

# วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ Thaksin University Journal

ปีที่ 22 ฉบับที่ 1

Vol. 22 No. 1

มกราคม - มิถุนายน 2562

January-June 2019



ISSN 0859-9807 (print)

ISSN 2651-0693 (online)



๕๐ ปี มหาวิทยาลัยทักษิณ  
50<sup>th</sup> TSU Anniversary



# Thaksin University Journal

|                           |                                                                                             |                                |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <b>Name</b>               | Thaksin University Journal                                                                  |                                |
| <b>Owner</b>              | Thaksin University                                                                          |                                |
| <b>Advisory Board</b>     | Assoc. Prof. Dr. Wichai Chumni (President of Thaksin University)                            |                                |
|                           | Dr. U-krisdh Musicpunth) (Thaksin University)                                               |                                |
|                           | (Vice President for Research, Academic Services and International Affairs)                  |                                |
|                           | Dr. Vallop Ditsuwan (Director of the Research and Development Institute Thaksin University) |                                |
| <b>Editor</b>             | Assoc. Prof. Dr. Nikom Choosiri                                                             | (Thaksin University)           |
|                           | Asst. Prof. Dr. Prasong Kessaratikoon                                                       | (Thaksin University)           |
| <b>Editorial Board</b>    | Prof. Dr. Charan Chantalakhana                                                              | (Kasetsart University)         |
|                           | Prof. Dr. Visut Baimai                                                                      | (Mahidol University)           |
|                           | Prof. Dr. Suthat Yoksan                                                                     | (Srinakharinwirot University)  |
|                           | Prof. Dr. Apichart Suksamrarn                                                               | (Ramkhamhaeng University)      |
|                           | Prof. Dr. Surin Setamanit                                                                   | (Chulalongkorn University)     |
|                           | Prof. Dr. Somjit Supannatas                                                                 | (Mahidol University)           |
|                           | Prof. Dr. Soottawat Benjakul                                                                | (Prince of Songkla University) |
|                           | Prof. Dr. Saowapa Angsupanich                                                               | (Prince of Songkla University) |
|                           | Assoc. Prof. Dr. Kanchit Malaivongs                                                         | (Office of the Royal Society)  |
|                           | Assoc. Prof. Dr. Hirihattaya Phetmung                                                       | (Thaksin University)           |
|                           | Assoc. Prof. Dr. Sappasith Klomklao                                                         | (Thaksin University)           |
|                           | Assoc. Prof. Dr. Punyapat Chaimay                                                           | (Thaksin University)           |
|                           | Asst. Prof. Pattarawalai Talungchit                                                         | (Mahidol University)           |
|                           | Asst. Prof. Dr. Kornvika Kongkul                                                            | (Thaksin University)           |
|                           | Asst. Prof. Dr. Jatuporn Kaew-On                                                            | (Thaksin University)           |
|                           | Dr. Sirirat Sinprajakpol                                                                    | (Thaksin University)           |
|                           | Dr. Khwanchit Suwannoppharat                                                                | (Thaksin University)           |
| <b>Journal Management</b> | Miss Ornkamon Kraiwong                                                                      | (Thaksin University)           |
|                           | Miss Phimnada Maneewong                                                                     | (Thaksin University)           |
|                           | Miss Ranee Sunsang                                                                          | (Thaksin University)           |
|                           | Miss Kanyanat Liadrak                                                                       | (Thaksin University)           |

|                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Objectives</b>            | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. To publicize research work and articles in the field of multidisciplinary of science and technology of staff and researchers of Thaksin University and other organizations</li> <li>2. To publicize information related to research</li> <li>3. To exchange research knowledge and concepts</li> </ol>                                                                                            |
| <b>Publication Frequency</b> | Published 2 times a year in January – June and July – December                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Number of Copy</b>        | 50 copies                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Book format</b>           | <p>B5 size (18.5x25.5 cm.)</p> <p>Art cover with 250 grams. four-color</p> <p>80-gram paper, 1 color, 120 pages for main content</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Publication</b>           | Service for Members                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Membership</b>            | <p>Personal Type: 200 Baht/ 10 US Dollars per year</p> <p>Institution/Organization Type: 500 Baht/ 20 US Dollars per year</p> <p>The payment should be made via Siam Commercial Bank account.</p> <p>Bank Name: Thaksin University Journal</p> <p>Account No. 408-197495-9, Thaksin University (Phatthalung) Branch</p> <p>Please send the payment slip to the Editor at <a href="mailto:tsujournal@gmail.com">tsujournal@gmail.com</a></p> |
| <b>Contact Us</b>            | <p>Thaksin University Journal Office, Research and Development Institute,<br/>Thaksin University, Phatthalung Campus</p> <p>222 Moo. 2, Baan Prao Sub-district, Papayom District, Phatthalung, Thailand<br/>93210</p> <p>Tel. +66 74 609600 Ext. 7242</p> <p>E-mail address: <a href="mailto:tsujournal@gmail.com">tsujournal@gmail.com</a> or <a href="mailto:research.tsu@gmail.com">research.tsu@gmail.com</a></p>                       |
| <b>Print Place</b>           | <p>Artwork &amp; Media</p> <p>Tel. 089-925-8455</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

## **Editorial**

The Thaksin University Journal (TSUJ) is a national peer reviewed journal promoting the discovery, innovation, advancement and dissemination of basic and transitional knowledge in multidisciplinary of science and technology. Our vision is to be the most superior and widely read science and technology journal. Our mission is to lead the debate on science and technology, to engage, inform, and inspire researchers and professionals in order to simplify academic and broad-spectrum benefits of science and technology. We aim to improve academic society by promoting legal and productive research paper.

The TSUJ is published 2 issues a year, the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> issues appearing on January- June and July - December, respectively. In 2020, the TSUJ will be issued 3 copies per year and each issue will be printed out on January - April, May - August and September - December. Original and arranged multidisciplinary of science and technology articles are welcome to be published in full paper with some restrictions on detail of the content and number of pages. The editors reserve the right to reject a paper or make changes to the content if there are serious problems with the content or with violations of our publishing policies.

We audit the performance of research articles, using a Thailand Journal Online (ThaiJO) and Thailand Citation Index (TCI) systems to assess their impact on readers and their dissemination to the wider world. Furthermore, we have been accepted to the global reach by the ASEAN Citation Index (ACI) database in November 2018. Moreover, the journal has been adjusted and changed to be more internationally format with the referencing style of the APA style 6<sup>th</sup> edition.

The present TSUJ Vol. 22 No. 2 (January- June 2019) is published with 10 interesting articles which are 3, 2, 4 and 1 article in Chemistry, Health Science, Biology and Computer Science, respectively. We would like to thank all of the authors and contributions in case of writing, sharing and being in part of our academic society. We would also like to thank the reviewers for all of their careful, constructive and insightful comments in each manuscript. We do hope to get more help, cooperate and support from you again next time.

In case of editorial duty, I wish and hope that the TSUJ would be one of your favorite multidisciplinary of science and technology journals. We will work harder and try to improve our journal's quality up to the international level and getting more recognition and citation in the future. Thank you and see you again in the next issue.

Asst. Prof. Dr. Prasong Kessaratikoon  
Journal Editor

## สารบัญ

### บทความวิชาการ (Article)

1. พอลิไฮดรอกซีบิวทีเรตและการประยุกต์ใช้สำหรับการตรึงเอนไซม์ไลเปส  
**Polyhydroxybutyrate and Its Application for Lipase Immobilization**  
นาริสา บินหะยี้ดิง Narisa Binhayeeding กนกพร สังขรักษ์ Kanokphorn Sangkharak.....1

### บทความวิจัย (Research Articles)

2. ผลของการออกกำลังกายรูปแบบใหม่ที่บูรณาการร่วมกับรำแม่บทใหญ่ต่อการควบคุมการทรงตัวของผู้สูงอายุ  
ในชุมชน: การวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม  
**Effects of a New Exercise Model Integrated with Mae Bot Yai Thai Dance on Balance Control in Thai  
Community-dwelling Older Adults: Participatory Action Research**  
นภาพรณ ตั้งอดุลย์รัตน์ Napaporn Tangadulrat จิดาภา สุวรรณฤกษ์ Jidapa Suwannarurk  
จุฑารัตน์ สติธิปัญญา Chutarat Sathirapanya อนุกุล โรจนสุขสมบูรณ์ Anukoon Rotjanasuksomboon.....11
3. ความชุกของความผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงานของพนักงานสำนักงาน  
มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์  
**Prevalence of Work - related Musculoskeletal Disorders in Walailak University's Officer**  
ประภัสสร เสงส์สุน Praphatson Sengsoon อัครเดช คงจำ Ukkaradate Kongkam.....21
4. การทดสอบความพึงพอใจของตำรับยาดมชนิดน้ำว่านสาวหลง  
**Satisfaction Test of Borneo Camphor Liquid Inhaler from Essential Oil of *Amomum biflorum* Jack**  
ธวัชชัย ศรีสุวรรณ Thawatchai Srisuwan ทวีภรณ์ ศิริเวช Thaweeporn Keereekoch นิชกานต์ เวชทิทธิ Nichakarn  
Watchasit ศรีสุดา โฉมปรำรงค์ Saruda Chomprang สนั่น สุขธีรสกุล Sanan Subhaddhirasakul.....33
5. การประเมินผลของสเปรย์ดับกลิ่นเท้าที่มีสารสกัดของใบพลู  
**Evaluation of Betel Leaf Extract Deodorizing Foot Spray**  
ณฐมน ดอกบัวแก้ว Natamon Dorkbuakaew สมฤทัย จิตภักดีบดินทร์ Somrutai Jitpukdeebodintra.....43
6. ผลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลากระพงขาว ระหว่างการเก็บรักษาที่  
อุณหภูมิต่ำ  
**Effect of Chitosan from Shrimp Shell on Quality Changes of Giant Perch (*Lates calcarifer*)  
Meat during Cold Storage**  
วิไลลักษณ์ กล่อมพงษ์ Vilailak Klompong.....53

7. สารต้านจุลินทรีย์แอกรอนโดไฟต์ *Fusarium* sp. ของจอกหูหนู  
**Antimicrobial Agents Produced by *Fusarium* sp., an Endophytic Fungus of *Salvinia cuculata* Roxb & Bory**  
 วรรณฤดี หิรัญรัตน์ Wanrudee Hiranrat อัสฎาฐ หิรัญรัตน์ Asadhawut Hiranrat พฤทธิกร ศุภพล  
 Preuttioporn Supaphon ชิพรอสง ปาหะ Hiproheng Baha.....63
8. สังคมพืชป่าดิบชื้นหลังการรื้อถอนพื้นที่บุกรุกปลูกยางพาราในอุทยานแห่งชาติเขาหลัก-ลำรู่ จังหวัดพังงา  
**Tropical Rain Forest Community after Razing Rubber Tree on Land Encroachment in Khao Lak - Lam Ru National Park, Phang Nga Province**  
 จุฑารัตน์ แสงเสถียร Jutarat Saengsathien ศศิกร ที่จันทัก Sakhan Teejuntuk สมพร แม่ลิ้ม Sompom Maelim.....75
9. การผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาธู โดย *Saccharomyces cerevisiae*  
**Bio-Ethanol Production from Waste of Sago Starch by *Saccharomyces cerevisiae***  
 พีรนาฏ คิด้ดี Peeranart Kiddee กัทธานิชฐ์ แอโสะ Pattranis Airsoe ทักษพร หลีน้อย Thaksaporn Leenoi  
 มณฑล เลิศวรปรีชา Monthon Lertworapreecha.....87
10. การพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวแบบครบวงจรผ่านสมาร์ตโฟนในจังหวัดราชบุรี  
**Development of Smartphone-based Navigation System in Ratchaburi**  
 พิชญ์สินี พุทธิทวีศรี Pichsinee Puttitaweesri คลไจ ฌารเรือง Donjai Kranruang  
 วรรณพรรณน์ รีมผดี Wannapat Rimphati.....97



## พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตและการประยุกต์ใช้สำหรับการตรึงเอนไซม์ไลเปส

## Polyhydroxybutyrate and Its Application for Lipase Immobilization

นาริสา บินหะยี้ดิง<sup>1</sup> และกนกพร สังขรักษ์<sup>2\*</sup>Narisa Binhayeeding<sup>1</sup> and Kanokphorn Sangkharak<sup>2\*</sup>

## บทคัดย่อ

พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต (Polyhydroxybutyrate, P(3HB)) เป็นพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ซึ่งผลิตได้จากเซลล์จุลินทรีย์หลายชนิด ทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมคาร์บอนและพลังงานสำรองสำหรับจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีแหล่งคาร์บอนมากเกินไป และสภาวะขาดแคลนสารอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตได้ เช่น *Azotobacter* sp. *Pseudomonas* sp. และ *Alcaligenes eutrophus* พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถใช้ทดแทนพลาสติกสังเคราะห์ได้ และมีคุณสมบัติของการย่อยสลายได้ทางธรรมชาติ จึงเหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะทางการแพทย์ แต่ยังมีงานวิจัยที่ใช้พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตในการตรึงเอนไซม์เพื่อผลิตพลังงานทดแทนอยู่น้อย จากการสำรวจข้อมูลและคุณสมบัติบางประการ พบว่าพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตมีความสามารถในการตรึงเอนไซม์ได้ บทความนี้จึงได้รวบรวมข้อมูลพื้นฐานของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต เทคนิคการตรึงเอนไซม์ การตรึงเอนไซม์ด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต และการประยุกต์ใช้ไลเปสที่ตรึงด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต สำหรับการผลิตไบโอดีเซล นอกจากนี้ ยังได้เสนอแนวทางการวิจัยในอนาคตที่เกี่ยวข้องกับการใช้พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตไว้ด้วย

**คำสำคัญ:** พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต เอนไซม์ตรึง ไลเปส ไบโอดีเซล

## Abstract

Polyhydroxybutyrate (P(3HB)), is a biodegradable plastic, produced from a variety of microbial cells. It acts as a source of carbon and energy reserving for microorganisms when bacteria are cultivated in

<sup>1</sup> นิสิตบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>2</sup> รศ.ดร., สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>1</sup> Graduate Student, Ph.D. (Biotechnology), Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210, Thailand

<sup>2</sup> Assoc. Prof. Dr., Department of Chemistry, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210, Thailand

\* Corresponding author: Tel: +66-76-609-634, E-mail address: skanokphorn@yahoo.com

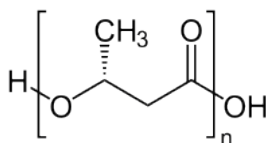
excess carbon sources and lack of some nutrients such as nitrogen and phosphorus. P(3HB) accumulating bacteria which can produce polyhydroxybutyrate such as *Azotobacter* sp. *Pseudomonas* sp. and *Alcaligenes eutrophus* are potential strains. Currently, P(3HB) has attracted interest as it can be used as a substitute for synthetic plastics and its features biodegradable. It is suitable for application in various fields, especially medical. However, only few research reports had been determined on the application of polyhydroxybutyrate for enzyme immobilization. Based on literature and the properties of P(3HB), it was found that polyhydroxybutyrate has the ability to immobilize enzymes. Therefore, the basic information of polyhydroxybutyrate, enzyme immobilization technique, enzyme immobilized with polyhydroxybutyrate and application of immobilized lipase on polyhydroxybutyrate for biodiesel production are reviewed in this article. In addition, future research related to polyhydroxybutyrate is also indicated.

**Keywords:** Polyhydroxybutyrate, Immobilized Enzyme, Lipase, Biodiesel

## 1. ข้อมูลพื้นฐานของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

### 1.1 พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นอนุพันธ์ของพอลิไฮดรอกซีแอลคานอยด์ ซึ่งจัดเป็นพอลิเมอร์ประเภท แอลิแฟติก พอลิเอสเทอร์ (Aliphatic Polyester) มีโครงสร้างเป็นสายโซ่ยาว (ภาพที่ 1) พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต ถูกค้นพบเมื่อปี ค.ศ.1926 โดยนักจุลชีววิทยาชาวฝรั่งเศสชื่อ มัวริซ เลอ โมเน (Maurice Lemoigne) จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* ปัจจุบันมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถสังเคราะห์และสะสมพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตไว้ในเซลล์ เช่น *Azotobacter* sp. *Pseudomonas* sp. *Alcaligenes eutrophus* (หรือ *Cupriavidus necator*) และ *Alcaligenes latus* เป็นต้น จุลินทรีย์จะผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตเมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่สมดุล โดยอาศัยแหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคสหรือสตาร์ช จึงเกิดการสะสมสารพลังงานในรูปพอลิเมอร์เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานเมื่อขาดแคลนพลังงานจากแหล่งอื่นได้ [1]



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

ที่มา : [1]

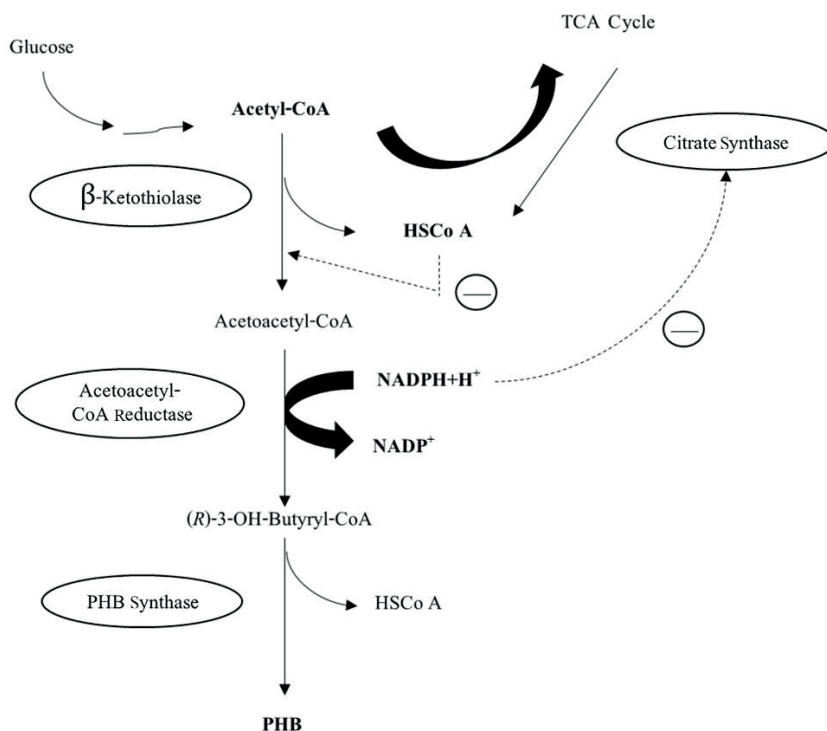
### 1.2 คุณสมบัติทั่วไปของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตไม่สามารถละลายน้ำและต้านทานต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้ต่างจากพลาสติกชีวภาพที่สามารถย่อยสลายได้ชนิดอื่น ซึ่งสามารถละลายน้ำได้หรือมีความไวต่อความชื้น พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

สามารถต้านทานต่อรังสีอัลตราไวโอเลต และออกซิเจนสามารถแพร่ผ่านได้ดี โดยมีความต้านทานต่อกรด-ด่างต่ำ แต่ละลายได้ในคลอโรฟอร์มและสารประกอบคลอริเนตเตดไฮโดรคาร์บอน พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตมีความสามารถเข้ากันได้กับเซลล์หรืออวัยวะของสิ่งมีชีวิต ทำให้สามารถนำไปใช้ผลิตพลาสติกที่ใช้ในทางการแพทย์ได้ พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตมีจุดหลอมเหลว 180 องศาเซลเซียส และมีความทนต่อแรงดึง 40 MPa [2] ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับพลาสติกสังเคราะห์พอลิพรอพิลีน สามารถนำมาได้ทำให้ถูกย่อยสลายในสภาวะที่ไม่ใช้อากาศได้ พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตมีคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพใกล้เคียงกับพอลิพรอพิลีนซึ่งเป็นพลาสติกสังเคราะห์

### 1.3 กระบวนการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

วิธีการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตเกี่ยวข้องกับสารมัธยฐานในวัฏจักรเครบส์ โดยเริ่มต้นจากแอซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl-CoA) เปลี่ยนไปเป็นแอซิทอแอซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetoacetyl-CoA) และไฮดรอกซีบิวทิริลโคเอนไซม์เอ (Hydroxybutyryl-CoA) ด้วยการทำงานของเอนไซม์บีตา-คีโทไทโอเลส ( $\beta$ -ketothiolase) และแอซิทอแอซิติลโคเอนไซม์เอรีดักเตส (Acetoacetyl-CoA Reductase) จากนั้นเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน (Polymerization) ของไฮดรอกซีบิวทิริลโคเอนไซม์เอไปเป็นพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตโดยเอนไซม์ฟิเอสซินทีเทส (PHB Synthetase) อย่างไรก็ตาม พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตที่เกิดขึ้นสามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ไฮดรอกซีบิวทิเรตดีไฮโดรจีเนส (Hydroxybutyrate Dehydrogenase) กระบวนการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต แสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 วิธีการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

ที่มา : [3]

ปัจจุบันพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตได้รับความสนใจเนื่องจากสามารถใช้ทดแทนพลาสติกสังเคราะห์ได้ และสามารถย่อยสลายได้ทางธรรมชาติ จึงเหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมและทางการแพทย์ โดยที่พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตมีคุณสมบัติทั่วไปที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง มีความยืดหยุ่น มีความหนาแน่นของ หมู่ฟังก์ชันสูง และมีองค์ประกอบของส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว นอกจากนี้ พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตยังไม่ละลายน้ำ และต้านทานต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตแตกต่างจากพลาสติกชีวภาพที่สามารถย่อยสลายได้ชนิดอื่น ซึ่งสามารถละลายน้ำได้หรือมีความไวต่อความชื้น จึงมีการนำพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต มาใช้ตรึงเอนไซม์ในการผลิตไบโอดีเซล

## 2. ไลเปส

ไลเปส (Lipases, EC 3.1.1.3) หรือเรียกอีกชื่อว่า Glycerol Ester Hydrolase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ที่เป็นโมเลกุลคาร์บอนของกรดไขมันที่ยาว เช่น ไตรเอซิลกลีเซอรอล(Triacylglycerol) ได้ผลิตผลของปฏิกิริยาเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล ในขณะที่เดียวกันยังสามารถเร่งปฏิกิริยาระหว่างกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระเพื่อสังเคราะห์เป็นไตรเอซิลกลีเซอรอลได้ด้วย

แหล่งผลิตไลเปสที่สำคัญ ได้แก่ พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่เอนไซม์ไลเปสผลิตจากจุลินทรีย์ เนื่องจากผลิตได้ง่าย ไม่ยุ่งยาก และควบคุมการผลิตได้สะดวก

ไลเปสสามารถตรึงได้ง่ายโดยวิธีการดูดซับทางกายภาพบนตัวพุงที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic Supports) เนื่องจากไลเปสมีส่วนของโอลิโกเปปไทด์ที่ไม่ชอบน้ำ ดังนั้น จึงสามารถจับกับตัวพุงที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำได้ดี โดยทั่วไปจึงมักตรึงไลเปสโดยวิธีการดูดซับทางกายภาพบนตัวพุงชนิดต่าง ๆ และเอนไซม์ไลเปสยังสามารถตรึงด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตได้ดีกว่าเอนไซม์ชนิดอื่น

### ข้อดีของไลเปส

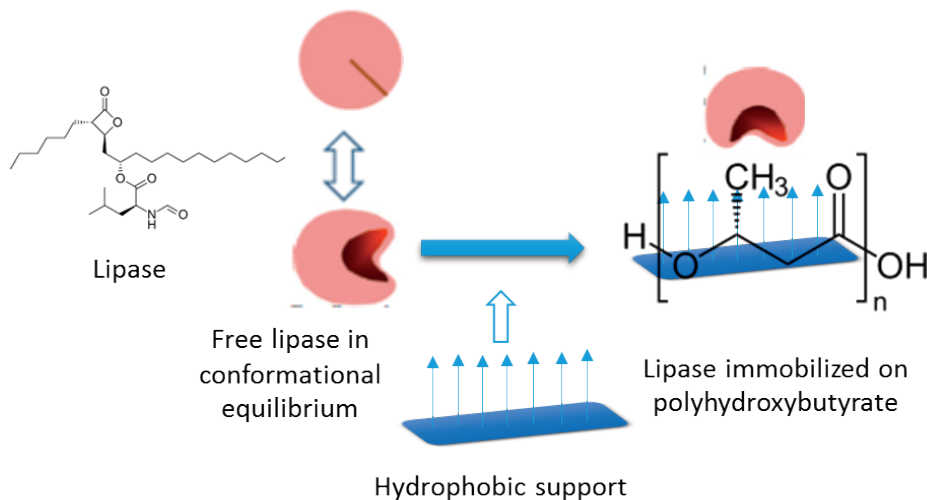
1. มีความคงตัวต่อสภาวะต่าง ๆ เช่น ความเป็นกรด-ด่างสูง อุณหภูมิสูง และตัวทำละลายอินทรีย์
2. สามารถเร่งปฏิกิริยาได้หลายประเภท เช่น ทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน กลีเซอโรไลซิส
3. มีความจำเพาะที่ดี ได้แก่ Regio-selectivity, Stereo-selectivity และ Fatty Acid Specificity
4. สามารถตรึงได้ง่าย ได้แก่ วิธีการดูดซับทางกายภาพ

### ข้อเสียของไลเปส

1. ราคาแพง
2. มีขั้นตอนยุ่งยากในการทำรีซูทซ์
3. ความเสถียรของเอนไซม์
4. ข้อจำกัดในการใช้ซ้ำเอนไซม์

### 3. การประยุกต์ใช้พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตในการตรึงเอนไซม์ไลเปส

ปัจจุบันเทคนิคการตรึงเอนไซม์มีการพัฒนาก้าวหน้ามาก การใช้เอนไซม์ตรึงเป็นวิธีการแก้ปัญหาข้อจำกัดในการใช้เอนไซม์อิสระ เพราะเอนไซม์ตรึงสามารถทำปฏิกิริยาได้ทันที และการทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ง่ายโดยการแยกเอนไซม์ตรึงออกมา ทำให้มีความยืดหยุ่นในกระบวนการผลิตแบบกะหรือแบบต่อเนื่องให้เหมาะสมได้ตามความต้องการ และเอนไซม์ตรึงยังมีความคงตัวต่ออุณหภูมิและที่เปลี่ยนแปลงได้ดีกว่าเอนไซม์อิสระ นอกจากนี้ ยังสามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้ การตรึงเอนไซม์สามารถทำได้ทั้งในตัวพวุงที่เป็นวัสดุอินทรีย์/อนินทรีย์โดยอาศัยเทคนิคการตรึงทั่วไป ได้แก่ วิธีดูดซับทางกายภาพ (Physical Adsorption) วิธีเชื่อมไขว้ (Cross-linking) วิธีห่อหุ้ม (Entrapment) และวิธีห่อหุ้มในแคปซูล (Microencapsulation) ซึ่งมีความซับซ้อนของการตรึงแตกต่างกัน และเอนไซม์ตรึงที่ได้มีประสิทธิภาพการในการทำงานที่ต่างกัน การเลือกวิธีการตรึงเอนไซม์จึงขึ้นอยู่กับความจำเพาะของปฏิกิริยา ตลอดจนข้อจำกัดของค่าใช้จ่ายและคุณสมบัติของเอนไซม์ตรึงที่ได้ [4] การตรึงเอนไซม์ไลเปสโดยทั่วไปมักนิยมใช้วิธีการดูดซับทางกายภาพบนตัวพวุงชนิดต่าง ๆ เช่น การตรึงจุลินทรีย์ผลิตไลเปสสายพันธุ์ *Pseudozyma antarctica* type B บนตัวพวุง Lewatit VPOC 1600 ซึ่งมีองค์ประกอบของ Poly (methyl methacrylate-co-divinylbenzene) การตรึงจุลินทรีย์ผลิตไลเปสสายพันธุ์ *Mucor miehei* บนเรซินแลกเปลี่ยนประจุลบชนิดรูพรุน และยังมีการใช้ตัวพวุงอื่น ได้แก่ การใช้เปลือกไข่ ไพลไลซิลิเกต เบนโทไนต์ พอลิพรอพิลีน (PP) และ สไตรีนไดไวนิลเบนซีน [5] สำหรับปัญหาของการตรึงไลเปสในปัจจุบันคือตัวพวุงที่มีราคาแพง ดังนั้น การแสวงหาแหล่งของตัวพวุงชนิดใหม่ที่มีราคาถูก จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อการพัฒนาวิธีการตรึงเอนไซม์ที่ยอมรับในอุตสาหกรรม และสามารถผลิตเอนไซม์ตรึงได้ในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้น การใช้พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตเป็นตัวพวุงไลเปสจึงเป็นทางเลือกหนึ่ง เนื่องจากพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตผลิตได้จากจุลินทรีย์ จึงผลิตได้ง่ายและรวดเร็ว ผลิตได้ปริมาณสูงและใช้พื้นที่น้อย ในการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตโดยวิธีการดูดซับทางกายภาพเป็นวิธีที่มีข้อดี ได้แก่ ง่ายและราคาถูก โดยการตรึงเอนไซม์ไลเปสโดยวิธีการดูดซับทางกายภาพบนโมเลกุลของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ไม่ชอบน้ำ หมู่ฟังก์ชันเมทิล ( $-CH_3$ ) ของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตซึ่งไม่มีขั้ว จะมีความสามารถในการจับกับเอนไซม์ไลเปสในส่วนที่ไม่มีขั้ว แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตโดยวิธีการดูดซับทางกายภาพ  
ที่มา : คัดแปลงจาก [6]

สรุปปัจจัยที่มีผลต่อการตรึงไลเปสด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

#### ก. ขนาดของตัวพุง

ขนาดของตัวพุงที่เหมาะสม คือ 75 - 90 ไมโครเมตร [2] พบว่าการตรึงเอนไซม์บนอนุภาคของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตขนาดเล็ก (75 - 90 ไมโครเมตร) มีกิจกรรมสูงกว่าการตรึงเอนไซม์บนอนุภาคของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตขนาดใหญ่ (750 - 1180 ไมโครเมตร) เนื่องจากอนุภาคตรึงขนาดใหญ่มีอิทธิพลของ Steric Effects ซึ่งแสดงว่าไม่มีระเบียบของโครงสร้างภายในโมเลกุล จึงส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพน้อยกว่าการตรึงบนขนาดอนุภาคที่มีขนาดเล็ก โดยพื้นผิวที่มีขนาดเล็กเอนไซม์ตรึงสามารถเข้าถึงซับสเตรตได้ง่ายกว่า เอนไซม์ตรึงมีข้อดีมากกว่าเอนไซม์อิสระ เพราะควบคุมการทำงานได้ง่ายและสะดวกในการแยกเอนไซม์ออกจากผลิตภัณฑ์

#### ข. สภาพของการตรึงเอนไซม์

การตรึงเอนไซม์ต้องทำในสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ เวลา ชนิดของตัวทำละลาย พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต คือ พีเอช 8.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 ชั่วโมง ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สามารถใช้เอนไซม์ตรึงในการผลิตเอทิลเอสเตอร์ได้จากน้ำมันปาล์ม ดังรายงานของ Silva และคณะ [7] ในขั้นตอนการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยเอนไซม์ตรึงมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงาน ได้แก่ พีเอช 8.5 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในขณะที่เอนไซม์อิสระสภาวะที่เหมาะสมคือ พีเอช 8.0 และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ตรึงสามารถทนต่อค่าความเป็นกรด-ด่างและทนความร้อนได้ดีกว่า เมื่อใช้เอนไซม์ไลเปสตรึง

ด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของการผลิตไบโอดีเซล ได้ผลผลิตเอทิลเอสเทอร์ 40.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมเอทิลเอสเทอร์ [2]

#### 4. การประยุกต์ใช้ไลเปสตรึงด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตสำหรับการผลิตไบโอดีเซล

การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชันโดยการเร่งปฏิกิริยาด้วยแอลกอฮอล์สามารถเร่งได้ด้วยวิธีทางเคมีและวิธีการทางชีวภาพที่ใช้เอนไซม์ไลเปส วิธีทางเคมีมักนิยมใช้ต่างหรือกรด การใช้ค่าสามารถเกิดได้รวดเร็วกว่าการใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและเป็นที่นิยมนกว่าการใช้กรด อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตนี้ยังมีต้นทุนสูง ส่วนการใช้กรดในการเร่งปฏิกิริยาอาจมีน้ำเกิดขึ้นเป็นผลพลอยได้ ซึ่งมีผลเสียต่อการผลิตไบโอดีเซล ดังนั้น การผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทางชีวภาพ โดยการใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจึงเป็นทางเลือกที่ดี และไม่มีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม การใช้เอนไซม์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยระดับของมลพิษที่เกิดขึ้นมีน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี นอกจากนี้ การใช้เอนไซม์ไลเปสในการผลิตไบโอดีเซลยังได้ผลผลิตสูงกว่าการใช้ค่าเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นสูง อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันการใช้เอนไซม์ไลเปสในการผลิตไบโอดีเซลยังไม่เป็นที่ยอมรับ เพราะเอนไซม์มีราคาแพง เนื่องจากผลผลิตของเอนไซม์ต่ำ ทำให้ได้ปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการขั้นตอนของการทำบริสุทธิ์เอนไซม์มีความยุ่งยาก ความไม่เสถียรของเอนไซม์ และข้อจำกัดในการใช้ซ้ำของเอนไซม์ นอกจากนี้ เอนไซม์ยังต้องการสภาวะที่เหมาะสมในการทำงาน จึงทำให้การควบคุมปฏิกิริยายุ่งยากกว่าวิธีทางเคมี

