้โดยจุลินทรีย์เอง จึงอาจเป็นสาเหตุให้มีปริมาณ OM ต่ำกว่าชุดทดลองที่ 1 (P) ปริมาณ OC ของปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง ในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 292.73 – 326.78 g/kg ภายหลังจากการหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีปริมาณ OC อยู่ในช่วง 157.12 – 182.69 g/kg โดยชุดทดลองที่ 1 (P) มีปริมาณ OC สูงที่สุด รองลงมาคือ ชุดทดลองที่ 2 (P+EM) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ OM ที่พบในชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P+EM) ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเติมพลาสติก PBAT ลงไปในกระบวนการทำปุ๋ยหมักสามารถเพิ่มปริมาณ OC ในกองปุ๋ยหมักได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (C) ที่ไม่มีการเติมพลาสติก PBAT ซึ่งปริมาณ OC ที่เพิ่มขึ้นในกองปุ๋ยหมักในชุดควบคุม (C) และ 2 (P+EM) น่าจะมาจากวัตถุอินทรีย์ตามธรรมชาติที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมในการทำพลาสติก PBAT ที่เกิดจากการย่อยสลายในช่วง 7 วันแรกของการศึกษา และส่วน OC ที่เหลือน่าจะมาจากการย่อยสลายโพลีเมอร์ PBAT ในช่วงวันที่ 7 – 42 ของการศึกษา

3.6 ไนโตรเจน

การศึกษาปริมาณไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักวันที่ 0 และ 42 ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) ปริมาณแอมโมเนียม (NH_4^+) และปริมาณไนเตรท (NO_3^-) มีรายละเอียดดังนี้ TKN ของปุ๋ยหมักในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 2.55 –

2.79 % ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีปริมาณ TKN ลดลงอยู่ในช่วง 1.05 – 1.14% โดยชุดควบคุม (C) มีปริมาณ TKN สูงสุด อย่างไรก็ตามปุ๋ยหมักในวันที่ 42 ของการศึกษาของทุกชุดทดลอง มีปริมาณอยู่เกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องไม่ต่ำกว่า 1% ปริมาณ NH_4^+ ของปุ๋ยหมักในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 5.61 – 12.09 mg/kg ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีปริมาณ NH_4^+ อยู่ในช่วง 2.19 – 16.02 mg/kg โดยชุดควบคุม (C) มีปริมาณ NH_4^+ สูงที่สุด ปริมาณ NO_3^- ของปุ๋ยหมักในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 3.42 – 4.97 mg/kg ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีปริมาณ NO_3^- ลดลงอยู่ในช่วง 1.28 – 1.81 mg/kg โดยชุดทดลองที่ 1 (P) มีปริมาณ NO_3^- สูงที่สุด

3.7 ฟอสฟอรัสทั้งหมด (TP)

ปริมาณ TP ของปุ๋ยหมักในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 0.120 – 0.142% ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีปริมาณ TP อยู่ในช่วง 0.121 – 0.123% ซึ่งปริมาณ TP มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยในวันที่ 42 ชุดควบคุม (C) มีปริมาณ TP สูงที่สุด อย่างไรก็ตามปุ๋ยหมักในวันที่ 42 ของการศึกษาของทุกชุดทดลอง มีปริมาณ TP ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องไม่ต่ำกว่า 0.5% อาจเนื่องจากวัสดุอินทรีย์ที่นำมาหมักปุ๋ยอินทรีย์ในครั้งนี้เริ่มต้นมีปริมาณ TP ต่ำกว่า 0.5% อยู่แล้ว

3.8 สัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N)

การศึกษากการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการหมักมูลโคนมรร่วมกับขุยมะพร้าวได้กำหนด C/N ไว้ที่ 30 : 1 โดยใช้มูลโคนมจำนวน 2,600 g และขุยมะพร้าว 400 g รวม 3000 g ซึ่งผลการวิเคราะห์ C/N ของปุ๋ยหมักในวันที่ 0 ของทั้ง 3 ชุดทดลอง ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 25.01 – 27.34 ซึ่งต่ำกว่าค่า C/N ที่กำหนดไว้ ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าทั้ง 3 ชุดทดลอง มี C/N ลดลงโดยมีค่าอยู่ในช่วง 13.78 – 16.76 โดยชุดทดลองที่ 1 (P) มี C/N สูงที่สุด ซึ่งสัดส่วน C/N ทั้ง 3 ชุดทดลอง อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องมีสัดส่วน C/N ไม่เกิน 20

3.9 โพลีแซคคาไรด์ทั้งหมด (TK)

ปริมาณ TK ของปุ๋ยหมักในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 2.04 – 2.10% ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีปริมาณ TK อยู่ในช่วง 1.97 – 2.35% ซึ่งปริมาณ TK มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยในวันที่ 42 ชุดควบคุม (C) มีปริมาณ TK สูงที่สุด อย่างไรก็ตามปุ๋ยหมักในวันที่ 42 ของการศึกษาของทุกชุดทดลอง มีปริมาณโพลีแซคคาไรด์ทั้งหมดผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องไม่ต่ำกว่า 0.5%

3.10 การย่อยสลายสมบูรณ์

การศึกษาดัชนีการย่อยสลายพิจารณาจากค่า GI ของเมล็ดข้าวพันธุ์ กข.81 ซึ่งเป็นตัวแทนของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และถั่วเขียวซึ่งเป็นตัวแทนของพืชใบเลี้ยงคู่ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้ ค่า GI ของเมล็ดข้าวพันธุ์ กข.81 ที่ทดสอบกับปุ๋ยหมักในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 53.19 – 79.23% ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน แล้วนำไปทดสอบค่า GI พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีการงอกเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 131.24 – 188.25% ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องมีค่า GI ไม่ต่ำกว่า 80% โดยการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าปุ๋ยหมักที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 ชุดทดลอง ไม่ส่งผลเสียต่อการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ กข.81 และค่า GI ของเมล็ดถั่วเขียวที่ทดสอบกับปุ๋ยหมักในวันที่ 0 มีค่าอยู่ในช่วง 56.75 – 68.90% ภายหลังหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน แล้วนำไปทดสอบค่า GI พบว่าปุ๋ยหมักทั้ง 3 ชุดทดลอง มีการงอกเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 145.03 – 176.09% ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดให้ต้องมีค่า GI ไม่ต่ำกว่า 80% โดยการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าปุ๋ยหมักที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 ชุดทดลอง ไม่ส่งผลเสียต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียว

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การย่อยสลายพลาสติก PBAT พบว่าสาเหตุที่พลาสติก PBAT มีการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วในช่วง 7 วันแรก อาจเนื่องจากพลาสติก PBAT ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีส่วนผสมของวัสดุชีวภาพ อาทิ ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง ซึ่งสอดคล้องกับ

งานวิจัยของดวงฤทัย เขมะไชเวช และคณะ [19] ที่ศึกษาการย่อยสลายของแผ่นพลาสติกชีวภาพที่ผลิตจากมันสำปะหลังและแป้งสาคูในดินร่วมกับปุ๋ยหมัก พบว่าพลาสติกชีวภาพที่ผลิตจากมันสำปะหลังและแป้งสาคูสามารถย่อยสลายได้ 99.73% และ 97.76% ในดินร่วมกับปุ๋ยหมักภายใน 7 และ 8 วัน ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าในช่วงแรกของการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักในช่วง 7 วันแรก พลาสติก PBAT ในส่วนที่ผลิตจากวัสดุชีวภาพจะถูกย่อยสลายโดยอาศัยจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก โดยกลไกการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในส่วนที่ผลิตจากวัสดุชีวภาพเริ่มจากการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์และปัจจัยภายนอกที่ส่งผลให้พลาสติกเปื่อยยุ่ย และมีรอยฉีก แต่ยังไม่ขาดออกจากกัน โดยจุลินทรีย์จะปล่อยเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์เพื่อย่อยสลายแผ่นพลาสติก PBAT ในส่วนที่ผลิตจากแป้ง โดยเริ่มจากการทำงานของจุลินทรีย์และปัจจัยภายนอกส่งผลให้พลาสติกมีลักษณะเปื่อยยุ่ย นอกจากนี้ระหว่างกระบวนการหมักปุ๋ยในช่วงแรก อาจเกิดความร้อน/อุณหภูมิที่สูงขึ้น จนเกิดกิจกรรมการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยตรงของจุลินทรีย์จึงอาจส่งผลให้กองปุ๋ยหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้น [16] ซึ่งอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักที่สูงขึ้นในช่วงแรกอาจส่งผลต่อการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในส่วนที่ผลิตจากวัสดุชีวภาพ ขมณัญญา บุญมี [12] กล่าวว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเกิดการย่อยสลายของพลาสติกชีวภาพ นอกจากนี้ Sing & Sharma [20] รายงานว่าการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพในกองปุ๋ยหมักที่ความชื้นในช่วง 45 – 55% มีความเหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติกชีวภาพได้อย่างรวดเร็ว และถ้ากองปุ๋ยหมักแห้งเกินไปจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลาย เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้มีความชื้นเริ่มต้นในชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P+EM) เท่ากับ 62.8% และ 61.8% ตามลำดับ เป็นไปได้ว่าในช่วงระยะเวลา 7 วัน ของการหมักปุ๋ยค่าความชื้นมีแนวโน้มลดลงไปอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายพลาสติก ส่งผลให้ในช่วง 7 วันแรกของการหมักปุ๋ยน้ำหนักของพลาสติกลดลง 12.11% และ 11.04% ในชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P+EM) ตามลำดับ

สาเหตุที่ชุดทดลองที่ 2 มีอัตราการย่อยสลายพลาสติก PBAT สูงกว่าชุดทดลองที่ 1 แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($F = 0.075$, $P > 0.05$) อาจเนื่องจากชุดทดลองดังกล่าวมีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM ซึ่งเชื่อกันว่าอาจเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายพลาสติก PBAT สอดคล้องกับทองปัก ดอนประจำ [21] ที่พบว่าการใช้กลุ่มจุลินทรีย์ EM ในการย่อยสลายพลาสติก PLA สามารถย่อยสลายได้ 4.58% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM ในช่วงเวลา 28 วัน สาเหตุที่ชุดทดลองที่ 2 มีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM ลงไปในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักมีอัตราการย่อยสลายสูงกว่าชุดทดลองที่ 1 ที่ไม่เติมกลุ่มจุลินทรีย์ EM อาจเนื่องจากกลุ่มจุลินทรีย์ EM มีเชื้อที่ค่อนข้างหลากหลาย เช่น กลุ่มจุลินทรีย์พวกเชื้อราที่มีเส้นใย กลุ่มจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลกติก กลุ่มจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์แสง กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก และกลุ่มจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน [21] ซึ่งความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ที่พบใน EM อาจส่งผลให้อัตราการย่อยสลายของชุดทดลองที่ 2 สูงกว่าชุดทดลองที่ 1 เล็กน้อย อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่าพลาสติก PBAT สามารถย่อยสลายได้ในระหว่างการทำปุ๋ยหมัก แต่ต้องใช้ระยะเวลาที่นานกว่า 42 วัน ซึ่งจากการศึกษาของขมณัญญา บุญมี [12] ที่พบว่าพลาสติก PBAT สามารถย่อยสลายได้ในช่วง 0.59 – 4.87% ที่ระยะเวลา 30 วัน ในตะกอนชีวภาพที่มีการกำหนดปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

การศึกษาการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในระหว่างกระบวนการทำปุ๋ยหมักมูลโคร่วมกับขุยมะพร้าวในชุดทดลองที่ 1 (P) และชุดทดลองที่ 2 (P+EM) ที่มีสัดส่วน C/N เริ่มต้นเท่ากับ 25.01 และ 26.45 ตามลำดับ และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 62.8% และ 61.8% ตามลำดับ ที่หมักทิ้งไว้เป็นเวลา 42 วัน โดยกลับกองปุ๋ยทุก ๆ 4 วัน พบว่าสมบัติของปุ๋ยหมักทั้ง 2 ชุดทดลอง ได้แก่ pH, C/N, TKN, TK และดัชนีการออกของเมสตีลชีวภาพ กข.81 และถั่วเขียว ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร ในขณะที่ความชื้น EC และ TP ของปุ๋ยหมักวันที่ 42 ของทั้ง 2 ชุดทดลอง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร ส่วนปริมาณ OM พบว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรเฉพาะชุดทดลองที่ 2 (P) เท่านั้น

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าพลาสติก PBAT สามารถย่อยสลายได้ในระหว่างกระบวนการหมักมูลโคนม รวมกับขุยมะพร้าวในชุดทดลองที่ 1 (P) และชุดทดลองที่ 2 (P+EM) ที่มีสัดส่วน C/N เริ่มต้น 25.01 และ 26.38 มีความชื้นเริ่มต้น 62.8% และ 61.8% ที่ระยะเวลาในการหมักปุ๋ย 42 วัน ได้ 17.10% และ 19.12% ตามลำดับ โดยสามารถแบ่งกระบวนการย่อยได้เป็น



สองช่วง ได้แก่ ช่วงที่ 1 ระยะเวลาการหมัก 0 – 7 วัน และช่วงที่ 2 ระยะเวลาในการหมัก 7 – 42 วัน โดยในช่วงที่ 1 พลาสติก PBAT มีการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วมีน้ำหนักลดลงเฉลี่ย 10.54% และ 9.67% ในชุดทดลองที่ 1 (P) และ 2 (P+EM) ตามลำดับ อาจเนื่องจากในช่วงแรกของการย่อยสลายพลาสติก PBAT เป็นการย่อยสลายในส่วนของวัสดุอินทรีย์ที่ใช้เป็นส่วนผสมของการผลิตพลาสติก PBAT หลังจากนั้นในช่วงที่ 2 น้ำหนักของพลาสติก PBAT มีแนวโน้มลดลงค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา โดยพบว่าในช่วงระยะเวลาที่ศึกษาน้ำหนักของพลาสติก PBAT ในชุดทดลองที่ 1 และ 2 มีการลดลงเท่ากับ 0.1954%/วัน และ 0.2695%/วัน ตามลำดับ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ชุดทดลองที่ 2 มีอัตราการลดลงที่สูงกว่าอาจเนื่องจากในชุดทดลองดังกล่าวมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ EM ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่หลากหลายและมีความสามารถในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่ดี ในขณะที่ปุ๋ยหมักมูลโคและขุยมะพร้าวที่ใช้ในการทดสอบกระบวนการย่อยสลายพลาสติก PBAT ในชุดทดลองที่ 1 และ 2 ที่ระยะเวลาในการหมักปุ๋ย 42 วัน พบว่าสมบัติของปุ๋ยหมัก ได้แก่ pH (7.63, 7.70) TKN (1.09% และ 1.05%) TK (1.97% และ 2.18%) และดัชนีการงอกของข้าวพันธุ์ กข.81 และถั่วเขียว ซึ่งสมบัติดังกล่าวผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร ในขณะที่ความชื้น (41.67% และ 34.70%) EC (16.60 และ 17.26 dS/m) และ TP (0.121% และ 0.121%) ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร ส่วน OM พบว่ามีชุดทดลองที่ 1 (P) (31.50%) ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

สำหรับข้อเสนอแนะแนวทางในการศึกษาครั้งต่อไปควรเพิ่มระยะเวลาในการหมักให้นานกว่า 42 วัน และควบคุมความชื้นของปุ๋ยหมักให้มีความชื้นที่ 60% ตลอดระยะเวลาของการหมักเพราะความชื้นดังกล่าวจะส่งผลให้จุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายพลาสติก PBAT ได้ตลอดระยะเวลาในกระบวนการหมักปุ๋ย

เอกสารอ้างอิง

1. กองจัดการกากของเสียและสารอันตราย กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. รายงานสถานการณ์ สถานที่กำจัดขยะมูลฝอยชุมชนประเทศไทย ปี พ.ศ. 2566. กรมควบคุมมลพิษ [อินเทอร์เน็ต]. 2567 [เข้าถึงเมื่อ 6 ม.ค. 2568]. เข้าถึงได้จาก: https://www.pcd.go.th/wp-content/uploads/2024/05/pcdnew-2024-05-09_07-53-50_682275.pdf
2. ศุภสิริ แสงกระจ่าง, ปัทมา พลอยสว่าง, ปริณดา พรหมหิตาธร. ผลกระทบของพลาสติกต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม. วารสารพิษวิทยาไทย 2556;28(1):39-50.
3. สุกัญ จันทรประทุม. แนวทางการจัดการขยะพลาสติกยุควิถีชีวิตใหม่ (New Normal) เพื่อนำไปสู่ความยั่งยืน กรณีศึกษา: บุคลากรด้านสิ่งแวดล้อมของผู้ประกอบการพื้นที่นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด ตำบลมาบตาพุด อำเภอเมือง จังหวัดระยอง. รายงานค้นคว้าอิสระปริญญาโทบริหารบัณฑิต, คณะบริหารการพัฒนาสิ่งแวดล้อม สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์. กรุงเทพฯ; 2563.
4. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม. BCG in Action: สาขาพลังงาน วัสดุและเคมีชีวภาพ. กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม[อินเทอร์เน็ต]. 2563 [เข้าถึงเมื่อ 10 มี.ค. 2568]. เข้าถึงได้จาก <https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/bcg/bcg-in-action-energy-01.pdf>
5. Chandra R, Rustgi, R. Biodegradable polymers. Prog Polym Sci 1998;23(7):1273-335.
6. สุรวิรัตน์ บัวชื่น. การย่อยสลายผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพในดินที่เก็บในแต่ละภูมิภาคของไทย สมบัติทางเคมี และกายภาพของดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร, มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก; 2553.



7. ปาณิสรา ศิริบุรณย์. การย่อยสลายของวัสดุภาชนะบรรจุอาหารแบบใช้แล้วทิ้งในหลุมฝังกลบที่รับขยะเศษอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ; 2560.
8. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นวัตกรรมพลาสติกเพื่อสิ่งแวดล้อมจากพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ [อินเทอร์เน็ต]. 2560 [เข้าถึงเมื่อ 26 ต.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก <https://www3.rdi.ku.ac.th/?p=23710>
9. ศูนย์พัฒนาประมงแห่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้. พลาสติกชีวภาพย่อยสลายได้ (Biodegradable Plastic). [อินเทอร์เน็ต]. 2565 [เข้าถึงเมื่อ 26 ต.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก <http://www.seafdec.or.th/home/fishery-knowledge/miscellaneous/biodegradable-plastic>.
10. บุญเกิด ศิริพงษ์. การศึกษาองค์ประกอบและอิทธิพลของปุ๋ยหมักที่ใช้ทดสอบการสลายตัวของพลาสติกชีวภาพต่อการชะละลายธาตุอาหารพืชในดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร, มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก; 2553.
11. Tiquia SM. Microbial transformation of nitrogen during composting. Microbiology of Composting 2002;237-45.
12. ชมนัญญา บุญมี. การย่อยสลายพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด. วิทยานิพนธ์ดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา), บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ; 2558.
13. กรมพัฒนาที่ดิน. คู่มือการปฏิบัติงาน การวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางกายภาพ. [อินเทอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 26 ต.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก <https://www.ddd.go.th/PMQA/2553/Manual/OSD-04.pdf>
14. กรมพัฒนาที่ดิน. คู่มือการปฏิบัติงาน การวิเคราะห์พืช ปุ๋ย และสิ่งปรับปรุงดิน. [อินเทอร์เน็ต]. 2553 [เข้าถึงเมื่อ 26 ต.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก <https://www.ddd.go.th/PMQA/2553/Manual/OSD-07.pdf>
15. Frančáková H, Lišková M, Bojnanská T, Mareček J. Germination Index as an indicator of malting potential. Czech J Food Sci 2012;30(4):377-84.
16. ฉัตรชัย จันทรวงเด่น. การทำปุ๋ยหมัก. วารสาร MTEC ฉบับเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2550;48-54.
17. กรมวิชาการเกษตร. ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548. ราชกิจจานุเบกษา 2548; 112(109ง),9-10.
18. Ko HJ, Kim KY, Hyeon T, Kim HT. Evaluation of maturity parameters and heavy metal contents in composts made from animal manure. Waste management 2008;28(5):813-20.
19. ดวงฤทัย เขมะไชเวช, ชกชนม์ แสงจันทร์, พลพัฒน์ รวมเจริญ, สุชีวรรณ ยอยรู้รอบ. การย่อยสลายทางชีวภาพของแผ่นพลาสติกชีวภาพจากแป้งมันสำปะหลังและแป้งสาคู. วารสารหน่วยงานวิจัยวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ 2564;13(1):60-70.
20. Singh B, Sharma N. Mechanistic implications of plastic degradation. Polym Degrad Stab 2008;93(3):561-84.
21. ทองปักษ์ ดอนประจำ. การพัฒนาถังปฏิกริยาย่อยสลายพลาสติกที่เหมาะสมกับชุมชน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น; 2562.