การศึกษาวิธีตรึงเอนไซม์ไลเปสจึงเป็นวิธีการแก้ปัญหาและลดข้อจำกัดในการใช้เอนไซม์อิสระ โดยการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงมีความคงตัวต่ออุณหภูมิและพีเอชที่เปลี่ยนแปลงได้ดีกว่าเอนไซม์อิสระ และสามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้ เอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์มีการใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และเทคโนโลยีชีวภาพ และยังสามารถใช้ในการสังเคราะห์ไบโอดีเซล เอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ชนิดที่นำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซลได้อย่างมีประสิทธิภาพ ได้แก่ *Burkholderia cepacia*, *Candida antarctica*, *Candida rugosa*, *Mucor miehei* และ *Thermomyces lanuginose*

การผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์มีข้อได้เปรียบดังนี้ ปฏิกิริยาไม่รุนแรงสามารถเกิดได้ดีที่อุณหภูมิห้อง ปฏิกิริยามีความจำเพาะสูง และสามารถเก็บเกี่ยวกลีเซอรอลได้ง่าย แต่การผลิตโดยใช้เอนไซม์ไลเปสยังต้องใช้ต้นทุนสูง เมื่อเทียบกับกระบวนการทางเคมี เพราะเอนไซม์ยังคงมีราคาแพง ดังนั้น การใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ จะทำให้ลดต้นทุนการผลิตไบโอดีเซลได้ และสามารถพัฒนากระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องที่มีการควบคุมปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ิฟิเคชันและการแยกผลิตภัณฑ์ออกจากกันได้ง่าย

ปัจจุบันมีการวิจัยเกี่ยวกับการตรึงเอนไซม์ไลเปสตรึงด้วยวัสดุชนิดต่าง ๆ จำนวนมาก แต่ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตไบโอดีเซลจากไลเปสที่ตรึงด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตจำนวนน้อย ตัวอย่างเช่น การผลิตไบโอดีเซลด้วยเอนไซม์ไลเปสจาก *P. antarctica* type B, *T. Lanuginosus*, *P. fluorescens* และ *G. thermocatenuatus* ที่ตรึง

ด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นต้น การผลิตไบโอดีเซลด้วยเอนไซม์ไลเปสที่ตรึงด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตสามารถให้ผลผลิตสูงกว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสอิสระ ดังกรณีศึกษาของการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้น้ำมัน Babassu oil (*Orbignya* sp.) ที่มีตัวทำละลายเอทานอลในอัตราส่วนโมลต่อน้ำมันเท่ากับ 1 ต่อ 9 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสได้ผลผลิตไบโอดีเซลเท่ากับ 40.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมต่อชั่วโมง [2] เมื่อเทียบกับการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยวัสดุสังเคราะห์ชนิดอื่นแล้ว การตรึงไลเปสด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตสามารถให้ผลผลิตของไบโอดีเซลสูงถึง 98 % (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การผลิตไบโอดีเซลด้วยเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงด้วยวัสดุพืงที่แตกต่างกัน

| วิธีการตรึง         | ตัวพืง                      | ชนิดของน้ำมัน | ผลได้ (%) | อ้างอิง |
|---------------------|-----------------------------|---------------|-----------|---------|
| วิธีดูดซับทางกายภาพ | พอลิพรอพิลีน                | น้ำมันพืช     | 98.0      | [5]     |
|                     | พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต        | น้ำมันบาบาสสุ | 98.0      | [2]     |
|                     | แอกทูลเรล เอ็มพี 1000       | น้ำมันสบู่ดำ  | 80.5      | [8]     |
|                     | เลวาทิต วีพี ไอซี 1600      | น้ำมันสบู่ดำ  | 93.8      | [8]     |
|                     | เมโซฟอร์ส ซิลิกา ปีเอสเอ-15 | น้ำมันคาโนล่า | 98.0      | [9]     |
| วิธีเชื่อมไขว้      | พี อี แอล อะกาโรส           | น้ำมันคาโนล่า | 70.0      | [10]    |

## 5. อนาคตของการวิจัยการตรึงเอนไซม์ด้วยพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต

การใช้พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตสำหรับการตรึงเอนไซม์นั้นยังมีข้อจำกัด เนื่องจากพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตมีความเปราะ แตกหักง่าย ยืดหยุ่นและทนกรดได้น้อย มีความหนาแน่นสูง มีรูพรุนต่ำ และมีความไม่มีขั้วต่ำ จึงทำให้การยึดเกาะระหว่างเอนไซม์และพอลิเมอร์มีประสิทธิภาพต่ำ การเพิ่มประสิทธิภาพของการยึดเกาะจึงควรใช้โคพอลิเมอร์ เช่น พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตโควาลอเรต ซึ่งมีองค์ประกอบของพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตและพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตวาลอเรต โดยโคพอลิเมอร์ชนิดนี้มีความหนาแน่นต่ำกว่าพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต มีรูพรุนสูง มีความไม่มีขั้วสูง จึงช่วยทำให้ยึดเกาะกับเอนไซม์ได้มีประสิทธิภาพดีขึ้น และสามารถใส่พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอตชนิดอื่นผสมกับพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต เพื่อสังเคราะห์เป็นโคพอลิเมอร์ ซึ่งจะช่วยให้การใช้ประโยชน์จากพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตในการตรึงเอนไซม์มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Luengo, J. M., B. García., A. Sandoval., G. Naharro., & Olivera, E. R.(2003). Bioplastics from Microorganisms. *Current Opinion Microbiology*, 6, 251-260.
- [2] Adriano, A.M., Pedro, C. O., Ana, M. V., Roberto, C. G., Raquel, de L., .C. G., & Heizir, F. de C. (2012). Evaluation of Immobilized Lipases on Poly-Hydroxybutyrate Beads to Catalyze Biodiesel Synthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50, 503-511.

- [3] Kang, Z., Gao, C., Wang, Q., Liu, H., & Qi, Q.(2010).A Novel Strategy for Succinate and Polyhydroxybutyrate Co-production in *Escherichia coli*. *Bioresource Technology*, 101(19), 7675-7678.
- [4] Moreira, A. B. R., Perez, V. H., Zanin, G. M., & De Castro, H. F. (2007) . Biodiesel Synthesis by Enzymatic Transesterification of Palm Oil with Ethanol using Lipases from Several Sources Immobilized on Silica-PVA Composite. *Energy and Fuels*, 21, 3689-3694.
- [5] Salis, A. , Pinna, M., Monduzzi, M. , & Solinas, V. (2008) . Comparison among Immobilized Lipase on Macroporous Polypropylene toward Biodiesel Synthesis. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 54, 19-26.
- [6] Tacias-Pascacio, V.G., Virgen-Ortiz, J.J., Jimenez-Perez, M., Yates, M., Torrestiana-Sanchez, B., Rosales-Quintero, A., & Fernandez-Lafuente, R. (2017). Evaluation of Different Lipase Biocatalysts in the Production of Biodiesel from used Cooking Oil: Critical Role of the Immobilization Support. *Fuel*, 200, 1-10.
- [7] Silva, N. C. A., Mirada, J. S., Bolina, I. C. A., Hirata, D. B., Castro, H. F., & Mendes, A. A. (2014). Immobilization of Porcine Pancreatic Lipase on Poly-hydroxybutyrate Particles for the Production of Ethyl Esters from Macaw Palm Oils and Pineapple Flavor. *Biochemical Engineering Journal*, 82, 139-149.
- [8] Joana, R., Veronique, P., Jerome, L., Eric, D., & Suzana, F. (2016). Biodiesel Production from Crude Jatropha Oil Catalyzed by Immobilized Lipase/ Acyltransferase from *Candida parapsilosis* in Aqueous Medium. *Bioresource Technology*, 218, 1224-1229.
- [9] Babaki, M., Yousefi, M., Habibi, Z., Mohammadi, M., & Brask, J. (2015). Effect of Water, Organic Solvent and Adsorbent Contents on Production of Biodiesel Fuel from Canola Oil Catalyzed by Various Lipase Immobilized on Epoxy-Functionalized Silica as Low Cost Biocatalyst. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 120, 93-99.
- [10] Lorena, S., Anders, I., & Lorena, W. (2015). Immobilization of *Alcaligenes* sp. Lipase as Catalyst for the Transsterification of Vegetable Oils to Produce Biodiesel. *Catalysis Today*, 259, 177-182.



# ผลของการออกกำลังกายรูปแบบใหม่ที่บูรณาการร่วมกับรำแม่บทใหญ่

ต่อการควบคุมการทรงตัวของผู้สูงอายุในชุมชน:

การวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม

**Effects of a New Exercise Model Integrated with Mae Bot Yai Thai Dance**

**on Balance Control in Thai Community-dwelling Older Adults:**

**Participatory Action Research**

นภาพรณัฏฐ์ ตังอตุลย์รัตน์<sup>1\*</sup>, จิดาภา สุวรรณฤกษ์<sup>2</sup>, จุฑารัตน์ สติธิปัญญา<sup>3</sup> และอนุกุล โรจนสุขสมบูรณ์<sup>4</sup>

Napaporn Tangadulrat<sup>1\*</sup>, Jidapa Suwannaruk<sup>2</sup>, Chutarat Sathirpanya<sup>3</sup> and Anukoon Rotjanasuksomboon<sup>4</sup>

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนารูปแบบใหม่ของการออกกำลังกายที่บูรณาการกับรำแม่บทใหญ่ต่อการควบคุมการทรงตัวของผู้สูงอายุในชุมชน และทดสอบประสิทธิผลของการออกกำลังกาย โดยออกแบบเป็นการวิจัยเชิงปฏิบัติการแบบมีส่วนร่วม เพื่อหวังผลให้เกิดการพัฒนาสุขภาพที่ยั่งยืนของผู้สูงอายุในระยะเตรียมความพร้อม เป็นการพัฒนารูปแบบการออกกำลังกายทำรำโดยการมีส่วนร่วมของชุมชนในระยะทดสอบประสิทธิผลของรูปแบบการออกกำลังกาย โดยการสุ่มแบ่งผู้เข้าร่วมการศึกษาที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปี เป็นต้นไป ตามพื้นที่อยู่อาศัยออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มทดลองที่ได้รับการออกกำลังกายทำรำ 12 สัปดาห์ และกลุ่มควบคุม

<sup>1</sup> อ., ภาควิชากายภาพบำบัด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

<sup>2</sup> อ.ดร., สาขาการศึกษาเพื่อพัฒนาศักยภาพมนุษย์ คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90110

<sup>3</sup> ผศ.ดร., ภาควิชาเวชศาสตร์ครอบครัวและเวชศาสตร์ป้องกันโรค คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

<sup>4</sup> ผศ.ดร., ภาควิชานาฏศิลป์ คณะศิลปกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>1</sup> Lecturer, Department of Physical therapy, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110, Thailand

<sup>2</sup> Lecturer, Dr., Education of Human Resources Development Program, Faculty of Education, Thaksin University, Songkhla, 90110, Thailand

<sup>3</sup> Asst. Prof. Dr., Department of Family Medicine and Preventive Medicine, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110, Thailand

<sup>4</sup> Asst. Prof. Dr., Department of Dance, Faculty of Fine and Applied Arts, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand

\* Corresponding author: E-mail address: [tnapapor@medicine.psu.ac.th](mailto:tnapapor@medicine.psu.ac.th), [ntangadulrat@gmail.com](mailto:ntangadulrat@gmail.com)

(Received: September 10, 2018; Revised: November 30, 2018; Accepted: December 4, 2018)

ทดสอบความสามารถในการทรงตัว 4 ครั้ง ทั้งสองกลุ่ม ในช่วงเวลาเดียวกัน นำผลการทดสอบมาเปรียบเทียบพบว่ากลุ่มทดลองมีการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการทรงตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งจากการเปรียบเทียบภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม แสดงให้เห็นว่า การออกกำลังกายทำรำที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้มีประสิทธิภาพจริง และสามารถส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาสุขภาพที่ยั่งยืนผ่านกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชนตลอดกระบวนการศึกษานี้

**คำสำคัญ:** รำแม่บทใหญ่ การพัฒนาสุขภาพที่ยั่งยืน การควบคุมการทรงตัว

### Abstract

This study was managed as a participatory action research proposed to develop a new exercise model integrated with Mae Bot Yai Thai dance to control balance for seniors in communities, to evaluate the efficacy of the new exercise and to promote sustainable health development. The preparation of communities and the development of Mae Bot exercise were performed with participations of community members in the first stage. A cluster randomized controlled trial was used to separate participants with age sixty and older into two groups of an experimental group (E group) and a control group (C group). In both groups, three balance tests were used to measure participants' balance control four times at the same time points. Mae Bot exercise was applied continuously in E group for twelve weeks, whereas no intervention was done in C group. The results revealed that there were significant improvement of all variables in E group both within group and compared with C group. It found that the experiment group had a significant increase of capacity of balance control both from comparison within and between groups. It indicated that Mae Bot exercise was effectively developed and could encourage sustainable health development through participatory process of community throughout the process.

**Keywords:** Mae Bot Yai Thai Dance, Sustainable Health Development, Balance Control

### Introduction

Nowadays, the number of older adults around the world including in Thailand is increasing dramatically. Ageing effects on declines in functions of several body systems that lead to balance control impairments [1]. Falls in older people are considered the cause of functional diminishment and dependent state of elderly people [2]. Therefore, prevention of falls in the elderly is very outstanding to promote their potential to live independently as long as possible. Exercises are tools for improving the neuromuscular system and reducing risks of falling in older adults [3]. Thus, the preparation of older people and their communities to realize benefits of exercises is very worthwhile. The transformative concepts of health care and health behaviors are very necessary and valuable to achieve sustainable health development [4]. Even now, there are recommended exercises to improve balance control in the elderly such as dancing and tai chi that are foreign-based

exercises [5-6]. The enhancement of exercises to accomplish sustainable health development for older adults in rural areas should be modified to correspond with their cultures, traditions, lifestyles and needs [ 7]. Thai classical dances are popular and graceful performance coexisted with Thai classical music and varied dance paces. Mae Bot Yai is classified as a kind of Thai classical standard dance consisted of 64 standard dance paces [8]. Each dance pace with complex postures, continuous postural changes and coordination can improve balance control [9]. For these reasons, this study was designed as a participatory action research to develop a new proper exercise model integrated with Mae Bot Yai Thai dance called Mae Bot exercise. The another main objective was to evaluate the effectiveness of Mae Bot exercise on balance control in Thai community-dwelling older adults. It was also planned to develop sustainable health of the elderly following processes of our participatory action research by transforming their idea and behaviors for well-being and active ageing by the new Mae Bot exercise.

### Materials and Methodology

There were three stages in this study; S1 (Preparation), S2 (Evaluation of the intervention) and S3 (Processes of sustainable health development with also adding in all stages and processes). This study was designed as a participatory action research composed of four processes; P1 (Planning), P2 (Acting), P3 (Observing) and P4 (Reflecting).

After this study was approved by the Human Research Ethics Committee of Thaksin University (Number E012/2560 on 22 May 2017), a cluster randomized controlled trial was used to separate population by areas with same natures into two groups, population lived in Tambon Tamot municipality as an experimental group (E group) and population lived in Tambon Khuan Sao Thong municipality as a control group (C group).

In S1 and P1 to P4, the preparation processes of the E group community and the developmental processes of our new exercise model in this participatory action research were performed with participation of community members. Discussion and reflection about different exercise models were fulfilled to conclude which model they preferred. Finally, it was determined that a new exercise model integrated with Mae Bot Yai Thai dance was proper for exercising. Each of 64 Mae Bot Yai dance paces was evaluated the Index of Item-Objective Congruence (IOC) between its posture with types of exercises by five specialists. Eighteen dance paces with IOC over 0.5 were selected to develop a new exercise model called Mae Bot exercise. The processes of P1 to P4 were repeated as a cycle of participatory action research to improve Mae Bot exercise until it was judged to be the most appropriate exercise for them. Next, it was practiced by participants in E group in Stage 2 in order to evaluate its effectiveness on balance control in Thai older adults in communities.

After signing informed consent, participants with age 60 years and older in each group were enrolled according to inclusion criteria of good communication, being able to follow instruction and walking without

walking aid independently. Exclusion criteria were fracture within 6 months or falling within 1 months before this study, Timed Up and Go Test (TUG) > 20 sec, Thai Mental State Examination score (TMSE) for screening cognitive impairment  $\leq 23$ , Oxford Knee Score (OKS) for evaluating the severity of knee osteoarthritis < 20 and Osteoporosis Self-Assessment Tool for Asians (OSTA) < -4.

### Intervention

All participants in E group practiced Mae Bot exercise under supervision of trained village health volunteers. Mae Bot exercise contained 5 minutes stretching dance paces to warm up, following with 32 minutes of dance paces exercise period and then 5 minutes of stretching to cool down. The frequency of exercising was once a day, 42 minutes each time, three times a week for 12 weeks as an aerobic exercise protocol. No intervention was performed in C group throughout the 12 weeks of study period.

### Outcome measurements

Functional Reach Test (FRT) for evaluating forward stability, Single Leg Stance Test with Eyes Open (SLSEO) for examining static balance and Timed Up and Go Test (TUG) for evaluating agility and dynamic balance were evaluated by blinded and well-trained assessors in both groups four times; before starting Mae Bot exercise (T1), after 4 weeks (T2), after 8 weeks (T3) and after 12 weeks of Mae Bot exercise (T4) [10-12].

### Sample size calculation

The sample size was calculated based on the previous study that improved TUG with the effect size of - 1.12 sec and the standard deviation of 0.62 in the intervention group compared with the control group with 80 % power at alpha level of 0.05 and estimating dropout rate of 20 %, hence 44 participants per group were enrolled [5].

### Statistical analysis

Because some variables in this study were non-normal distribution data, *nonparametric* statistics were used and data were presented as a median [Q1, Q3]. Demographic data were compared between two groups by Mann-Whitney U test. Each variable measured at T1, T2, T3 and T4 was compared over time within group by Friedman Test. Wilcoxon Signed Ranks Test was used to compared between T1-T2, T2-T3 and T3-T4 within group, while Mann-Whitney U Test was therefore used to compare between group. Analyses were performed with R and p-value < 0.05 was considered statistically significant.

## Results

At the beginning, there were sixty participants assessed for eligibility in each group. In E group, ten participants were excluded because of exclusion criteria and four participants dropped out during study period due to sickness (n=2) and looking after their grandchildren elsewhere (n=2). In C group, eleven participants were excluded because of exclusion criteria and nine participants dropped out during study period due to sickness (n=2), looking after their grandchildren elsewhere (n=3) and being busy (n=4). At the end, data of forty- six participants in E group and forty participants in C group were analyzed.

Eighty-six participants in this study were women with age 60 years and older, being farmers, rubber gardeners and Buddhists. Statistical analysis showed that there were no significant difference between group except BMI that revealed higher significantly in E group (the first degree of obesity) with median of 26.01 [23.94, 28.49] than in C group (overweight) with median of 24.38 [22.35, 26.46]. The median of age in E group was 65.00 [60.00, 69.25] years and in C group was 66.00 [63.00, 68.00] years. The demographic data and baseline characteristics of participants were shown in Table 1.

**Table 1** The demographic data and baseline characteristics of participants

| Variables | E group              | C group              | p-value |
|-----------|----------------------|----------------------|---------|
| Age       | 65.00 [60.00, 69.25] | 66.00 [63.00, 68.00] | 0.552   |
| BMI       | 26.01 [23.94, 28.49] | 24.38 [22.35, 26.46] | 0.025*  |
| TMSE      | 27.00 [25.00, 29.00] | 28.00 [26.25, 30.00] | 0.105   |
| OKS       | 40.00 [32.00, 48.00] | 40.00 [36.00, 48.00] | 0.331   |
| OSTA      | -0.60 [-2.60, 1.00]  | -1.70 [-2.61, 1.03]  | 0.464   |

Data shown in median [Q1, Q3], Statistical analysis by Mann-Whitney U test, \* p-value < 0.05

The comparison of FRT, SLSEO and TUG within E group before (T1) and after 12 weeks (T4) of doing Mae Bot exercise was obvious that there were significant improvements in all variables at P-value < 0.001. At T1, values of FRT, SLSEO and TUG were median of 6.33 [3.83, 9.75] inches, 17.68 [7.92, 33.83] sec and 9.31 [9.00, 11.25] sec, while they improved to median of 13.53 [12.04, 15.50] inches, 50.75 [34.38, 80.00] sec and 7.25 [6.99, 7.68] sec, respectively, at T4. In addition, there were significant advancements of every variable within E group when compared pairs of T1-T2, T2-T3 and T3-T4 at p-value < 0.001 as seen in Table 2.

**Table 2** Results of FRT, SLSEO and TUG in E group before starting Mae Bot exercise (T1), after 4 weeks (T2), after 8 weeks (T3) and after 12 weeks of Mae Bot exercise (T4)

| Variables          | T1                     | T2                                   | T3                                    | T4                                     | p-value    |
|--------------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|------------|
| FRT (Inches)       | 6.33<br>[3.83, 9.75]   | 10.17 <sup>#</sup><br>[5.96, 10.25]  | 11.83 <sup>##</sup><br>[8.13, 13.75]  | 13.53 <sup>###</sup><br>[12.04, 15.50] | < 0.001*** |
| SLSEO<br>(Seconds) | 17.68<br>[7.92, 33.83] | 29.00 <sup>#</sup><br>[15.08, 60.00] | 34.67 <sup>##</sup><br>[21.00, 67.50] | 50.75 <sup>###</sup><br>[34.38, 80.00] | < 0.001*** |
| TUG<br>(Seconds)   | 9.31<br>[9.00, 11.25]  | 8.61 <sup>#</sup><br>[7.50, 9.61]    | 8.00 <sup>##</sup><br>[7.25, 9.00]    | 7.25 <sup>###</sup><br>[6.99, 7.68]    | < 0.001*** |

Data shown in median [Q1, Q3], \*\*\* p-value < 0.001 by Friedman Test <sup>#</sup> = Statistical analysis by Wilcoxon Signed Ranks Test p < 0.001, <sup>#</sup> = Compared T1-T2, <sup>##</sup> = Compared T2-T3, <sup>###</sup> = Compared T3-T4

The variables compared between prior and after 12 weeks of study period in C group showed that there were significant deterioration of SLSEO at p = 0.001, FRT at p < 0.001 and TUG at p < 0.001. The detail of data were presented in Table 3.

**Table 3** Results of FRT, SLSEO and TUG in C group before and after 12 weeks of study period at the same time point of T1, T2, T3 and T4

| Variables          | T1                      | T2                      | T3                      | T4                      | p-value    |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
| FRT (Inches)       | 10.50<br>[9.08, 12.33]  | 10.50<br>[8.63, 12.00]  | 10.00<br>[9.04, 13.50]  | 10.00<br>[9.00, 12.00]  | < 0.001*** |
| SLSEO<br>(Seconds) | 20.83<br>[10.50, 29.00] | 20.50<br>[10.37, 29.75] | 20.00<br>[10.00, 29.00] | 20.00<br>[10.00, 29.00] | 0.001***   |
| TUG<br>(Seconds)   | 8.62<br>[7.00, 10.00]   | 8.47<br>[7.31, 9.86]    | 8.45<br>[7.50, 10.00]   | 9.10<br>[7.5, 10.44]    | < 0.001*** |

Data shown in median [Q1, Q3], Statistical analysis by Friedman Test, \*\*\* p-value ≤ 0.001

At T1, the results revealed that FRT was significantly better in C group than E group at p-value < 0.001 as well as TUG at p-value = 0.008. There were no significant difference between E group and C group in SLSEO (p-value = 0.71). The outcomes of the same variables in both groups were reevaluated after applying Mae Bot exercise in E group for 4 weeks (T2), 8 weeks (T3) and 12 weeks (T4). The data indicated that there were significant betterment of every variable in E group overtime until they were significantly superior than in C group as seen in Table 4.

**Table 4** Results of FRT, SLSEO and TUG compared between E group with C group before starting Mae Bot exercise (T1), after 4 weeks (T2), after 8 weeks (T3) and after 12 weeks of Mae Bot exercise (T4)

| Variables              | E group              | C group              | p-value    |
|------------------------|----------------------|----------------------|------------|
| <b>FRT (Inches)</b>    |                      |                      |            |
| T1                     | 6.33 [3.83, 9.75]    | 10.50 [9.08, 12.33]  | < 0.001*** |
| T2                     | 10.17 [5.96, 10.25]  | 10.50 [8.63, 12.00]  | 0.347      |
| T3                     | 11.83 [8.13, 13.75]  | 10.00 [9.04, 13.50]  | 0.713      |
| T4                     | 13.53 [12.04, 15.50] | 10.00 [9.00, 12.00]  | < 0.001*** |
| <b>SLSEO (Seconds)</b> |                      |                      |            |
| T1                     | 17.68 [7.92, 33.83]  | 20.83 [10.50, 29.00] | 0.710      |
| T2                     | 29.00 [15.08, 60.00] | 20.50 [11.37, 29.75] | 0.076      |
| T3                     | 34.67 [21.00, 67.50] | 20.00 [10.00, 29.00] | < 0.001*** |
| T4                     | 50.75 [34.38, 80.00] | 20.00 [10.00, 29.00] | < 0.001*** |
| <b>TUG (Seconds)</b>   |                      |                      |            |
| T1                     | 9.31 [9.00, 11.25]   | 8.62 [7.00, 10.00]   | 0.008*     |
| T2                     | 8.61 [7.50, 9.61]    | 8.47 [7.31, 9.86]    | 0.690      |
| T3                     | 8.00 [7.25, 9.00]    | 8.45 [7.50, 10.00]   | 0.053      |
| T4                     | 7.25 [6.99, 7.68]    | 9.10 [7.50, 10.44]   | < 0.001*** |

Data shown in median [Q1, Q3], Statistical analysis by Mann Whitney U Test, \* p-value < 0.01, \*\*\* p-value < 0.001

## Discussion

The outcomes of this study presented evidences for efficacy of Mae Bot exercise on balance control in Thai community-dwelling older adults. The results indicated significant improvements of E group participants in all variables. In each age group, there were norms of parameters that referred to normal values with no risks of falling. There were cut-point values that alluded to have risks of falling if someone received scores less than cut-point values too [10-12]. The baseline data of E group at T1 demonstrated values lower than norms of their age group (age range 65-69 years old) and lower than cut-point values for assessing the risk of falling. They were FRT with median of 6.33 [3.83, 9.75] inches (norms = 13.8 inches, cut-point values for moderate fall risks = 6-10 inches) and SLSEO with median of 17.68 [7.92, 33.83] sec (norms = 27.0 sec, cut-point values < 30 sec). TUG was showed taking longer time than norms but shorter time than cut-point values with median of 9.31 [9.00, 11.25] sec (norms = 8.1 sec, cut-point values for moderate fall risks = 11-20 sec). After doing Mae Bot

exercise, all variables continued improving over time significantly, and could achieve the values better than norms with no risk of falls as seen in Table 2. Our outcomes were comparable with a previous study of Thai dance that presented TUG decreased from  $10.21 \pm 1.72$  sec to  $8.58 \pm 1.37$  sec ( $p = 0.001$ ) and FRT increased from  $23.68 \pm 5.53$  cm to  $29.45 \pm 5.77$  cm or  $9.32 \pm 2.18$  inches to  $11.59 \pm 2.27$  inches ( $p = 0.001$ ) [7]. Therefore, these results supported the effectiveness of Thai dance on balance in Thai older adults as well as our study. Our results concurred with the other former study about effects of three-month dance on TUG with decreasing  $-0.58 \pm 0.95$  sec significantly in older people [5]. These issues still agreed with the study of ten-week tai chi program on balance in the elderly that showed significant influence on TUG at  $6.58 \pm 1.04$  to  $6.10 \pm 0.88$  sec, OLS (SLSEO in our study)  $15.52 \pm 21.06$  to  $32.90 \pm 21.92$  sec and reaching longer distances of FRT  $30.33 \pm 2.13$  to  $32.38 \pm 3.19$  inches with no significant difference [6]. Moreover, the results in our study seemed to be superior than in the previous studies. The first noticeable point was the period of doing exercise, the past study of Thai dance exercise took 6 weeks to significantly improve TUG and FRT [7]. The dance study spent 12 weeks to improve TUG, while tai chi used 10 weeks to effect on TUG and OLS [5-6]. On the other hand, Mae Bot exercise took only the least period of 4 weeks to achieve significant enhancement in FRT, SLSEO and TUG. The second was the value changed in each variable, the 12 weeks of dance were comparable with this study [5]. The dance exercise reduced TUG of 0.58 sec, nevertheless Mae Bot exercise decreased TUG of 2.06 sec. Consequently, these data suggested that Mae Bot exercise might be more beneficial for improvements of balance control in older adults in their communities.

There were several reasons for better results of Mae Bot exercise in this study. Firstly, our study was managed to be a participatory action research that made researchers and communities work together with good relationship to develop a new exercise model. Thus, sustainable health development of the elderly in the communities could be established following these processes. In addition, Thai dance was cultural lifestyles in communities and was familiar to everyone for a long period of time. The participants in E group were happy and willing to continue doing Mae Bot exercise regularly, hence a dropout rate was low. Secondly, Mae Bot exercise was developed by integrating Mae Bot Yai Thai dance with the knowledge of exercise theory and aimed to be suitable and effective for improvements of balance control. According to its complex postures in each dance pace, changing postures and positions with limbs moving alternately or simultaneously, transferring weight in each walking step could promote balance control. However, there were some limitations in our study. The first, all participants in E group were female because of the greater number of senior women than senior men in E group communities. In addition, there were Muslims who could not join to do Mae Bot exercise on account of Islamic

provisions. There was no group of receiving other intervention in this study too. Further studies designed properly for elderly men and Muslims will be meaningful as well as comparing Mae Bot exercise with other exercises.

In conclusion, the results of this study contribute evidences that Mae Bot Exercise are effective on improving balance control in Thai community-dwelling older adults. The results indicate that the elderly should continue doing Mae Bot exercise 12 weeks, once a day, 42 minutes each time, 3 times per week to achieve its benefits on balance control. Following the processes of this participatory action research with participation of community members, we can promote sustainable health development of the elderly in communities too.

## References

- [1] Park, D. C., & Yeo, S. G. (2013). Ageing. *Korean Journal of Audiology*, 17, 39-44.
- [2] Finlayson, M.L., & Peterson, E. W. (2010). Falls, Aging, and Disability. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinic of North America*, 21, 357-373.
- [3] Sherrington, C., Whitney, J. C., Lord, S. R., Herbert, R. D., Cumming, R. G., & Close, J. C. (2008). Effective Exercise for the Prevention of Falls: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal American Geriatrics Society*, 56, 2234-2243.
- [4] Ontario Learning for Sustainability Partnership (OLSP). (1996). *Learning for Sustainability: Essential Outcomes and Classroom Learning Strategies*, Toronto: OLSP.
- [5] Hui, E., Chui, T-K. B., & Woo, J. (2009). Effects of Dance on Physical and Psychological Well-Being in Older Persons. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 49, e45-e50.
- [6] Roberson, D.N., Wang, S. Y., Sigmund, E., & Valkova, H. (2015). The Influence of a Ten Week Tai Chi Program with Seniors. *Acta Gymnica*, 45, 77-84.
- [7] Laophosri, M., Kanpittaya, J., Sawanyawisuth, K., Auvichayapat, P., & Janyacharoen, T. (2013). Effects of Thai Dance on Balance in Thai Elderly. *Chulalongkorn Medical Journal*, 57, 345-357.
- [8] Cultural heritage of the nation. (2014). *Rum Mae Bot*. Bangkok: Department of Cultural Promotion, Ministry of Culture.
- [9] Plowman, S. A., & Smith, D. L. (2011). Neuromuscular-Skeletal System. (In Plowman, S.A. and Smith, D.L.eds.). *Exercise Physiology: For Health, Fitness and Performance* (3<sup>rd</sup> edition). 483-616. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- [10] Rikli, R., & Jones, J. (2001). *Senior Fitness Test Manual*. Champaign: Human Kinetics.
- [11] Duncan, P. W., Studenski, S., & Chandler, J. (1992). Functional Reach: Predictive Validity in a Sample of Elderly Male Veterans. *Journal of Gerontology*, 47, M93-98.
- [12] Bohannon, R. W. (2006). Single Limb Stance Times: A Descriptive Meta-Analysis of Data from Individuals at Least 60 Years of Age. *Geriatric Rehabilitation*, 22, 70-77.



# ความชุกของความผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงาน ของพนักงานสำนักงานมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

## Prevalence of Work - related Musculoskeletal Disorders in Walailak University's Officer

ประภัสสร เสงสัน<sup>1\*</sup> และอักรเดช คงคำ<sup>2</sup>

Praphatson Sengsoon<sup>1\*</sup> and Ukkaradate Kongkam<sup>2</sup>

### บทคัดย่อ

การวิจัยเพื่อสำรวจและหาความสัมพันธ์ของโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ และอาการผิดปกติใน  
ส่วนต่างๆ ของร่างกายที่เกี่ยวข้องกับการปฏิบัติงาน โดยการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธีการคัดเลือกแบบ  
เฉพาะเจาะจง ได้ผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 101 คน มีอายุระหว่าง 20 - 60 ปี โดยผู้เข้าร่วมวิจัยทำการกรอกแบบสอบถาม  
หลังจากนั้นผู้วิจัยทำการประเมินความผิดปกติที่เกี่ยวกับระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ พบว่าบริเวณที่มักมีอาการ  
ปวด 3 อันดับแรกคือ ไหล่และบ่า ศีรษะและคอ และบริเวณหลัง อาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ  
ที่พบ 4 อันดับแรก คือ กล้ามเนื้ออักเสบเรื้อรัง หลังยึดติดในท่าแอ่น ปวดกล้ามเนื้อบริเวณฐานนิ้วโป้ง  
อักเสบ และความตึงตัวของเส้นประสาทแขนผิดปกติ โดยมีความรุนแรงของอาการอยู่ในระยะที่ 1 คือ มีอาการ  
ปวดเล็กน้อยในช่วงเวลาการทำงาน อาการจะหายไปในช่วงเวลากลางคืนหรือช่วงพัก ไม่มีการลดลงของ  
ความสามารถในการทำงาน มีอาการเป็นอาทิตย์หรือเป็นเดือน อาการเป็นๆ หายๆ จากการหาความสัมพันธ์  
พบว่าประสพการณ์การทำงานและบริเวณที่มักจะมีอาการปวดมีความสัมพันธ์กัน

**คำสำคัญ:** โรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ WMSDs โรคที่สัมพันธ์กับการปฏิบัติงาน

<sup>1</sup> อ., สาขาวิชากายภาพบำบัด สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ 80160

<sup>2</sup> นักกายภาพบำบัด คลินิกกายภาพบำบัด สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ 80160

<sup>1</sup> Lecturer, Department of Physical Therapy, School of Allied Health Sciences, Walailak University, Nakhon Si Thammarat,  
80160, Thailand

<sup>2</sup> Physical therapist of Physical Therapy Clinic, School of Allied Health Sciences, Walailak University, Nakhon Si Thammarat,  
80160, Thailand

\* Corresponding author: Tel.:075-672770. E-mail address: praphatson.kl@wu.ac.th

(Received: August 28, 2018; Revised: November 20, 2018; Accepted: November 27, 2018)

## Abstract

The study is to reveal the relationship between the musculoskeletal disorder and abnormalities among the office workers. The 101 participants who had age range 20-60 years completed questionnaires and then were assessed to explore the musculoskeletal disorder and abnormalities. It was found that the most three pain areas were at shoulder, neck and back. The most forth abnormalities were myofascial pain, low back pain, de quervain's tenosynovitis and nerve tension, respectively. The severity of symptom was stage 1 (fatigue during work time, symptoms disappear during night time or rest, no working ability decrease, having symptoms for week or month and having off and on.) Relationships between work experience and pain area were significantly correlated.