พันธุศาสตร์ระดับเซลล์ของปลาซิวควายในแม่น้ำมูล จังหวัดสุรินทร์

Cytogenetic Characterization of Myers' silver rasbora (*Rasbora myersi*), in Mun River, Surin Province

กษมา ด่านวันดี¹, สำเนาว์ เสาวกุล¹, ศรัณย์ จำรัสธนสาร² และ กฤติมา กษมาวุฒิ^{1*}

¹คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ สุรินทร์ 32000

²คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ บุรีรัมย์ 31000

Kasama Danwandee¹, Samnao Saowakoon¹, Sarun Jumrusthanasan² and
Krittima Kasamawut^{1*}

¹Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Surin,
32000

²Faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Buriram, 31000

*Corresponding author: krittima.sa@rmuti.ac.th

Received: 7 February 2025/ Revised: 16 May 2025/ Accepted: 19 May 2025

บทคัดย่อ

การศึกษาแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาซิวควาย (*Rasbora myersi*) โดยทำการรวบรวมปลาซิวควายจากแม่น้ำมูล อำเภотаตุม จังหวัดสุรินทร์ คัดแยกเพศปลาและคัดเลือกปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว มาทำการศึกษา โดยเตรียมโครโมโซมด้วยวิธีทางตรง (Direct Method) ย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา (Conventional Staining Technique) และเทคนิคการย้อมแถบสีแบบนอร์ (Ag-NOR Banding Technique) พบว่าปลาซิวควายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 50 แห่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 90 แคโรไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 4 แห่ง เมทาเซนทริกขนาดกลางจำนวน 4 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 6 แห่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลางจำนวน 6 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 8 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดกลางจำนวน 10 แห่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็กจำนวน 2 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 2 แห่ง เทโลเซนทริกขนาดกลางจำนวน 4 แห่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็กจำนวน 4 แห่ง โดยไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้กับปลาเพศเมีย อีกทั้งบริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 ยังพบตำแหน่งของนอร์ (NORs) ปลาซิวควายมีสูตรแคโรไทป์ คือ $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + L^t_2 + M^m_4 + M^{sm}_6 + M^a_{10} + M^t_4 + S^3_2 + S^t_4$

คำสำคัญ: ปลาซิวควาย โครโมโซม แคโรไทป์ อิดิโอแกรม นอร์

Abstract

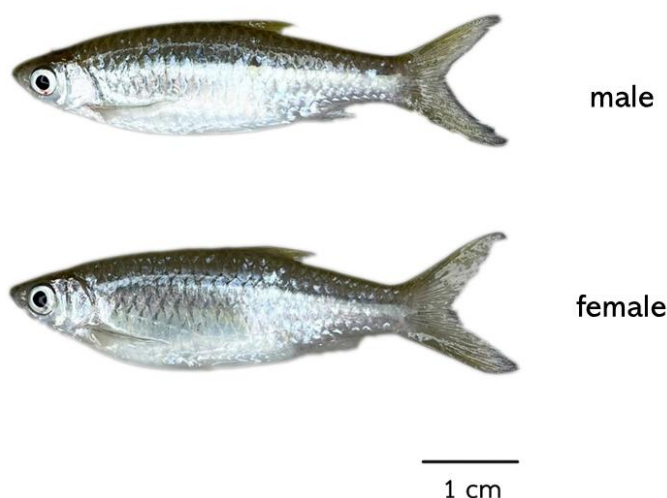
The karyotype and standardized idiogram of Myers' silver rasbora (*Rasbora myersi*), collected from the Mun River, Ta Tum District, Surin Province, were examined. The fish were sexed, and 10 males and 10

females were selected for the study. Chromosomes were prepared using the direct method, and chromosome staining was performed using the conventional staining technique and the Ag-NOR banding technique. The results showed that the diploid number of Myers' Silver Rasbora was $2n = 50$ and the fundamental number (NF) was 90 in both males and females. The types of metaphase chromosomes were as follows: 4 large metacentric, 4 medium metacentric, 6 large submetacentric, 6 medium submetacentric, 8 large acrocentric, 10 medium acrocentric, 2 small acrocentric, 2 large telocentric, 4 medium telocentric and 4 small telocentric. However, no of strange sized chromosomes related to sex were observed. The region adjacent to the telomere of the short arm of chromosome pair 5 showed clearly observable nucleolar organizer regions (NORs). The karyotype formula of Myers' Silver Rasbora is as follows: $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + L^t_2 + M^m_4 + M^{sm}_6 + M^a_{10} + M^t_4 + S^a_2 + S^t_4$

Keywords: Myers' silver rasbora, Chromosomes, Karyotype, Idiogram, NORs

บทนำ

ปลาซิวควาย (*Rasbora myersi*) เป็นปลาที่มีเกล็ดและครีบสีเงิน ซึ่งแตกต่างจากปลาสกุล *Rasbora* ชนิดอื่นที่มักมีสีสันสดใส [1] (ภาพที่ 1) โดยสามารถเจริญเติบโตเต็มที่จนมีความยาวประมาณ 7.3 เซนติเมตร และอาศัยอยู่บริเวณพื้นน้ำและกลางน้ำในลำธารน้ำจืดเขตร้อนและป่าพรุ [1, 2] ปลาชนิดนี้มีการกระจายพันธุ์เป็นบริเวณกว้างในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยพบมากในประเทศมาเลเซียและอินโดนีเซีย [1] ในด้านอนุกรมวิธาน ปลาสกุล *Rasbora* ถือเป็นกลุ่มที่มีลักษณะไม่เฉพาะเจาะจง เนื่องจากลักษณะวินิจฉัยเฉพาะชนิดยังไม่เพียงพอ และยังพบข้อจำกัดในการจำแนกทางสัณฐาน [3] ปัจจุบันปลาในวงศ์ Cyprinidae วงศ์ย่อย Danioninae สกุล *Rasbora* มีจำนวนชนิดทั้งหมด 77 ชนิด ซึ่งทำให้ปลาสกุลนี้มีความหลากหลายของชนิดสูงที่สุด [4, 5] บางชนิดมีลักษณะภายนอกที่คล้ายคลึงกันมาก การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจมีข้อจำกัดในการจัดจำแนกชนิด การประยุกต์ใช้วิธีการทางเซลล์อนุกรมวิธาน (Cytotaxonomy) โดยอาศัยความรู้ด้านพันธุศาสตร์ระดับเซลล์ ซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญในการถ่ายทอดพันธุกรรม จึงช่วยเพิ่มความแม่นยำในการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต [6] ความรู้พื้นฐานและข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ของปลาชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาหลายด้าน โดยเฉพาะในด้านเซลล์อนุกรมวิธาน



ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปลาซิวควาย (แถบมาตราส่วน 1 เซนติเมตร)



วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้ดำเนินการภายใต้การรับรองการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ รหัสโครงการ 03-67-015 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน กระทรวงอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม โดยการดำเนินการแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน คือ การรวบรวมตัวอย่างปลาชิวควาย การเตรียมโครโมโซมและย้อมสีโครโมโซม การตรวจสอบโครโมโซม การจัดทำแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐาน

การเก็บตัวอย่าง

รวบรวมปลาชิวควายจากแม่น้ำมูล อำเภอน้ำขุ่น จังหวัดสุรินทร์ และนำมาเลี้ยงในโรงเรือนเพื่อลดความเครียดและปรับสภาพปลา จากนั้นสุ่มเลือกตัวอย่างปลาเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว มาทำการศึกษา

การเตรียมโครโมโซม

ทำการศึกษาโดยเริ่มจากการวัดความยาวและชั่งน้ำหนักปลาชิวควายแล้วบันทึกข้อมูล จากนั้นฉีดสารโคชิซิน (Colchicine) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เข้าบริเวณช่องท้อง อัตราส่วน 1 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำหนักตัวปลาทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำการการุณยฆาตด้วยความเย็น จากนั้นผ่าตัดบริเวณช่องท้องเพื่อตัดเอาตัวอย่างไต มาแช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ บดตัวอย่างไตให้ละเอียด แล้วถ่ายลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิกรัม จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 1,250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที รักษาสภาพเซลล์ด้วยน้ำยาคงสภาพ (Canoy's Fixative) ปั่นเหวี่ยงซ้ำที่ความเร็ว 1,250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที ทำซ้ำ 3-4 รอบ จนได้ตะกอนขาวที่ก้นหลอด

เตรียมสไลด์โครโมโซมโดยนำตะกอนเซลล์ที่เตรียมไว้ มาหยดลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาดจำนวน 2-3 หยด โดยหยดห่างจากสไลด์ประมาณ 30 เซนติเมตร จากนั้นปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปย้อมสีในขั้นตอนต่อไป

การย้อมสีโครโมโซม

การย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา ดัดแปลงจาก [7] โดยใช้สีจีมาซ่า (Giemsa's Staining) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ที่เตรียมจาก Stock Giemsa's Solution ใน Sorensen's Buffer ย้อมสีโครโมโซมเป็นเวลา 45 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปตรวจสอบโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การย้อมแบบสีย้อมบอร์ ดัดแปลงจาก [8] โดยอบสไลด์ที่ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นหยดซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 50 จำนวน 4 หยด และเจลาติน (Gelatin) ความเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 2 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำเข้าตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำสะอาด ผึ่งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปตรวจสอบโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การตรวจสอบโครโมโซม

นำสไลด์ที่ย้อมสีแบบธรรมดาและย้อมแบบสีย้อมบอร์มาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Nikon eclipse e 100) เพื่อตรวจหาเซลล์ในระยะเมทาเฟสที่มีโครโมโซมไม่ซ้อนทับกันและกระจายตัวดี จากนั้นถ่ายภาพโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่ติดตั้งระบบถ่ายภาพแบบดิจิทัลด้วยกำลังขยาย 1,000 เท่า

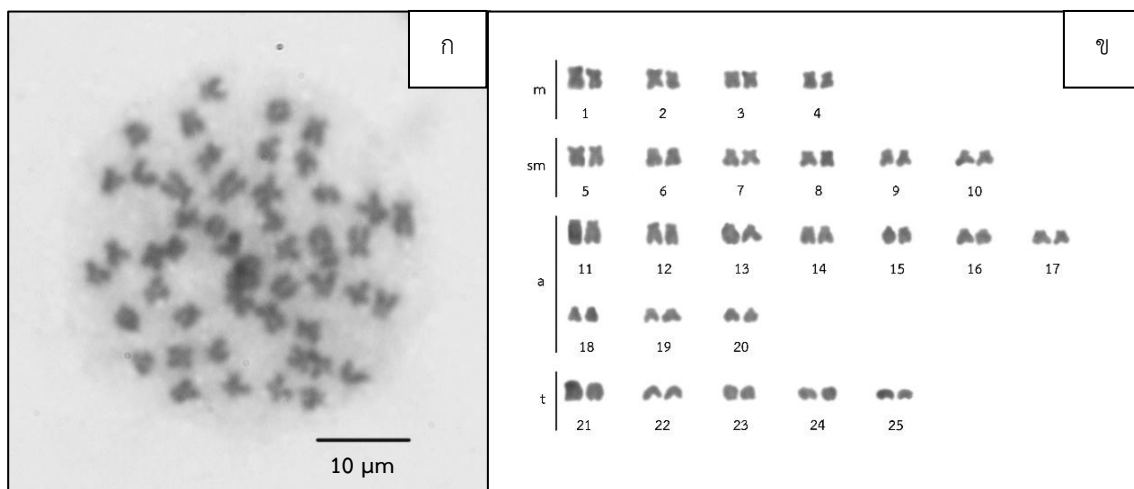
การจัดทำแคโรไทป์และอิดิโอแกรมมาตรฐาน

ศึกษารายละเอียดโครโมโซม โดยตรวจสอบจำนวน ชนิด และขนาด โดยใช้โครโมโซมในระยะเมทาเฟสจำนวน 20 เซลล์ เป็นตัวแทน จากนั้นจับคู่โครโมโซมที่เหมือนกัน (Homologous Chromosome) หาค่าความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Length of Short Arm; Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (Length of Long Arm; Ll) ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (Total Length; LT) ค่า Relative Length (RL) และ Centromeric Index (CI) เพื่อระบุชนิดของโครโมโซม จำแนกขนาดของโครโมโซมออกเป็น 3 ขนาด ได้แก่ ขนาดใหญ่ (Large = L) ขนาดกลาง (Medium = M) และขนาดเล็ก (Small = S) จากนั้นจัดเรียงโครโมโซมตามความยาวของแต่ละคู่จากมากไปน้อย และระบุหมายเลขของโครโมโซมแต่ละคู่ไว้ด้านล่าง วางแท่งโครโมโซมให้แขนข้างสั้นอยู่ด้านบน แขนข้างยาวอยู่ด้านล่าง และวางแท่งโครโมโซมให้ตำแหน่งของปลายแขนข้างยาวอยู่ในระนาบเดียวกัน [9]