**Keywords:** Musculoskeletal Disorders, WMSDs, Work Related Musculoskeletal Disorders

## บทนำ

ในปัจจุบันโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการทำงานมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในหลายๆ ประเทศ รวมทั้งประเทศไทย [1] ซึ่งเกิดจากการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมที่เพิ่มขึ้น [2] เป็นโรคที่สามารถพบได้บ่อยในคนทำงาน [3] เกิดจากการได้รับการบาดเจ็บซ้ำๆ อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ส่งผลต่อกล้ามเนื้อ ข้อต่อและกระดูก [4] ทำให้เกิดความผิดปกติในส่วนต่างๆ ของร่างกาย เช่น อาการปวดข้อ กล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อต่างๆ [5] ซึ่งเป็นสาเหตุให้ประสิทธิภาพในการทำงานลดลง ส่งผลต่อภาวะทางจิตใจและเพิ่มภาระค่าใช้จ่ายในการรักษา [6] โรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อจึงเป็นปัญหาสำคัญของคนวัยทำงาน [7] และมีสถิติที่สูงขึ้นทั่วโลกก่อให้เกิดรายจ่ายมหาศาลในแต่ละปี [8]

มีรายงานเกี่ยวกับความชุกของโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงานพบว่าเกิดจากการใช้คอมพิวเตอร์ในการปฏิบัติงานถึงร้อยละ 40-80 [9] เนื่องจากมีการใช้คอมพิวเตอร์มากขึ้นทั้งในการทำงานและการใช้งานส่วนบุคคล [10] จึงเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่เป็นสาเหตุของอาการต่างๆ อาจเกิดจากการพิมพ์งานและใช้เมาส์เป็นระยะเวลานาน รวมทั้งท่าทางการปฏิบัติงานที่ไม่ถูกต้อง เช่น มีการวางแขนพิมพ์สูงกว่าระดับข้อศอก มีการกระดกข้อมือมากเกินไป [11] นอกจากนี้สถานงานที่ไม่เหมาะสม มีการทำงานที่อยู่นิ่งท่าใดท่าหนึ่งเป็นระยะเวลานาน ก็ยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่เป็นสาเหตุของโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ [12] และนอกจากนี้ก็ยังมียังปัจจัยอื่นๆ เช่น อายุการทำงาน ระยะเวลาในการทำงานในแต่ละวัน และการพักระหว่างการทำงาน [13] จะเห็นได้ว่าการใช้คอมพิวเตอร์ในการปฏิบัติงานที่ต้องนั่งเป็นระยะเวลานานในท่าทางที่ไม่เหมาะสมจะพบได้ในพนักงานสำนักงานเป็นส่วนใหญ่ สอดคล้องกับการศึกษาพฤติกรรมการใช้คอมพิวเตอร์ในการปฏิบัติงานของพนักงานสำนักงาน พบว่าใช้คอมพิวเตอร์ในการปฏิบัติงาน 5 วันต่อสัปดาห์ ร้อยละ 57.7 มีระยะเวลาในการใช้คอมพิวเตอร์ในการปฏิบัติงาน 8 ชั่วโมง/วัน ร้อยละ 32.6 ใช้คอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะ ร้อยละ 75.3 [14] และจากการศึกษาการประเมินความเสี่ยงด้านการยศาสตร์ของพนักงานสำนักงานมหาวิทยาลัยแห่งหนึ่ง

ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า มีความเสี่ยงทางกายศาสตร์การทำงานในระดับที่สูง ร้อยละ 66.23 รองลงมา คือระดับปานกลางร้อยละ 19.48 และระดับสูงมาร้อยละ 13.85 ตามลำดับ [15]

ดังนั้นทางกลุ่มผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะสำรวจความชุกของโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่มีความสัมพันธ์กับการใช้คอมพิวเตอร์ในการปฏิบัติงาน ระยะการดำเนินโรค และการบาดเจ็บของส่วนต่างๆ ของร่างกายที่พบบ่อยในพนักงานสำนักงานมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ถึงภาวะสุขภาพ และสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงานเพื่อหาแนวทางในการลดความเสี่ยง และเป็นการป้องกันปัญหาสุขภาพอันเกิดจากการใช้ท่าทางที่ไม่เหมาะสมในการปฏิบัติงานของพนักงานสำนักงานมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

### วัตถุประสงค์ และวิธีการดำเนินการ

รูปแบบการวิจัยเป็นการศึกษาเชิงสำรวจ (Survey Study) เพื่อสำรวจเกี่ยวกับกลุ่มโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงาน ระยะการดำเนินโรค และอาการบาดเจ็บในส่วนต่างๆ ของร่างกายที่จะพบได้บ่อยในพนักงานสำนักงานของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ที่ใช้คอมพิวเตอร์ในการปฏิบัติงาน โดยใช้แบบตรวจประเมินกลุ่มอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อจากงานสำนักงานและชุดการออกกำลังกายสำหรับพนักงานที่ใช้คอมพิวเตอร์เป็นประจำ ประชากรที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้คือ พนักงานสำนักงานของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ช่วงอายุ 20 - 60 ปี ใช้งานคอมพิวเตอร์ติดต่อกันอย่างน้อย 2 ชั่วโมงต่อวันโดยไม่มีการพักและจะต้องมีประสบการณ์ในการทำงานเป็นเวลามากกว่า 1 ปี โดยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธีการคัดเลือกแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive Sampling) ได้จำนวนทั้งสิ้น 101 คน โดยผู้วิจัยทำการชี้แจงผู้เข้าร่วมวิจัยทราบวัตถุประสงค์และขั้นตอนการวิจัย ผู้เข้าร่วมวิจัยจะต้องกรอกแบบสอบถามเกี่ยวกับข้อมูลทั่วไปและข้อมูลการทำงาน หลังจากนั้นผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการตรวจประเมินกลุ่มอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการทำงานโดยนักกายภาพบำบัด ได้แก่ กล้ามเนื้ออักเสบเรื้อรัง เอ็นกล้ามเนื้ออักเสบ หลังยึดติดในท่าแอ่น ข้อเข่าอักเสบ ความตึงตัวของเส้นประสาทแขนผิดปกติ เอ็นรัดข้อมืออักเสบ เอ็นกล้ามเนื้อบริเวณข้อศอกด้านนอกอักเสบ ปวดข้ออักเสบเอ็นกล้ามเนื้อบริเวณฐาน และนิ้วล็อก และได้รับการประเมินความรุนแรงของกลุ่มโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการบาดเจ็บสะสมโดยใช้แบบตรวจประเมินกลุ่มอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อจากงานสำนักงานซึ่งเป็นเอกสารที่ใช้กันอย่างแพร่หลายและพิจารณาความถูกต้องและความน่าเชื่อถือโดยสมาคมกายศาสตร์แห่งประเทศไทย โดยผลการประเมินความรุนแรงของกลุ่มโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการบาดเจ็บสะสมแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 มีอาการปวดและล้าในช่วงเวลาทำงาน อาการจะหายไปในเวลากลางคืนหรือช่วงพัก มีอาการเป็น ๆ หาย ๆ ไม่มีการลดลงของความสามารถในการทำงาน มีอาการเป็นอาทิตย์หรือเป็นเดือน ระยะที่ 2 อาการจะเริ่มเป็นในช่วงแรกของการทำงานและไม่หายไปในเวลากลางคืน อาจมีอาการกดเจ็บ ปวด บวม ชา อ่อนแรง รบกวนการนอน ความสามารถในการทำงานลดลง และมีอาการคงค้างอยู่เป็นเดือน ระยะที่ 3 มีอาการในขณะพักหรือเวลา

กลางคืน มีอาการปวดแม้ว่าจะทำงานเบา มีการรบกวนการนอน ไม่สามารถทำงานแม้จะเป็นงานที่เบาได้ อาการอาจยาวเป็นเดือนหรือเป็นปี

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และหากผู้เข้าร่วมวิจัยมีความผิดปกติเกี่ยวกับกลุ่มอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการทำงานจะได้รับการสอนท่าทางการออกกำลังกายสำหรับพนักงานที่ใช้คอมพิวเตอร์เป็นประจำ [16]

ผู้วิจัยนำข้อมูลที่ได้จากแบบสอบถามและแบบตรวจประเมินกลุ่มอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานคอมพิวเตอร์ในพนักงานสำนักงานมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive Statistics) ในการอธิบายข้อมูลของกลุ่มโรค ระยะการดำเนินโรค อาการบาดเจ็บในส่วนต่างๆ ของร่างกายที่พบได้บ่อยในโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงานในพนักงานสำนักงาน มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และใช้สถิติ Chi-Square Test ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับบริเวณที่มักมีอาการปวด ประสิทธิภาพการทำงานกับระยะการดำเนินโรค และประสิทธิภาพการทำงานกับบริเวณที่มักมีอาการปวด

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมดจำนวน 101 คน (เพศชาย 21 คน และเพศหญิง 80 คน) อายุเฉลี่ย  $40.26 \pm 7.27$  ปี น้ำหนัก  $59.85 \pm 13.27$  กิโลกรัม ความสูง  $159.91 \pm 7.80$  เซนติเมตร ดัชนีมวลกาย  $23.28 \pm 4.17$  กิโลกรัม/เมตร<sup>2</sup> และ ประสิทธิภาพการทำงาน  $180.49 \pm 89.57$  เดือน

1. ข้อมูลด้านสุขภาพและการทำงาน พบว่าผู้เข้าร่วมวิจัยส่วนใหญ่ไม่มีโรคประจำตัว (76.24 %) มีปัญหาสายตา (69.31 %) ระยะเวลาการใช้งานคอมพิวเตอร์ติดต่อกันมากกว่าหรือเท่ากับ 2 ชั่วโมงใน 1 วัน (94.06 %) และบริเวณที่มักมีอาการปวด 3 อันดับแรกคือ ไหล่และบ่า (75.25 %) ศีรษะและคอ (56.44 %) และ บริเวณหลัง (41.58 %) ตามลำดับ ซึ่งแสดงในตารางที่ 1 อาจเนื่องจากการนั่งทำงานหน้าคอมพิวเตอร์เป็นเวลานานๆ จะส่งผลให้เกิดท่าทางที่ไม่เหมาะสม คือ ศีรษะยื่นไปข้างหน้า และไหล่ห่อ ทำให้กล้ามเนื้อบริเวณคอ บ่า และไหล่ต้องทำงานหนักส่งผลให้เกิดอาการปวดตามมา [17] นอกจากนี้การทรงท่าที่ผิดปกติของคอ (Abnormal Neck Posture/Poor Posture) ที่มีศีรษะยื่นไปข้างหน้า (Head Forward) และไหล่ห่อ (Round Shoulder) ส่งผลให้เกิดการหดสั้นของกล้ามเนื้อบริเวณฐานกะโหลกศีรษะ (Suboccipital Muscle) กล้ามเนื้อ บริเวณด้านหลังต้นคอ (Upper Trapezius, Levator Scapulae) และกล้ามเนื้อบริเวณหน้าอก (Pectoral Muscle) ร่วมกับการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อด้านหน้าต้นคอส่วนลึก (Deep Cervical Flexors) และกล้ามเนื้อบริเวณกระดูก สะบัก (Serratus Anterior, Rhomboids, Middle Trapezius, Lower Trapezius) หรือเรียกได้ว่าเกิดความไม่สมดุล ของกล้ามเนื้อ (Muscle Imbalance) ทำให้เกิดจุดกดเจ็บที่กล้ามเนื้อในตำแหน่งที่มีการหดสั้น (Tenderness) ส่งผลให้เกิดอาการปวดคอ ปวดไหล่และบ่าตามมาในที่สุด [18] อีกทั้งการนั่งเป็นเวลานานๆ จะทำให้เกิดอาการตึงแข็ง ของกระดูกสันหลังเมื่อน้ำหนักกดลงบนกระดูกสันหลังจึงทำให้น้ำไปสู่การบาดเจ็บของกระดูกสันหลังและ กล้ามเนื้อรอบๆ กระดูกสันหลังได้ง่าย [19] และลักษณะงานที่อยู่ใต้อิริยาบถเดิมๆ เช่น การนั่งทำงานที่โต๊ะอยู่ หน้าคอมพิวเตอร์นานๆ การนั่งเขียนหรือตรวจเอกสารนานเกินกว่า 6 ชั่วโมงต่อวัน เป็นสาเหตุสำคัญของการ

ปวดคอ ไหล่ และหลังส่วนล่าง [20] นอกจากนี้พนักงานสำนักงานในมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ส่วนใหญ่มีการใช้งานคอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะอย่างต่อเนื่องมากกว่า 2 ชั่วโมง (94.06 %) และต้องทำงานกับคอมพิวเตอร์ 2 ชั่วโมงต่อวัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Klussmann และคณะ [21] พบว่าระยะเวลาของการทำงานที่ Visual Display Terminal (VDT) มากกว่า 6 ชั่วโมงต่อวัน มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญกับความถี่ของอาการปวดคอของพนักงานอีกด้วย และนอกจากอาการทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อแล้วจากการสำรวจครั้งนี้ยังพบว่าพนักงานสำนักงานมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ส่วนใหญ่จะมีปัญหาด้านสายตา (69.31 %) ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากสำนักพัฒนาระบบข้อมูลข่าวสารสุขภาพ (HISO) ที่ระบุว่า การใช้คอมพิวเตอร์นานกว่า 6 ชั่วโมงต่อวัน จะทำให้เกิดปัญหาสายตาขาดน้ำหล่อเลี้ยง เกิดอาการระคายเคือง ตาพร่ามัว สายตาสั้น ตลอดจนอาการปวดศีรษะหรือไมเกรน เนื่องจากกล้ามเนื้อตาบีบรัดเส้นสายตาจนตาเมื่อยล้า [22]

**2. กลุ่มอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อจากงานสำนักงาน** จากการสำรวจกลุ่มอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อจากงานสำนักงานที่พบมาก 4 อันดับแรกคือ กล้ามเนื้ออักเสบเรื้อรัง (74.26 %) หลังยึดติดในท่าแอ่น (40.59 %) ปวดกล้ามเนื้อบริเวณฐานนิ้วโป้งอักเสบ (40.59 %) และความตึงตัวของเส้นประสาทแขนผิดปกติ (36.63 %) ตามลำดับซึ่งแสดงในตารางที่ 2 เนื่องจากลักษณะงานที่นั่งอยู่กับที่ด้วยท่าทางที่ถูกจำกัด ต้องนั่งทำงานในท่าเดียวเป็นระยะเวลานานโดยไม่ผ่อนคลาย ร่วมกับโน้มลำตัวมาด้านหน้าและมีการก้มศีรษะเพื่อใช้สายตาเพ่งมองหน้าจอคอมพิวเตอร์และเอกสาร แขนทั้งสองข้างและข้อมือจะและกางออก อาจทำให้เกิดกลุ่มอาการปวดบริเวณลำคอและไหล่ (Myofascial Pain Syndrome) ลักษณะการทำงานดังกล่าวทำให้กล้ามเนื้อมีการออกแรงแบบหดตัวอยู่กับที่ แรงดันในกล้ามเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นตลอดเลือดและเส้นประสาทภายในกล้ามเนื้อจะถูกกด เลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อลดลงจนทำให้เกิดอาการเจ็บ ปวดเมื่อยล้า ถ้ามีการทำงานอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานจะเพิ่มโอกาสเกิดการบาดเจ็บและอักเสบของกล้ามเนื้อ เส้นเอ็นหรือเส้นประสาทบริเวณไหล่ หากเกิดการบาดเจ็บสะสมจะทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง ปวด บวม มีการอักเสบและมีเนื้อเยื่อพังผืดเกิดขึ้นได้ [23]

**3. ระดับความรุนแรงของกลุ่มโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการบาดเจ็บสะสม** พบว่าส่วนมากอยู่ในระยะที่ 1 (82.18 %) หมายถึง พนักงานสำนักงานมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์มีอาการปวดและล้าในช่วงเวลาทำงาน อาการหายไปในเวลากลางคืนหรือช่วงพัก ไม่มีการลดลงของความสามารถในการทำงาน มีอาการเป็นอาทิหัดหรือเป็นเดือน และอาการเป็นๆ หายๆ ซึ่งแสดงในตารางที่ 3 ดังนั้นเพื่อให้ผลกระทบเหล่านี้ลดน้อยลง พนักงานสำนักงานจึงควรตระหนักถึงระยะเวลาในการใช้คอมพิวเตอร์ ท่าทางการนั่งทำงานกับคอมพิวเตอร์ และมีการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ หน่วยงานที่เกี่ยวข้องมีการจัดสภาพแวดล้อมให้ถูกต้องตามหลักการยศาสตร์และให้ความรู้และผลกระทบของการทำงานกับคอมพิวเตอร์ หรือมีการประเมินความเสี่ยงด้านการยศาสตร์เพื่อทราบความเสี่ยงในพื้นที่การทำงานในหน่วยงาน [24]

## ตารางที่ 1 ข้อมูลด้านสุขภาพและการทำงาน

| ข้อมูลด้านสุขภาพและการทำงาน                             | จำนวนคน (ร้อยละ) |
|---------------------------------------------------------|------------------|
| <b>โรคประจำตัว</b>                                      |                  |
| - มี                                                    | 24 (23.76)       |
| - ไม่มี                                                 | 76 (76.24)       |
| <b>ระยะเวลาการใช้งานคอมพิวเตอร์ติดต่อกันใน 1 วัน</b>    |                  |
| - น้อยกว่า 2 ชั่วโมง                                    | 6 (5.94)         |
| - มากกว่าหรือเท่ากับ 2 ชั่วโมง                          | 94 (94.06)       |
| <b>ความถนัดของแขน</b>                                   |                  |
| - ซ้าย                                                  | 9 (8.91)         |
| - ขวา                                                   | 91 (91.09)       |
| <b>ปัญหาสายตา</b>                                       |                  |
| - ไม่มี                                                 | 31 (30.69)       |
| - มี                                                    | 69 (69.31)       |
| <b>บริเวณที่มักมีอาการปวด (ระบุได้มากกว่า 1 บริเวณ)</b> |                  |
| - ศีรษะและคอ                                            | 56 (56.44)       |
| - ไหล่และบ่า                                            | 75 (75.25)       |
| - แขนและข้อศอก                                          | 15 (14.85)       |
| - ข้อมือและมือ                                          | 23 (22.77)       |
| - หลังส่วนบน                                            | 42 (41.58)       |
| - หลังส่วนล่าง                                          | 42 (41.58)       |
| - สะโพกและต้นขา                                         | 16 (15.84)       |
| - เข่าและน่อง                                           | 23 (22.77)       |
| - ข้อเท้าและเท้า                                        | 12 (11.88)       |

**ตารางที่ 2** กลุ่มอาการทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่พบได้บ่อย

| กลุ่มอาการที่มักพบบ่อย (ระบุได้มากกว่า 1 อาการ) | จำนวนคน (ร้อยละ) |
|-------------------------------------------------|------------------|
| กล้ามเนื้ออักเสบเรื้อรัง                        | 74 (74.26)       |
| หลังยึดติดในท่าแอ่น                             | 41 (40.59)       |
| ปลอกหุ้มเอ็นกล้ามเนื้อฐานนิ้วโป้งอักเสบ         | 41 (40.59)       |
| ความตึงตัวของเส้นประสาทแขนผิปกติ                | 37 (36.63)       |
| เอ็นกล้ามเนื้อไหล่อักเสบ                        | 23 (22.77)       |
| ข้อเข่าอักเสบ                                   | 13 (12.87)       |
| เอ็นรัดข้อมืออักเสบ                             | 13 (12.87)       |
| เอ็นกล้ามเนื้อบริเวณข้อศอกด้านนอก               | 13 (12.87)       |
| นิ้วล็อก                                        | 1 (0.99)         |

**ตารางที่ 3** ความรุนแรงของกลุ่มโรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการบาดเจ็บสะสม

| ระยะการดำเนินโรค | จำนวนคน (ร้อยละ) |
|------------------|------------------|
| ระยะที่ 1        | 82 (82.18)       |
| ระยะที่ 2        | 16 (15.84)       |
| ระยะที่ 3        | 2 (1.98)         |

**ตารางที่ 4** การหาความสัมพันธ์ระหว่างประสบการณ์ทำงานและบริเวณที่มีอาการปวด อายุและบริเวณที่มักมีอาการปวด  
อาการปวด ประสบการณ์ทำงานและระยะการดำเนินโรค

| ตัวแปร                                | p - value |
|---------------------------------------|-----------|
| ประสบการณ์ทำงานและบริเวณที่มีอาการปวด | < 0.001*  |
| อายุและบริเวณที่มักมีอาการปวด         | > 0.05    |
| ประสบการณ์ทำงานและระยะการดำเนินโรค    | > 0.05    |

\* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ p - value < 0.05 เมื่อวิเคราะห์ด้วย Chi-Square Test

4. การหาความสัมพันธ์ระหว่างประสบการณ์ทำงานและบริเวณที่มีอาการปวด พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) อาจเนื่องมาจากการทำงานติดต่อกันเป็นเวลานานโดยไม่หยุดพัก อาจทำให้กระบวนการเผาผลาญ (Metabolism) ของร่างกายเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความทนทานของร่างกายลดลง การหดตัวของกล้ามเนื้อลดลงและเกิดการสะสมของกรดแลคติกทำให้เกิดความเมื่อยล้าของกล้ามเนื้อ ซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดอาการผิปกติหรือการบาดเจ็บทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ [25] และเมื่อการบาดเจ็บนั้นไม่ได้รับการแก้ไขอย่างถูกวิธีจะทำให้เกิดโรคหรือความผิดปกติที่เรื้อรังตามมา เช่น กลุ่มอาการกล้ามเนื้อ

อีกเสบเรื้อรังหรือความตึงตัวของเส้นประสาทแขนผิดปกติ เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของฟิรพงษ์ จันทราเทพ และสุนิสา ชายเกลี้ยง พบว่าพนักงานเก็บขนขยะขององค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในจังหวัดหนองบัวลำภูที่มีอายุการทำงาน  $\geq 4$  ปี จะมีโอกาสเกิดอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ (MSDs) มากกว่าผู้ที่มีอายุการทำงานน้อยกว่า 4 ปี ถึง 4.95 เท่า [26]

5. การหาความสัมพันธ์ระหว่างอายุและบริเวณที่มีอาการปวด พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ( $p > 0.05$ ) อาจเนื่องมาจากช่วงอายุที่สำรวจอยู่ในวัยกลางคน (อายุเฉลี่ย 40 ปี) จึงยังไม่มีผลจากความเสื่อมของร่างกายเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นบริเวณที่มักมีอาการปวดที่สำรวจพบ จึงอาจเป็นผลของอาการบาดเจ็บที่เกิดจากการทำงานกับคอมพิวเตอร์มากกว่าผลที่เกิดขึ้นจากความเสื่อม [27]

6. การหาความสัมพันธ์ระหว่างประสบการณ์ทำงานและระยะการดำเนินโรค พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ ( $p > 0.05$ ) อาจเนื่องจากประสบการณ์ทำงานที่มากขึ้นทำให้มีวิธีการจัดการกับความเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นได้ เช่น การรักษาทางการแพทย์ การรักษาทางกายภาพบำบัด หรือมีกิจกรรมทางกาย การออกกำลังกาย ทำให้อาการทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อบรรเทาลง แต่ทั้งนี้ควรมีการศึกษาอย่างละเอียดถึงปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม [27]

### สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อหาความชุกของความคิดผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงานของพนักงานสำนักงานมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์พบว่า พนักงานที่ได้รับการสำรวจส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงวัยกลางคน และมีประสบการณ์ทำงานเฉลี่ย 15 ปี ซึ่งมีการทำงานโดยใช้คอมพิวเตอร์อย่างต่อเนื่องระยะเวลาานมากกว่า 2 ชั่วโมงต่อวัน ส่งผลให้ตรวจพบอาการปวดบริเวณไหล่และบ่า และพบอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อจากงานสำนักงานคือ กล้ามเนื้ออักเสบเรื้อรัง อาจเนื่องมาจากการใช้กล้ามเนื้ออย่างหนัก อยู่ในท่าทางการทำงานที่ไม่เหมาะสม ต่อเนื่องซ้ำๆ โดยส่งผลให้กล้ามเนื้อมีการหดตัวอย่างต่อเนื่องเกิดการสะสมและค้างตึงของของเสียในตัวกล้ามเนื้อ ส่งผลทำให้เกิดอาการปวดกล้ามเนื้อมากขึ้น แต่อาการเหล่านี้ยังไม่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการทำงานหากได้รับการรักษาอย่างถูกวิธีอาการเหล่านี้อาจลดลง แต่หากไม่ได้รับการรักษาอาการเหล่านี้อาจจะรุนแรงมากขึ้นหรือเป็นหลายบริเวณมากขึ้นจนส่งผลกระทบต่อสุขภาพของตนเองและการทำงานในอนาคตได้ เนื่องจากการสำรวจครั้งนี้พบว่าหากมีประสบการณ์ทำงานกับคอมพิวเตอร์มากขึ้นจะส่งผลให้มีจำนวนบริเวณที่มีอาการปวดของระบบกระดูกและกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้นด้วย นอกจากนี้การศึกษานี้ยังเป็นการกระตุ้นให้ผู้เข้าร่วมวิจัยได้ตระหนักถึงการดูแลสุขภาพของตนเองมากขึ้น โดยจะได้รับคำแนะนำในการปฏิบัติตัวอย่างถูกต้องเพื่อลดปัญหาทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่เกิดจากการทำงาน ทั้งนี้เพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาในระยะยาวควรมีการวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงหรือสาเหตุของอาการผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับงานในอนาคตต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Phajan, T., Nilvarangkul, K., Settheetham, D., & Laohasiriwong, W. (2014). Work-related Musculoskeletal Disorders among Sugarcane Farmers in North-eastern Thailand. *Asia Pacific Journal of Public Health*, 26(3), 320-327.
- [2] Ranasinghe, P., Perera, Y. S., Lamabadusuriya, D. A., Kulatunga, S., Jayawardana, N., Rajapakse, S., & Katulanda, P. (2011). Work Related Complaints of Neck, Shoulder and Arm among Computer Office Workers: A Cross-sectional Evaluation of Prevalence and Risk Factors in a Developing Country. *Environmental Health*, 10(1), 1-9.
- [3] Punnett, L., & Wegman, D. H. (2004). Work-related Musculoskeletal Disorders: The Epidemiologic Evidence and the Debate. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 14(1), 13-23.
- [4] Aghili, M., Asilian, H., & Poursafa, P. (2012). Evaluation of Musculoskeletal Disorders in Sewing Machine Operators of a Shoe Manufacturing Factory in Iran. *Journal of the Pakistan Medical Association*, 62(3), 20-25.
- [5] Kroemer, K. H. E. (2003). Cumulative Trauma Disorders: Their Recognition and Ergonomics Measures to Avoid them. *Applied Ergonomics*, 20(4), 274-280.
- [6] Kee, D., Chung, M. K. & Kim, J. H. (2011). Legal System and Its Effect for Prevention of Work-related Musculoskeletal Disorders in Korea. *International Journal of Industrial Ergonomics*, 41(3), 224-232.
- [7] Reilly T. (2002). Musculoskeletal Disorders in Health-related Occupations. *Biomedical and Health Research*, 49(1), 206
- [8] Santipong, K. (2008). *Injuries from Repetitive Work Situations* (Online). Retrieved 18 December 2017, from <http://www.infku.ac.th/article/diag/510202/ctd.html>.
- [9] Andersen, J. H., Kaergaard, A., Mikkelsen, S., Jensen, U. F., Frost, P., Bonde, J. P., & Thomsen, J. F. (2003). Risk Factors in The Onset of Neck/Shoulder Pain in a Prospective Study of Workers in Industrial and Service Companies. *Occupational and Environmental Medicine*, 60(1), 649-654.
- [10] Ekpenyong, C. E., & Inyang, U. C. (2014). Associations between Worker Characteristics, Workplace Factors, and Work-related Musculoskeletal Disorders: A Cross-Sectional Study of Male Construction Workers in Nigeria. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics*, 20(3), 447-462.
- [11] Oha, K., Animägi, L., Pääsuke, M., Coggon, D., & Merisalu, E. (2014). Individual and Work Related Risk Factors for Musculoskeletal Pain: a Cross-sectional Study among Estonian Computer Users. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 15(1), 1-5.

- [12] Kaliniene, G., Ustinaviciene, R., Skemiene, L., & Januskevicius, V. (2013). Associations between Neck Musculoskeletal Complaints and Work Related Factors among Public Service Computer Workers in Kaunas. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 26(5), 670-681.
- [13] Dianat, I., Kord, M., Yahyazade, P., Karimi, M. A., & Stedmon, A.W. (2015). Association of Individual and Work-related Risk Factors with Musculoskeletal Symptoms among Iranian Sewing Machine Operators. *Applied Ergonomics*, 51(1), 180-188.
- [14] Phonham, N., Ruengvoraboon, S., Boonkaew, K., & Seewirat, A. (2014). The Physical Symptoms that Occur from Using Computer of Supporting Staffs of Nakhon Phanom University. *Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology)*, 6(12), 26-38.
- [15] Krusun, M., & Chaiklieng, S. (2014). Ergonomic Risk Assessment in University Office Workers. *KKU Research Journal*, 19(5), 696 -707.
- [16] Mekhora, K., Kurustien, N. B., & Klangsin, P. (2008). Specific Exercise to Reduce WMSDs among Computer Users. *The 9th Southeast Asian Ergonomics Conference*, Bangkok, Thailand.
- [17] Kang, J. H., Park, R. Y., Lee, S. J., Kim, J. Y., Yoon, S. R., & Jung, K. I. (2012). The Effect of the Forward Head Posture on Postural Balance in Long Time Computer Based Worker. *Annals of Rehabilitation Medicine*, 36(1), 98-104.
- [18] Chaffin, D. B. (1973). Localized Muscle Fatigue - definition and Measurement. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 15(4), 346-354.
- [19] Beach, T. A. C., Parkinson, R. J., Stothart, J. P., & Callaghan, J. P. (2005). Effects of Prolonged Sitting on the Passive Flexion Stiffness of the in Vivo Lumbar Spine. *The Spine Journal*, 5(2), 145-154.
- [20] Chaikan, W., Janprasit, C., & Keawthammanukul, T. (2007). Ergonomic Factors and Prevalence Rate of Musculoskeletal Pain among Workers in Semiconductor Industry in the Northern Region Industrial Estate. *Journal of Health Science*, 16(2), 226-233.
- [21] Klusmann, A., Gebhardt, H., Liebers, F. & Rieger, M.A. (2008). Musculoskeletal Symptoms of the Upper Extremities and the Neck: A Cross-Sectional Study on Prevalence and Symptom-predicting Factors at Visual Display Terminal (VDT) Workstations. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 9(1), 1-16.
- [22] Health Information System Development Office. (2003). *Keeping Healthy with Computer Use* (Online). Retrieved 21 December 2017, from [http://www.hiso.or.th/hiso/health\\_news/health\\_story4\\_19.php](http://www.hiso.or.th/hiso/health_news/health_story4_19.php).
- [23] Ketola, R. (2004). Physical Workload as a Risk Factor for Symptoms in the Neck and Upper Limbs: Exposure Assessment and Ergonomic Intervention. *Journal of Sports Science and Medicine*, 3(1), 1-46.

- [24] Vinyoocharoenkul, J., & Pochana, K. (2015). The Ergonomic Risk Assessment of Computer User by Rapid Office Strain Assessment (ROSA). *Journal of Public Health*, 45(2), 148-158.
- [25] Marras, W. S. (2000). Occupational Low Back Disorder Causation and Control. *Ergonomic*, 43(3), 880-902.
- [26] Jantratap, P., & Chaiklieng, S. (2011). Prevalence and Risk Factors of Musculoskeletal Disorders among Solid Waste Collectors Employed by the Local Administrative Organizations at Nong Bua Lam Phu Province. *KKU Journal for Public Health Research*, 4(2), 49-58.
- [27] Boonprakob, Y., Phadungkit, S., Nongharnpitak, S., Srijessadarak, T., Supasatean, W., & Nakhengrit, C. (2016). Trigger Point: Curable or Palliative Symptoms. *Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences*, 49(1), 155-166.