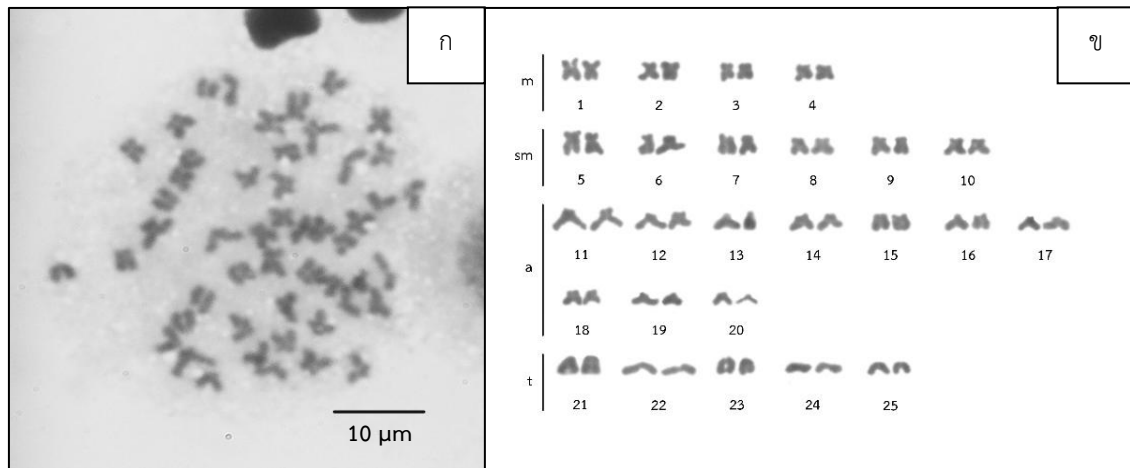
จัดทำอิดิโอแกรมโดยนำค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมและตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ โดยใช้เซลล์ระยะเมทาเฟส จากการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดาและการย้อมแถบสีแบบนอร์จำนวน 20 เซลล์ นำมาจัดโดยการแยกชนิดและวัดความยาวของแขนข้างสั้นและแขนข้างยาวของโครโมโซมทุกคู่ จากนั้นนำค่าเฉลี่ยความยาวของโครโมโซมแต่ละคู่มาจัดทำกราฟ โดยกำหนดแกนตั้ง (Y) และแกนนอน (X) เป็นลำดับของโครโมโซมคู่ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดไปหาคู่ที่เล็กที่สุด

ผลการวิจัย

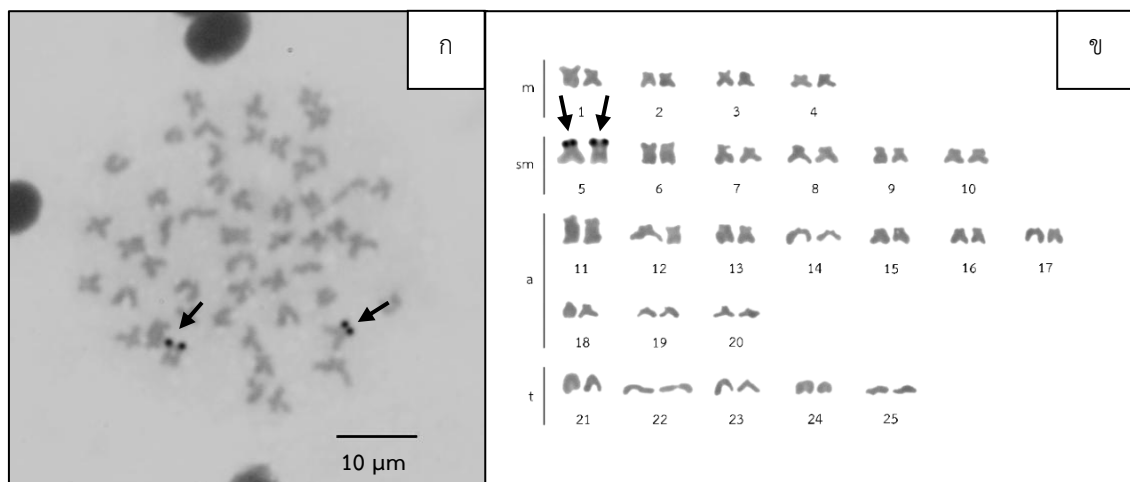
ผลจากการตรวจสอบโครโมโซมของปลาชิวควย (*Rasbora myersi*) จากแม่น้ำมูล อำเภอน้ำขุ่น จังหวัดสุรินทร์ โดยเตรียมโครโมโซมด้วยวิธีทางตรง ย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบธรรมดา (ภาพที่ 2 และ 3) และเทคนิคการย้อมแถบสีแบบนอร์ (ภาพที่ 4 และ 5) พบว่าปลาชิวควยมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 90 แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 4 แท่ง เมทาเซนทริกขนาดกลางจำนวน 4 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 6 แท่ง ซับเมทาเซนทริกขนาดกลางจำนวน 6 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 8 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดกลางจำนวน 10 แท่ง อะโครเซนทริกขนาดเล็กจำนวน 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดใหญ่จำนวน 2 แท่ง เทโลเซนทริกขนาดกลางจำนวน 4 แท่ง และเทโลเซนทริกขนาดเล็กจำนวน 4 แท่ง โดยไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้กับปลาเพศเมีย อีกทั้งบริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 ยังพบตำแหน่งของนอร์ (NORs) (ภาพที่ 6) ปลาชิวควยมีสูตรแคริโอไทป์ คือ $2n (50) = L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + L^t_2 + M^m_4 + M^{sm}_6 + M^a_{10} + M^t_4 + S^a_2 + S^t_4$ (ตารางที่ 1)



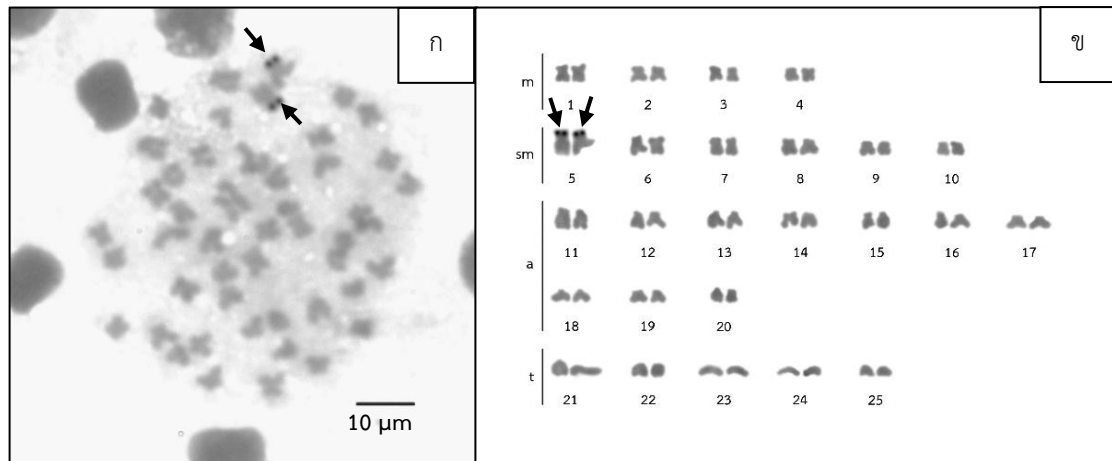
ภาพที่ 2 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (ก) แถบมาตราส่วน 10 ไมโครเมตร และแคริโอไทป์ (ข) ของปลาชิวควยเพศผู้ (*Rasbora myersi*, $2n = 50$) ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และ t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก)



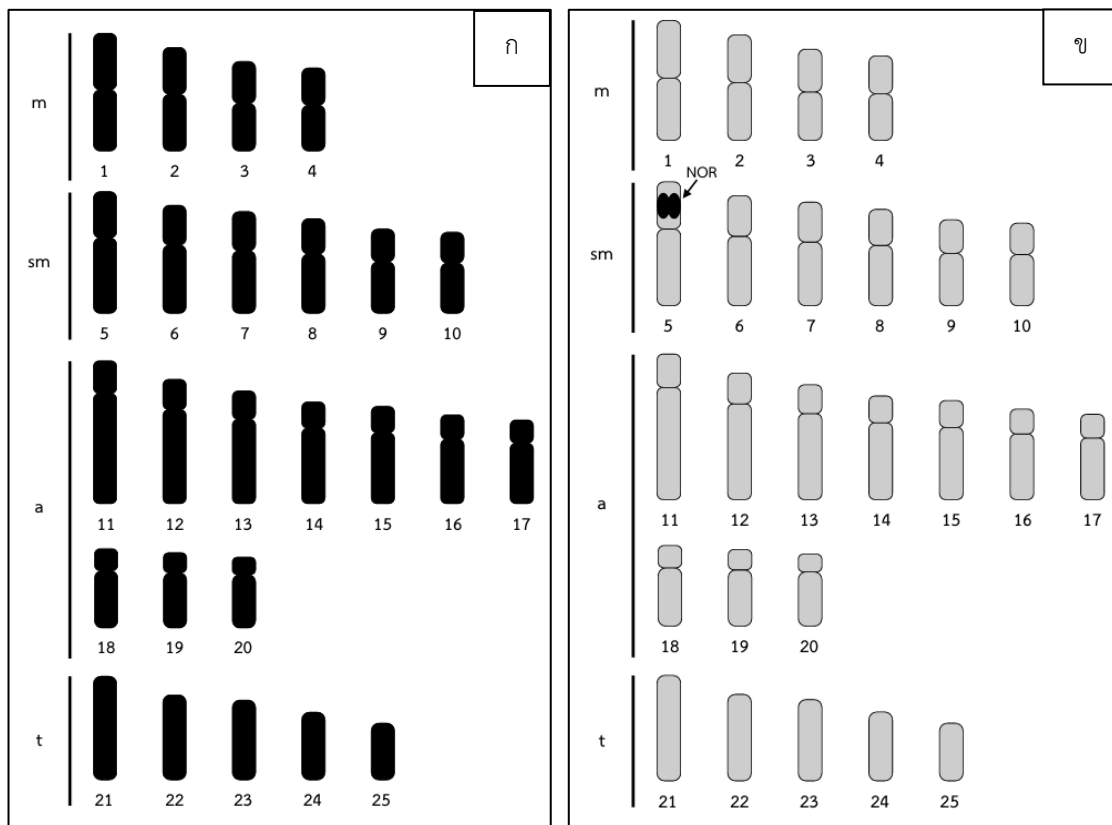
ภาพที่ 3 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (ก) แถบมาตราส่วน 10 ไมโครเมตร และแคโรไทป์ (ข) ของปลาชิวควายเทศเมีย (*Rasbora myersi*, $2n = 50$) ด้วยวิธีการย้อมสีโครโมโซมแบบธรรมดา (m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนตริก และ t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนตริก)



ภาพที่ 4 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (ก) แถบมาตราส่วน 10 ไมโครเมตร และแคโรไทป์ (ข) ของปลาชิวควายเทศผู้ (*Rasbora myersi*, $2n = 50$) ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบบอร์ ลูกศรแสดงตำแหน่งของนอร์บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 (m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนตริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนตริก และ t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนตริก)



ภาพที่ 5 โครโมโซมระยะเมทาเฟส (ก) แถบมาตราส่วน 10 ไมโครเมตร และแคโรไทป์ (ข) ของปลาชิวควายเทศเมีย (*Rasbora myersi*, $2n = 50$) ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบบอร์ ลูกศรแสดงตำแหน่งของนอร์บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 (m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก และ t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก)



ภาพที่ 6 อิดิโอแกรมมาตรฐานของปลาชิวควาย (*Rasbora myersi*, $2n=50$) ด้วยวิธีการย้อมสีแบบธรรมดา (ก) และวิธีการย้อมแถบสีแบบบอร์ (ข) ลูกศรแสดงตำแหน่งของนอร์บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 5 (m = โครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก, t = โครโมโซมชนิดเทโลเซนทริก)



ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Length of Short Arm; Ls), ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (Length of Long Arm; Ll), ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมแต่ละคู่ (Total Length; LT), ค่า Relative Length (RL), ค่า Centromeric Index (CI) ขนาด และชนิดของโครโมโซมแต่ละแท่งจากเซลล์ระยะเมทาเฟส จำนวน 20 เซลล์ ของปลาชิวควาย (*Rasbora myseri*, $2n=50$)

คู่ที่	Ls	Ll	LT	RL $\pm$ SD	CI $\pm$ SD	ขนาด	ชนิด
1	42.36	45.98	88.34	0.0501 $\pm$ 0.0024	0.5205 $\pm$ 0.0235	ใหญ่	เมทาเซนตริก
2	35.34	42.39	77.73	0.0441 $\pm$ 0.0038	0.5453 $\pm$ 0.0076	ใหญ่	เมทาเซนตริก
3	31.46	35.58	67.03	0.0380 $\pm$ 0.0016	0.5307 $\pm$ 0.0173	กลาง	เมทาเซนตริก
4	28.18	34.14	62.32	0.0353 $\pm$ 0.0011	0.5479 $\pm$ 0.0035	กลาง	เมทาเซนตริก
5*	34.77	56.38	91.15	0.0517 $\pm$ 0.0048	0.6185 $\pm$ 0.0099	ใหญ่	ซับเมทาเซนตริก
6	30.17	50.98	81.15	0.0460 $\pm$ 0.0030	0.6282 $\pm$ 0.0148	ใหญ่	ซับเมทาเซนตริก
7	29.54	46.83	76.37	0.0433 $\pm$ 0.0032	0.6132 $\pm$ 0.0070	ใหญ่	ซับเมทาเซนตริก
8	26.80	44.19	71.00	0.0403 $\pm$ 0.0027	0.6224 $\pm$ 0.0142	กลาง	ซับเมทาเซนตริก
9	24.44	38.75	63.19	0.0358 $\pm$ 0.0022	0.6132 $\pm$ 0.0122	กลาง	ซับเมทาเซนตริก
10	22.97	37.83	60.80	0.0345 $\pm$ 0.0015	0.6222 $\pm$ 0.0116	กลาง	ซับเมทาเซนตริก
11	24.88	82.30	107.18	0.0608 $\pm$ 0.0025	0.7679 $\pm$ 0.0334	ใหญ่	อะโครเซนตริก
12	22.66	70.30	92.96	0.0527 $\pm$ 0.0011	0.7563 $\pm$ 0.0321	ใหญ่	อะโครเซนตริก
13	21.15	63.05	84.20	0.0477 $\pm$ 0.0020	0.7488 $\pm$ 0.0420	ใหญ่	อะโครเซนตริก
14	19.67	56.44	76.11	0.0432 $\pm$ 0.0014	0.7416 $\pm$ 0.0348	ใหญ่	อะโครเซนตริก
15	19.33	53.21	72.55	0.0411 $\pm$ 0.0010	0.7335 $\pm$ 0.0341	กลาง	อะโครเซนตริก
16	18.25	48.42	66.67	0.0378 $\pm$ 0.0015	0.7263 $\pm$ 0.0323	กลาง	อะโครเซนตริก
17	17.01	45.52	62.53	0.0355 $\pm$ 0.0017	0.7279 $\pm$ 0.0236	กลาง	อะโครเซนตริก
18	16.16	42.99	59.14	0.0335 $\pm$ 0.0011	0.7268 $\pm$ 0.0221	กลาง	อะโครเซนตริก
19	14.75	41.54	56.29	0.0319 $\pm$ 0.0019	0.7380 $\pm$ 0.0336	กลาง	อะโครเซนตริก
20	13.13	39.76	52.89	0.0300 $\pm$ 0.0027	0.7517 $\pm$ 0.0342	เล็ก	อะโครเซนตริก
21	0.00	77.60	77.60	0.0440 $\pm$ 0.0022	1.0000 $\pm$ 0.0000	ใหญ่	เทโลเซนตริก
22	0.00	63.57	63.57	0.0360 $\pm$ 0.0038	1.0000 $\pm$ 0.0000	กลาง	เทโลเซนตริก
23	0.00	59.83	59.83	0.0339 $\pm$ 0.0035	1.0000 $\pm$ 0.0000	กลาง	เทโลเซนตริก
24	0.00	50.67	50.67	0.0287 $\pm$ 0.0014	1.0000 $\pm$ 0.0000	เล็ก	เทโลเซนตริก
25	0.00	42.55	42.55	0.0241 $\pm$ 0.0025	1.0000 $\pm$ 0.0000	เล็ก	เทโลเซนตริก

หมายเหตุ: * โครโมโซมที่พบตำแหน่งนอร์ (NORs)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ปลาชิวควายมีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ ($2n$) เท่ากับ 50 แท่ง มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (NF) เท่ากับ 90 แคริโอไทป์ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ 4 แท่ง ขนาดกลาง 4 แท่ง โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนตริกขนาดใหญ่ 6 แท่ง ขนาดกลาง 6 แท่ง โครโมโซมชนิดอะโครเซนตริกขนาดใหญ่ 8 แท่ง ขนาดกลาง 10 แท่ง ขนาดเล็ก 2 แท่ง และโครโมโซมชนิดเทโลเซนตริกขนาดใหญ่ 2 แท่ง ขนาดกลาง 4 แท่ง ขนาดเล็ก 4 แท่ง สามารถเขียนสูตรแคริโอไทป์ดังนี้ $2n$ (50)



$= L^m_4 + L^{sm}_6 + L^a_8 + L^t_2 + M^m_4 + M^{sm}_6 + M^a_{10} + M^t_4 + S^a_2 + S^t_4$ อีกทั้งไม่พบความแตกต่างของโครโมโซมเพศระหว่างปลาเพศผู้กับปลาเพศเมีย จึงทำให้ไม่สามารถระบุโครโมโซมเพศของปลาได้ นอกจากนี้โครโมโซมคู่ที่ 5 (โครโมโซมชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่) เป็นโครโมโซมเครื่องหมาย เนื่องจากพบตำแหน่งของนอร์ (NORs) บริเวณแขนข้างสั้นของโครโมโซม ซึ่งการศึกษานี้สอดคล้องกับธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากต่น [10] ที่มีการศึกษาในปลาชนิดเดียวกัน (*R. myersi*) พบจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ เท่ากับ 50 มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน เท่ากับ 100 อย่างไรก็ตามพบว่ามีจำนวนโครโมโซมไม่มีความแปรผันเมื่อเปรียบเทียบกับปลาสกุลเดียวกัน (*Rasbora* sp.) ที่เคยมีการศึกษามาก่อนหน้านี้ เช่น ปลาฉิวผอม (*Rasbora agilis*) ปลาฉิวหลังจุด (*R. dorsiocellata*) ปลาฉิวหลังแดง (*R. rubrodorsalis*) [11] ปลาฉิวทอง (*R. einthovenii*) [12] ปลาฉิวหางดอก (*R. caudimaculata*) ปลาฉิวควายแถบดำ (*R. paviei*) และปลาฉิวควาย (*R. retrodorsalis*) [10] ปลาฉิวควาย (*R. aurotaenia*) [13] (ตารางที่ 2) แต่จะพบรูปแบบแคโรไทป์มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ชนิดของโครโมโซมที่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกัน ที่มีถิ่นที่อยู่อาศัยต่างกัน อาจส่งผลให้ปลาในกลุ่มประชากรนั้น ๆ มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ โครโมโซมพื้นฐาน และชนิดของโครโมโซมที่แตกต่างกันออกไป [14] และการใช้เกณฑ์ในการจำแนกชนิดของโครโมโซมที่ต่างกัน นอกจากนี้ความแตกต่างของโครโมโซมอาจเกิดขึ้นได้จากการต่อสลับแบบใช้เซนโทรเมียร์ร่วมกัน (Pericentric Inversion) จึงทำให้รูปแบบโครโมโซมเปลี่ยนแปลงแม้จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์จะเท่าเดิม หรือสิ่งแวดลอมที่อยู่อาศัยสามารถก่อให้เกิดความแปรผันของจำนวนโครโมโซมทำให้รูปแบบโครโมโซมเปลี่ยนแปลงได้ [15] อย่างไรก็ตามการมีจำนวนแขนโครโมโซมมากบ่งบอกได้ว่าปลาชนิดนั้นอาจจะมีวิวัฒนาการที่สูงกว่าปลาที่มีจำนวนแขนโครโมโซมที่น้อยกว่า [16]

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการศึกษาแคโรไทป์ของปลาในสกุล *Rasbora* ในประเทศไทย

ชนิด	2n	NF	สูตรแคโรไทป์	NOR	พื้นที่	อ้างอิง
<i>Rasbora agilis</i>	50	100	24m+26sm	-	- พรุโตะแดง จ.นราธิวาส	[11]
<i>R. aurotaenia</i>	50	100	14m+26sm+2st+8a	-	-	[13]
	50	98	8m+16sm+24a+2t	2	- แม่น้ำเจ้าพระยา - แม่น้ำสงคราม	[17]
<i>R. borapetensis</i>	50	88	24m+14sm+12t	-	-	[18]
	50	98	8m+18sm+20a+4t	-	- แม่น้ำสาละวิน - แม่น้ำสงคราม - แม่น้ำแม่กลอง	[19]
<i>R. daniconius</i>	50	90	32m+8sm+2st+8t	-	-	[18]
<i>R. dorsiocellata</i>	50	92	18m+24sm+8t	-	- แม่น้ำโกลก จ.นราธิวาส	[11]
<i>R. einthovenii</i>	50	100	16m+18sm+16a	2	- ป่าพรุสิรินธร จ.นราธิวาส	[12]
<i>R. paviana</i>	50	98	8m+16sm+24a+2t	2	- แม่น้ำแม่กรอง	[17]
					- ป่าพรุสิรินธร	
					- แม่น้ำป่าสัก	
					- แม่น้ำชี	
<i>R. paviei</i>	50	100	10m+24sm+16st	-	-	[10]
<i>R. retrodorsalis</i>	50	100	26m+10sm+2st+12a	-	-	[10]
<i>R. rubrodorsalis</i>	50	82	16m+16sm+18t	-	- จ.สกลนคร	[11]