# การทดสอบความพึงพอใจของตำรับยาดมชนิดน้ำว่านสาวหลง

## Satisfaction Test of Borneo Camphor Liquid Inhaler from Essential Oil of *Amomum biflorum* Jack

ธวัชชัย ศรีสุวรรณ<sup>1</sup> ทวีภรณ์ คีรีคช<sup>1</sup> นิชกานต์ เวชสิทธิ์<sup>2</sup> ศรุดา โคมปรังค์<sup>2</sup>  
และสนั่น สุขธีรสกุล<sup>3\*</sup>

Thawatthai Srisuwan<sup>1</sup>, Thaweeporn Keereekoch<sup>1</sup>, Nichakarn Watchasit<sup>2</sup>, Saruda Chomprang<sup>2</sup>  
and Sanan Subhaddhirasakul<sup>3\*</sup>

### บทคัดย่อ

การตั้งสูตรตำรับยาดมชนิดน้ำจากน้ำมันหอมระเหยของว่านสาวหลง เพื่อประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร 99 คน จำนวน 3 สูตร คือ สูตร A สูตร B และสูตร C ที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 1 ร้อยละ 5 และร้อยละ 3 ตามลำดับ พบว่าสูตรตำรับ A และ C มีคะแนนความพึงพอใจโดยรวมมากกว่าสูตร B อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) จากนั้นคณะผู้วิจัยได้เลือกสูตร C ไปใช้ในการประเมินความคงตัวกลิ่น สี และค่า pH ของผลิตภัณฑ์ โดยแบ่งเป็น 3 สภาวะได้แก่ สภาวะที่ 1 หลังเตรียมผลิตภัณฑ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิที่ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส สภาวะที่ 2 ที่สภาวะเร่ง และสภาวะที่ 3 ที่สภาวะการเก็บรักษาจริง พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงกลิ่น สี และค่า pH จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ได้แก่วัตถุอย่างหลังเตรียมผลิตภัณฑ์ หลังผ่านสภาวะเร่ง และหลังผ่านสภาวะการเก็บรักษาจริงในวันที่ 90 พบว่าทั้ง 3 สภาวะ มีสารองค์ประกอบหลักทางเคมีที่เหมือนกัน โดยสารองค์ประกอบหลักที่มีปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Menthol (ร้อยละ 44.10-49.27) Camphor (ร้อยละ 31.96-35.16) *trans-p*-(1-butenyl)-anisole (ร้อยละ 5.14-6.76) Borneol (ร้อยละ 5.72-5.90) และ Isoborneol (ร้อยละ 3.24-3.67)

**คำสำคัญ:** ว่านสาวหลง ยาดมชนิดน้ำ น้ำมันหอมระเหย

<sup>1</sup> นักวิทยาศาสตร์ คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

<sup>2</sup> นักศึกษาปริญญาตรี คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

<sup>3</sup> รศ.ดร., คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

<sup>1</sup> Scientist, Faculty of Traditional Thai Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110, Thailand

<sup>2</sup> Undergraduate Student, Faculty of Traditional Thai Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110, Thailand

<sup>3</sup> Assoc. Prof. Dr., Faculty of Traditional Thai Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110, Thailand

\* Corresponding Author: E-mail address: sanan.s@psu.ac.th. Tel. 074-282700

(Received: December 12, 2017; Revised: March 26, 2018; Accepted: May 10, 2018)

## Abstract

The aim of the study was to formulate borneo camphor liquid inhaler from essential oil of *Amomum biflorum* Jack. Three formulas were prepared and used for the assessment of satisfaction of 99 volunteers. The composition of the essential oils of the 3 formulas A, B and C had a concentration of 1 %, 5 % and 3 %, respectively. It was observed that formula A and C had the overall satisfaction score and the scores were statistically significant when compared to the scores obtained for formula B at the 95 % confidence level. Therefore, formula C was selected for the evaluation of product stability. Testing of physical stability parameters of color, odor and pH were performed under 3 conditions namely; 24 hours at temperatures of 25°C, 30°C, 35°C and 40°C; Freeze-thaw stability condition and short-term temperature stability condition at day 90. The results indicated there were no changes. The products (freshly prepared at day 0; after freeze-thaw stability test and after short-term temperature stability test) were subjected to GC-MS analysis in order to determine the chemical components. Furthermore, the results from the GC-MS analysis indicated that first five major chemical components contained in all the three products were Menthol (44.10-49.27 %), Camphor (31.96-35.16 %), *trans-p*-(1-butenyl)-anisole (5.14-6.76 %), Borneol (5.72-5.90 %) and Isoborneol (3.24-3.67 %)

**Keywords:** *Amomum biflorum*, Borneo Camphor Liquid Inhaler, Essential Oil

## บทนำ

ปัญหาความเครียดที่เกิดขึ้นในปัจจุบันปัจจัยหนึ่งมาจากการเปลี่ยนแปลงทางสังคมอย่างรวดเร็ว การดำเนินชีวิตที่เร่งรีบ ความต้องการมีคุณภาพชีวิตที่ดี และการบริโภคข่าวสารกันมากกว่าในอดีต เมื่อเกิดความเครียดขึ้น ร่างกายจะมีปฏิกิริยาต่างๆ โดยมีอาการเช่น ปวดศีรษะ หน้ามืด หงุดหงิด นอนไม่หลับ เป็นต้น ทำให้มีการมองหาวิธีการผ่อนคลายความเครียด หนึ่งในวิธีการผ่อนคลายความเครียดคือการใช้ผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีสรรพคุณช่วยผ่อนคลายความเครียด บรรเทาอาการวิงเวียนศีรษะ หน้ามืด เช่น ยาต้ม ยาหมวนสมุนไพร ยาผสมชนิดน้ำ ซึ่งหาซื้อได้ง่ายในท้องตลาด และมีราคาถูก โดยทั่วไปในท้องตลาดยาผสมชนิดน้ำจะมีส่วนผสมพื้นฐานได้แก่ เมนทอล พิมเสน และการบูรเป็นหลัก และอาจจะมีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติอื่นๆ มาเป็นส่วนประกอบ เช่น น้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันคาร์เนชั่น เพื่อช่วยในการแต่งกลิ่น จากรายงานการวิจัยที่ได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชที่มีกลิ่นหอม เช่น ขมิ้นชัน กลาวดี วาสนา [1] และว่านสาวหลง [2] ซึ่งมีผลในการผ่อนคลายความเครียด คณะผู้วิจัยจึงสนใจว่านสาวหลง ซึ่งเป็นพืชที่มีชื่อชวนให้นึกถึงความมีเสน่ห์น่าหลงใหล มีกลิ่นหอมทั้งส่วนใบและราก น้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงมีสรรพคุณช่วยให้ชื่นใจ แก่หวัด บำรุงหัวใจ ส่วนใหญ่มีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมเป็นเครื่องสำอาง เช่น สบู่ และโลชั่นบำรุงผิว แต่ยังไม่มีการใช้เป็นส่วนผสมในสูตรตำรับยาผสมชนิดน้ำ ทางคณะผู้วิจัยจึงนำน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงมาใช้เป็นส่วนผสมในการตั้งสูตรตำรับยาผสมชนิดน้ำ แล้วทำการประเมินความพึงพอใจสูตรตำรับและรูปแบบบรรจุภัณฑ์จากอาสาสมัคร

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

### 1. การเตรียมสูตรพื้นฐานของพืชม้วนน้ำ

หาสูตรพื้นฐานของยาผสมชนิดน้ำ อัตราส่วนเมนทอล: พืชม้วน: การบูร เตรียมสูตรละ 100 กรัม

สูตรที่ 1 จาก ในอัตราส่วน 1:1:1 [3]

สูตรที่ 2 จาก ในอัตราส่วน 2:1:1 [4]

สูตรที่ 3 จาก ในอัตราส่วน 3:2:1 [5]

ทำการทดสอบการละลายสูตรยาผสมชนิดน้ำทั้ง 3 สูตร โดยชั่งน้ำหนักตามสัดส่วนของแต่ละสูตร ทำการผสมทีละสูตร โดยผสมเมนทอลและการบูร จนได้สารผสมที่เป็นของเหลว (Eutectic Mixture) แล้วใส่พืชม้วนลงไปละลาย คนส่วนผสมทั้งหมดจนได้สารละลายใส พบว่าสูตรที่ 3 มีการละลายของส่วนผสมได้หมดไม่ตกตะกอน จึงเลือกใช้เป็นสูตรพื้นฐานในการเตรียมสูตรตำรับยาผสมชนิดน้ำเพื่อใช้ทดสอบขั้นถัดไป

### 2. การเตรียมน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลง

#### 2.1 การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

เก็บตัวอย่างว่านสาวหลงจากอำเภอเทพา จังหวัดสงขลา เมื่อกันยายน 2559 ตัวอย่างพืชได้รับการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ โดย รศ.ดร.สนั่น สุภธีรสกุล คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (Voucher Specimen) คือ SS0809-02 เก็บไว้ที่คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้ตัวอย่างสดส่วนเหนือดิน (ต้นและใบ) จำนวน 5 กิโลกรัม

#### 2.2 วิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหย

กลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการคั้นด้วยน้ำ (Water Distillation) ในขวดกลั่นความจุ 10 ลิตร ตามวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่ระบุไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย [6] และนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้บรรจุใส่ขวด สีชาและเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3. การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัคร

#### 3.1 เกณฑ์คัดเลือกอาสาสมัคร

อาสาสมัครที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ บุคลากรและนักศึกษาจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ เป็นกลุ่มตัวอย่างทั้งเพศหญิงและชายที่มีอายุระหว่าง 18-35 ปี มีสุขภาพแข็งแรง โดยเป็นผู้ที่ไม่มีปัญหาด้านการดมกลิ่น โรคไซนัสอักเสบหรือโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ ไม่มีโรคประจำตัว เช่น แพ้สมุนไพร หอบหืด ไม่เป็นโรคภูมิแพ้ เป็นต้น ไม่มีประวัติการสูบบุหรี่ ไม่อยู่ในช่วงระยะเวลาของการตั้งครรภ์ ไม่อยู่ในช่วงระยะเวลาของการมีประจำเดือน และไม่มีประวัติการดื่มแอลกอฮอล์ในระยะเวลา 1 เดือนที่ผ่านมา การศึกษาที่ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนล้า ยาที่ทำให้สงบ ยาต้านความวิตกกังวลหรือยาที่มีผลต่อความดันโลหิต มีจำนวน 2 กลุ่ม ได้แก่

1. กลุ่มการศึกษานำร่อง (Pilot Study) เลือกกลุ่มตัวอย่างแบบสุ่ม (Random Sampling) จำนวน 10 คน เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยในเบื้องต้น [7]

2. กลุ่มการศึกษาจริงจำนวน 99 คน [8] ทำการประเมินความพึงพอใจต่อสูตรตำรับโดยใช้การทดสอบความชอบหรือการยอมรับ (Affective Test หรือ Hedonic Test) [7] โดยผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมเลขที่ 59/B06-010

### 3.2 การประเมินความพึงพอใจ แบ่งการประเมินเป็น 2 ขั้นตอน

1) การประเมินความพึงพอใจเบื้องต้น ในอาสาสมัครจำนวน 10 คน โดยเตรียมสูตรตำรับยาผสมสมุนไพรที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยของว่านสาวหลงที่ร้อยละ 15 10 5 และ 0 จากนั้นบรรจุในขวดสีชา ทดลองในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นั่งพักเป็นเวลา 10 นาที และวัดสัญญาณชีพ (Vital Sign) ให้อาสาสมัครทำการสูดดมแต่ละสูตรในปริมาณ 1 หยด (20 ไมโครลิตร) บนแผ่นกระดาษทดสอบกลิ่น พร้อมให้คะแนนในแบบประเมินการทดสอบการยอมรับมาตรฐานความชอบ 9 จุด (9-Point Hedonic Scales) เว้นระยะเวลาในการสูดดมแต่ละสูตรนาน 30 นาที ตามวิธีการที่เคยมีการรายงานไว้ [1] ทำเช่นเดียวกันนี้จนครบทุกสูตร วิเคราะห์ข้อมูลสูตรที่อาสาสมัครพึงพอใจมากที่สุด จากนั้นเตรียมสูตรตำรับที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงที่ใกล้เคียงกับสูตรที่ได้เพิ่มอีก 2 สูตร รวมเป็น 3 สูตร เพื่อใช้ประเมินความพึงพอใจกับอาสาสมัครในขั้นตอนต่อไป

2) การประเมินความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 99 คน โดยเตรียมสูตรตำรับยาผสมสมุนไพรที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยว่านสาวหลงจำนวน 3 สูตร (อ้างอิงจากผลการประเมินความพึงพอใจเบื้องต้น) ได้แก่ สูตร A (ร้อยละ 1) สูตร B (ร้อยละ 5) และสูตร C (ร้อยละ 3) บรรจุใส่ขวดสีชา ทดลองในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นั่งพักเป็นเวลา 10 นาที และวัดสัญญาณชีพ (Vital Sign) จากนั้นจึงอธิบายรายละเอียดของโครงการ ทั้งนี้อาสาสมัครจะได้รับแบบประเมินความพึงพอใจ 1 ชุด ประกอบด้วย

- การประเมินด้านกลิ่น สี เนื้อสัมผัสใช้แบบประเมินการทดสอบการยอมรับมาตรฐานความชอบ 9 จุด [1]

- การประเมินบรรจุภัณฑ์ 3 รูปแบบ แบบลูกกลิ้ง แบบหยด แบบหลอดยาอม หัวข้อ ความสะดวกในการใช้ ความสะดวกในการพกพา ความสวยงาม วัสดุที่ใช้ทำ รูปร่างและขนาดของบรรจุภัณฑ์ใช้แบบประเมินชนิดมาตราโลเคิร์ต 5 จุด (Likert Scale 5 Point) [9]

อาสาสมัครจะได้รับสูตร A จำนวน 1 หยด (20 ไมโครลิตร) บนแผ่นกระดาษทดสอบกลิ่น ประเมินด้านกลิ่น จากนั้นจะได้รับสูตร A จำนวน 1 หยด (20 ไมโครลิตร) บนจานหลุมกระเบื้อง ประเมินด้านสีและเนื้อสัมผัส ทำเช่นเดียวกันนี้จนครบทุกสูตร โดยเว้นระยะเวลาการสูดดมแต่ละสูตรนาน 30 นาที [1] และทำการประเมินความพึงพอใจด้านรูปแบบของบรรจุภัณฑ์ จำนวน 3 รูปแบบ คือ แบบลูกกลิ้ง แบบหลอดหยด แบบหลอดยาอม

### 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ (One-way ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีดันแคน (Duncan's Test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพื่อหาสูตรตำรับที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงและรูปแบบบรรจุภัณฑ์ที่อาสาสมัครมีความพึงพอใจมากที่สุด เพื่อใช้ในการทดสอบความคงตัวขั้นถัดไป

#### 4. การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์

เตรียมสูตรตำรับยาผสมชนิดน้ำที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงในบรรจุภัณฑ์ที่อาสาสมัครมีความพึงพอใจมากที่สุด แบ่งใส่บรรจุภัณฑ์ละ 2 มิลลิลิตร

##### 4.1 การประเมินความคงตัวทางกายภาพ การเปลี่ยนแปลงกลิ่น สี และค่า pH

โดยการเปลี่ยนแปลงของสี เทียบกับแผ่นเทียบสีมาตรฐานในระบบมันเซลล์ (Munsell)

- 1) หลังเตรียมผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส
- 2) ที่สภาวะเร่ง นำตัวอย่างหลังเตรียมเสร็จเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ ทำทั้งหมด 4 รอบ จำนวน 3 ซ้ำ [10-11]

- 3) ที่สภาวะการเก็บรักษาจริงภายใต้อุณหภูมิห้อง นำตัวอย่างหลังเตรียมเสร็จตั้งไว้เป็นเวลา 90 วัน สุ่มหยิบในวันที่ 15 30 45 60 70 และ 90 ทำการทดสอบ 2 ครั้ง จำนวน 3 ซ้ำ [10-11]

##### 4.2 การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทดสอบความคงตัวที่สภาวะต่างๆ มาตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS (7890 B Gas Chromatograph-5977A Mass Selective Detector, Agilent, USA) สภาวะ GC ที่ใช้ทดสอบ ประกอบด้วยคอลัมน์ชนิด VF-WAXms (30 m x 0.25  $\mu$ m x 0.25 mm) โหมดการฉีดแบบ Split มี Split Ratio 100:1 แก๊สดำเนินการคือ ฮีเลียม อัตราการไหล 1 มิลลิเมตรต่อนาที อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร 250 องศาเซลเซียส โปรแกรมอุณหภูมิ Oven เริ่มต้น 40 องศาเซลเซียส คงไว้ 5 นาที เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 5 องศาเซลเซียส ต่อนาที จนเป็น 250 องศาเซลเซียส คงไว้ 5 นาที สภาวะของ MS เป็น Electron Ionization อุณหภูมิ Transfer Line 250 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 35-550 amu

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 1. ผลการประเมินความพึงพอใจ

จากการประเมินความพึงพอใจต่อสูตรตำรับยาผสมชนิดน้ำที่มีปริมาณของน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) พบว่าสูตร A (ร้อยละ 1) และสูตร C (ร้อยละ 3) มีระดับคะแนนความพึงพอใจด้านกลิ่นมากกว่าสูตร B (ร้อยละ 5) อย่างมีนัยสำคัญ และจากการประเมินความพึงพอใจต่อรูปแบบบรรจุภัณฑ์ ลูกกลิ้ง หลอดหยด และหลอดยาอม (ตารางที่ 2) พบว่าหลอดยาอมมีคะแนนความพึงพอใจด้านความสะดวกในการใช้ดื่มมากกว่าบรรจุภัณฑ์รูปแบบอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

**ตารางที่ 1** ระดับความพึงพอใจต่อตำรับชาคมชนิดน้ำจากน้ำมันหอมระเหยของว่านสาวหลงสูตร A B และ C

| สูตรตำรับ           | A (ร้อยละ 1)              | B (ร้อยละ 5)              | C (ร้อยละ 3)              |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ข้อคำถาม            |                           |                           |                           |
| กลิ่นหอม            | 6.87 ± 1.20 <sup>a</sup>  | 5.46 ± 1.84 <sup>b</sup>  | 6.74 ± 1.54 <sup>a</sup>  |
| ทำให้รู้สึกสดชื่น   | 7.13 ± 1.17 <sup>a</sup>  | 5.55 ± 1.85 <sup>b</sup>  | 6.76 ± 1.46 <sup>a</sup>  |
| ทำให้รู้สึกผ่อนคลาย | 6.66 ± 1.19 <sup>a</sup>  | 5.42 ± 1.80 <sup>b</sup>  | 6.76 ± 1.59 <sup>a</sup>  |
| สี                  | 7.15 ± 1.51 <sup>a</sup>  | 7.18 ± 1.44 <sup>a</sup>  | 7.19 ± 1.45 <sup>a</sup>  |
| เนื้อสัมผัส         | 6.79 ± 1.40 <sup>ab</sup> | 6.66 ± 1.38 <sup>b</sup>  | 7.05 ± 1.22 <sup>a</sup>  |
| คะแนนรวม            | 34.60 ± 4.37 <sup>a</sup> | 30.27 ± 6.42 <sup>b</sup> | 34.49 ± 5.38 <sup>a</sup> |

หมายเหตุ: ตัวอักษร a b ที่แตกต่างกันตามแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

**ตารางที่ 2** ระดับความพึงพอใจต่อรูปแบบบรรจุภัณฑ์ แบบลูกกลิ้ง แบบชาคม และแบบหลอดชาคม (ฟิลิปท็อป)

| รูปแบบ                      | ลูกกลิ้ง                  | หลอดหยด                   | หลอดชาคม                  |
|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ข้อคำถาม                    |                           |                           |                           |
| ความสะดวกในการใช้ดื่ม       | 3.89 ± 0.90 <sup>b</sup>  | 3.22 ± 0.82 <sup>b</sup>  | 4.59 ± 0.69 <sup>a</sup>  |
| ความสะดวกในการพกพา          | 4.35 ± 0.72 <sup>a</sup>  | 4.02 ± 0.74 <sup>b</sup>  | 4.54 ± 0.61 <sup>a</sup>  |
| ความสวยงาม                  | 4.14 ± 0.77 <sup>a</sup>  | 3.58 ± 0.90 <sup>b</sup>  | 3.61 ± 0.87 <sup>b</sup>  |
| วัสดุที่ใช้ทำบรรจุภัณฑ์     | 3.9 ± 0.87 <sup>a</sup>   | 3.75 ± 0.92 <sup>a</sup>  | 3.99 ± 0.78 <sup>a</sup>  |
| รูปร่างและขนาดของบรรจุภัณฑ์ | 4.17 ± 0.71 <sup>a</sup>  | 3.85 ± 0.85 <sup>b</sup>  | 4.12 ± 0.79 <sup>a</sup>  |
| คะแนนรวม                    | 20.45 ± 2.76 <sup>a</sup> | 18.44 ± 3.11 <sup>b</sup> | 20.84 ± 2.63 <sup>a</sup> |

หมายเหตุ: ตัวอักษร a b ที่แตกต่างกันตามแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

## 2. ผลการประเมินความคงตัวทางกายภาพและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

2.1 จากการประเมินความคงตัวทางกายภาพ ประเมินกลิ่น สี และ pH ของชาคมชนิดน้ำสูตร C (ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยของว่านสาวหลงใกล้เคียงกับสูตร B ที่สุด) โดยประเมินที่สภาวะแตกต่างกัน 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะที่ 1 หลังเตรียมผลิตภัณฑ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิที่ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส สภาวะที่ 2 ที่สภาวะเร่ง และสภาวะที่ 3 ที่สภาวะการเก็บรักษาจริงภายใต้อุณหภูมิห้อง พบว่าตัวอย่างมีกลิ่นของว่านสาวหลง มีสีใส และมีค่า pH= 5

2.2 จากการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ทั้ง 3 ตัวอย่าง ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวที่แตกต่างกัน พบสารที่เป็นองค์ประกอบทั้งหมด 20 ชนิด แสดงดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** องค์ประกอบทางเคมีในยาชนิดน้ำจากน้ำมันหอมระเหยของว่านสาวหลงที่พบในตัวอย่าง

| ลำดับ | ชื่อสาร                                                                                  | สภาวะที่ 1            |           | สภาวะที่ 2    |           | สภาวะที่ 3               |           |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------|---------------|-----------|--------------------------|-----------|
|       |                                                                                          | (หลังเตรียมผลิตภัณฑ์) |           | (Freeze Thaw) |           | (Short-term Temperature) |           |
|       |                                                                                          | RT                    | Total (%) | RT            | Total (%) | RT                       | Total (%) |
| 1     | Menthol (C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O)                                              | 23.1097               | 44.10     | 23.1106       | 44.59     | 23.0845                  | 49.27     |
| 2     | Camphor (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O)                                              | 19.9156               | 35.16     | 19.9141       | 35.09     | 19.8857                  | 31.96     |
| 3     | <i>trans-p</i> -(1-butenyl)-anisole<br>(C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O)               | 29.0727               | 6.76      | 29.0735       | 5.94      | 29.0516                  | 5.14      |
| 4     | Borneol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)                                              | 24.3967               | 5.72      | 24.3964       | 5.89      | 24.4611                  | 5.90      |
| 5     | Isoborneol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)                                           | 23.6447               | 3.24      | 23.6451       | 3.34      | 23.6752                  | 3.67      |
| 6     | 2-hydroxycineol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> )                        | 32.7295               | 1.38      | 32.7269       | 1.38      | 32.6985                  | 1.18      |
| 7     | Isofenchol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)                                           | 21.7174               | 0.35      | 21.7202       | 0.28      | 21.7187                  | 0.22      |
| 8     | 5,5,6-trimethylbicyclo<br>[2.2.1]heptan-2-one<br>(C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O)     | 22.2389               | 0.26      | 22.2389       | 0.26      | 22.2089                  | 0.22      |
| 9     | Pulegone (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O)                                             | 17.9550               | 0.26      | 17.9513       | 0.25      | 17.9225                  | 0.22      |
| 10    | Fenchone (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O)                                             | 16.6678               | 0.18      | 16.6640       | 0.19      | 16.6368                  | 0.17      |
| 11    | Bornyl formate (C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> )                         | 21.3911               | 0.18      | 21.3877       | 0.18      | 21.3600                  | 0.15      |
| 12    | Neomenthol (C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O)                                           | 21.9653               | 0.15      | 21.9645       | 0.15      | 21.9933                  | 0.04      |
| 13    | DL-isopulegol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)                                        | 21.2740               | 0.14      | 21.2735       | 0.14      | 21.6333                  | 0.02      |
| 14    | Limonene (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )<br>1-hydroxymethyl-7,7-                      | 10.8575               | 0.10      | 10.8583       | 0.09      | 10.8229                  | 0.08      |
| 15    | Dimethylbicyclo<br>[2.2.1]heptan-2-one (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> ) | 31.9137               | 0.08      | 31.9131       | 0.08      | 32.1386                  | 0.08      |
| 16    | Epicauphor (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O)                                           | 20.7315               | 0.08      | 20.7285       | 0.08      | 20.7009                  | 0.08      |
| 17    | $\beta$ -pinene (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )                                       | 7.8071                | 0.05      | 7.8095        | 0.08      | 7.7700                   | 0.07      |
| 18    | 1,8-pineol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)                                           | 11.0334               | 0.05      | 11.0311       | 0.05      | 10.9953                  | 0.04      |
| 19    | Isobornyl acetate (C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> )                      | 21.5231               | 0.05      | 21.5255       | 0.05      | 21.4971                  | 0.03      |
| 20    | Camphene (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )                                              | 6.5093                | 0.04      | 6.5096        | 0.05      | 6.4718                   | 0.05      |

RT: Retention Time

จากตารางที่ 3 ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสูตรตำรับทั้ง 3 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค GC-MS พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีหลักเหมือนกัน จำนวน 20 ชนิด โดย 5 ชนิดแรกที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีหลักที่มีปริมาณมากที่สุด คือ Menthol (ร้อยละ 44.10-49.27), Camphor (ร้อยละ 31.96-35.16), *trans-p*-(1-butenyl)-anisole (ร้อยละ 5.14-6.76), Borneol (ร้อยละ 5.72-5.90) และ Isoborneol (ร้อยละ 3.24-3.67) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานวิจัยของสนั่นและกษกร [2] พบองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยของว่านสาวหลงส่วนเนื้อดินที่เหมือนกัน

5 ชนิด คือ Camphor, Limonene,  $\beta$ -pinene, 1,8-cineol และ Camphene และเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานวิจัยจากสถาบันวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย [12] พบองค์ประกอบที่เหมือนกัน 6 ชนิดคือ Camphor, Limonene, *trans-p*-(1-butenyl)-anisole,  $\beta$ -pinene, 1,8-cineole และ Camphene ส่วนองค์ประกอบที่พบเฉพาะในรายงานวิจัยจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย [12] ได้แก่ Myrcene, Fenchyl Acetate,  $\beta$ -elemen และ Bicyclogermacrene ทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยที่มีผลกระทบ คือ สภาพดิน สภาพภูมิอากาศ ฤดูกาล และช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว

### สรุปผลการวิจัย

จากผลการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อสูตรตำรับยาผสมชนิดน้ำจากน้ำมันหอมระเหยของว่านสาวหลงสูตร A, B และ C พบว่าสูตร A และสูตร C มีระดับคะแนนความพึงพอใจโดยรวมมากกว่าสูตร B อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และผลการประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัครต่อรูปแบบบรรจุภัณฑ์จำนวน 3 รูปแบบ พบว่าบรรจุภัณฑ์แบบลูกกลิ้งและแบบหลอดหยด (ฟลิปท็อป) มีระดับคะแนนความพึงพอใจโดยรวมมากกว่าแบบหลอดหยด อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทางคณะผู้วิจัยได้เลือกสูตร C (ความเข้มข้นร้อยละ 3) และบรรจุภัณฑ์แบบลูกกลิ้งไปใช้ทดสอบความคงตัวต่อไป เนื่องจากสูตร C มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยมากกว่า เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณการสูญเสียของสารในน้ำมันหอมระเหยอาจจะลดลงน้อยกว่า ส่วนบรรจุภัณฑ์แบบลูกกลิ้งมีราคาต้นทุนที่ถูกลง และจากการทำการทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับ พบว่าการประเมินความคงตัวทางกายภาพหลังการเตรียมผลิตภัณฑ์ที่เวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิที่ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ที่สภาวะเร่ง และที่สภาวะการเก็บรักษาจริงภายใต้อุณหภูมิห้อง พบว่าผลิตภัณฑ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านกลิ่น สี และ pH ซึ่งไม่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์หลังเตรียมเสร็จ และจากการประเมินองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค (GC-MS) พบสารที่เป็นองค์ประกอบหลักใน 3 ตัวอย่าง โดยองค์ประกอบหลักที่มีปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Menthol (ร้อยละ 44.10 - 49.27), Camphor (ร้อยละ 31.96 - 35.16), *trans-p*-(1-butenyl)-anisole (ร้อยละ 5.14-6.76), Borneol (ร้อยละ 5.72 - 5.90) และ Isoborneol (ร้อยละ 3.24 - 3.67)

สรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัว เนื่องจากการทดสอบทางกายภาพผลิตภัณฑ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้านกลิ่น สี และ pH เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมผลิตภัณฑ์เสร็จใหม่ๆ และจากการพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีพบสารที่เป็นองค์ประกอบเหมือนกันทั้ง 3 ตัวอย่าง ที่สภาวะการทดสอบความคงตัวที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการพิสูจน์ผลที่ชัดเจนควรได้รับการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับปริมาณ เพื่อทราบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

### คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนวิจัย คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Promsomboon, S., Kornpetpanee, S., Phitakwatthananon, K., & Promsomboon, P. (2012). The Comparative Efficiency of Aroma Extracted from Thai Flowering Plants on Relaxation. *King Mongkut's Agricultural Journal (Thailand)*, 30(2), 78-85.
- [2] Subhadhirasakul, S., & Moosigapong, K. (2014). Relaxation Effect on Volunteers of Essential Oil from *Amomum biflorum* Jack. *Thaksin University Journal*, 17(2), 17-25.
- [3] Poncharoenchai, S. (2016). *How to Make Pimsen Water Herbs* (Online). Retrieved 10 February 2016, from: <https://www.gotoknow.org/posts/171231>.
- [4] Prince of Songkla University, Faculty of Traditional Thai Medicine. (2015). *Formular of Liquid Pimsen Inhalation*. Handout of Traditional Pharmaceutics 1.
- [5] Mahidol University, Medicinal Plant Information Center: Faculty of Pharmacy. (2013). *Demonstration of Medicinal Herbs* (Online). Retrieved 2 October 2013, from [https://www.youtube.com/watch?v=mVK\\_gzyQgaf0#action=share](https://www.youtube.com/watch?v=mVK_gzyQgaf0#action=share).
- [6] Sittichai, N. (2004). Establishment of Thai Herbal Pharmacopoeia. *Thai Journal of Phytopharmacy*, 11(1), 21-32.
- [7] Komoltri, C. (2012). Sample size calculation. *Journal of Mental Health of Thailand*, 20(3), 192-198.
- [8] Lim, J. (2011). Hedonic Scaling: A Review of Methods and Theory. *Food Quality and Preference*, 22, 733-747.
- [9] Likert, R. (1932). A Technique for the Measurement of Attitudes. *Archives of Psychology*, 140, 1-55.
- [10] Zague, V., Silva, D. D. A., Baby A. R., Kaneko, T. M. and Valasco, M. V. R. (2007). Clay Facial Masks: Physicochemical Stability at Different Storage Temperatures. *International Journal of Cosmetic Science*, 58, 45-51.
- [11] USP NF. (2007). Rockville, MD: *The United States Pharmacopeial Convention. Inc.* 10-11.
- [12] Thubthimthed, S. (2004). "Composition and central nervous system depressive effect of the essential oil of *Amomum biflorum*" , In *Proceedings of 30<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*. October 19-21, 2004, Impact Exhibition and Convention Center, Muang Thong Thani. Bangkok.



## การประเมินผลของสเปรย์ดับกลิ่นเท้าที่มีสารสกัดของใบพลู

## Evaluation of Betel Leaf Extract Deodorizing Foot Spray

ณฐมน ดอกบัวแก้ว<sup>1\*</sup> และสมฤทัย จิตภักดีบดินทร์<sup>2</sup>Natamon Dorkbuakaew<sup>1\*</sup> and Somrutai Jitpukdeebodintra<sup>2</sup>

## บทคัดย่อ

ปัญหากลิ่นเท้าเป็นปัญหาที่หลาย ๆ คนต้องเผชิญในชีวิตประจำวัน ในการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาการสกัดสารสกัดจากใบพลูด้วยเอทานอล เพื่อนำสารสกัดที่ได้ไปเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ป้องกันการเกิดกลิ่นเท้าและพัฒนาให้เป็นตำรับสเปรย์ ในการศึกษาการกลบกลิ่นของสารสกัดใช้เทคนิคเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์และวิธีการดมกลิ่น การพัฒนาสูตรตำรับสเปรย์ยับยั้งกลิ่นเท้า พบว่าสูตรที่มีสารสกัดจากใบพลูร้อยละ 0.1 มี Aluminium Chlorohydrate Solution ร้อยละ 30 มี Propylene Glycol ร้อยละ 5 มี Glycerin ร้อยละ 2 มี Butylhydroxyl Anisole ร้อยละ 0.1 และมี Paraben Concentrate ร้อยละ 1 ให้สูตรตำรับที่ดีคือ ละอองของสเปรย์แห้งเร็วและไม่มันเยิ้มเคลือบผิวหลังการใช้งาน การศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดกลิ่นเท้าด้วยสูตรสเปรย์ที่มีสารสกัดจากใบพลูพบว่า ผลิตภัณฑ์สเปรย์ที่มีสารสกัดจากใบพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 และ *Bacillus subtilis* ATCC6633 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนไฮซยับยั้งเชื้อเป็น  $14.77 \pm 0.21$  mm และ  $14.0 \pm 0.35$  mm ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** กลิ่นเท้า สารสกัดจากใบพลู การสกัดด้วยเอทานอล

## Abstract

Foot odor is a problem that many people have to deal with on a daily basis. The present study was designed to evaluate the ethanolic extract of betel leaves as an ingredient in deodorizing foot spray product, and the formulation was developed as a prototype spray. The deodorizing activity over foot malodor was studied by GC-MS technique and olfactory method. The formula of developed spray for foot malodor treatment consists of

<sup>1</sup> นิสิตระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 90110

<sup>2</sup> ผศ.ดร., ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 90110

<sup>1</sup> Graduate Student, Division of Cosmetic Science, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110, Thailand

<sup>2</sup> Asst. Prof. Dr., Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110, Thailand

\* Corresponding author: Tel.: 0896537353. E-mail address: i\_tom123@hotmail.com

(Received: January 26, 2018; Revised: April 30, 2018; Accepted: May 3, 2018)

0.1 % betel leaf extract, 30 % aluminium chlorohydrate solution, 5 % propylene glycol, 2 % glycerin, 0.1 % butylhydroxyl anisole and 1 % concentrated paraben in purified water by weight. This formula had a good appearance, fast-drying, non-greasy and thin coating on the skin surface after application. The product exhibited anti-bacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Bacillus subtilis* ATCC6633 with diameters of inhibition zone of  $14.77 \pm 0.21$  mm and  $14.0 \pm 0.35$  mm, respectively.