ชนิด	2n	NF	สูตรแคโรไทป์	NOR	พื้นที่	อ้างอิง
<i>R. sumatrana</i>	50	92	26m+16sm+2st+6a	-	- จ.พัทลุง	[20]
<i>R. trillineta</i>	50	92	26m+16sm+2st+6t	-	-	[18]
	50	100	12m+24sm+14a	-	- แม่น้ำสาละวิน - แม่น้ำสงคราม - แม่น้ำแม่กลอง - ป่าพรุสิรินธร จ.นราธิวาส	[19]
<i>R. myersi</i>	50	100	20m+14sm+6st+10a	-	-	[10]
	50	90	8m+12sm+20a+10t ($L_4^m + L_6^{sm} + L_8^a + L_2^t$ $+ M_4^m + M_6^{sm} + M_{10}^a +$ $M_4^t + S_2^a + S_4^t$)	2	แม่น้ำมูล จ. สุรินทร์	การศึกษา ในครั้งนี้

หมายเหตุ : 2n = โครโมโซมดิพลอยด์, NF = โครโมโซมพื้นฐาน, m = โครโมโซมเมทาเซนทริก, sm = โครโมโซมซับเมทาเซนทริก, a = โครโมโซมอะโครเซนทริก, st = โครโมโซมซับเทโลเซนทริก และ t = โครโมโซมเทโลเซนทริก, NOR = โครโมโซมเครื่องหมายที่มีตำแหน่งนอร์

ข้อมูลตำแหน่งนอร์ (NORs) จากการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาชิวควาย เป็นองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญต่อการศึกษาด้านอนุกรมวิธานและวิวัฒนาการของปลา ข้อมูลนี้สามารถใช้เปรียบเทียบกับแคโรไทป์ของปลาสกุล *Rasbora* ชนิดอื่น และประชากรปลาชิวควายในแหล่งอาศัยต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์ความแปรผันของโครโมโซม รวมถึงใช้กำหนดหน่วยจัดการประชากร วางแผนการเพาะพันธุ์เพื่อรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และตรวจสอบความผิดปกติของโครโมโซมที่อาจเกิดจากพันธุกรรมหรือผลกระทบจากสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

1. Brittan MR. A revision of the Indo-Malayan freshwater fish genus *Rasbora*. Monogr Inst Sci Technol 1954;3:1–224.
2. Sule HA, Ismail A, Amal MNA, Zulkifli SZ, Roseli MFAM, Shohaimi S. Water quality influences on fish occurrence in peat swamp forest and its converted areas in North Selangor, Malaysia. Sains Malaysiana 2018;47(11):2589–600.
3. Muchlisin ZA, Fadlia N, Siti-Azizah M.N. Genetic variation and taxonomy of *Rasbora roulei* (Cyprinidae) from Lake Laut Tawar, Indonesia. J Ichthyol 2012;52(4):284–90.
4. Eschmeyer WN. Catalog of fishes. electronic version [Internet]. 2013 [cited 2025 Feb 4]. Available from: <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
5. Froese R, Pauly D. FishBase: world wide. web electronic publication [Internet]. 2013 [cited 2025 Feb 4]. Available from: <http://www.fishbase.org>
6. Esmaeili HR, Ebrahimi M, Saifali M. Karyological analysis of five tooth-carps (Actinopterygii: Cyprinodontidae) from Iran. J Aquac 2008;39(2): 95–100.



7. Rooney DE. Human cytogenetics: constitutional analysis: a practical approach. Oxford: Oxford University Press; 2001.
8. Howell WM, Black DA. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a one-step method. *Experientia* 1980;36(8):1014–5.
9. Turpin R, Lejeune J. Les chromosomes humains. Paris: Gauthier-Villars; 1965.
10. ธวัช ดอนสกุล, วิเชียร มากตุ่น. คาร์ิโอไทป์ของปลาชีวหางดอก ชิวควายแถบดำ และชิวควายที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมสัมมนาวิชาการเพื่อเสนอผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปี 2545. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. กรุงเทพฯ; 2545. หน้า 1–7.
11. ธวัช ดอนสกุล, อัจฉริยา รังษิรุจิ, วิเชียร มากตุ่น. คาร์ิโอไทป์ของปลาชิวผอม ชิวหลังจุด ชิวหลังแดง ชิวเพชรน้อย และปลาชิวหนูที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ; 2552. หน้า 320–7.
12. นูรอิน ยีแสม, สิทธิศักดิ์ จันทรัตน์, พัน ยี่ลั่น. พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาชิวทอง (*Rasbora einthovenii*) บริเวณป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส. ว. วิจัยเทคโนโลยีการประมง 2562;13(2):58–68.
13. เกียรติกร สัตตะพันธุ์, ทักษิณา เหมยคำ. คาร์ิโอไทป์ของปลา 10 ชนิดในวงศ์ Cyprinidae. ว. วิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 2547;22(ฉบับพิเศษ):92–101.
14. Denton TE. Taxonomic implication of the karyotype of *Opsopoeodus emileae*. *Copeia* 1973;1:161–3.
15. อลงกลด แทนอมทอง. พันธุศาสตร์เซลล์ (Cytogenetics). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัย; 2554.
16. Nirchio M, Turner BJ, Perez JE, Gaviria JI, Cequea H. Karyotypes of three species of toadfish (Batrachoididae: Teleostei) from Venezuela. *Sci Mar* 2002;66(1):1–4.
17. Aiumsumang S, Phimphan C, Suwannapoom P, Chai-yanan W, Supiwong W, Tanomtong A. A comparative chromosome study on five minnow fishes (Cyprinidae, Cypriniformes) in Thailand. *Caryologia* 2021;74(1):89–96.
18. ธวัช ดอนสกุล, อนันต์ พุทธิยาสถาพร. คาร์ิโอไทป์ของปลาวงศ์ไซไพรินิดี 5 ชนิดที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติครั้งที่ 14 วันที่ 11-13 มีนาคม 2548. โรงแรมมิราเคิลแกรนด์คอนเวนชั่น. กรุงเทพฯ.; 2548. หน้า 217–22.
19. Aiumsumang S, Phimphan S, Tanomtong A, Supiwong W. Chromosome study of *Rasbora trilineata* and *Rasbora borapetensis* (Cyprinidae, Cypriniformes): revealed by conventional staining technique. *Sci Technol Eng J* 2022;8(2):29–39.
20. ธวัช ดอนสกุล, วิเชียร มากตุ่น. คาร์ิโอไทป์ของปลาพรหม ปลากระมัง ปลาแปบ และปลาชิวควายที่พบในประเทศไทย. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33 สาขาประมง วิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร ศึกษาาสตร์ มนุษยศาสตร์ สังคมศาสตร์ การจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม วันที่ 30 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ 2538. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ; 2538. หน้า 128–38.



คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับบทความเพื่อตีพิมพ์ใน วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

(Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิชาการทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประกอบด้วยสาขาวิชาต่าง ๆ ดังนี้

1. วิทยาศาสตร์ชีวภาพ ได้แก่ จุลชีววิทยา ชีววิทยา พันธุศาสตร์ และเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นต้น
2. วิทยาศาสตร์กายภาพ ได้แก่ เคมี ฟิสิกส์ คณิตศาสตร์ และสถิติ เป็นต้น
3. วิทยาศาสตร์สุขภาพ ได้แก่ แพทยศาสตร์ สัตวแพทยศาสตร์ เภสัชศาสตร์ เทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด

พยาบาลศาสตร์ และสาธารณสุขศาสตร์ เป็นต้น

4. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
5. วิทยาการคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ

โดยรับพิจารณาตีพิมพ์บทความวิจัย (research article) และบทความวิชาการ (review article) ทั้งรูปแบบภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ทั้งนี้ผลงานวิชาการที่ส่งมาจะต้องไม่เคยตีพิมพ์หรืออยู่ระหว่างการรอพิจารณาตีพิมพ์จากวารสารวิชาการอื่น

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ มีกำหนดออกวารสารปีละ 2 ฉบับ คือ ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน และฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม ซึ่งจะรับพิจารณาตีพิมพ์ผลงานวิชาการทั้งจากบุคคลภายในและภายนอกมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

หลักเกณฑ์การพิจารณาบทความ

บทความที่ส่งมาพิจารณาควรมีคุณค่าทางวิชาการ โดยผู้เขียนเป็นผู้ทำการทดลอง สร้างสรรค์ หรือเกี่ยวข้องกับงาน โดยปราศจากการคัดลอกผลงานวิจัยหรือบทความของผู้อื่นนำเสนอถึงแนวความคิดหรือหลักการใหม่ที่เป็นไปได้ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎี และนำไปสู่การพัฒนาหรือเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและการวิจัย มีความสมบูรณ์ในเนื้อหา ภาษา ตลอดจนความชัดเจนของสมมติฐานหรือวัตถุประสงค์

บทความจะได้รับการประเมินจากผู้ทรงคุณวุฒิผู้เชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้น ๆ จำนวน 3 คน ซึ่งกองบรรณาธิการสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขบทความ และอาจส่งกลับคืนให้ผู้เขียนแก้ไขเพิ่มเติมหรือพิมพ์ต้นฉบับใหม่ แล้วแต่กรณี เพื่อปรับปรุงบทความให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นก่อนการตีพิมพ์ ทั้งนี้ต้นฉบับที่ถูกต้องตามหลักเกณฑ์ของการเขียนที่กำหนดเท่านั้นจึงจะได้รับการพิจารณา และดำเนินการประเมินบทความก่อนการตีพิมพ์

การยอมรับบทความที่จะตีพิมพ์เป็นสิทธิของกองบรรณาธิการ และกองบรรณาธิการไม่รับผิดชอบความถูกต้องของเนื้อหา หรือความถูกต้องของบทความที่ส่งมาตีพิมพ์ทุกเรื่อง

ข้อกำหนดทั่วไปของการพิมพ์บทความ

1. พิมพ์ด้วยโปรแกรม Microsoft Word for Windows
2. พิมพ์บนกระดาษ A4 หนึ่งหน้าเดียว โดยมีระยะห่างจากขอบกระดาษด้านละ 1 นิ้ว (2.54 เซนติเมตร) และจัดพิมพ์เป็น 1 คอลัมน์
3. ใช้ตัวอักษรแบบ TH Sarabun New
4. ระยะห่างของการพิมพ์แบบ 1.5 line space พิมพ์แบบเสมอนหน้า-หลัง (justified)
5. การกำหนดขนาดและชนิดตัวอักษร