**Keywords:** Foot Malodor, Betel Leaf Extract, The Ethanolic Extract

## Introduction

Foot odor is one of the body odors. People with foot odor might face the problems of skin disease such as hyperhidrosis, irritation and painful skin problems. In addition, they might loss self-confidence as well as social relationship [1]. There are 3 ways to control foot malodor [2]. The first method is elimination of the bacteria causing smelly foot, such as inhibition the growth of odor causing bacteria by using antimicrobial products. The second method is antiperspirants to eliminate the source of bacterial feeding and growth. The third method is covering over the bad smell with fragrances. Nowadays, people use natural product in their daily life, especially personal care products. Betel is one of the fragrance plants that have been popular in Asian countries such as India, Myanmar, Laos, Cambodia, Malaysia, Indonesia, Philippines and Thailand. It contains many biologically active components [3] such as antimicrobial agent [4], and antifungal agent [5-7]. Especially essential oil of betel leaves possess a strong pungent and aromatic flavor [4]. Betel has been used to make perfume [8]. So it is interesting to be applied in anti-malodor product, especially the foot odor. Moreover, previously published data showed that betel has the effectiveness against *Staphylococcus epidermidis* and *Bacillus subtilis*, microorganisms which was referred as the main cause of foot odor [7, 9]. However, the evaluation of deodorizing foot spray products has not ever been discussed before. So the present study was designed to evaluate the ethanolic extract of betel leaves as an ingredient in deodorizing foot spray product, and the formulation was developed as a prototype spray. The preparation was evaluated antibacterial activity against the foot odor causing bacteria, concealing activities against the foot malodor, and the stability test under room temperature for 3 months and acceleratory 6 heating, as well as cooling cycles. Therefore, we hope that this study will initiate the development of deodorizing foot spray products in the future with a proper evaluation.

## Materials and Methodology

### 1. Preparation of Betel Leaf Extract

The ethanolic extract of betel leaves was prepared by using the modified method of Subashkumar [10]. Fresh betel leaves were collected from a local market of Hat Yai, Songkla. The leaves were washed and

cut into smaller pieces and then were dried in the oven at 45 °C for 24 hours. Ten grams of dry leaves were macerated by soaking in 500 mL of 95 % ethanol for 24 hours, then sealed the bottle with aluminum foil. After filtration, the filtrate were evaporated in rotary vacuum evaporator at 50 °C or below, until the crude plant extract with thick mass in dark green color were obtained.

## 2. Study of Compound in Betel Leaf Extract

The crude betel leaf extract was then analyzed by GC-MS of Thermo Scientific™ Ultra/ISQ system, fitted with capillary column of 30 m×0.25 mm×0.25 µm. Helium was carrier gas at a constant flow rate of 1.0 mL/min. The oven temperature was programmed from 80 °C to 250 °C at a rate of 2.5 °C/min. The full-scan mass spectra within the scan range 35-500 amu. The experiment was carried out in triplicate.

The contents of eugenol, the main fragrance in betel leaf extract, were quantified according to the study of Inam [11], by high performance liquid chromatography (HPLC) on a Hypersil GOLD column (C18 with 250×4.6 mm). The mobile phase was 70:30 v/v (methanol: water); isocratic conditions at a flow rate of 0.7 mL/min. The UV absorbance was detected at 282 nm.

## 3. Study of the Solubility of Betel Leaf Extract

Solubility of betel leaf extract was studied by adding 0.01 mg of crude betel leaf extract in a 25 mL test tube. Then 0.5 mL of solvent per time was gradually added into the test tube with continuously shaken. The solvent was added until the extract dissolve in the solvent. The solvent used for solubility studies were water, 70 % ethanol, 95 % ethanol, glycerin ,and propylene glycol.

## 4. Study of the Activity of Betel Leaf Extract Against the Bacteria Causing Foot Malodor

The microorganisms used in this study were collected from the Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Prince of Songkla University. *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Bacillus subtilis* ATCC6633 were chosen as the representative of foot odor microbes. The selected strains were then cultured in Mueller Hinton broth and adjusted to the turbidity of 1.5x10<sup>8</sup> CFU/mL (0.5 McFarland standard). The broth cultures were incubated at 37 °C for 24 hours. The activity against bacteria causing foot malodor was studied by broth micro-dilution method according to the study of Ara [9]. Betel leaf extract in 2.5 % dimethyl sulfoxide, free of bacteria causing foot odor, was a negative control. The standard tetracycline was a positive control. The minimum inhibitory concentration was observed and noted.

## 5. Study of the Deodorizing Activity Over Foot Malodor of Betel Leaf Extract

Isovaleric acid was represented as foot odor, according to the study of Ara [9]. The 1:1 mixture of 0.1 g/mL isovaleric acid solution was first mixed with 0.1 g/mL of betel leaf extract solution. The deodorizing activity over foot odor was then studied by 2 methods. The first one was instrumental method, according to the method of Caroprese [12]. The mixture was analyzed by GS-MS at various times of 0, 2, 4, 6 and 10 minutes. The other

method was olfactory method, modified from the study of Kim [13]. The 7 members at least of olfactory panel were set up. They were trained how to evaluate and to score the sample, into 6 hedonic scales of deodorizing activity over foot malodor. The criteria for characterize odor into 6 hedonic scales, were as follows:

The score would be 0, if the isovaleric acid odor was obvious, no betel leaf extract odor.

The score would be 1, if the isovaleric acid odor was much more than betel leaf extract odor.

The score would be 2, if the isovaleric acid odor was more than betel leaf extract odor.

The score would be 3, if the isovaleric acid odor was equal to betel leaf extract odor.

The score would be 4, if the betel leaf extract odor was more than isovaleric acid odor.

The score would be 5, if the betel leaf extract odor was obviously more than isovaleric acid odor.

## 6. Preparation of Product Containing Betel Leaf Extract for Deodorizing Foot Spray

The formula of spray was modified from the formula of Natthaya [ 8], based on the commercial formulation of spray products. The concentration of betel leaf extract was referred to the studied minimum inhibitory concentration (MIC) and the deodorizing activity over isovaleric acid. The developed foot spray consists of 30-40 % aluminium chlorohydrate solution (50 %), propylene glycol (1-5 %), glycerin (2-4 %), butyl hydroxyanisole 0.1 %, concentrated paraben 1 % and purified water added to give a 100 %.

## 7. Evaluation of Spray Product Containing Betel Leaf Extract for Deodorizing Foot Spray

**Table 1** The spray products were evaluated for the various criteria summarized on

| Evaluation Criteria                                | Details                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Physical properties                                | clarity, color, flavor, applicable texture                                                                                                                   |
| Chemical properties                                | pH-meter, eugenol content (HPLC)                                                                                                                             |
| Anti-bacterial activity<br>(Disc diffusion method) | <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 and <i>Bacillus subtilis</i> ATCC6663.<br>(tetracycline as positive control and spray base as negative control) |
| Deodorizing activity                               | Olfactory method ( mixture of 1 mL of 0.1 g/mL isovaleric acid solution 1 ml mixed with 1 mL spray solution)                                                 |
| Stability test                                     | Normal condition: Store at 30 °C for 3 months<br>Accelerated condition: heating at 45 °C storage for 24 hours and cooling at 4 °C<br>(6 repeated cycles)     |

## 8. Statistical Analysis

All experiment data were represented as mean  $\pm$  SD and were done as triplicate. One way analysis of variance (ANOVA, single factor) was used to analyze with the level of significance at  $p < 0.05$ . The content of eugenol was tested by using linear regression and presented in term of correlation coefficient ( $R^2$ ).

## Results and Discussion

### 1. Preparation of Betel Leaf Extract

The ethanolic extract of *Piper betle* leaves was thick, sticky mass and dark-green color with a strong pungent odor. The percentage yield of extract was found to be  $11.0 \pm 0.31$  % of wet weight.

### 2. Study of Compound in Betel Leaf Extract

The compounds found in ethanolic extract of betel leaf extract were methyl D-glucopyranoside, 2-methoxy-4-vinylphenol and eugenol. Eugenol was reported the odor of eugenol was a spicy strong aromatic odor. Therefore; this study followed eugenol as a chemical marker for foot odor management. Eugenol content in the extract was  $15.60 \pm 0.24$  % w/w, as shown in Table 2. It was confirmed by compared with standard data.

**Table 2** Gas chromatographic and mass spectral data for the ethanolic extract of *Piper betle* leaves

| Retention Time (min.) | Name of Compound                              | Molecular Formula                              | Molecular Weight | Similarity Index | % Peak Area |
|-----------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------|------------------|-------------|
| 13.03                 | 2-methoxy-4-vinylphenol                       | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>  | 150              | 927              | 2.33        |
| 14.46                 | 2-methoxy-4-(2-propenyl)- phenol<br>(Eugenol) | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> | 164              | 901              | 1.24        |
| 22.93                 | Methyl D-glucopyranoside                      | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>  | 194              | 772              | 82.15       |

### 3. Study of the Solubility of Betel Leaf Extract

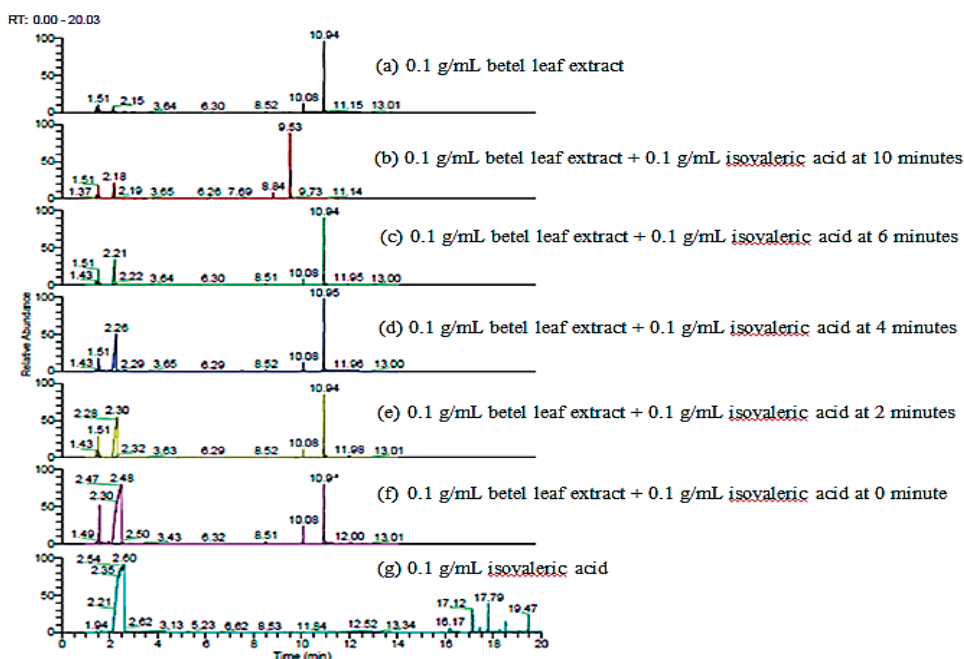
The betel leaf extract was sparingly soluble in 70 % ethanol, water, propylene glycol and glycerin. It was insoluble in 95 % ethanol because the predominant compound found in the extract was methyl D-glucopyranoside. It was showed that betel leaf extract is semi-polar compound which are more soluble in semi-polar solvents like 70 % ethanol.

### 4. Activity of Betel Leaf Extract Against the Bacteria Causing Foot Malodor

The minimum inhibitory concentration of ethanolic extract was determined against two selected pathogens; tetracycline inhibits *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Bacillus subtilis* ATCC6633 at the concentration of 30 µg/mL and 1 µg/mL, respectively [14]. The extracted from betel leaves had the minimum inhibitory concentration against *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Bacillus subtilis* ATCC6633 was 500 µg/mL and 1000 µg/mL, respectively. The minimum inhibitory concentration of Tetracycline against *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Bacillus subtilis* ATCC6633 was 32µg/mL and 2µg/mL, respectively.

## 5. The Deodorizing Activity Over Foot Malodor of Betel Leaf Extract

The GC-MS results showed that whilst the time increased, the peaks of isovaleric acid at retention time of 2.17 to 2.55 minutes were decreased. Whereas the peaks of the betel leaf extract at retention time of 9.53 and 10.94 minutes were increased (Figure 1). Therefore, it can be concluded that the odor of betel leaf extract can cover up the odor of isovaleric acid (represented as foot odor). However, the deodorizing activity over foot malodor was not immediately appeared. According to the result, evaporation of isovaleric acid showed the tendency to relate with time which should be studied in the details in the future. Moreover, the deodorizing activity over the odor might be further calculated as covering index for identifying the strength of the activity. The mean scores of deodorizing activity over foot malodor by olfactory method were 4; which indicated that betel leaf extract could cover the odor of isovaleric acid.



**Figure 1** GC-MS chromatogram of (a) 0.1 g/mL of betel leaf extract, (b) 0.1 g/mL isovaleric acid and the mixture solutions at 10 minutes, (c) 6 minutes, (d) 4 minutes, (e) 2 minutes, (f) 0 minute and (g) 0.1 g/mL of isovaleric acid

## 6. Preparation and Evaluation of Spray Product Containing Betel Leaf Extract for Deodorizing Foot Spray

All the results were shown in Table 2. The concentration of betel leaf extract used in the formulation was 0.1 g. The best spray base formula consisted of 30 % aluminium chlorohydrate solution (50 %), 5 % propylene glycol, 2 % glycerin, 0.1 % butylhydroxyl anisole and 1 % paraben concentrate. The product was clear with a mild pungent scent. It made the skin feel comfortable when applied on the foot, because of its pH, was skin pH range

(5.5). And it composed of aluminium chlorohydrate solution, which served as antiperspirant, and two humectants (glycerin and propylene glycol).

The anti-bacterial activity of the product, against *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Bacillus subtilis* ATCC6633 (the two selected species of microorganism caused foot malodor), analyzed by disc-diffusion method (presented as inhibition zone), were  $14.77 \pm 0.21$  mm diameters and  $14.0 \pm 0.35$  mm diameters respectively. The deodorizing activity over foot odor, using olfactory method and showed as olfactory score, was 4. The product was stable in both conditions.

### 7. Stability of Spray Product Containing Betel Leaf Extract for Deodorizing Foot Spray

Before the storage on stability test, the content of eugenol in formulation was  $10.34 \pm 0.11$  % w/v. After the completion of stability tests; 6 freeze-thaw cycles and the storage at room temperature for 3 months, the content of eugenol was reduced to  $8.89 \pm 0.13$  % w/v and  $8.94 \pm 0.12$  % w/v, respectively. These results demonstrated that the both of products kept in room circumstance for 3 months and in the accelerated condition of 6 heating and cooling cycles were significantly decreased ( $p < 0.05$ ) the eugenol content compared with the preferable formulated spray. Besides olfactory score against isovaleric acid of the product after both storages, were statistical confidently less from 4 to 3. All of spray product formula 4 still gave high deodorizing activity and were not significantly different ( $p > 0.05$ ) from the preferable formulated spray. That meant the product had lost some volatile substances, which could cover the odor of isovaleric acid or foot odor. However, the anti-bacterial activity against both *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 and *Bacillus subtilis* ATCC6633 of the product did still not change after both storages and were not significantly different ( $p > 0.05$ ). The rational explanation for these coincident were volatile eugenol could always evaporate, so the quantity was less after storage. Nevertheless, its content still did the deodorizing activity but less than previous storage. But other compositions in the extract, which did not investigate in the study, still remained in the product and had anti-bacterial activity. We also observed the physical appearances of the product, did not change after any storages. So the product was still physical stable.

**Table 3** Evaluation results of spray product containing betel leaf extract for deodorizing foot spray NB.

| Topic                                                                            | Before                            | After 6 Heating-<br>cooling Cycle<br>Storage | After 3 Months<br>Normal Condition<br>Storage <sup>a</sup> |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Physical appearance                                                              | Clear solution and<br>homogeneous | Clear solution and<br>homogeneous            | Clear solution and<br>homogeneous                          |
| pH                                                                               | 5.52 ± 0.09                       | 5.47 ± 0.11                                  | 5.44 ± 0.06                                                |
| Eugenol content                                                                  | 10.34 ± 0.11 % w/v                | 8.89 ± 0.13 % w/v*                           | 8.94 ± 0.12 % w/v*                                         |
| Antimicrobial activity against<br><i>Staphylococcus epidermidis</i><br>ATCC12228 | 14.77 ± 0.21 mm <sup>b</sup>      | 14.17 ± 0.15 mm <sup>b</sup>                 | 14.23 ± 0.25 mm <sup>b</sup>                               |
| Antimicrobial activity against <i>Bacillus</i><br><i>subtilis</i> ATCC6633       | 14.00 ± 0.35 mm <sup>b</sup>      | 13.50 ± 0.50 mm <sup>b</sup>                 | 13.27 ± 0.81 mm <sup>b</sup>                               |
| Deodorizing activity by Olfactory<br>method (olfactory score)                    | 4.00 ± 0.58                       | 3.29 ± 0.49                                  | 3.14 ± 0.38                                                |

All value were shown as mean ± SD (n=3).

\* The differences were considered to be significant when  $p < 0.05$  compared with initial storage.

<sup>a</sup> After 3 months at room temperature.

<sup>b</sup> Inhibition zone, the value of diameter of the area with no micro-organism' growth.

## Conclusions

Betel leaf extract showed the potential to be used as an active ingredient in deodorizing foot spray products. The designed betel leaf spray product was evaluated for the physicochemical properties as well as the anti-bacterial activity against microorganisms causing foot odor, and deodorizing activity over the foot odor. The olfactory method was also applied for the simple evaluation of the product but the evaluation with the distinct digital scale is recommended for the future study. The method of GC-MS is a decent technique to evaluate the deodorizing activity over the foot odor of the product. However, further study should design the method to calculate the deodorizing activity over foot odor as the scale to quantify the activity of the product.

## References

- [1] Hay, R. J., & Moore, M. K. (2004). *Rook's Textbook of Dermatology: Superficial and Cutaneous Mycoses*. Oxford: Blackwell Science Ltd.
- [2] Benohanian, A. (2001). Antiperspirants and Deodorants. *Clinics in Dermatology*, 19, 398-405.
- [3] Dwivedi, V., & Tripathi, S. (2014). Review Study on Potential Activity of *Piper betle*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3, 93-98.
- [4] Khan, J. A., & Kumar, N. (2011). Evaluation of Antibacterial Properties of Extracts of *Piper betel* Leaf. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 11, 1-3.
- [5] Ali, I., Khan, F. G., Suri, K. A., Gupta, B. D., Satti, N. K., Dut, T. P., Afrin, F., Qazi, G. N., & Khan, I. A. (2010). In Vitro Antifungal Activity of Hydroxychavicol Isolated from *Piper betle* L. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9, 7-15.
- [6] Caburian, A. B., & Osi, M. O. (2010). Characterization and Evaluation of Antimicrobial Activity of the Essential Oil from the Leaves of *Piper betle* L. *E-International Scientific Research Journal*, 2, 2-13.
- [7] Nanayakkara, B. S., Abayasokara, C. L., & Panagoda, G. J. (2014). Anti-candidal Activity of *Piper betle* (L.), *Vitex negundo* (L.) and *Jasminum grandiflorum*. *African Journal of Microbiology Research*, 8, 2307-2314.
- [8] Natthaya, P. (2009). *Development of Foot Spray Product using Essential Oil in Inhibitory Micrococcus sedentarius Growth*. Master's Thesis. Kasetsart University.
- [9] Ara, K., Hama, M., Akiba, S., Koike, K., Okwasaka, K., Hagura, T., Kamiya, T., & Tomita, F. (2006). Foot Odor Due to Microbial Metabolism and Its Control. *Canadian Journal of Microbiology*, 52, 357-364.
- [10] Subashkumar, R., Sureshkumar, M., Babu, S., & Thayumanavan, T. (2013). Antibacterial Effect of Crude Aqueous Extract of *Piper betle* L. Against Pathogenic Bacteria. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 4, 42-46.
- [11] Inam, F., Deo, S., & Narkhede, N. (2014). HPLC-UV Method Development and Quantification of Eugenol from Methanolic Extracts of Some Spices. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 3, 96-102.
- [12] Caroprese, A., Gabbanini, S., Beltramini C., Lucchi, E., & Valgimigli, L. (2009). HS-SPME-GC-MS Analysis of Body Odor to Test the Efficacy. *Skin Research and Technology*, 15, 503-510.
- [13] Kim, K. H., & Park, S. Y. (2008). A Comparative Analysis of Malodor Samples between Direct (Olfactometry) and Indirect (Instrumental) Methods. *Atmospheric Environment*, 42, 5061-5070.
- [14] Martell, M. J., & Boothe, J. H. (1967). The 6-deoxytetracyclines VII Alkylated Aminotetracyclines Possessing Unique Antibacterial Activity. *Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 10, 44-46.



# ผลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ของเนื้อปลากระพงขาวระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ<sup>1</sup>

## Effect of Chitosan from Shrimp Shell on Quality Changes of Giant Perch (*Lates calcarifer*) Meat during Cold Storage<sup>1</sup>

วิไลลักษณ์ กล่อมพงษ์<sup>2\*</sup>

Vilailak Klompong<sup>2\*</sup>

### บทคัดย่อ

ปลากระพงขาวเป็นผลิตภัณฑ์ประมงที่มีมูลค่า และเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่เนื้อปลาเกิดการเสื่อมเสียอย่างรวดเร็ว ไคโตซานซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติและได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัย อาจสามารถชะลอการเสื่อมเสียได้ การวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาผลของไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลากระพงขาวหั่นชิ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำโดยตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ได้แก่ การสูญเสีย น้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงพีเอช ปริมาณไตรเมทิลามีนและปริมาณเบสที่ระเหยได้ทั้งหมด ปริมาณคอนจูเกตไดอิน และสารไฮโดรคาร์บอนโพลีไซคลิก แอโรมาติก ปริมาณไขมันอิสระ พบว่า ไคโตซานสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงด้านต่างๆ ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีและไม่มีกรดแลกติกร้อยละ 1 โดยการเปลี่ยนแปลงของเนื้อปลากระพงขาวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไคโตซาน ( $p < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามคุณภาพของทุกตัวอย่างค่อยลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ดังนั้นไคโตซานอาจสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปปลากระพงขาวหั่นชิ้นชนิดสำเร็จรูปพร้อมปรุงเพื่อชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาได้

**คำสำคัญ:** ไคโตซาน คุณภาพ ปลากระพงขาว อุณหภูมิต่ำ

<sup>1</sup> ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินแผ่นดิน ประจำปีประมาณ 2555 จากมหาวิทยาลัยทักษิณ

<sup>2</sup> ผศ.ดร., สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>1</sup> This research was supported by the Public Sector Services of Thaksin University in 2012

<sup>1</sup> Asst. Prof. Dr., Department of Food Science and Technology, Faculty of Technology and Community Development, Thaksin University, Phatthalung 93210, Thailand

\* Corresponding author: Tel.: 074-609605. E-mail address: vklompong@gmail.com

(Received: June 12, 2018; Revised: September 13, 2018; Accepted: September 18, 2018)

## Abstract

Giant Perch (*Lates calcarifer*) is a high-value fishery product and recognized as nutritious food source. However, Giant Perch meat is perishable. Regarded as natural product and safety, chitosan could retard the deterioration of Giant Perch meat. The objective of this study was to investigate the effect of chitosan on quality changes of Giant Perch fillet during cold storage. Quality changes including weight loss, pH, trimethylamine and total volatile bases, conjugated diene and thiobarbituric acid reactive substance were monitored. The results showed that chitosan can retard quality changes when compared with control with or without 1% lactic acid. The quality changes of Giant Perch fillet were varied depending on chitosan concentrations ( $p < 0.05$ ). Nevertheless, the qualities of Giant Perch meat were more deteriorate as the storage time increase. Consequently, chitosan could be used in processing industry to retard the quality changes and prolonging the shelf-life of ready to cook Giant Perch fillet.

**Keywords:** Chitosan, Quality, Giant Perch, Cold Storage

## บทนำ

ปลากะพงขาวเป็นผลผลิตทางการประมงที่มีมูลค่าสูง เนื่องจากมีรสชาติดีและจัดเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ปลากะพงขาวมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย และได้รับความนิยมในการรับประทานทั้งในและต่างประเทศ แม้ปลากะพงขาวเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แต่ก็ยังเผชิญปัญหาในการตลาดและการส่งออก เนื่องจากสามารถส่งไปขายต่างประเทศได้น้อยมาก เพราะอายุการเก็บรักษาสั้น จึงเป็นปัญหาอย่างมากต่อการกระจายสินค้า การแปรรูปปลากะพงขาวจึงอาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการยืดอายุการเก็บรักษา เพื่อขยายตลาดการส่งออก ซึ่งปัจจุบันปลากะพงขาวในรูปแบบที่พร้อมสำหรับการปรุง เช่น ปลาแล่หรือปลาชิ้นได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีความสะดวกสบายและเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ให้กับผู้บริโภค อย่างไรก็ตามเนื้อปลากะพงขาวเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและเสื่อมเสียอย่างรวดเร็วจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และถูกย่อยสลายจากจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่อาจทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ รวมทั้งการย่อยสลายตัวเองเนื่องจากอุดมไปด้วยโปรตีนที่ย่อยง่ายและกรดอะมิโนจำเป็น และไขมันที่มีคุณภาพซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว [1] ส่งผลให้เกิดปัญหาทางคุณภาพ ด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัส ทำให้สูญเสียคุณภาพและมูลค่าทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อปลาแล่ ประเภท Ready-to-cook ซึ่งมีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเพียง 3-5 วัน [2] จึงเป็นปัญหาอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการส่งออก เนื่องจากต้องใช้ระยะเวลาในการขนส่งและกระจายสินค้า

ไคโตซานเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากเปลือกแข็งของสัตว์จำพวกกุ้งและปู เป็นสารจากธรรมชาติที่ปลอดภัย ไม่เป็นพิษ [1] ราคาไม่สูง และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ [3] มีประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร ซึ่งช่วยส่งเสริมให้อาหารปลอดภัย [4] โดยมีฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ทั้งจุลินทรีย์

ก่อโรคและทำให้เกิดการเน่าเสีย เนื่องจากประจุบวกที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของกลูโคซามีนทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งมีประจุลบ ทำให้เกิดการรั่วของเยื่อหุ้มเซลล์และเกิดการสูญเสียโปรตีนและสารภายในเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย [5] และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเนื่องจากไคโตซานเป็น Chelating Agent โดยมีหมู่อะมิโนที่สามารถแตกตัวให้ประจุบวกซึ่งสามารถจับโลหะที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งแบบที่เกิดจากเอนไซม์และแบบที่ไม่มีเอนไซม์เกี่ยวข้อง จึงช่วยคงคุณภาพด้านสีเนื่องจากยับยั้งการออกซิเดชันของไมโอโกลบินในกล้ามเนื้อปลา และยืดอายุการเก็บรักษา ดังนั้นอาจสามารถใช้ไคโตซานทดแทนสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ได้ [6] รวมทั้งการที่ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่รับประทานได้ [5] ได้รับการรับรองให้เป็นสารเติมแต่งอาหาร (Food Additives) จึงมีแนวโน้มว่าจะมีการนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ทางอาหารเพิ่มขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคในปัจจุบันใส่ใจกับสุขภาพและพยายามหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี [3] การใช้ไคโตซานอาจช่วยลดปริมาณการใช้สารกันบูดอาหารสังเคราะห์ หรือสามารถลดอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการผลิต เพื่อช่วยลดการสูญเสียรสชาติและคงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการถนอมอาหารของไคโตซานขึ้นอยู่กับชนิดและสภาวะการเก็บรักษาอาหาร ตลอดจนชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าบรรจุในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ (Modified Atmosphere Packaging) ( $O_2$  10 %,  $CO_2$  80 %,  $N_2$  10 %) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลากะพงขาวได้ เนื่องจากในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียที่ต้องการอากาศและรา ยิ่งไปกว่านั้นยังมีการใช้ก๊าซเฉื่อยประเภทไนโตรเจนบรรจุเพื่อแทนที่ออกซิเจน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไคโตซานต่อคุณภาพของเนื้อปลากะพงขาวหั่นชิ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา

### วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

นำปลากะพงขาวที่ผ่านการตกมาทำให้สลบด้วยน้ำแข็ง แล้วเนื้อให้มีขนาด  $2 \times 3 \times 0.4$  เซนติเมตร นำเนื้อปลาแล่มาคลุกเคล้ากับสารละลายไคโตซานที่ละลายในกรดแลคติกร้อยละ 1 ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 5 10 50 และ 100 มิลลิกรัม/กรัม จากนั้นบรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ถุงละ 200 กรัม ปิดผนึกด้วยความร้อน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างวันที่ 0 3 6 9 12 และ 15 มาวิเคราะห์คุณภาพ ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก [6] การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (pH), Trimethylamine (TMA) [7], Total Volatile Bases (TVB) [7], Conjugated Diene [8] และ Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) [9] เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไคโตซาน และชุดควบคุมที่มีการเติมเฉพาะกรดแลคติกร้อยละ 1 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD [10] วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## ผลการวิจัย

### การสูญเสียน้ำหนัก

จากการศึกษาการสูญเสียน้ำหนัก พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นการสูญเสียน้ำหนักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 1a) โดยอัตราการสูญเสียน้ำหนักมีค่าเพิ่มขึ้นมากในช่วง 3 วันแรก หลังจากนั้นการสูญเสียน้ำหนักค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 15 เมื่อเปรียบเทียบแต่ละตัวอย่างที่เก็บรักษาในระยะเวลาเดียวกันพบว่า วันที่ 0 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นตัวอย่างที่เดิมไคโตซานทุกระดับความเข้มข้นแตกต่างจากตัวอย่างชุดควบคุมและตัวอย่างชุดที่ผสมกรดแลกติก เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และเมื่อความเข้มข้นของไคโตซานเพิ่มขึ้นการสูญเสียน้ำหนักของเนื้อปลาลดลง ( $p < 0.05$ )

### การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (pH)

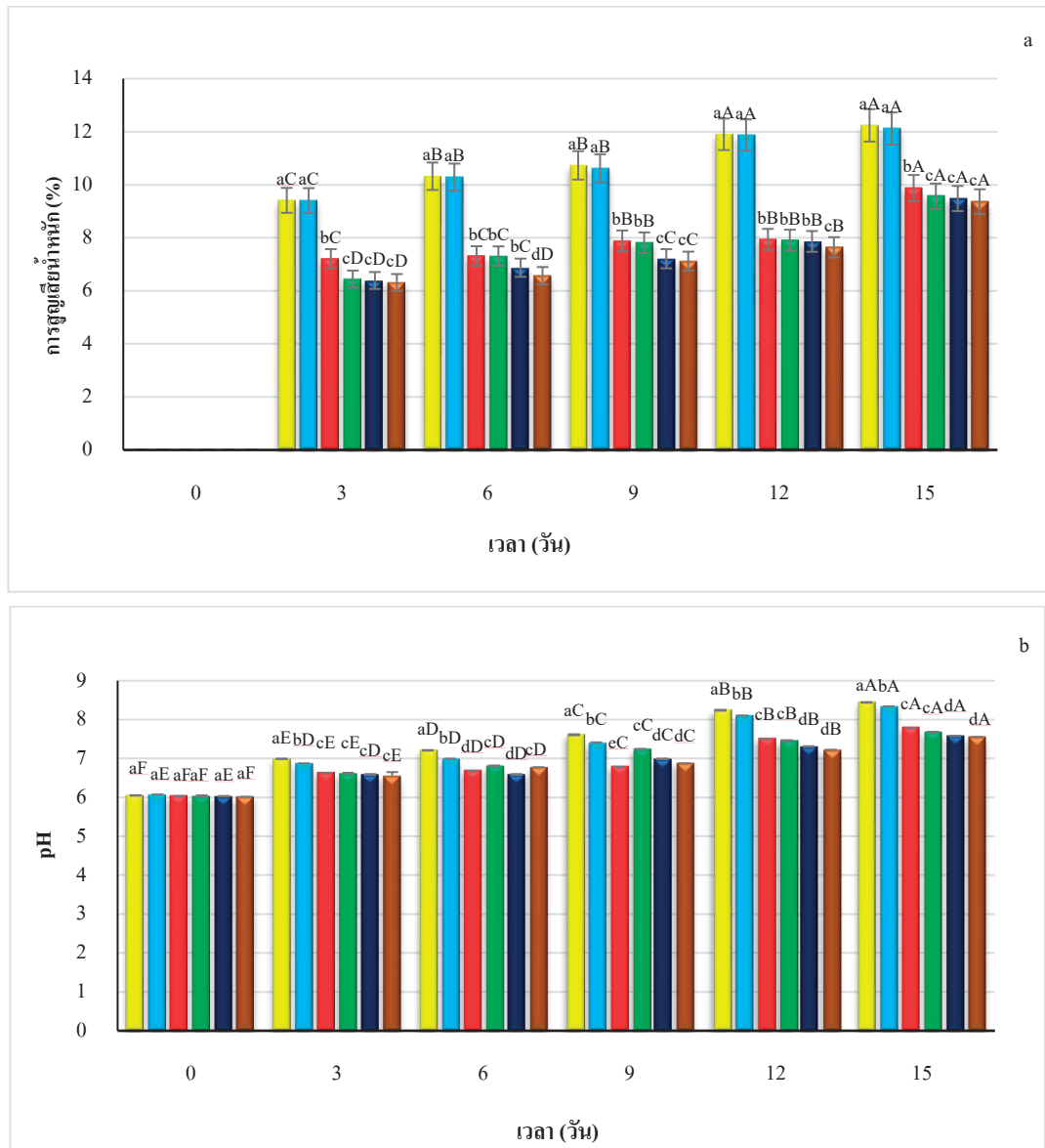
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเนื้อปลากะพงขาว พบว่า ค่า pH เริ่มต้นของเนื้อปลากะพงขาวอยู่ในช่วง 6.01 - 6.06 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นค่า pH ของเนื้อปลากะพงขาวทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 1b) โดยที่ตัวอย่างชุดควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ผสมกรดแลกติกเพียงอย่างเดียวและตัวอย่างที่ใช้กรดแลกติกในการละลายไคโตซานตามลำดับ โดยทั่วไปแล้วตัวอย่างที่มีไคโตซานในระดับสูงมีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ต่ำ ( $p < 0.05$ )

### Trimethylamine (TMA) และ Total Volatile Bases (TVB)

จากการตรวจติดตามปริมาณ TMA และ TVB ในเนื้อปลากะพงขาวหั่นชิ้น พบว่า TMA และ TVB มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 2) อย่างไรก็ตามไคโตซานสามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของ TMA และ TVB ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่มีการเติมกรดแลกติกร้อยละ 1 โดยปริมาณความเข้มข้นของไคโตซานยิ่งมาก ยิ่งส่งผลชะลอการเกิด TMA และ TVB ในตัวอย่าง ตามลำดับ ( $p < 0.05$ )

### Conjugated Diene และ Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS)

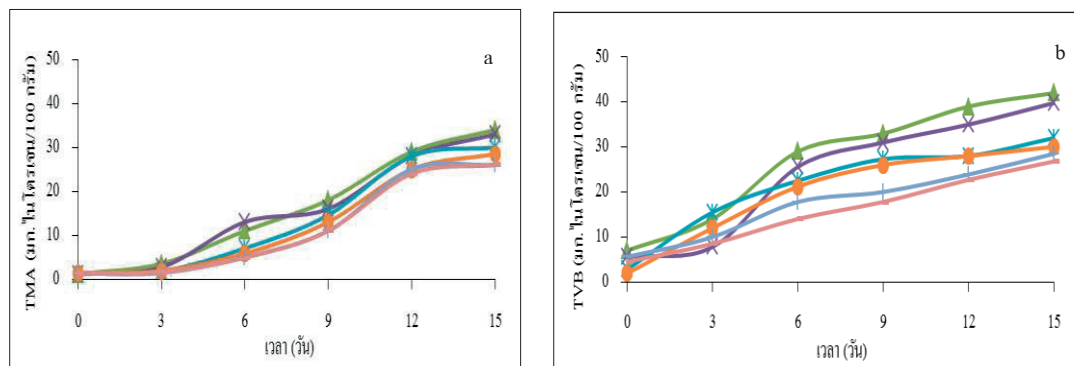
จากการศึกษาการเกิด Conjugated Diene และ Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 วัน (ภาพที่ 3a และ b) พบว่า เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น Conjugated Diene และ TBARS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ( $p < 0.05$ ) โดยตัวอย่างชุดควบคุมมีการเกิดออกซิเดชันสูงที่สุดโดยมีค่า Conjugated Diene และ TBARS สูงที่สุดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา รองลงมาคือตัวอย่างที่ผสมกรดแลกติกเพียงอย่างเดียว ตามด้วยตัวอย่างที่ผสมกรดแลกติกที่ละลายไคโตซานเข้มข้น 5 10 50 และ 100 มิลลิกรัม/กรัม เนื้อปลา ตามลำดับ ( $p < 0.05$ )



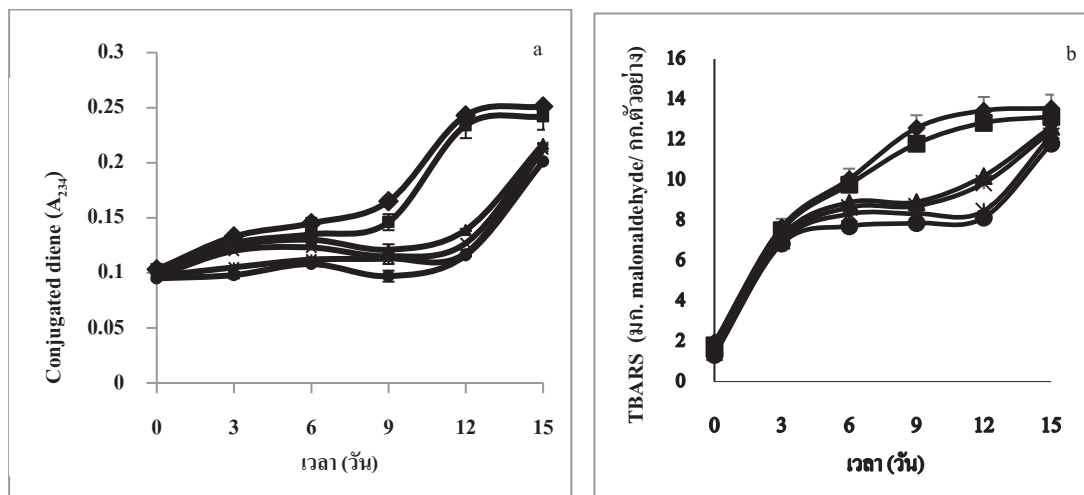
**ภาพที่ 1** การสูญเสียน้ำหนัก (a) และการเปลี่ยนแปลง pH (b) ของเนื้อปลากระพงขาวชุดควบคุม (■), ผสมกรดแลกติก ร้อยละ 1 (■) และผสมกรดแลกติกร้อยละ 1 ที่ใช้ละลายโคโคซานเข้มข้น 5 (■), 10 (■), 50 (■) และ 100 (■) มิลลิกรัม/กรัม เนื้อปลา โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

<sup>a-f</sup> แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในแต่ละตัวอย่างที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเดียวกัน

<sup>A-F</sup> แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในอย่างเดียวกันที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างกัน



ภาพที่ 2 Trimethylamine (TMA) (a) และ Total Volatile Bases (TVB) (b) ในเนื้อปลากะพงขาวที่ผสมไคโตซาน  
 ที่ละลายในกรดแลกติกร้อยละ 1 เข้มข้น 5 (★), 10 (◆), 50 (✦) และ 100 (●) มิลลิกรัม/กรัม เนื้อปลา  
 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (▲) และชุดที่มีกรดแลกติกร้อยละ 1 (✕)



ภาพที่ 3 Conjugated Diene (a) และ Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) (b) ของเนื้อปลากะพงขาว  
 ชุดควบคุม (◆), ผสมกรดแลกติกร้อยละ 1 (■), ผสมกรดแลกติกร้อยละ 1 ที่ใช้ละลายไคโตซานเข้มข้น 5 (▲), 10  
 (✕), 50 (★) และ 100 (●) มิลลิกรัม/กรัม เนื้อปลา โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน

## การอภิปรายผล

### การสูญเสียไขมัน

ตัวอย่างเนื้อปลากะพงขาวที่เติมไคโตซานทุกระดับความเข้มข้นสูญเสียไขมันน้อยกว่าตัวอย่างชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยระดับการสูญเสียไขมันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไคโตซาน ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากไคโตซานมีสมบัติในการจับและเก็บกักน้ำ [11] และมีหมู่อะมิโนที่สามารถแตกตัวให้ประจุบวก

จึงมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี [1] และช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าไคโตซานสามารถลดการละลายของโปรตีนในกล้ามเนื้อปลาในระหว่างการเก็บรักษาได้ [3]

#### การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (pH)

ตัวอย่างเนื้อปลากะพงที่มีไคโตซานในระดับสูง มีการเปลี่ยนแปลงค่า pH ต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่าไคโตซานช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ [1] ส่วนตัวอย่างชุดควบคุมมีค่า pH สูงที่สุด เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญและย่อยสลายโปรตีนในเนื้อปลา แล้วปลดปล่อยแอมโมเนีย [12] ส่งผลให้ค่า pH เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH ของปลาเรนโบว์เทราต์ที่เคลือบไคโตซานแล้วเก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 6 เดือน [3] โดยการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในเนื้อปลาสามารถบ่งชี้คุณภาพทางจุลินทรีย์ของเนื้อปลาได้

#### Trimethylamine (TMA) และ Total Volatile Bases (TVB)

การเปลี่ยนแปลงค่า pH นั้นสอดคล้องกับค่า TMA และ TVB ซึ่งไคโตซานสามารถชะลอการเพิ่มขึ้นของ TMA และ TVB ได้ เนื่องจากไคโตซานมีประสิทธิภาพในการการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ [1, 4-6] ในเนื้อปลา [3] ไคโตซานสามารถยับยั้งจุลินทรีย์โดยอาจจับกับ DNA ของแบคทีเรียนำไปสู่การยับยั้ง mRNA และการสังเคราะห์โปรตีน [3-4] หรือจับกับเยื่อหุ้มเซลล์และรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือหมู่อะมิโน ( $\text{NH}_3^+$ ) ที่มีประจุบวกของไคโตซานทำปฏิกิริยากับประจุลบบนพื้นผิวเซลล์จุลินทรีย์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ นำไปสู่การรั่วของออร์แกเนลล์ภายในเซลล์ ทำให้เซลล์ตาย นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถจับกับลิโปพอลิแซคคาไรด์ของแบคทีเรียแกรมลบ หรือกรด Teichoic ของแบคทีเรียแกรมบวกส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียการทำหน้าที่และทำให้เซลล์แตกและตายในที่สุด [4] ตลอดจนไคโตซานมีความสามารถในการจับโลหะ ซึ่งโลหะดังกล่าวอาจจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และไคโตซานยังสามารถจับกับน้ำได้ดีซึ่งอาจรบกวนการทำหน้าที่ของเอนไซม์จำนวนมากที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ [3] ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิด TMA และ TVB [3] เนื่องจากมีเอนไซม์ Trimethylamine Oxidoreductase (TMAO Reductase) ซึ่งสามารถย่อย TMAO ที่มีอยู่ในเนื้อปลาให้กลายเป็น TMA และ TMA ที่เกิดขึ้นจะถูกเอนไซม์ TMA Dehydrogenase ซึ่งมีอยู่ในเนื้อปลาย่อยสลายต่อไปเป็น Dimethylamine (DMA), Formaldehyde (FA) และแอมโมเนีย ส่งผลให้เนื้อปลามีค่า TVB สูงขึ้น TVB ที่เกิดขึ้นบ่งบอกว่ามีการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์และเกิดการย่อยสลายโปรตีนในระหว่างการเก็บรักษา [11] และการที่มีแอมโมเนียเกิดขึ้นในระบบส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่างของเนื้อปลาสูงขึ้น [3] ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH ที่เพิ่มขึ้น โดยปลาที่มีความสดและมีคุณภาพดีจะมีค่า TMA น้อยกว่า 1.5 มิลลิกรัม TMA-N/100 กรัม ตัวอย่าง แต่ถ้ามีปริมาณสูงถึง 10-15 มิลลิกรัม TMA-N/100 กรัม ตัวอย่างจะมีลักษณะไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากมีกลิ่นเหม็นเน่าและมีกลิ่นคาวปลาอย่างรุนแรง และมีรายงานว่าปลาซาร์ดีนจะเน่าเสียเมื่อมีค่า TVB มากกว่า 25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ในขณะที่ปลาที่อาศัยในเขตหนาวและเขตอบอุ่นจะเน่าเสียเมื่อมีค่า TVB ในช่วง 30 - 40 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม [13] สำหรับในงานวิจัยนี้พบว่าเนื้อปลากะพงขาวเริ่มเน่าเสียภายหลังจากวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีค่า TMA และ TVB อยู่ในช่วง 11 ถึง 14 และ 17.8 ถึง 25 มิลลิกรัม

ไนโตรเจน/100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ว่าไคโตซานสามารถยืดอายุการเก็บรักษานานขึ้น 1 เท่าตัว ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tayel [1] ที่พบว่าไคโตซานมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้กรอกปลาได้

#### Conjugated Diene และ Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไคโตซานสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อปลากระพงขาวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้ โดยสามารถยับยั้งทั้งการสร้าง Primary Product (Conjugated Diene) และ Secondary Product (TBARS) ของกระบวนการออกซิเดชันได้ โดยไคโตซานอาจมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระและอาจมีความสามารถในการรีดิวซ์ เนื่องจากมีหมู่อะมิโนที่สามารถให้โปรตอน [4] และหมู่ไฮดรอกซิลที่มีประสิทธิภาพในการจับอนุมูลอิสระ ตลอดจนอาจมีความสามารถในการจับโลหะ [1] และเฟอร์รัส ไอออน [3] ซึ่งเป็น Pro-oxidant ที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ฟิสิกส์จากไคโตซาน [11] และไคโตซาน [3] สามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน จึงอาจช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันได้

Xavier และคณะ [11] รายงานว่าไคโตซานสามารถชะลอการเสื่อมเสียของเนื้อปลาทอดได้ เนื่องจากการเกิด TVB-N การเปลี่ยนแปลง pH การเกิดออกซิเดชันของไขมันจากการวัดค่าเปอร์ออกไซด์ และ TBARS และ Berizi และคณะ [3] ใช้ไคโตซานในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนในปลาเรนโบว์เทราต์ทั้งตัวที่ผ่านการควักไส้แล้วเก็บรักษาในสภาวะแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 6 เดือน โดยตรวจติดตามค่าเปอร์ออกไซด์ และ TBARS ยิ่งไปกว่านั้น Xavier และคณะ [11] และ Yuan และคณะ [14] ได้สรุปว่าไคโตซานช่วยคงคุณภาพอาหารสด อาหารแช่เยือกแข็ง และอาหารแปรรูปโดยชะลอการสูญเสียน้ำหนัก การเจริญของจุลินทรีย์ และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้

### สรุปผลการวิจัย

ไคโตซานมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในระบบอาหารจำพวกเนื้อปลากระพงขาวหั่นชิ้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ โดยการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลากระพงขาวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไคโตซาน ซึ่งไคโตซานสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อปลากระพงขาวในด้านคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก การเปลี่ยนแปลงค่า pH การเกิด TMA และ TVB และ Conjugated Diene และ TBARS ดังนั้น ไคโตซานซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติ มีความปลอดภัยสูง และราคาไม่แพง อาจสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการแปรรูปปลากระพงขาวหั่นชิ้นชนิด Ready-to-cook เพื่อชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลากระพงขาวได้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Tayel, A. A. (2016). Microbial Chitosan as a Biopreservative for Fish Sausages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 41-46.
- [2] Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable Gelatine-chitosan Films Incorporated with Essential Oils as Antimicrobial Agents for Fish Preservation. *Food Microbiology*, 27, 889-896.
- [3] Berizi, E., Hosseinzadeh, S., Shekarforoush, S. S., & Barbieri, G. (2018). Microbial, Chemical, Textural and Sensory Properties of Coated Rainbow Trout by Chitosan Combined with Pomegranate Peel Extract During Frozen Storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 1004-1013.
- [4] Ma, Z., Garrido-Maestu, A., & Jeong, K. C. (2017). Application, Mode of Action, and *in vivo* Activity of Chitosan and its Micro- and Nanoparticles as Antimicrobial Agents: A review. *Carbohydrate Polymers*, 176, 257-265.
- [5] Bonilla, J., & Sobral, P. J. A. (2016). Investigation of the Physicochemical, Antimicrobial and antioxidant Properties of Gelatin-Chitosan Edible Film Nixed with Plant Ethanolic Extracts. *Food Bioscience*, 16, 17-25.
- [6] Kaya, M., Dudakli, F., Asan-Ozusaglam, M., Cakmak, Y. S., Baran, T., Menten, A., & Erdogan, S. (2016). Porous and Nanofiber A-Chitosan Obtained from Blue Crab (*Callinectes sapidus*) Tested for Antimicrobial and Antioxidant Activities. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 1109-1117.
- [7] Conway, E. J., & Byrne, A. (1936). An Absorption Apparatus for the Micro Determination of Certain Volatile Substances I. The Micro Determination of Ammonia. *Journal of Biochemistry*, 27, 419-429.
- [8] Frankel, E. N., Huang, S. W., & Aeschbach, R. (1997). Antioxidant activity of Green Teas in Different Lipid Systems. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 74, 1309-1315.
- [9] Lee, B. J., & Hendricks, D. G. (1997). Antioxidant Effects of L- carnosine on Liposomes and Beef Homogenates. *Journal of Food Science*, 62, 931-934.
- [10] Steel, R. G. D., & Torrie, J. H. (1980). *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*, New York. McGraw-Hill.
- [11] Xavier, K. A. M., Hauzoukim, Kannuchamy, N., Balange, A. K., Chouksey, M. K., & Gudipati, V. (2017). Functionality of Chitosan in Batter Formulations for Coating of Fish Sticks: Effect on Physicochemical Quality. *Carbohydrate Polymers*, 169, 433-440.
- [12] Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2012). Use of Protein Hydrolysate from Yellow Stripe Trevally (*Selaroides leptolepis*) as Microbial Media. *Food Bioprocess Technology*, 5, 1317-1327.

- [13] Bennour, M., Marrakchi, A. E., Bouchriti, N., Hamama, A., & Ouadaa, M. (1991). Chemical and Microbiological Assessments of Mackerel (*Scomber scombrus*) Stored in Ice. *Journal of Food Protection*, 54, 789-792.
- [14] Yuan, G., Chen, Z., & Li, D. (2016). Chitosan Films and Coatings Containing Essential Oils: The Antioxidant and Antimicrobial Activity, and Application in Food Systems. *Food Research International*, 89, 117-128.

# สารต้านจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟท์ *Fusarium* sp. ของจอกหูหนู

## Antimicrobial Agents Produced by *Fusarium* sp., an Endophytic Fungus of *Salvinia cuculata* Roxb & Bory

วรรณฤดี หิรัญรัตน์<sup>1\*</sup>, อัสภาวุธ หิรัญรัตน์<sup>2</sup>, พฤทธิกร สุขพล<sup>3</sup> และฮิรโองเฮง บาหะ<sup>4</sup>

Wanrudee Hiranrat<sup>1\*</sup>, Asadhawut Hiranrat<sup>2</sup>, Preuttioporn Supaphon<sup>3</sup> and Hiproheng Baha<sup>4</sup>

### บทคัดย่อ

การแยกส่วนประกอบทางเคมีจากราเอนโดไฟท์ *Fusarium* sp. ที่ได้จากใบจอกหูหนู สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 4 สาร คือ “Sydouxanthone A (1)”, “13-O-Acetylsydowinin B (2)”, “Secalonic Acid A (3)” และ “Emodin (4)” เมื่อนำสารบริสุทธิ์มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (SA), Methicillin - resistant *S. aureus* (MRSA SK1), *P. aeruginosa* ATCC27853 (PA) และ *E. coli* (EC) และยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ATCC 90028 (CA90028) และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 Flucytosine – resistant (CN91112) พบว่า สาร 3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย SA, MRSA SK1, PA และ EC และยับยั้งเชื้อยีสต์ CA90028 และ CN91112 อยู่ในลำดับดีด้วยค่า MIC เท่ากับ 25.1 25.1 25.1 50.2 50.2 และ 50.2  $\mu\text{M}$  ตามลำดับ สาร 1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย SA, MRSA SK1 และ PA ในระดับปานกลางด้วยค่า MIC เท่ากับ 82.2  $\mu\text{M}$  ส่วนสาร 2 และ 4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์ที่ทดสอบในระดับต่ำ

**คำสำคัญ:** ราเอนโดไฟท์ จอกหูหนู ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

<sup>1</sup> ผศ., สาขาวิชาเคมี หน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>2</sup> อ.ดร., สาขาวิชาเคมี หน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>3</sup> อ.ดร., สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>4</sup> นิสิตระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>1</sup> Asst. Prof., Natural Products Research Laboratory, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210, Thailand

<sup>2</sup> Lecturer, Dr., Natural Products Research Laboratory, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210, Thailand

<sup>3</sup> Lecturer, Dr., Microbiology Department, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210, Thailand

<sup>4</sup> Undergraduate Student, Chemistry Department, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210, Thailand

\* Corresponding author: E-mail address: wanrudee17@yahoo.com. Tel.: 098-1595162

## Abstract

Isolation of the chemical constituents from an endophytic fungus *Fusarium sp.*, isolated from *Salvinia cucullata* Roxb. & Bory, yielded four compounds: “Sydoxanthone A (1)”, “13-O-acetylsydoxin B (2)”, “Secalonic Acid A (3)” and “Emodin (4)”. Antimicrobial activity of isolated compounds against four bacteria, *S. aureus* (SA), Methicillin - resistant *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC27853 (MRSA SK1) and *E. coli* (EC) and against two yeast, *Candida albicans* ATCC90028 (CA90028) and *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 Flucytosine – resistant (CN90112) was determined. The results were found that compound 3 had good antibacterial activity against SA, MRSA SK1, PA and EC and antiyeast activity against CA90028 and CN90112 with the MIC 25.1, 25.1, 25.1, 50.2, 50.2 and 50.2  $\mu$  M, respectively. Compound 1 exhibited moderate activities against bacteria SA, MRSA SK1 and PA at 82.2  $\mu$  M. However compound 2 and 4 showed weak activities to inhibit the growth of bacteria and yeast.

**Keywords:** Endophytic Fungus, *Salvinia cucullata* Roxb, Antimicrobial

## บทนำ

ราเอนโดไฟท์เป็นแหล่งหนึ่งที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด เช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง [1] ต้านจุลินทรีย์ [2] ต้านไวรัส [3] ต้านอนุมูลอิสระ [4] ต้านการอักเสบ [5] และฤทธิ์เป็นพืชต่อเซลล์ [6] ราเอนโดไฟท์ *Fusarium sp.* ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆมีรายงานวิจัยว่ามีองค์ประกอบทางเคมีที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย เช่น สารประเภทอนุพันธ์ของแนฟทาควิโนน และ เฮซา-แอนทราควิโนน ซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์เป็นพืชต่อเซลล์ [7] อนุพันธ์ของไพโรน และ แนฟทาควิโนน [8] อนุพันธ์ของไอโซโครมาโนน [9] เทตระไฮดริกไดรเทอร์พีนอยด์ และ อินเทกราไซด์ [10-11] รายงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาสารองค์ประกอบจากราเอนโดไฟท์ *Fusarium sp.* ที่แยกได้จากจอกหูหนู (*Salvinia cucullata* Roxb. & Bory.) พบว่าสามารถแยกสารได้ 4 สาร คือ Sydoxanthone A (1) 13-O-acetylsydoxin B (2) Secalonic acid A (3) และ Emodin (4) โครงสร้างของสารเหล่านี้ยืนยันโดยใช้เทคนิคทาง สเปกโทรสโกปี และการเปรียบเทียบกับสารที่เคยมีรายงานแล้ว และพบว่า สาร (3) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, Methicillin - resistant *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC27853 และ *E. coli* และยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ATCC 90028 และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 Flucytosine – resistant อยู่ในลำดับดีด้วย ค่า MIC เท่ากับ 16 16 32 และ 32 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

### 1. การแยกราเอนโดไฟท์

เก็บใบจอกหูหนู (*Salvinia cucullata* Roxb. & Bory) จากทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง แยกราเอนโดไฟท์ โดยล้างใบจอกหูหนูด้วยสบู่และน้ำประปา ตามด้วยแช่ใน 95 % เอทานอลเป็นเวลา 30 นาที และตามด้วยสารละลาย 5 % โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 5 นาที หลังจากนั้นชะด้วยน้ำกลั่น 5 นาที นำใบมาตัดเป็นชิ้นวางในงานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เมื่อเชื้อเจริญเติบโต คัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปใส่ในงานเพาะเชื้ออีกใบ

### 2. การเพาะเลี้ยงและการจัดจำแนกราเอนโดไฟท์โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำราเอนโดไฟท์ที่แยกได้เพาะเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้น จัดจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Macroscopic Morphological Characteristics และ Microscopic Morphological Characteristics) โดยการสังเกตด้วยตาเปล่าและเขียนขยายด้วยสี Lactophenol Cotton Blue บันทึกลักษณะของโคโลนี ขนาด รูปร่าง สีของเส้นใย การมีผนังกัน และโครงสร้างสืบพันธุ์ พบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ ไอโซเลต sal3 เจริญได้เร็วบนอาหาร PDA โคโลนีมีสีขาว และแบนเรียบ พบลักษณะของโคโลนีเดียวมีขนาดใหญ่ โกงังคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ปลายมน เส้นใยไม่มีสี สามารถจัดจำแนกได้ในระดับจีโนมเป็น *Fusarium sp.*

### 3. การหมักและการสกัดเชื้อ

นำราเอนโดไฟท์ *Fusarium sp.* ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 ลิตรที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Potato Dextrose Broth (PDB) และบ่มที่อุณหภูมิห้อง 21 วัน หลังจากนั้นนำเชื้อที่อยู่ในขวดรูปชมพู่มากรองเพื่อแยกเส้นใยเชื้อราออกจากน้ำเลี้ยงเชื้อ นำส่วนเส้นใยเชื้อรามาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตด ตามด้วยเมทานอล นำสารสกัดเอทิลอะซิเตดและ เมทานอลมาระเหย ตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน ได้สารสกัดเอทิลอะซิเตดของเส้นใยเชื้อรา และสารสกัดเมทานอลของเส้นใยเชื้อรา ให้รหัสเป็น CE และ CM ตามลำดับ

### 4. การแยกสารบริสุทธิ์

นำสารสกัด CE ลักษณะของหนืดสีน้ำตาลเข้ม น้ำหนัก 0.73 กรัม มาแยกด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ใช้คอลัมน์ชนิดรีเฟรสเฟส (RP 18) ใช้ตัวทำละลายระบบ Gradient ระหว่างน้ำและเมทานอลใช้อัตราการไหล 4.50 mL/min แยกสารได้ทั้งหมด 6 ส่วน (CE1-CE6) นำส่วน CE3 มาแยกต่อด้วยเทคนิค โครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC) ใช้ตัวทำละลาย 2 % เมทานอลในไดคลอโรมีเทน ได้สาร 1 (20.5 มิลลิกรัม) นำส่วน CE6 มาแยกด้วยเทคนิค HPLC ใช้คอลัมน์ชนิดรีเฟรสเฟส (RP 18) ใช้ตัวทำละลายระบบ Gradient ระหว่างน้ำ เมทานอล และไดคลอโรมีเทน ใช้อัตราการไหล 4.50 mL/min ตามด้วยแยกด้วยเทคนิค TLC สามารถแยกสาร 2 (32.0 มิลลิกรัม)

นำสารสกัด CM ลักษณะของแข็งสีดำ น้ำหนัก 0.69 กรัม มาแยกด้วยเทคนิค HPLC ใช้คอลัมน์ชนิดรีเฟรสเฟส (RP 18) ใช้ตัวทำละลายระบบ Gradient ระหว่างน้ำและเมทานอลใช้อัตราการไหล เท่ากับ

4.50 mL/min แยกสารได้ทั้งหมด 8 ส่วน ให้รหัส CE1-CE8 นำส่วน CM 5 และ CM6 มาแยกด้วยเทคนิค TLC สามารถแยกสาร 3 (34.4 มิลลิกรัม) และ 4 (17 มิลลิกรัม) ได้ตามลำดับ

## 5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

แบคทีเรียแกรมบวก ทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย 2 เชื้อ คือ *Staphylococcus aureus* ATCC25923 และ Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) SK1 แบคทีเรียแกรมลบ ทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย 2 เชื้อ คือ *Escherichia coli* ATCC25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853

ยีสต์ ทดสอบการยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ATCC90028 และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 โดยเชื้อ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการรา วิทยาลัยวิชาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

### 5.1 การเตรียมสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

นำสารบริสุทธิ์มาละลายด้วย Dimethylsulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางต่อด้วย DMSO ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับเชื้อทดสอบต่อไป

### 5.2 การเตรียมยาปฏิชีวนะมาตรฐาน

ละลายยา Vancomycin และ Gentamicin ด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ ให้ได้ความเข้มข้น 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนยา Amphotericin B เตรียมที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยาปฏิชีวนะมาตรฐานทั้งหมดถูกเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ยา Vancomycin และ Gentamicin ใช้เป็นยามาตรฐานกับแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ ตามลำดับ และยา Amphotericin B ใช้เป็นยามาตรฐานกับยีสต์

### 5.3 การเตรียมเชื้อทดสอบ

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย เชื้อแบคทีเรีย 3-5 โคโลนี ลงในอาหาร Nutrient Broth (NB) และเขย่าที่ตู้บ่มเชื้อ ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 % ที่ปราศจากเชื้อ ให้ได้ 0.5 McFarland Standard (เชื้อประมาณ  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml) และเจือจางต่อที่อัตราส่วน 1 : 200 ด้วยอาหาร Mueller-Hinton Broth (MHB) การเตรียมเชื้อยีสต์ เชื้อยีสต์ 3-5 โคโลนี ลงในอาหาร Sabouraud's Dextrose Broth (SDB) และเขย่าที่ตู้บ่มเชื้อ ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง สำหรับ *Candida albicans* และที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง สำหรับ *Cryptococcus neoformans* จากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85 % ที่ปราศจากเชื้อ ให้ได้ 2 McFarland Standard และเจือจางต่อที่อัตราส่วน 1 : 20 ด้วยอาหาร SDB

### 5.4 การทดสอบฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์ด้วยวิธี Colorimetric Broth Microdilution Tests

#### 5.4.1 ทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ทดสอบฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธี Colorimetric Broth Microdilution นำสารบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาเจือจางด้วยอาหาร MHB และ SDB เมื่อทดสอบกับแบคทีเรียและยีสต์ ตามลำดับ ให้ได้ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หยดสารตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate จำนวน 3 หลุม และหยดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง สำหรับ *S. aureus*, MRSA, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *C. albicans* และบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 ชั่วโมง สำหรับ *C. neoformans* หยดสี Resazurin ที่เจือจาง (1:10) ลงในหลุมทดสอบปริมาตร 10 ไมโครลิตร และนำไปบ่มต่อเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และยีสต์ (*C. albicans*) ส่วน *C. neoformans* นำไปบ่มต่อเป็นเวลา 1 วัน อ่านผลการทดสอบโดยสังเกตสีของ Resazurin หากสารตัวอย่างสามารถยับยั้งเชื้อได้จะยังคงเห็นสีของ Resazurin เป็นสีน้ำเงิน หากสารสกัดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้สีของ Resazurin จะเปลี่ยนเป็นสีชมพู หรือไม่มีสี

#### 5.4.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ (The Minimum Inhibitory Concentrations; MICs) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ (The Minimum Bactericidal Concentration; MBCs)

สารตัวอย่างที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะนำมาทดสอบ และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ (MICs) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารตัวอย่างที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบ (MBCs) ด้วยวิธี Colorimetric Broth Microdilution Tests เช่นเดียวกับการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารตัวอย่าง โดยเตรียมสารตัวอย่างใน Microtiter Plates ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย เป็น 0.025-128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ ได้ จะบันทึกเป็นค่า MIC จากนั้น Streak เชื้อจากหลุมทดสอบที่ให้ผลการยับยั้งทุกหลุมจาก Microtiter Plate ลง บนอาหาร Nutrient Agar (NA) สำหรับแบคทีเรีย และ Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) สำหรับยีสต์ โดย ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้จะถูกระบุเป็นค่า MBC

### ผลการวิจัย

ผลการศึกษาการสกัดเส้นใยเชื้อราด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตและเมทานอล พบว่าได้ร้อยละสารสกัดหยาบ CE และสารสกัดหยาบ CM เท่ากับ 10.52 และ 29.43 ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหยาบ CE น้ำหนัก 0.73 กรัม ทำให้เป็นส่วนย่อยโดยใช้เทคนิค HPLC ได้ส่วนสกัดย่อยจำนวน 6 ส่วน (CE1-CE6) นำส่วนย่อยที่สนใจมาทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบางและการตกผลึก ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 2 สาร คือ 1 และ 2 เมื่อนำสารสกัดหยาบ CM น้ำหนัก 0.47 กรัม ทำให้เป็นส่วนย่อยโดยใช้เทคนิค HPLC ได้ส่วนสกัดย่อยจำนวน 8 ส่วน (CM1-CM8) นำส่วนย่อยที่สนใจมาทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง ได้สารบริสุทธิ์จำนวน 2 สาร คือ 3 และ 4 เมื่อนำสารบริสุทธิ์ทั้ง 4 สารมาวิเคราะห์โครงสร้างโดยพิจารณาจากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี ได้ผลดังนี้

สาร 1 :  $UV(CH_3OH)$  :  $\lambda_{max}(\log E)$  389 (2.15), 275 (2.12), 165 (1.52) nm; FT-IR (ATR)  $\lambda_{max}$  3400, 1713, 1682, 1154  $cm^{-1}$ ;  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  : 12.12 (1H, s, 8-OH), 7.85 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-3), 7.49 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-4), 6.88 (1H, s, H-5); 6.75 (1H, s, H-7), 5.17 (2H, s, H-13), 4.18 (3H, s, H-11), 2.45 (3H, s, H-12), 2.15 (3H, s, H-15);  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  182.5 (C-9), 172.4 (C-14), 167.5 (C-10),

164.2 (C-8), 154.9 (C-4b), 154.1(C-4a), 145.6 (C-6), 134.5 (C-1), 136.4 (C-3), 130.5 (C-2), 120.9 (C-4), 119.3 (C-9a), 109.3 (C-8a), 108.5 (C-7), 104.8 (C-5), 64.8 (C-13), 51.2 (C-11), 20.9 (C-15), 20.1 (C-12) (สาร 1 คือ **sydoxanthone A**)