ข้อความ	ขนาด	ชนิด	การจัดหน้ากระดาษ
ชื่อเรื่อง (ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ)	18	ตัวหนา	กึ่งกลาง
ชื่อผู้เขียน	16	ตัวปกติ	กึ่งกลาง
ที่อยู่หรือหน่วยงานสังกัดของผู้เขียน	14	ตัวปกติ	กึ่งกลาง
อีเมลติดต่อเฉพาะผู้เขียนประสานงาน (corresponding author)	14	ตัวปกติ	กึ่งกลาง
หัวข้อบทคัดย่อ (abstract)	16	ตัวหนา	ชิดซ้าย
หัวข้อเรื่องใหญ่	14	ตัวหนา	ชิดซ้าย
หัวข้อเรื่องย่อย	14	ตัวหนา	ชิดซ้าย
บทคัดย่อ คำสำคัญ เนื้อเรื่อง (วิธีดำเนินการวิจัย ผลการวิจัย อภิปราย และสรุปผลการวิจัย กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง)	14	ตัวปกติ	ชิดซ้ายขวา
คำบรรยายรูปภาพ	14	ตัวปกติ	กึ่งกลาง
คำบรรยายตาราง	14	ตัวปกติ	ชิดซ้าย

รายละเอียดการจัดเตรียมต้นฉบับ

- ชื่อเรื่อง** มีทั้งชื่อเรื่องภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรสั้น กระชับ และสื่อความหมายตรงกับเรื่องที่ทำ สำหรับชื่อภาษาอังกฤษนั้น อักษรตัวแรกของภาษาอังกฤษให้พิมพ์ด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่
- ชื่อผู้เขียนและสถานที่ทำงาน** ชื่อผู้เขียนใช้ชื่อ-นามสกุลเต็ม ไม่ต้องระบุตำแหน่งชื่อ ตำแหน่งทางวิชาการ และคุณวุฒิ โดยให้มีการกำกับเลขยกกำลังต่อท้ายชื่อ สำหรับผู้เขียนประสานงาน (corresponding author) ให้ทำเครื่องหมายดอกจัน (*) ไว้ท้ายชื่อ พร้อมระบุหมายเลขโทรศัพท์และอีเมล สำหรับชื่อสถานที่ทำงานควรพิมพ์ให้ตรงกับตัวเลขยกกำลังที่กำกับไว้ท้ายชื่อผู้เขียน กรณีมีผู้เขียน จำนวน 2 คน ให้ใช้ “และ/and” คั่น สำหรับผู้เขียนมากกว่า 2 คน ขึ้นไป กรณีภาษาไทยให้เว้นวรรค 2 ครั้ง คั่น กรณีภาษาอังกฤษให้ใส่จุลภาค (,) คั่น และเว้นวรรค 1 ครั้ง ระหว่างแต่ละคน กรณีบทความเป็นรูปแบบภาษาไทย ให้จัดลำดับบทคัดย่อภาษาไทยขึ้นต้น และกรณีบทความเป็นรูปแบบภาษาอังกฤษ ให้จัดลำดับบทคัดย่อภาษาอังกฤษขึ้นต้น
- บทคัดย่อ** มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยนำเสนอสาระสำคัญของเรื่อง ครอบคลุมถึงวัตถุประสงค์ บทนำ วิธีดำเนินการวิจัย ผลการวิจัย อภิปรายและสรุปผลการวิจัย มีความยาวไม่เกิน 250 คำ
- คำสำคัญ** ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษอย่างละ 3-5 คำ ทั้งนี้ควรเลือกคำสำคัญที่เกี่ยวข้องกับบทความ
- เนื้อหา** รายละเอียดของการเตรียมต้นฉบับบทความแต่ละประเภทมีดังนี้

5.1 บทความวิจัย (research article) ความยาวไม่เกิน 12 หน้า (รวมเอกสารอ้างอิง ตาราง รูปภาพ และแผนภูมิ)

- **บทนำ** นำเสนอความสำคัญหรือที่มาของปัญหาวิจัย สาระสำคัญจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และสำหรับวัตถุประสงค์ของการวิจัยให้นำเสนอไว้ตอนท้ายของบทนำ
- **วิธีดำเนินการวิจัย** นำเสนอรายละเอียดที่เป็นของการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล
- **ผลการวิจัย** นำเสนอผลการวิจัยที่สมบูรณ์ ชัดเจน โดยอาจนำเสนอด้วยตาราง แผนภูมิ หรือรูปภาพ พร้อมมีการบรรยายประกอบ
- **อภิปรายและสรุปผลการวิจัย** เป็นการวิเคราะห์ ประเมิน และตีความผลการวิจัยว่าสอดคล้องกับวัตถุประสงค์หรือไม่ มีการเทียบเคียงผลการวิจัยกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง พร้อมการอ้างอิงหลักวิชาการหรือทฤษฎี และอาจมีข้อเสนอแนะประเด็นที่ควรทำวิจัยต่อไป



- **กิตติกรรมประกาศ** แสดงความขอบคุณต่อองค์กรหรือบุคคลที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยหรือให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ

- **เอกสารอ้างอิง** ควรเป็นบทความที่ได้รับการตีพิมพ์หรือกำลังจะได้รับการตีพิมพ์ และระบุรายการเอกสารที่นำมาใช้อ้างอิงให้ครบถ้วน โดยใช้ Vancouver style

5.2 บทความวิชาการ (review article) ความยาวไม่เกิน 12 หน้า (รวมเอกสารอ้างอิง ตาราง รูปภาพ และแผนภูมิ) นำเสนอเนื้อหาทางวิชาการที่ได้จากเอกสารวิชาการทั่วไป สามารถสอดแทรกความคิดเห็นของผู้เขียนที่มีการอ้างอิงจากหลักวิชาการประกอบบทความได้ ประกอบไปด้วย บทความทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ บทนำ เนื้อหา บทสรุป และเอกสารอ้างอิง

6. รูปภาพและตาราง

รูปภาพ

ความละเอียดของรูปภาพไม่น้อยกว่า 600 dpi สำหรับภาพขาว-ดำ และไม่น้อยกว่า 300 dpi สำหรับภาพสี ระบุลำดับที่ของรูปภาพ โดยใช้คำว่า “ภาพที่.....” (Figure.....) และคำบรรยายใต้ภาพอยู่ส่วนล่างกึ่งกลางของภาพ ส่วนที่เป็นสัญลักษณ์ให้นำเสนอในส่วนของคำบรรยายใต้ภาพ พร้อมทั้งแนบไฟล์รูปภาพที่ประกอบในเนื้อหาร่วมกับไฟล์เอกสารปกติดด้วย

ตาราง

ระบุลำดับที่ของตาราง โดยใช้คำว่า “ตารางที่.....” (Table.....) และคำบรรยายตารางอยู่ส่วนบนชิดขอบซ้ายของตาราง การนำรูปภาพ แผนภูมิ หรือตารางมาอ้างอิงประกอบในบทความจะต้องมีการอ้างอิงถึงแหล่งที่มาของข้อมูลให้ถูกต้อง ไม่ละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น

การเขียนเอกสารอ้างอิง

1. การอ้างอิงในเนื้อหา

การอ้างอิงในเนื้อหาใช้ระบบ Vancouver style ให้อ้างเลขลำดับที่ที่กำกับชื่อผู้แต่ง โดยระบุเลขลำดับที่ไว้ในวงเล็บท้ายข้อความตามลำดับการอ้างอิงก่อน-หลัง เช่น จิราวรรณ และคณะ [1] พบว่า *Geobacillus stearothermophilus* PTL38 ผลิตเอนไซม์ไลเปสที่สามารถทำงานได้ดีที่ค่าพีเอชเท่ากับ 6.0 และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 60 องศาเซลเซียส หรือมีการค้นพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกมะกรูดและกระชายมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกที่ดีที่สุด [2]

2. การอ้างอิงเอกสารท้ายบทความ

การอ้างอิงท้ายบทความใช้ระบบ Vancouver style โดยเรียงลำดับให้ตรงกับหมายเลขในเอกสารอ้างอิงที่ได้ทำการอ้างอิงในเนื้อหา

ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง

1. หนังสือหรือตำรา

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อเรื่อง. พิมพ์ครั้งที่. เมืองหรือสถานที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีที่พิมพ์.

1. สุรินทร์ ปิยะโชคณกุล. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2548.

2. Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. Molecular biology of the gene. 5th ed. San Francisco: Pearson Education, Inc.; 2004.

2. วารสาร

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อเรื่องหรือชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. ปีที่พิมพ์. ปีที่ (ฉบับที่): หน้า.

1. วรางคณา วิเศษมณี, กาญจนา หิรัญเพ็ง. ความเป็นพิษเฉียบพลันและการกลายพันธุ์จากสารมลพิษรวมในน้ำและตะกอนดิน กรณีศึกษาคลองขุดหมัน จังหวัดสมุทรปราการ. วารสาร มฉก. วิชาการ 2554;14(28):153-73.



2. Supakdamrongkul P, Bhumiratana A, Wiwat C. Characterization of an extracellular lipase from the biocontrol fungus, *Nomuraea rileyi* MJ and its toxicity toward *Spodoptera litura*. J Invertebr Pathol 2010;105(3):228-35.

3. รายงานจากการประชุมวิชาการ

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อเรื่อง. ใน: ชื่อคณะกรรมการ, editors. ชื่อเอกสารรายงานการสัมมนา วันที่ เดือน ปี; เมืองที่สัมมนา, ประเทศ. เมืองที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีที่พิมพ์. หน้า.

1. วรณา ศักดิ์สงส์, หิรัญญา จันทร์เกลี้ยง, ปิยาภรณ์ สุภักด์ดำรงกุล. การศึกษาประสิทธิภาพของเจลล้างมือผสมสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 2 วันที่ 21 มีนาคม 2557. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต. กรุงเทพฯ; 2557. หน้า 289-97.

2. Supakdamrongkul P, Wongthong A, Komkaew S. Production and characterization of a novel high-alkaline and thermal stable lipase from *Bacillus* sp. HCU3-2 and potential application as detergent formulation. In: proceedings of the 7th AOHUPO Congress and 9th International Symposium of the Protein Society of Thailand, August 6-8, 2014; Bangkok, Thailand; 2014. p. 259-68.

3. Deci EL, Ryan RM. A motivational approach to self: Integration in personality. In: Dienstbier R, editor. Nebraska Symposium on Motivation: Vol. 38. Perspectives on Motivation. Lincoln: University of Nebraska Press; 1991. p. 237-88.

4. พจนานุกรม

ชื่อพจนานุกรม. พิมพ์ครั้งที่. เมืองหรือสถานที่พิมพ์: สำนักพิมพ์; ปีที่พิมพ์. คำศัพท์; หน้า.

1. พจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2542. กรุงเทพฯ: นานมีบุ๊คพับลิเคชัน; 2546. หน้า 1488.

2. Stedmin's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p. 119-20.

5. วิทยานิพนธ์

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อวิทยานิพนธ์. ระดับปริญญาของวิทยานิพนธ์, ชื่อมหาวิทยาลัย. จังหวัด; ปีที่พิมพ์.

1. อัจฉรา คอประเสริฐศักดิ์. การศึกษาแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันและน้ำเสียประเภทไขมันสูง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ; 2542.

2. Darling CW. Giver of due regard: the poetry of Richard Wilbur. Ph.D. Thesis, University of Connecticut. USA; 1976.

6. หนังสือพิมพ์

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อเรื่อง. ชื่อหนังสือพิมพ์ วัน เดือน ปี; หน้า.

1. สายใจ ดวงมาลี. มาลาเรียลาม 3 จว.ได้ตอนบน สธ.เร่งคุมเข้มกันเชื้อแพร่หนัก. คม-ชัด-ลึก 7 มิถุนายน 2548; 25.