สาร 2 : m.p. 186-187°C; UV(CH<sub>3</sub>OH)  $\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 372 (2.15), 268 (2.12), 268 (2.12), 1.72 (1.52) nm; FT-IR (ATR)  $\lambda_{\max}$  3361, 1711, 1673, 1161, 1161 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  : 12.18 (1H, s, 8-OH), 7.50 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-3), 7.58 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-4), 6.92 (1H, s, H-5), 6.71 (1H, s, H-7), 5.12 (2H, s, H-13); 2.11 (3H, s, H-15); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  183.6 (C-9), 174.2 (C-13), 162.3 (C-8), 155.1(C-4b), 152.7(C-4a), 145.6 (C-6), 133.2 (C-1), 135.8 (C-3), 131.9 (C-2), 121.8 (C-4), 117.3 (C-9a), 107.8 (C-8a), 107.5 (C-7), 103.6 (C-5), 65.4 (C-10), 63.2 (C-12), 49.2 (C-11), 23.8 (C-14) (สาร 2 คือ **13-O-acetylsydoxin B**)

สาร 3 : m.p. 244-245°C; UV (CH<sub>3</sub>OH)  $\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 375 (2.15), 262 (2.12), 267 (2.12), 1.78 (1.52) nm; FT-IR (ATR)  $\lambda_{\max}$  3368, 1716, 1678, 1167 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  : 13.78 (2H, s, 8,8'-OH), 11.75 (2H, s, 1,1'-OH), 7.46 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-3,3'), 6.63 (2H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-4,4'), 3.92 (2H, dd,  $J$  = 10.5, 2.1 Hz, H-5,5'), 3.73 (6H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.85 (2H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-5,5'), 2.74 (2H, dd,  $J$  = 18.6, 5.7 Hz, H-7,7'), 2.42 (2H, m, H-6,6'), 2.31 (2H, dd,  $J$  = 18.6, 10.5 Hz, H-7,7'), 1.17 3H, d,  $J$  = 5.7 Hz, H-11,11'); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 187.2 (C-9,9'), 177.5 (C-8,8'), 170.2 (C-12,12'), 159.4 (C-4a,4a'), 158.3 (C-1,1'), 140.2 (C-3,3'), 118.3 (C-2,2'), 107.5 (C-4,4'), 106.9 (C-9a,9a'), 101.6 (C-8a,8a'), 84.8 (C-10a, 10a'), 77.1 (C-5,5'), 53.0 (OCH<sub>3</sub>), 36.3 (C-7,7'), 29.3 (C-6,6'), 17.9 (CH<sub>3</sub>, 11, 11') (สาร 3 คือ **secalonic acid A**)

สาร 4 : m.p. 261-262°C; UV (CH<sub>3</sub>OH)  $\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) 378 (2.15), 288 (2.12), 258 (2.12), 1.92 (1.52) nm; FT-IR (ATR)  $\lambda_{\max}$  3371, 1706, 1673, 1162, 1151 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  : 12.16 (1H, s, 5-OH), 12.04 (1H, s, 4-OH), 7.53 (1H, s, H-1), 7.22 (1H, d,  $J$  = 2.2 Hz, H-8), 7.12 (1H, s, H-3), 6.64 (1H, d,  $J$  = 2.2 Hz, H-6), 2.45 (3H, s, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 192.5 (C-10), 182.9 (C-9), 167.2 (C-7), 167.0 (C-5), 164.0 (C-4), 150.3 (C-2), 133.2 (C-1), 137.4 (C-12), 135.0 (C-13), 125.7 (C-3), 122.2 (C-1), 115.2 (C-14), 111.2 (C-11), 110.4 (C-8), 109.6 (C-6), 22.7 (CH<sub>3</sub>) (สาร 4 คือ **emodin**)

ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (SA), Methicillin - resistant *S. aureus* (MRSA), *P. aeruginosa* (PA) และ *E. coli* (EC) ของสารบริสุทธิ์ เปรียบเทียบกับ Vancomycin และ Gentamicin แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า สาร 2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบในระดับต่ำมาก ด้วยค่า MIC มากกว่า 557 M ในขณะที่สาร 3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย SA MRSA และ PA ในระดับค่อนข้างดี ด้วยค่า MIC เท่ากัน 25.1 M และ สาร 1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย SA MRSA และ PA ในระดับปานกลาง ด้วยค่า MIC เท่ากัน 82.2 M และยับยั้งเชื้อ EC ในระดับต่ำ ด้วยค่า MIC 329 M ส่วนสาร 4 ยับยั้งเชื้อ SA และ MRSA ในระดับต่ำ ด้วยค่า MIC 473.7 M และยับยั้งเชื้อ PA และ EC ได้ในระดับต่ำเช่นเดียวกันที่ค่า MIC 740.1 M

ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ATCC 90028 (CA 90028) และ *Cryptococcus neoformans* ATCC90112 Flucytosine-resistant (CN 90112) ของสารบริสุทธิ์เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน Amphotericin B แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า สาร 3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ CA 90028 และ CN 90112 ในระดับปานกลาง ด้วยค่า MIC เท่ากับ 50.1 M ส่วนสาร 1 2 และ 4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ CA 90028 และ CN 90112 ในระดับต่ำ ด้วยค่า MIC เท่ากับ 329 356.5 และ 473.7 M

ตารางที่ 1ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและยีสต์ของสารบริสุทธิ์ 1-4

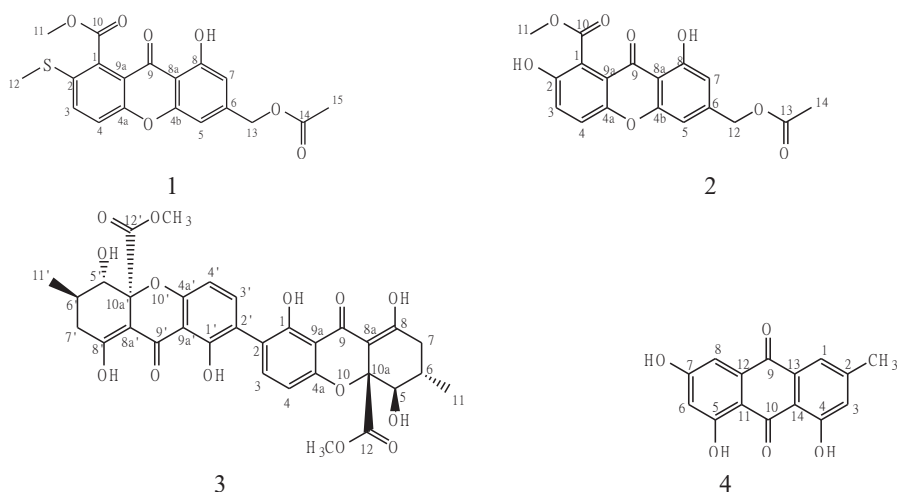
| สารบริสุทธิ์   | แบคทีเรีย |        |          |        |       |        | ยีสต์ |        |          |       |          |        |
|----------------|-----------|--------|----------|--------|-------|--------|-------|--------|----------|-------|----------|--------|
|                | S4        |        | MRS4 SK1 |        | P4    |        | EC    |        | CA 90028 |       | CN 91112 |        |
|                | MIC       | MBC    | MIC      | MBC    | MIC   | MBC    | MIC   | MBC    | MIC      | MBC   | MIC      | MBC    |
| 1              | 82.2      | >514.1 | 82.2     | >514.1 | 82.2  | >514.1 | 329   | >514.1 | 329      | 329   | 329      | 329    |
| 2              | >557      | >557   | >557     | >557   | 557   | >557   | 557   | >557   | 356.5    | 356.5 | 356.5    | 356.5  |
| 3              | 25.1      | 313.2  | 25.1     | 200.4  | 25.1  | >313.2 | 50.2  | >313.2 | 50.2     | 50.2  | 50.2     | 200.4  |
| 4              | 473.7     | >740.1 | 473.7    | >740.1 | 740.1 | >740.1 | 740.1 | >740.1 | 473.7    | 473.7 | 473.7    | >740.1 |
| Vancomycin     | 0.69      | 1.38   | 0.69     | 0.69   |       |        |       |        |          |       |          |        |
| Gentamicin     |           |        |          |        | 4.19  | 8.38   | 4.19  | 8.38   |          |       |          |        |
| Amphotericin B |           |        |          |        |       |        |       |        | 0.54     | 1.08  | 0.54     | 1.08   |

MIC คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ( $\mu$ M) MBC คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ ( $\mu$ M)

## การอภิปรายผล และสรุปผลการวิจัย

เมื่อนำสารสกัดเอทิลอะซิเตตและสารสกัดหยาบเมทานอลของเส้นใยเชื้อราเอนโดไฟท์ *Fusarium sp.* มาทำบริสุทธิ์ สามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ เมื่อนำสารทั้ง 4 สาร ไปหาจุดหลอมเหลวและวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิค UV, IR และ NMR เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีและจุดหลอมเหลวกับข้อมูลที่เก็บบันทึกไว้ในงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสาร 1 คือ Sydoxanthone A [12] สาร 2 คือ 13-O-acetylsydownin B [13] สาร 3 คือ Secalonic acid A [14] และ สาร 4 คือ Emodin [15] แสดงดังภาพที่ 1

เมื่อนำสาร 1-4 มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* Methicillin - resistant *S. aureus* P. *aeruginosa* และ *E. coli* ของสารบริสุทธิ์ และฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ *C. albicans* ATCC 90028 และ *C. neoformans* ATCC90112 Flucytosine-resistant พบว่า สาร 3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย SA MRSA และ PA ในระดับดี ด้วยค่า MIC เท่ากัน 25.1 M เท่ากัน และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *E. coli* และเชื้อยีสต์ CA 90028 และ CN 90112 ในระดับปานกลาง ด้วยค่า MIC เท่ากับ 50.2 M สาร 1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย SA MRSA SK1 และ PA ในระดับปานกลางด้วยค่า MIC เท่ากับ 82.2 M ส่วนสาร 2 และ 4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่ทดสอบทุกชนิดในระดับต่ำ



ภาพที่ 1 โครงสร้างของสาร 1-4

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

## เอกสารอ้างอิง

- [ 1] Shou-Jie, L., Xuan, Z., Xiang-Hua, W., & Chang-Qi, Z. (2018). Novel Natural Compounds from Endophytic Fungi with Anticancer Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 156, 316-343.
- [2] Hussain, H., Kliche-Spory, C., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Abbas, G., Robert, I., Schulz, B., Krohn, K., & Shah, A. (2014). Antimicrobial Constituents from Three Endophytic Fungi. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, 224-227.
- [3] Zhang, G., Sun, S., Zhu, T., Lin, Z., Gu, J., Li, D., & Gu, Q. (2011). Antiviral Isoindolone Derivatives from an Endophytic Fungus *Emericella sp.* Associated with *Aegiceras corniculatum*. *Phytochemistry*, 72, 1436-1442.
- [4] Uma Anitha, K. P. G. & Mythili, S. (2017). Antioxidant and Hepatoprotective Potentials of Novel Endophytic Fungus *Achaetomium sp.*, from *Euphorbia hirta*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(6), 588-593.
- [5] Guangfeng, L., Ping, W., Jinghua, X., Lan, L., Hanxiang, L. & Xiaoyi, W. (2018). Asperimides A–D, Anti-Inflammatory Aromatic Butenolides from a Tropical Endophytic Fungus. *Aspergillus terreus*. *Fitoterapia*, 131, 50-54.
- [6] Na, G., Zhi-Chun, S., Pei, Y., Jie, L., Kai-Li, J., Ling-Yi, K., & Ming-Hua, Y. (2017). Alkaloids from the Endophytic Fungus *Penicillium brefeldianum* & Their Cytotoxic Activities. *Chinese Chemical Letters*, 28, 1194-1199.
- [7] Nasima, K., Farhana, Afroz, M., Nadira, B., Satyajit, R., Rony, S., Sharmin, F., Monib, C., Mahmood, H., Koushik, S., & Hossain, S. (2018). Endophytic *Fusarium solani*: A Rich Source of Cytotoxic and Antimicrobial Naphthaquinone and Aza-anthraquinone Derivatives. *Toxicology Reports*, 5, 970-976.
- [8] Wen-Jie, X., Hui-Qin, C., Hao, W., Cai-Hong, C., Wen-Li, M., & Hao-Fu, D. (2018). New Secondary Metabolites from the Endophytic Fungus *Fusarium sp.* HP-2 Isolated from “Qi-Nan” Agarwood. *Fitoterapia*, 130, 180-183.
- [9] Boonyaketgoso, S., Trisuwan, K., Bussaban, B., Rukachaisirikul, V., & Phongpaichit, S. (2015). Isochromanone Derivatives from the Endophytic Fungus *Fusarium sp.* PDB51F5. *Tetrahedron Letters*, 56, 5076-5078.
- [10] Sabrin, R. M. I., Hossam M. A., Gamal A. M., & Samir A. R. (2016). Integracides H-J: New Tetracyclic Triterpenoids from the Endophytic Fungus *Fusarium sp.* *Fitoterapia*, 112, 161-167.

- [11] Sabrin R. M. I., Gamal A. M., & Samir A. R. (2016). Integracides F and G: New Tetracyclic Triterpenoids from the Endophytic Fungus *Fusarium sp.* *Phytochemistry Letters*, 15, 125-130.
- [12] Song, X. Q., Zhang, X., Han, Q. J., Li, X.B., Li, G., Li, R. J., Jiao, Y., Zhou, J. C., Lou, H. X. (2015). Xanthone derivatives from *Aspergillus sydowii*, an endophytic fungus from the liverwort *Scapania ciliata* S. Lac and their immunosuppressive activities. *Phytochemistry Letters*, 6 (3), 318-321.
- [13] Elnaggar, M. S., Ebada, S. S., Ashour, M. L., Ebrahim, W., Muller, E. G., Mandi, A., Kurtan, T., Singab, A., Lin, W., Liu, Z. & Proksch, P. (2016). Xanthones and Sesquiterpene Derivatives from a Marine-Derived Fungus *Scopulariopsis sp.* *Tetrahedron*, 72, 2411-2419.
- [14] Zhai, A., Zhang, Y., Zhu, X., Liang, J., Wang, X., Lin, Y., & Chen, R. (2011). Secalonic Acid a Reduced Colchicines Cytotoxicity through Suppression of JNK, p38 MAPKs and Calcium influx. *Neurochemistry International*, 58, 85-91.
- [15] Kim, M. O., Park, Y. S., Nho, Y. H., Yun, S. K., Kim, Y., Jung, E., Paik, J. K., Kim, M., Cho, H., & Lee, J. (2016). Emodin Isolation from *Polygoni Multiflori Ramulus* Inhibits Melanogenesis Through the Liver X Receptor-Mediated Pathway. *Chemico-Biological Interactions*, 250, 78-84.



# สังคมพืชป่าดิบชื้นหลังการรื้อถอนพื้นที่บุกรุกปลูกยางพารา ในอุทยานแห่งชาติเขาหลัก-ลำรู่ จังหวัดพังงา

## Tropical Rain Forest Community after Razing Rubber Tree on Land Encroachment in Khao Lak - Lam Ru National Park, Phang Nga Province

จุฑารัตน์ แสงเสถียร<sup>1\*</sup> ศการ ทีจันทิก<sup>2</sup> และสมพร แม่ลิ้ม<sup>3</sup>

Jutarat Saengsathien<sup>1\*</sup>, Sakhan Teejuntuk<sup>2</sup> and Somporn Maelim<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงความคล้ายคลึงของพื้นที่ที่เกิดการทดแทนตามธรรมชาติ และแนวโน้มการทดแทนตามธรรมชาติเปรียบเทียบกับป่าดิบชื้นในพื้นที่ ผลการวิจัยพบว่า ป่าดิบชื้น มีชนิดพันธุ์ของไม้ยืนต้นจำนวน 158 ชนิด ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 2555 และ 2557 มีจำนวน 75 47 และ 8 ชนิด ตามลำดับ ค่าดัชนีความหลากหลายชนิด ของป่าดิบชื้น เท่ากับ 4.29 ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 2555 และ 2557 เท่ากับ 3.52 3.17 และ 1.05 ตามลำดับ การกระจายของชั้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ของป่าดิบชื้น และป่าทดแทนตามธรรมชาติ เป็นแบบ Negative Exponential บ่งบอกว่าการสืบต่อพันธุ์ตามธรรมชาติเป็นไปอย่างปกติ ปริมาณมวลชีวภาพเหนือพื้นดิน ป่าดิบชื้นเท่ากับ 274.29 ต้นต่อเฮกเตอร์ โดยป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 มีปริมาณมวลชีวภาพ มากที่สุด เท่ากับ 61.99 ต้นต่อเฮกเตอร์ (ร้อยละ 22.60 ของป่าดิบชื้น) รองลงมาคือ ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2555 และ 2557 มีค่าเท่ากับ 5.95 และ 1.73 ต้นต่อเฮกเตอร์ ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าเมื่อดำเนินการรื้อถอนพื้นที่บุกรุกปลูกยางพาราและปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติแล้ว พื้นที่นั้นมีแนวโน้มที่จะสามารถกลับเป็นป่าดิบชื้นได้ในอนาคต

**คำสำคัญ:** การทดแทนสังคมพืช ป่าดิบชื้น พื้นที่บุกรุก

<sup>1</sup> นิสิตบัณฑิตศึกษา สาขาการบริหารทรัพยากรป่าไม้และสิ่งแวดล้อม คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>2</sup> ผศ., ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>3</sup> อ., ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

<sup>1</sup> Graduate Student, M.S. (Forest Resource and Environmental Administration), Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

<sup>2</sup> Asst. Prof., Department of Silviculture, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

<sup>3</sup> Lecturer, Department of Silviculture, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

\* Corresponding Author E-mail address: jutarat.sst@gmail.com

## Abstract

This research aimed to study the similarities of plant succession areas and natural succession trend compared to the tropical rain forest in the area. The results showed that the tropical rain forest had 158 species. Natural succession forest in 2003, 2012 and 2014 had 75, 47 and 8 species, respectively. The diversity index of tropical rain forest was of 4.29. Natural succession forest in 2003, 2012 and 2014 were of 3.52, 3.17 and 1.05, respectively. Diameter at Breast Height (DBH) distribution of trees in tropical rain forest and natural succession forest stands were negative exponential form, indicated that the forest regeneration showed normal situation. The above-ground biomass of tropical rain forest was 274.29 ton/ha. Natural succession forest stand in 2003 had the greatest above-ground biomass at 61.99 ton/ha (22.60 % of tropical rain forest) followed by natural succession forest stands in 2012 and 2014 at 5.95 and 1.73 ton/ha, respectively. In this study, it could be concluded that if do the razing rubber tree on land encroachment and release natural succession, to stand can be developed to become a natural tropical rainforest in the future.

**Keywords:** Plant Succession, Tropical Rain Forest, Land Encroachment

## บทนำ

ป่าดิบชื้นจัดเป็นระบบนิเวศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง แต่ในปัจจุบันมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เอื้ออำนวยต่อการทำเกษตรกรรม ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อการเกษตรกรรม เช่น สวนยางพารา สวนปาล์มน้ำมัน และสวนผลไม้ต่างๆ ส่งผลให้พื้นที่ป่าถูกทำลาย ความหลากหลายทางชีวภาพลดลง จากแผนแม่บทแก้ไขปัญหการทำลายทรัพยากรป่าไม้ การบุกรุกที่ดินของรัฐ และการบริหารจัดการทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน ได้มีเป้าหมายที่จะหยุดยั้งการตัดไม้ทำลายป่าและทวงคืนป่าจากผู้บุกรุกครอบครอง [1] ทั้งนี้ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติเขาหลัก - ลำรู่ ที่ทำการวิจัยในครั้งนี้ซึ่งเป็นพื้นที่ป่าเพื่อการอนุรักษ์ หากได้รับผลกระทบจากการบุกรุกทำลายป่า และยึดครองพื้นที่ จะมีการดำเนินการทางกฎหมายกับผู้กระทำผิด รวมถึงการดำเนินการตาม มาตรา 22 แห่ง พระราชบัญญัติอุทยานแห่งชาติ พ.ศ. 2504 โดยการทำลายหรือรื้อถอนสิ่งปลูกสร้างหรือสิ่งอื่นใดออกไปจากอุทยานแห่งชาติเพื่อให้ทรัพยากรธรรมชาติภายในอุทยานแห่งชาติ กลับคืนสู่สภาพเดิมโดยรวดเร็วที่สุด ดังนั้นจึงได้ทำการวิจัยโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทราบถึงความคล้ายคลึงและแนวโน้มการทดแทนตามธรรมชาติของสังคมพืชป่าทดแทนตามธรรมชาติกับป่าดิบชื้นในพื้นที่สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดวางแนวทางในการบริหารจัดการพื้นที่ภายหลังการรื้อถอนพื้นที่บุกรุกต่อไป

## วิธีดำเนินการ

### วิธีดำเนินการ

ดำเนินการวิจัยในอุทยานแห่งชาติเขาหลัก-ลำรู่ ตั้งอยู่ในท้องที่ตำบลลิกคัก อำเภอตะกั่วป่า ตำบลกะปง ตำบลหะมา อำเภอกะปง ตำบลลำแก่น ตำบลลำกิ อำเภอย้ายเหมือง และตำบลทุ่งคาโงก อำเภอเมือง จังหวัดพังงา

เนื้อที่ 125 ตารางกิโลเมตร (ภาพที่ 1) สภาพภูมิประเทศเป็นเทือกเขาสลับซับซ้อนและค่อนข้างลาดชัน เทือกเขาที่สำคัญ ได้แก่ เขาหลัก เขาสำโรง เขาแสงทอง เขาไม้แก้ว และเขาปลายบางโต๊ะ ลักษณะภูมิอากาศ ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ทำให้มีฝนตกเกือบตลอดทั้งปี มีฤดูกาลเพียง 2 ฤดู คือฤดูร้อน เริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนเมษายน ฤดูฝนเริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึงเดือนธันวาคม



ภาพที่ 1 พื้นที่ศึกษาแปลงป่าดิบชื้น แปลงป่าทดแทนตามธรรมชาติ ในอุทยานแห่งชาติเขาหลัก – สำโรง จังหวัดพังงา

การวิจัยวางแผนศึกษาสังคมพืช ขนาด 20×40 ม. ในพื้นที่ป่าดิบชื้น 3 แปลง และพื้นที่ปลูกที่ผ่านการรื้อถอนและได้ปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติ ในปี 2557 2555 และ 2546 พื้นที่ละ 3 แปลง รวมจำนวนทั้งหมด 12 แปลง ในแต่ละแปลงแบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 10×10 เมตร วางแปลงขนาด 4×4 เมตร และ 1×1 เมตร ซ้อนทับที่มุมขวาล่างของแปลงย่อยขนาด 10×10 เมตร โดยแปลงขนาด 10×10 เมตร เก็บข้อมูลไม้ใหญ่ (Tree) ที่ความสูงมากกว่า 1.30 เมตร และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับความสูงเพียงอกมากกว่า 4.5 เซนติเมตร ขึ้นไป ทำการระบุชนิด วัดขนาด และความสูง ส่วนแปลงขนาด 4×4 เมตร เก็บข้อมูลไม้รุ่น (Sapling) ที่ความสูงมากกว่า 1.30 เมตร และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ระดับความสูงเพียงอกน้อยกว่า 4.5 เซนติเมตร ทำการระบุชนิด และวัดขนาด ในแปลงขนาด 1×1 เมตร เก็บข้อมูลกล้าไม้ (Seedling) ที่มีความสูงไม่เกิน 1.3 เมตร ทำการระบุชนิด และนับจำนวนต้นไม้ในทุกๆ แปลง และวางแผนแปลงตัวอย่างขนาด 10 x 40 เมตร ในแต่ละพื้นที่ จำนวนพื้นที่ละ 1 แปลง เพื่อศึกษาโครงสร้างการกระจายตามแนวคิ่งและการปกคลุมของเรือนยอด ทั้งนี้การวิจัยครั้งนี้ทำการเก็บข้อมูลระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2559 - มิถุนายน 2559

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

1. คำนวณดัชนีความสำคัญของชนิดไม้ (Importance Value Index; IVI) จากผลรวมของค่าความหนาแน่นสัมพัทธ์ (RD) ความเด่นสัมพัทธ์ (RDo) และความถี่สัมพัทธ์ (RF) ของชนิดไม้นั้น ซึ่งหาได้จากสูตรของ Curtis [2]

$$IVI = RF+RD+RDo$$

2. คำนวณดัชนีความหลากหลาย (Species Diversity Index) โดยสมการของ Shannon-Wiener's index [3] เมื่อ  $H'$  = ค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Wiener,  $s$  = จำนวนชนิดทั้งหมดที่พบในการสำรวจ,  $p_i$  = อัตราส่วนของจำนวนในชนิดที่  $i$  ต่อจำนวนตัวอย่างทั้งหมด เมื่อ  $i = 1, 2, 3, \dots, s$

$$H' = - \sum_{i=1}^s (p_i \ln p_i)$$

3. คำนวณดัชนีความคล้ายคลึง (Similarity Index; ISs) ของแต่ละสังคม โดยใช้สมการของ Sorensen [4] เมื่อ  $ISs$  = ค่าดัชนีความคล้ายคลึง ของ Sorensen,  $W$  = จำนวนชนิดที่ปรากฏทั้งในสังคม A และ B,  $A$  = จำนวนชนิดที่ปรากฏทั้งในสังคม A,  $B$  = จำนวนชนิดที่ปรากฏทั้งในสังคม B

$$ISs = \frac{2W}{A+B} \times 100$$

4. ปริมาณมวลชีวภาพเหนือพื้นดิน ทำการคำนวณปริมาณมวลชีวภาพเหนือพื้นดินโดยใช้สมการ Allometric ของป่าดิบชื้น ตามสูตรของ Ogawa [5] โดยที่  $W_s$  = มวลชีวภาพของลำต้น (กิโลกรัม),  $W_B$  = มวลชีวภาพของกิ่ง (กิโลกรัม),  $W_L$  = มวลชีวภาพของใบ (กิโลกรัม),  $W_{TC}$  = มวลชีวภาพส่วนของลำต้น + กิ่ง (กิโลกรัม),  $W_T$  = มวลชีวภาพส่วนของลำต้น + กิ่ง + ใบ (กิโลกรัม),  $D$  = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอก (เซนติเมตร),  $H$  = ความสูงของต้นไม้ถึงปลายยอด (เมตร)

$$W_s = 0.0396D^2H^{0.9326}$$

$$W_B = 0.006002D^2H^{1.0270}$$

$$W_L = (18.0/W_{TC} + 0.025^{-1})$$

$$W_T = W_s + W_B + W_L$$

## ผลและวิจารณ์ผล

### 1. โครงสร้างและองค์ประกอบพรรณไม้

#### 1.1 ป่าดิบชื้น (Tropical Rain Forest, TRF)

โครงสร้างของป่าดิบชื้น แบ่งออกได้เป็น 3 ชั้นเรือนยอด (ภาพที่ 1) คือ เรือนยอดชั้นบน มีลักษณะการปกคลุมเรือนยอดที่ไม่ต่อเนื่องกัน มีความสูง 25-45 เมตร พันธุ์ไม้เด่นได้แก่ ยางมันหมู (*Dipterocarpus kerrii*) ยางยุง (*Dipterocarpus grandiflorus*) ตะเคียนสามพอน (*Shorea laevis*) และ *Dysoxylum* sp. เรือนยอดชั้นรอง มีความสูง 10-25 เมตร พันธุ์ไม้เด่นได้แก่ ไข่เขียว (*Parashorea stellata*) แซะ (*Callerya atropurpurea*) กระดังงา (*Monoon lateriflorum*) และมะขาว (*Trivalvaria pumila*) ส่วนเรือนยอดชั้นล่างหรือชั้นไม้พุ่ม มีความสูงเรือนยอดระหว่าง 3-10 เมตร พันธุ์ไม้เด่นได้แก่ จิกเขา (*Barringtonia macrostachya*) ไข่เขียว (*Parashorea stellata*)

หว้าหิน (*Syzygium claviflorum*) และกล้วยค่าง (*Orophea enterocarpa*) โดยพบชนิดพันธุ์ทั้งหมด 158 ชนิด จากการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสำคัญของชนิดไม้ ทำให้ทราบถึงชนิดพันธุ์ไม้ใหญ่ที่มีดัชนีค่าความสำคัญมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ ไข่เขียว (*Parashorea stellata*) เท่ากับ 13.60 รองลงมา ได้แก่ ดังขาว (*Ryparosa wrayi*) เงาะป่า (*Nephelium maingayi*) ยางมันหมู (*Dipterocarpus kerrii*) และ ก่อหลับเต่าปูลู (*Lithocarpus sundaicus*) ซึ่งมีค่าดัชนีความสำคัญ เท่ากับ 10.46 10.26 9.62 และ 9.20 ตามลำดับ และจากการสำรวจและศึกษาสังคมป่าดิบชื้นของ คณะวนศาสตร์ [6] บริเวณอุทยานแห่งชาติเขาหลัก-ลำรู่ โดยการวางแผนแปลงตัวอย่างขนาด 20×50 เมตร จำนวน 5 แปลงตัวอย่าง โดยใช้สัญลักษณ์ TRF1-TRF5 ได้ทำการประเมินค่าดัชนี ความสำคัญ (Importance Value Index; IVI) ของพรรณไม้ในสังคมป่าดิบชื้น พบว่า ในแปลงตัวอย่าง TRF1 และ TRF2 ตะเคียนราก มีค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด คือ 55.87 และ 30.96 ตามลำดับ แปลงตัวอย่าง TRF3 บุนนาค มีค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด คือ 28.03 แปลงตัวอย่าง TRF4 ไข่เขียว มีค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด คือ 40.13 และแปลงตัวอย่าง TRF5 ก้านตอง มีค่าดัชนีความสำคัญสูงสุด คือ 63.82

## 1.2 ป่าทดแทนตามธรรมชาติ (Natural Succession Forest)

### 1.2.1 ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 (Natural Succession Forest in 2003, NSF 2003)

โครงสร้างของป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 แบ่งออกได้เป็น 2 ชั้นเรือนยอด (ภาพที่ 1) คือ เรือนยอดชั้นบน มีลักษณะการปกคลุมเรือนยอดที่ไม่ต่อเนื่องกัน มีความสูง 10-15 เมตร พันธุ์ไม้เด่น ได้แก่ ปลายสาน (*Eurya acuminata*) ขี้สารหลวง (*Maesa ramentacea*) โปบาย (*Balakata baccata*) และเหียง (*Parkia timoriana*) ส่วนเรือนยอดชั้นรอง มีลักษณะการปกคลุมเรือนยอดที่หนาแน่นและมีความต่อเนื่องกัน ความสูงเรือนยอดระหว่าง 2-10 เมตร พันธุ์ไม้เด่น ได้แก่ ปลายสาน (*Eurya acuminata*) ขี้สารหลวง (*Maesa ramentacea*) ปอขนุน (*Sterculia balanghas*) และโปบาย (*Balakata baccata*) โดยพบชนิดพันธุ์ทั้งหมด 75 ชนิด เป็นไม้ใหญ่ทั้งหมด 48 ชนิด และจากการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสำคัญของชนิดไม้ ทำให้ทราบถึงชนิดพันธุ์ไม้ใหญ่ที่มีดัชนีค่าความสำคัญ มากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ ปลายสาน (*Eurya acuminata*) เท่ากับ 74.19 รองลงมา ได้แก่ ขี้สารหลวง (*Maesa ramentacea*) ปอขนุน (*Sterculia balanghas*) โปบาย (*Balakata baccata*) และคอแห้งเขา (*Carallia suffruticosa*) ซึ่งมีค่าดัชนีความสำคัญ เท่ากับ 52.24 29.20 22.34 และ 9.51 ตามลำดับ

### 1.2.2 ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2555 (Natural Succession Forest in 2012, NSF 2012)

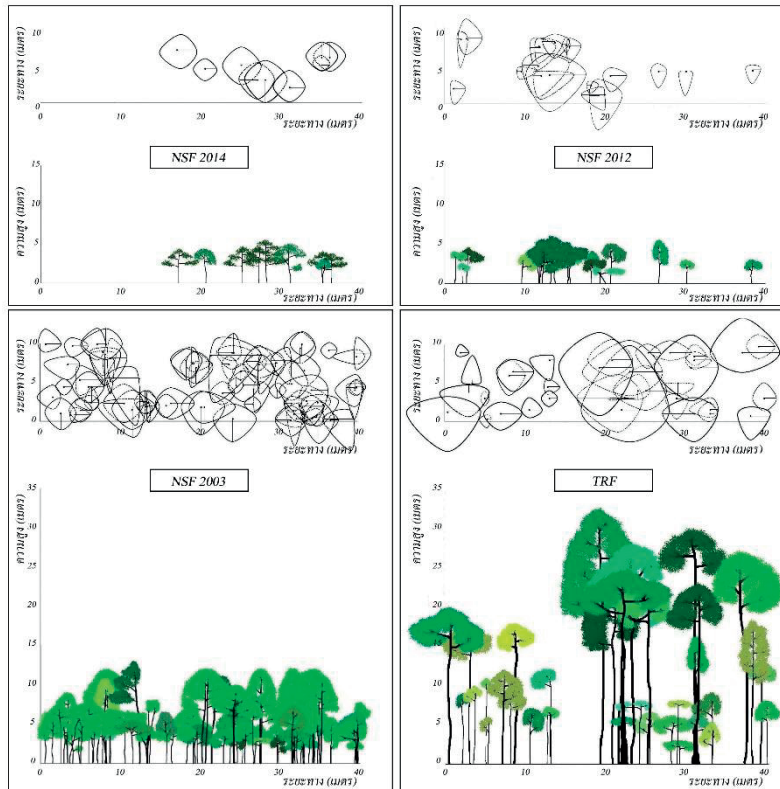
โครงสร้างของป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2555 พบว่ามีเพียงชั้นเรือนยอดเดียว (ภาพที่ 1) โดยลักษณะ เรือนยอดมีการปกคลุมแบบเป็นกลุ่มและไม่ต่อเนื่องกัน มีความสูงระหว่าง 2-10 เมตร พันธุ์ไม้เด่น ได้แก่ โปบาย (*Balakata baccata*) *Urophyllum* sp. แชะ (*Callerya atropurpurea*) เตื่อจิ้ง (*Ficus rosulata*) และสมพง (*Tetrameles nudiflora*) ขึ้นกระจายกันแบบอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มๆ ทั้งนี้ในพื้นที่ยังพบพืชล้มลุกและพืชในวงศ์หญ้า หลายชนิดขึ้น ปกคลุมพื้นดิน เช่น กล้วยป่า พันธุ์ไม้ในวงศ์จิงข่า (ปูดใหญ่) สาบเสือ ตองกก เป็นต้น ขึ้นกระจายอยู่ในพื้นที่เป็นจำนวนมาก โดยพบชนิดพันธุ์ทั้งหมด 47 ชนิด และจากการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสำคัญของชนิดไม้ ทำให้ทราบถึง ชนิดพันธุ์ไม้ขึ้นต้นที่มีดัชนีค่าความสำคัญ มากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ โปบาย (*Balakata baccata*) เท่ากับ 38.99