2. Di Rado A. Trekking through college: Classes explore modern society using the world of Star Trek. Los Angeles Time March 15, 1995; p. A3.

7. เว็บไซต์

ชื่อผู้แต่ง. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร [ประเภทของสื่อ]. ปีที่พิมพ์ [เข้าถึงเมื่อ]; ปีที่: [หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL ของเว็บไซต์
ที่อ้างอิงข้อมูลสืบค้น



1. ชีรเกียรติ เกิดเจริญ. นาโนเทคโนโลยีความเป็นไปได้และทิศทางในอนาคต. วารสารเทคโนโลยีวัสดุ [อินเทอร์เน็ต]. 2542 [เข้าถึงเมื่อ 13 ก.ค. 2558]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.nanotech.sc.mahidol.ac.th/index.html>

2. Macia E, Paris S, Chabre M. Binding of the pH and polybasic C-terminal domains of ARNO to phosphoinositides and to acidic lipids. Biochemistry [Internet].2001 [cited 2004 May 19]. Available from: <http://pubs.acs.org/cgibin/article.cgi/bichaw/2001/40/05pdf/bi005123a.pdf>

การส่งบทความ

การส่งบทความเพื่อลงตีพิมพ์ในวารสาร ให้ผู้เสนอจัดเตรียมต้นฉบับบทความและแบบเสนอบทความ โดยดำเนินการจัดส่งเอกสารดังกล่าวแบบออนไลน์ทางเว็บไซต์ของวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/scihcu/index> ดังรายละเอียดต่อไปนี้

กำหนดไฟล์เอกสารที่ต้องส่งทั้งแบบ MS Document และ PDF ไฟล์ ประกอบด้วย

1. แบบเสนอบทความ
2. ต้นฉบับบทความ
3. ไฟล์ภาพประกอบบทความ
4. เอกสารแสดงผลการตรวจการลอกวรรณกรรม (Plagiarism checking report) เช่น ระบบตรวจสอบอักขระวิสุทธิ และ

Turnitin

5. เอกสารการขอจริยธรรมงานวิจัย (โดยเฉพาะงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบในคนและสัตว์ทดลอง)

ทั้งนี้หากพบปัญหาในการส่งเอกสารแบบออนไลน์ โปรดติดต่อสอบถามมายังกองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

การติดต่อสอบถามข้อมูล

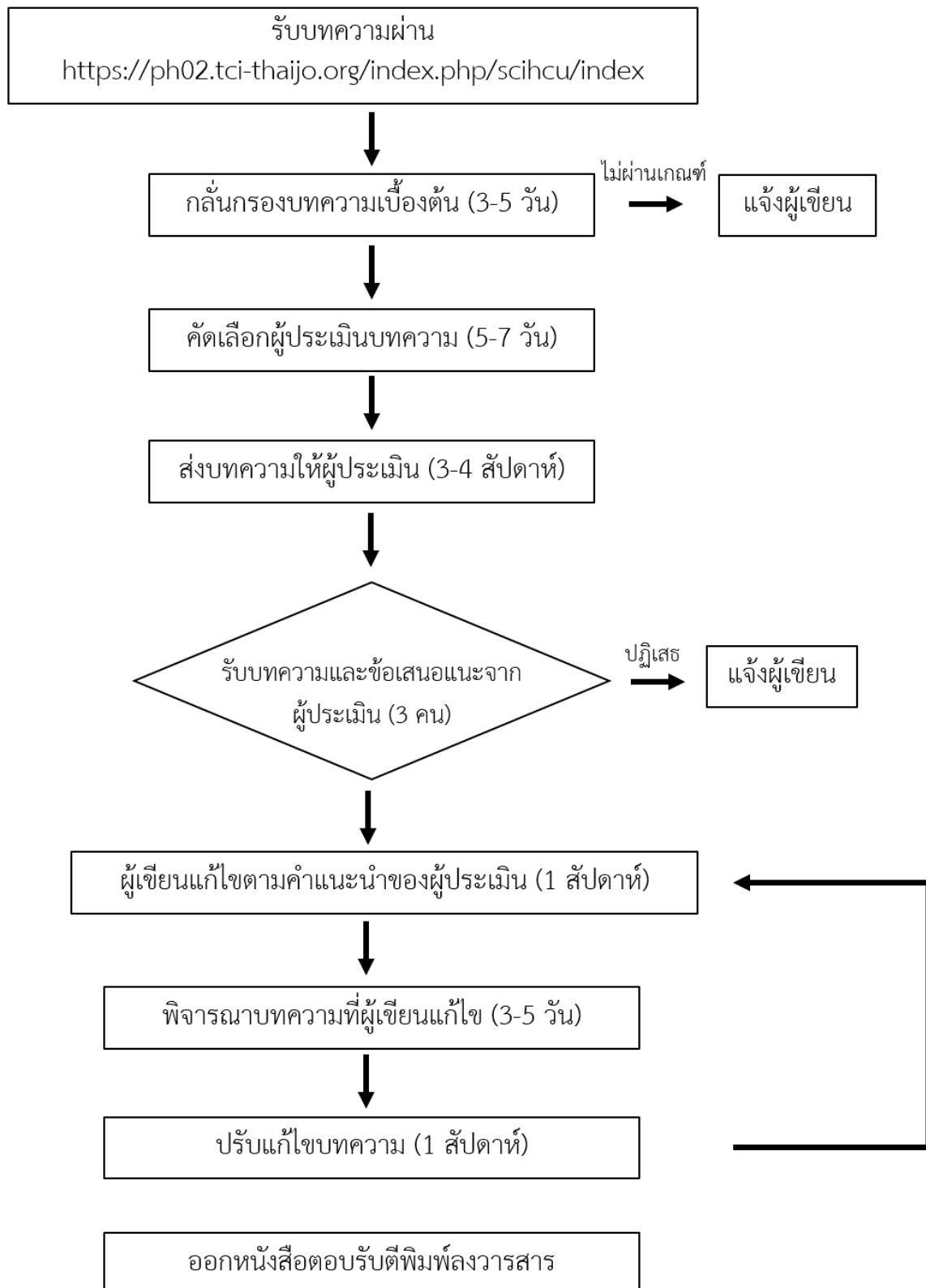
สามารถติดต่อสอบถามข้อมูลได้ที่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ เลขที่ 18/18 ถนนเทพรัตน กม.18 ตำบลบางโฉลง อำเภอบางพลี สมุทรปราการ 10540 โทรศัพท์ 02-312-6300 ต่อ 1180, 1213 โทรศัพท์มือถือ 084-9091766 อีเมล hcujournal.sci@gmail.com



เว็บไซต์วารสาร: <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/scihcu/index>



ขั้นตอนการส่งบทความลงวารสาร
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ห้วเจ็ยวเจลิมพระเก็ยรติ





แบบเสนอบทความเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ใน
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
(Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal)



วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ข้าพเจ้า [นาย/นาง/น.ส./ดร./ผศ./รศ./ศ./อื่น (ระบุ)].....

ขอส่ง ☐ บทความวิจัย ☐ บทความวิชาการ

สาขา ☐ วิทยาศาสตร์ชีวภาพ ☐ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ☐ วิทยาศาสตร์สุขภาพ

☐ วิทยาศาสตร์กายภาพ ☐ วิทยาการคอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีสารสนเทศ

ชื่อเรื่อง(ภาษาไทย).....

ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ).....

คำสำคัญ (ภาษาไทย).....

(ภาษาอังกฤษ).....

ผู้เขียนทั้งหมด (ภาษาไทย) เรียงลำดับตามรายชื่อในบทความ

- | | |
|---------|---------|
| 1. | 5. |
| 2. | 6. |
| 3. | 7. |
| 4. | 8. |

อีเมลทั้งหมดของผู้แต่ง เรียงลำดับตามรายชื่อในบทความ

- | | |
|---------|---------|
| 1. | 5. |
| 2. | 6. |
| 3. | 7. |
| 4. | 8. |

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้.....

โทรศัพท์.....โทรศัพท์มือถือ.....

ชื่อ-นามสกุลของผู้ประสานงาน (corresponding author).....อีเมล.....

ข้าพเจ้าขอรับรองว่าบทความนี้ ☐ เป็นผลงานของข้าพเจ้าแต่เพียงผู้เดียว

☐ เป็นผลงานของข้าพเจ้าและผู้ร่วมงานตามที่ระบุในบทความ

โดยบทความนี้ยังมิเคยได้รับการตีพิมพ์และไม่ได้อยู่ระหว่างการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่นใด ข้าพเจ้าและผู้เขียนร่วมยอมรับหลักเกณฑ์การพิจารณาต้นฉบับ ทั้งยินยอมให้กองบรรณาธิการมีสิทธิ์พิจารณาและตรวจแก้ไขต้นฉบับได้ตามที่เห็นสมควร พร้อมทั้งมอบลิขสิทธิ์บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ให้แก่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ และหากมีการฟ้องร้องในเรื่องการละเมิดลิขสิทธิ์เกี่ยวกับ ส่วนหนึ่งหรือส่วนใด ๆ ในบทความ ให้ถือเป็นความรับผิดชอบของข้าพเจ้าและผู้เขียนร่วมแต่เพียงฝ่ายเดียว

ลงชื่อ.....

(.....)

วันที่.....

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

หลักสูตรที่เปิดสอน

1. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาปัญญาประดิษฐ์

ชื่อหลักสูตร

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาปัญญาประดิษฐ์

Bachelor of Science Program in Artificial Intelligence

ชื่อปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาปัญญาประดิษฐ์

วท.บ. (ปัญญาประดิษฐ์)

Bachelor of Science (Artificial Intelligence)

B.Sc. (Artificial Intelligence)

2. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์

ชื่อหลักสูตร

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์

Bachelor of Science Program in Computer Science

ชื่อปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์

วท.บ. (วิทยาการคอมพิวเตอร์)

Bachelor of Science (Computer Science)

B.S. (Computer Science)

3. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์

ชื่อหลักสูตร

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์

Bachelor of Science Program in Medical Science

ชื่อปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การแพทย์)

วท.บ. (วิทยาศาสตร์การแพทย์)

Bachelor of Science (Medical Science)

B.Sc. (Medical Science)

4. หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการหุ่นยนต์สุขภาพ (นานาชาติ)

ชื่อหลักสูตร

วิทยาศาสตรบัณฑิต วิทยาการหุ่นยนต์สุขภาพ (หลักสูตรนานาชาติ)

Bachelor of Science Program in Health Robotics

(International Program)

ชื่อปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาการหุ่นยนต์สุขภาพ)

วท.บ. (วิทยาการหุ่นยนต์สุขภาพ)

Bachelor of Science (Health Robotics)

B.Sc. (Health Robotics)

สอบถามรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

เลขที่ 18/18 ถนนเทพรัตน กม.18 ตำบลบางโจลง อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ 10540

โทรศัพท์ 02-713-8100 ต่อ 1180, 1213

เว็บไซต์ : <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/scihcu/index>

Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University

18/18 Debaratana Road k.m. 18 Samutprakarn 10540 Thailand

Tel : +662-713-8100 ext. 1180, 1213

Website : <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/scihcu/index>



Contact