รองลงมา ได้แก่ *Urophyllum* sp. เตื่อนิ่ง (*Ficus rosulata*) แซะ (*Callerya atropurpurea*) และเสมพง (*Tetrameles nudiflora*) ซึ่งมีค่าดัชนีความสำคัญ เท่ากับ 26.33 22.81 19.95 และ 19.67 ตามลำดับ

### 1.2.3 ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2557 (Natural Succession Forest in 2014, NSF 2014)

โครงสร้างของป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2557 พบว่ามีเพียงชั้นเรือนยอดเดียว (ภาพที่ 1) โดยลักษณะเรือนยอดมีการปกคลุมแบบไม่ต่อเนื่อง มีความสูงระหว่าง 2-10 เมตร พันธุ์ไม้เด่น ได้แก่ พังแหร (*Trema orientalis*) เตื่อนิ่ง (*Ficus ribes*) กะอออก (*Artocarpus elasticus*) และ ดินเปร็ด (*Alstonia scholaris*) จะเห็นได้ว่าไม้ที่พบส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นไม้เบิกนำ และขึ้นกระจายกันแบบอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มๆ ทั้งนี้ในพื้นที่ยังพบพืชล้มลุกและพืชในวงศ์หญ้า หลายชนิดขึ้นปกคลุมพื้นดิน เช่น กล้ายป่า สาบเสือ หญ้าชันกาด เป็นต้นขึ้นกระจายอยู่ในพื้นที่เป็นจำนวนมาก โดยพบชนิดพันธุ์ทั้งหมด 8 ชนิด และจากการวิเคราะห์ค่าดัชนีความสำคัญของชนิดไม้ ทำให้ทราบถึงชนิดพันธุ์ไม้ยืนต้นที่มีดัชนีค่าความสำคัญ มากที่สุด ได้แก่ พังแหร (*Trema orientalis*) เท่ากับ 187.46 รองลงมา ได้แก่ เตื่อนิ่ง (*Ficus ribes*) ดินเปร็ด (*Alstonia scholaris*) และ กะอออก (*Artocarpus elasticus*) ซึ่งมีค่าดัชนีความสำคัญ เท่ากับ 94.77 9.16 และ 8.62 ตามลำดับ

จากองค์ประกอบชนิดพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงลักษณะโครงสร้างของป่าดิบชื้นและป่าทดแทนตามธรรมชาติในแต่ละปี พบว่าเมื่อปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติต่อไปเรื่อยๆ จำนวนชั้นเรือนยอดไม้และชนิดพันธุ์จะใกล้เคียงกับป่าดิบชื้นมากขึ้น กล่าวคือ จำนวนชนิดพันธุ์จะมีมากขึ้นเมื่อมีอายุของการทดแทนตามธรรมชาติมากขึ้น โดยในช่วงแรกชนิดไม้ยืนต้นที่เข้ามายึดครองพื้นที่จะเป็นไม้เบิกนำ ได้แก่ พังแหร (*Trema orientalis*) ซึ่งมีค่าดัชนีความสำคัญมากที่สุด รองลงมาคือ เตื่อนิ่ง (*Ficus ribes*) ดินเปร็ด (*Alstonia scholaris*) และ กะอออก (*Artocarpus elasticus*) จากนั้นเมื่อเวลาผ่านไป เริ่มปรากฏพรรณไม้ท้องถิ่น ได้แก่ แซะ (*Callerya atropurpurea*) และจากการศึกษาในป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 (พื้นที่บุกรุกปลูกยางพาราที่ทำการรื้อถอนอายุ ได้ 13 ปี) พบว่ามีพรรณไม้สำคัญของป่าดิบชื้นเข้ามา คือ ไข่เขียว (*Parashorea stellata*)



ภาพที่ 2 การปกคลุมเรือนยอด และโครงสร้างการกระจายตามแนวดิ่งของ ของแปลงป่าดิบชื้น (TRF) แปลงป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 (NSF 2003) ปี 2555 (NSF 2012) และ ปี 2557 (NSF 2014)

## 2. ดัชนีความหลากหลายของชนิดและดัชนีความคล้ายคลึง

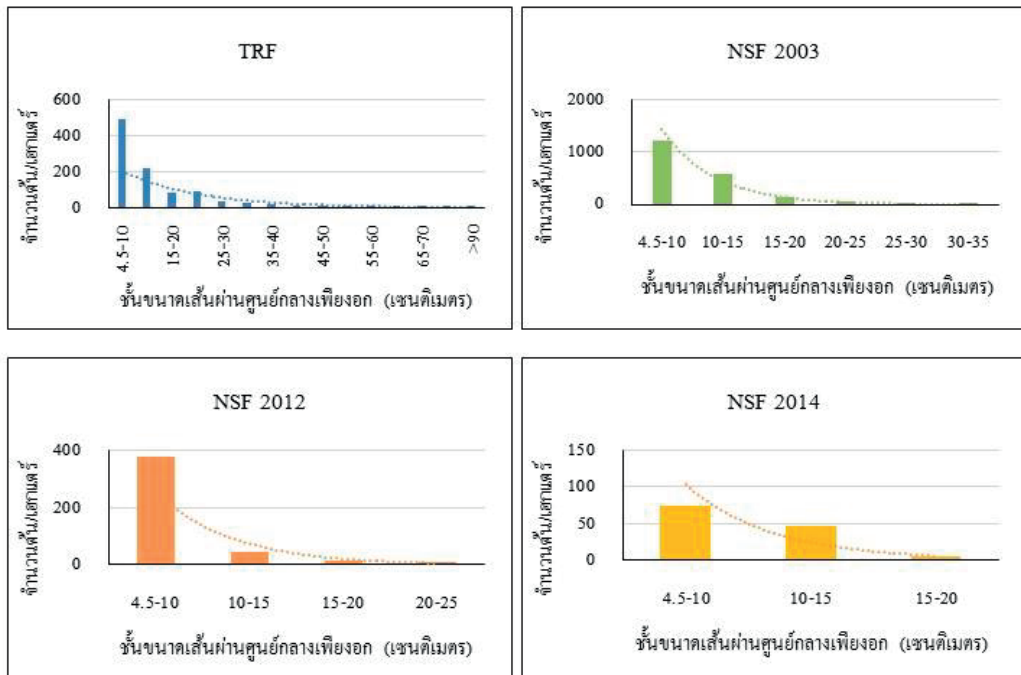
ค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Wiener ของป่าดิบชื้น ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 2555 และ 2557 มีความหลากหลาย เท่ากับ 4.29 3.52 3.17 และ 1.05 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าในช่วงของป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2557 หรือปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติ 2 ปี ค่าความหลากหลายชนิดของพืชมีค่าต่ำมาก เมื่อเวลาผ่านไปความหลากหลายทางชีวภาพของพรรณพืชเพิ่มขึ้น มีจำนวนชนิดเพิ่มมากขึ้น ค่าความหลากหลายจึงมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นในทิศทางเดียวกัน คือ ค่า  $H'$  เพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนปีที่ปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติมากขึ้น กล่าวคือ หลักการของค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Wiener จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีจำนวนชนิดในสังคมเพิ่มมากขึ้น และมีความสม่ำเสมอในการกระจายของจำนวนต้นในแต่ละชนิด ก็สามารถให้ค่า  $H'$  สามารถมีค่าได้สูงสุด และค่า  $H'$  มีค่าเท่ากับ 0 เมื่อมีจำนวนชนิดในสังคมเพียงแค่นชนิดเดียว อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติพบว่าค่า  $H'$  มีค่าได้ไม่เกิน 5 [7]

จากการศึกษาค่าดัชนีความคล้ายคลึง (ตารางที่ 1) พบว่า ชนิดพันธุ์ของไม้ยืนต้นในป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2546 มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกับป่าดิบชื้น มากที่สุด ที่ร้อยละ 28.37 ส่วนไม้รุ่ม จะเห็นว่าชนิดพรรณในป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2555 มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกับป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2546 มากที่สุด

ที่ร้อยละ 32.50 และในกล้าไม้ พบว่า ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2557 มีค่าดัชนีความคล้ายคลึงกับ ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2555 มากที่สุด ที่ร้อยละ 20 โดยค่าดัชนีความคล้ายคลึงจะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อปีของการทดแทนมากขึ้น แต่เมื่อพิจารณาถึงค่าดัชนีแล้วยังมีค่าที่ต่ำ จึงคาดการณ์ได้ว่าจากป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2546 ซึ่งปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติมาแล้ว 13 ปี ยังคงต้องใช้เวลามากขึ้นในการทดแทนจนถึงสภาพที่สมดุลของป่าในชั้นถาวร ซึ่งสอดคล้องกับ สมโภชน์ [8] ในการศึกษาสังคมพืชในป่าธรรมชาติและการทดแทนตามธรรมชาติบริเวณที่อพยพราษฎรออกไปแล้ว พบว่า ไม้ยืนต้น ไม้หนุ่ม และกล้าไม้ มีความคล้ายคลึงกันระหว่างป่าที่มีการทดแทนตามธรรมชาติกับป่าธรรมชาติ เป็นไปในทิศทางเดียวกัน

### 3. การกระจายตามชั้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ความสูงเพียงอก

จากการศึกษาการกระจายของไม้ใหญ่ในป่าดิบชื้น ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 2555 และ 2557 (ภาพที่ 3) โดยพิจารณาตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ความสูงเพียงอกตั้งแต่ 4.5 เซนติเมตรขึ้นไป พบว่า ป่าดิบชื้น มีรูปแบบการกระจายตามชั้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอกเป็นแบบ Negative Exponential หรือ L-shape กล่าวคือ ชั้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ความสูง เพียงอกที่มีขนาดเล็กจะมีจำนวนต้นจำนวนมาก และจะลดลงเมื่อขนาดชั้นของเส้นผ่านศูนย์กลางที่ความสูงเพียงอกเพิ่มมากขึ้นซึ่งไม้ขนาดเล็กนี้จะสามารถสืบต่อพันธุ์ทดแทนไม้ใหญ่ได้ในอนาคต แสดงให้เห็นว่าการกระจายของป่าดิบชื้นมีการกระจาย และสืบพันธุ์ตามธรรมชาติอย่างเป็นปกติ โดยชนิดไม้ที่มีความหนาแน่นมากที่สุด คือ ไช้เขี้ยว ส่วนป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 พบว่ามีลักษณะการกระจายแบบ Negative Exponential หรือ L-shape เช่นเดียวกับป่าดิบชื้น โดยชนิดไม้ที่มีความหนาแน่นมากที่สุด คือ ปลายสาน สำหรับป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2555 และ 2557 พบว่ามีลักษณะการกระจายแบบ Negative Exponential หรือ L-shape เช่นเดียวกัน โดยชนิดไม้ที่มีความหนาแน่นมากที่สุดคือ *Urophyllum* sp. และพังแหร ตามลำดับ



ภาพที่ 3 การกระจายตามขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพียงอกตั้งแต่ 4.5 เซนติเมตร ขึ้นไป ของแปลงป่าดิบชื้น (TRF) แปลงป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 (NSF 2003) ปี 2555 (NSF 2012) และ ปี 2557 (NSF 2014)

**ตารางที่ 1** ดัชนีความคล้ายคลึงของไม้ใหญ่ ไม้ไผ่ และกล้วยไม้ ของแปลงป่าดิบชื้น (TRF) แปลงป่าทดแทนธรรมชาติปี 2546 (NSF 2003) ปี 2555 (NSF 2012) และปี 2557 (NSF 2014) อุทยานแห่งชาติเขาลำดวน จังหวัดพังงา

| ชนิดป่า                               | TRF  |         |          |       | NSF2003 |          |       | NSF2012 |          |       | NSF2014 |          |      |
|---------------------------------------|------|---------|----------|-------|---------|----------|-------|---------|----------|-------|---------|----------|------|
|                                       | Tree | Sapling | Seedling | Tree  | Sapling | Seedling | Tree  | Sapling | Seedling | Tree  | Sapling | Seedling | Tree |
| ป่าดิบชื้น (TRF)                      |      |         |          | 28.37 | 25.81   | 16.00    | 9.92  | 16.30   | 14.55    | 0.00  | 1.85    | 3.92     |      |
| ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2546 (NSF 2003) |      |         |          |       |         |          | 26.32 | 32.50   | 17.65    | 3.85  | 7.55    | 6.67     |      |
| ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2555 (NSF 2012) |      |         |          |       |         |          |       |         |          | 12.50 | 6.06    | 20.00    |      |
| ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2557 (NSF 2014) |      |         |          |       |         |          |       |         |          |       |         |          |      |

**ตารางที่ 2** ปริมาณมวลชีวภาพของแปลงป่าดิบชื้น (TRF) แปลงป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2546 (NSF 2003) ปี 2555 (NSF 2012) และปี 2557 (NSF 2014) ในพื้นที่ศึกษาอุทยานแห่งชาติ เขาลำดวน จังหวัดพังงา

| ชนิดป่า                               | มวลชีวภาพเหนือพื้นดิน (ตันต่อเฮกตาร์) |       |       |        | จำนวนปีที่ปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติ (ปี)* | ร้อยละของมวลชีวภาพเหนือพื้นดินรวมเมื่อเทียบกับป่าดิบชื้น (ร้อยละ) |
|---------------------------------------|---------------------------------------|-------|-------|--------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
|                                       | ลำต้น                                 | กิ่ง  | ใบ    | รวม    |                                                 |                                                                   |
|                                       |                                       |       |       |        |                                                 |                                                                   |
| ป่าดิบชื้น (TRF)                      | 183.05                                | 76.80 | 14.44 | 274.29 | -                                               | 100                                                               |
| ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2546 (NSF 2003) | 45.05                                 | 13.67 | 3.27  | 61.99  | 13                                              | 22.60                                                             |
| ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2555 (NSF 2012) | 4.40                                  | 1.24  | 0.31  | 5.95   | 4                                               | 2.17                                                              |
| ป่าทดแทนตามธรรมชาติปี 2557 (NSF 2014) | 1.29                                  | 0.35  | 0.09  | 1.73   | 2                                               | 0.63                                                              |

\*หมายเหตุ คำนวณการเก็บข้อมูลใน ปี 2559

#### 4. มวลชีวภาพเหนือพื้นดิน

จากการศึกษามวลชีวภาพเหนือพื้นดินของไม้ใหญ่ ของป่าดิบชื้น ป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 ปี 2555 และ ปี 2557 พบว่า มีมวลชีวภาพเหนือพื้นดินรวม เท่ากับ 274.29 61.99 5.93 และ 1.73 ตันต่อเฮกแตร์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เมื่อระยะเวลาของการทดแทนตามธรรมชาติมากขึ้นมวลชีวภาพจะมีปริมาณมากขึ้น โดยป่าทดแทนตามธรรมชาติ ปี 2546 (13 ปี) มีมวลชีวภาพเหนือพื้นดินรวม คิดเป็นร้อยละ 22.60 เมื่อเทียบกับมวลชีวภาพของป่าดิบชื้น ซึ่งแสดงว่า แปลงป่าทดแทนตามธรรมชาติ ยังคงต้องอาศัยช่วงระยะเวลา ขั้นตอนของการทดแทนอีกหลายปี จึงจะเข้าสู่สภาวะสุดยอด หรือ เป็นป่าดิบชื้นที่สมบูรณ์ ซึ่ง Barbour [9] ได้กล่าวไว้ว่า การศึกษาการทดแทนโดยทั่วไปมักมองในระยะเวลาไม่เกิน 500 ปี ถ้าหากสังคมไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัด ในช่วงเวลานี้ถือว่าสังคมได้ก้าวเข้าสู่สภาวะสังคมสุดยอดแล้ว

#### สรุป

ภายหลังการรื้อถอนพื้นที่บุกรุกปลูกยางพาราและปล่อยให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติ พบว่า ลักษณะโครงสร้างของพื้นที่ที่ผ่านการรื้อถอน หรือป่าทดแทนตามธรรมชาติเริ่มมีลักษณะการเรียงตัวของโครงสร้างป่าในแนวตั้ง อีกทั้งชนิดพันธุ์ไม้มีจำนวนเพิ่มขึ้นและใกล้เคียงกับป่าดิบชื้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไป เมื่อมีพรรณไม้ชนิดใหม่ที่สามารถปรับตัวได้ดีกว่าซึ่งเป็นพรรณไม้ท้องถิ่นเข้ามา พรรณไม้เบิกนำจึงล้มตายและหมดไปจากพื้นที่ โดยมีความสอดคล้องกับดัชนีความหลากหลาย คือ มีค่าดัชนีความหลากหลายมากขึ้นเมื่อจำนวนปีในการทดแทนเพิ่มมากขึ้น รวมถึงการกระจายของชั้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง เป็นแบบ Negative Exponential บ่งบอกว่าการสืบต่อพันธุ์ตามธรรมชาติเป็นไปอย่างปกติ และจากการศึกษาปริมาณมวลชีวภาพของป่าทดแทนตามธรรมชาติแต่ละปี พบว่า เมื่อจำนวนปีที่ปล่อยให้เกิดการทดแทนมากขึ้นปริมาณมวลชีวภาพจะมีค่ามากขึ้นด้วย จึงคาดการณ์ได้ว่าเมื่อมีการปล่อยพื้นที่บุกรุกที่ผ่านการรื้อถอนให้เกิดการทดแทนตามธรรมชาติ พื้นที่นั้นจะมีแนวโน้มที่สามารถกลับเป็นป่าดิบชื้นได้ในอนาคต แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับกระบวนการทดแทนในพื้นที่ต่อจากนี้ไป

#### ข้อเสนอแนะ

แนวทางในการบริหารจัดการอุทยานแห่งชาติเขาหลัก-ลำรู่ ในการฟื้นฟูป่าเมื่อมีการรื้อถอนพื้นที่บุกรุกแบบต่างๆ หรือการอพยพประชาชนออกจากพื้นที่ป่าอนุรักษ์ ซึ่งก่อให้เกิดความเสื่อมโทรมของทรัพยากรป่าไม้สามารถปล่อยให้เป็นไปตามธรรมชาติได้ เนื่องจากพื้นที่บุกรุกมีขนาดไม่กว้างมากและระบบนิเวศป่าดิบชื้นบริเวณพื้นที่มีความสามารถในการฟื้นคืนสภาพได้เอง ทั้งนี้ควรมีการควบคุมหรือป้องกันพื้นที่อย่างเข้มข้นอย่างต่อเนื่อง

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Internal Security Operations Command (2014). *Forestry Master Plan to Resolve the Problems of Forest Destruction, Trespassing of Public Land and Sustainable Management of Natural Resources*. Ministry of Natural Resources and Environment. Bangkok.
- [2] Curtis, T. I. T. (1959). *The Vegetation of Wisconsin: An Ordination of Plant Communities*. University of Wisconsin, Madison.
- [3] Magurran, A. E. (1988). *Ecological Diversity and Its Measurement*. Croom Helm, London.
- [4] Sorensen, T. (1948). A Method of Establishing Groups of Equal Amplitude in Plant Sociology Based on Similarity of Species Content. *Biologiske Skrifter*, 5(4), 1-34.
- [5] Ogawa, H. K., Yoda, K., Ogino., & T. Kira. (1965). Comparative Ecological Studies on Three Main Types of Forest Vegetation in Thailand. II. Plant Biomass. *Nature and Life in Southeast Asia*, 4, 49-80.
- [6] Faculty of forestry. (2001). *Khao Lak - Lam Ru National Park Phang Nga Province Management Area Master Plan Project*. Kasetsart University, Bangkok.
- [7] Marod, D., & U. Kudin. (2009). *Forest Ecology*. Faculty of Forestry Kasetsart University, Bangkok.
- [8] Maneerat, S. (1999). *Natural Plant Community Succession in Thung Yai Naresuan Wildlife Sanctuary the Eastern, Tak Province*. Wildlife Conservation Office, Department of National Park Wildlife and Plant Conservation, Bangkok.
- [9] Barbour, M. G., J. H. Burk., & W. D. Pitts. (1987). *Terrestrial Plant Ecology*. The Benjamin Cummings Pub. Comp. Inc., California.

## การผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาธู

โดย *Saccharomyces cerevisiae*

## Bio-Ethanol Production from Waste of Sago Starch by

*Saccharomyces cerevisiae*พีรนาฏ คิตติ<sup>1\*</sup>, ภัทรานิษฐ์ แอโสะ<sup>2</sup>, ทักษพร หลีน้อย<sup>2</sup> และมณฑล เลิศวรปรีชา<sup>3</sup>Peeranart Kiddee<sup>1\*</sup>, Pattranis Airsoe<sup>2</sup>, Thaksaporn Leenoi<sup>2</sup> and Monthon Lertworapreecha<sup>3</sup>

## บทคัดย่อ

สาธู (*Metroxylon sagu*) เป็นพืชท้องถิ่นของภาคใต้ถูกใช้ประโยชน์ในการผลิตแป้งสาธู โรงงานผลิตแป้งสาธูจะมีของเสียในกระบวนการผลิตจำนวนมาก ส่วนใหญ่มีองค์ประกอบเป็นกากเส้นใย เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการหมักโดยอาศัยยีสต์เพื่อผลิตเป็นไบโอเอทานอลได้ ดังนั้นการศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อนำของเสียจากการผลิตแป้งสาธูเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตไบโอเอทานอล โดย *Saccharomyces cerevisiae* เริ่มต้นที่  $1 \times 10^8$  CFU/mL และใช้สัดส่วนของเสียที่แตกต่างกัน คือ 1) น้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาธูร้อยละ 100 2) น้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาธูร้อยละ 50 3) กากแป้งสาธูร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 และ 4) กากแป้งสาธูร้อยละ 25 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 75 ผลการศึกษาพบว่า กระบวนการหมักให้เอทานอลสูงสุดที่เวลา 12 ชั่วโมง ในทุกกลุ่มการทดลอง โดยกลุ่มการทดลองที่ใช้กากแป้งสาธูร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 2.9

**คำสำคัญ:** ของเสีย เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* แป้งสาธู เอทานอลชีวภาพ

<sup>1</sup> อ.ดร., สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>2</sup> นิสิตปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>3</sup> ผศ.ดร., สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

<sup>1</sup> Lecturer, Dr., Department of Biological and Environmental Sciences, Faculty of Science, Thaksin University, Phthalung, 93210, Thailand

<sup>2</sup> Undergraduate Student, Environmental Science Program, Faculty of Science, Thaksin University, Phthalung, 93210, Thailand

<sup>3</sup> Asst. Prof. Dr., Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University, Phthalung, 93210, Thailand

\* Corresponding author: E-mail adress: peeranartk@hotmail.com. Tel 074 609600 Ext 2274

## Abstract

The sago (*Metroxylon sagu*) is a local plant found in the southern region. It is used to produce sago starch. Sago starch factories produce a large amount of waste from the production process. Most of them are cellulosic fibers and hemicellulose residue. It can be used in yeast-based fermentation to produce bioethanol. Thus this study has aimed to recycle wastes from the production of sago starch as raw material for the production of bioethanol using *Saccharomyces cerevisiae*. By using the concentration of *Saccharomyces cerevisiae* at  $1 \times 10^8$  CFU/mL combine with the different ratio of Sago waste, including, 1) 100 % of wastewater 2) 50 % of wastewater 3) 50 % of Sago starch waste mixed with 50 % of wastewater and 4) 25 % of Sago starch waste mixed with 75 % of wastewater. The results found that the maximum bioethanol was produced at 12 hours in all experiments and the highest bioethanol (2.9 %) was obtained from 50 % of Sago starch waste mixed with 50 % of wastewater.

**Keywords:** Waste, *Saccharomyces cerevisiae*, Sago Starch, Bio-Ethanol

## บทนำ

พลังงานเชื้อเพลิงเป็นปัจจัยสำคัญในการขับเคลื่อนเศรษฐกิจของโลก เนื่องจากความต้องการใช้พลังงานโดยเฉพาะน้ำมันปิโตรเลียมทั้งในภาคอุตสาหกรรมการผลิตและการคมนาคมขนส่ง มีความต้องการใช้ปริมาณมากและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ส่งผลให้ปริมาณปิโตรเลียมลดลง ประเทศไทยจึงได้มีการส่งเสริมและพัฒนาการใช้เชื้อเพลิงชีวภาพอย่างจริงจัง ส่งผลให้การใช้และปริมาณการผลิตเอทานอลสูงขึ้น โดยที่ปริมาณการผลิตเอทานอลได้เพิ่มขึ้นถึง 1.2 ล้านลิตรต่อวัน โดยภายในปี พ.ศ. 2565 ประเทศไทยได้มีการวางแผนที่จะผลิตเอทานอลให้ได้ 9 ล้านลิตรต่อวัน หากสามารถผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพได้ตามแผนจะทำให้ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ อันดับที่ 5 ของโลก และเป็นผู้นำในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ [1] ซึ่งประเทศไทยมีวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรมาก เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ชังข้าวโพด เศษไม้ ชากต้นไม้มะพร้าว โดยวัตถุดิบดังกล่าวสามารถนำมาเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตเอทานอลได้ [2] ซึ่งในการผลิตเอทานอลต้องนำวัตถุดิบดังกล่าวไปผ่านกระบวนการย่อยแป้งหรือเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลด้วยการใช้วิธีทางเคมีหรือวิธีทางชีวภาพ การย่อยแป้งหรือเซลลูโลสด้วยวิธีทางเคมีจะเป็นการใช้กรดร่วมกับความร้อน ทำให้ได้ผลผลิตอย่างอื่นนอกจากน้ำตาลกลูโคส ส่วนวิธีทางชีวภาพจะใช้เอนไซม์ [3] ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลเนื่องจากเป็นวิธีการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม หลังจากนั้นจึงนำน้ำตาลที่ได้จากการย่อยเข้าสู่กระบวนการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อยีสต์เพื่อให้ได้เป็นเอทานอล จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอทานอลได้มีหลายชนิด โดยเฉพาะยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่ถูกนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลอย่างแพร่หลาย เนื่องจากยีสต์สามารถเติบโตได้เร็ว ส่วนใหญ่การผลิตเอทานอลจะใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลได้สูงสุด นอกจากแป้งที่สามารถนำมาผลิตเอทานอลได้แล้ว ยังมีของเสียหลายชนิดที่เกิดจาก

กระบวนการผลิตแป้งมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้เช่นกัน และเนื่องจากจังหวัดพัทลุงเป็นพื้นที่ที่มีการผลิตแป้งสาเกเป็นจำนวนมาก ซึ่งกระบวนการผลิตแป้งสาเก จะมีของเสียเหลือทิ้งที่เกิดขึ้นคือ กากแป้งสาเก และน้ำเสีย หากมีการนำของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกมาผลิตเอทานอลจะเป็นการนำของเสียมาใช้ให้เกิดประโยชน์ อีกทั้งสามารถลดการกำจัดของเสียให้แก่ผู้ประกอบการได้ และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเสียได้อีกด้วย

ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้นำของเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกมาทำให้เกิดประโยชน์ โดยการนำมาผลิตเอทานอลจากเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในกระบวนการหมัก รวมถึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเก

### วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการ

การศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเกโดยเชื้อ *S. cerevisiae* ดังนี้

1. เตรียมของเสียที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งสาเกโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) โดยมีทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 น้ำเสียในอัตราส่วนร้อยละ 100

ชุดการทดลองที่ 2 น้ำเสียต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 50 : 50

ชุดการทดลองที่ 3 กากแป้งต่อน้ำเสียในอัตราส่วน 50 : 50

ชุดการทดลองที่ 4 กากแป้งต่อน้ำเสียในอัตราส่วน 25 : 75

โดยทุกชุดการทดลองเติมน้ำเชื้อร้อยละ 10 และทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

2. นำกากแป้งและน้ำเสียมาทำการนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ปะปนมา

3. นำตัวอย่างมาวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นด้วยวิธี Dinitrosalicylic Acid Method (DNS) และวัดปริมาณเอทานอลเริ่มต้นด้วยเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์ (Ebulliometer)

4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการนำของเสียมาใช้ในการผลิตเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

4.1 ปิเปตกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* เริ่มต้นร้อยละ 10 ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอัตราส่วนของเสียที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้งสาเกในปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

4.3 เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลทุก 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง ด้วยเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์

4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิจัยและผลการทดลองทั้งหมดจากการวิจัยทำทั้งหมด 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way Analysis of Variance) เปรียบเทียบ

ความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ F-Test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0 ( $p < 0.05$ )

## ผลการวิจัย

การวิจัยการผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเก โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* มีรายละเอียดดังนี้

1. การศึกษาลักษณะของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกและกากแป้งสาเกก่อนการผลิตเอทานอลชีวภาพ โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

การศึกษาลักษณะของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกและกากแป้งสาเกก่อนการผลิตเอทานอลชีวภาพ โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ได้มีการเตรียมของเสียโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่ม แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ 1) น้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกร้อยละ 100 2) น้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกร้อยละ 50 3) กากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 และ 4) กากแป้งสาเกร้อยละ 25 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 75 พบว่า ลักษณะของของเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกก่อนการผลิตเอทานอลชีวภาพ มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง  $2.76 \pm 0.58$  ถึง  $5.4 \pm 0.10$  มีสภาพความเป็นกรดอ่อน ซึ่งเป็นสภาพที่เชื้อยีสต์สามารถเจริญได้ดี มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง  $25.33 \pm 0.58$  ถึง  $33 \pm 0.00$  องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิในช่วงนี้เป็นช่วงที่ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ดี [4] ของเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกในส่วนของกากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการผลิตเอทานอลสูงสุด เนื่องจากในกากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณแป้งสูงสุด เมื่อย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์โดยการให้ความร้อน ทำให้กากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เนื่องจากยีสต์อยู่ในสภาพความเป็นกรด-ด่างและสภาพอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ภายได้สภาพความสมบูรณ์ของอาหาร ส่งผลให้กากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการผลิตเอทานอลสูงสุดคือ  $30.79 \pm 0.16$  และผลิตเอทานอลได้สูงสุดร้อยละ  $0.30 \pm 0.00$  (ดังตารางที่ 1)

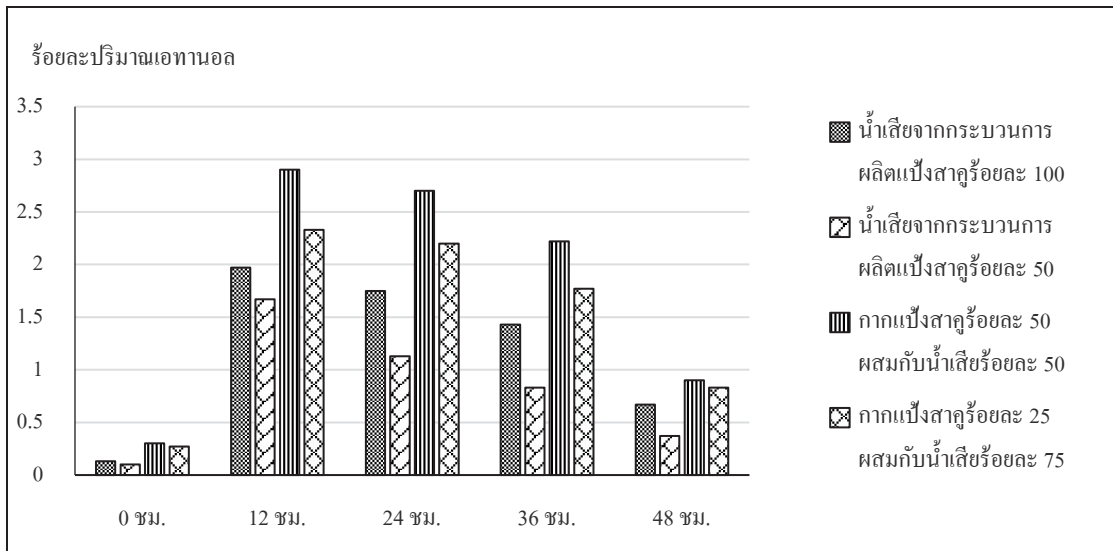
**ตารางที่ 1** ลักษณะของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกและกากแป้งสาเกก่อนการผลิตเอทานอลชีวภาพ  
โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

| ของเสียจากกระบวนการ<br>ผลิตแป้งสาเก              | กรด-ด่าง    | อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | ปริมาณน้ำตาล<br>รีดิวซ์<br>(กรัม/ลิตร) | ปริมาณเอทานอล<br>(ร้อยละ) |
|--------------------------------------------------|-------------|----------------------------|----------------------------------------|---------------------------|
| น้ำเสียจากกระบวนการ<br>ผลิตแป้งสาเก ร้อยละ 100   | 5.26 ± 0.06 | 33 ± 0.00                  | 8.33 ± 0.86                            | 0.13 ± 0.06               |
| น้ำเสียจากกระบวนการ<br>ผลิตแป้งสาเก ร้อยละ 50    | 5.4 ± 0.10  | 32 ± 0.00                  | 4.07 ± 0.06                            | 0.1 ± 0.00                |
| กากแป้งสาเก ร้อยละ 50<br>ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 50 | 4.23 ± 0.12 | 25.33 ± 0.58               | 30.79 ± 0.16                           | 0.3 ± 0.00                |
| กากแป้งสาเก ร้อยละ 25<br>ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 75 | 2.76 ± 0.58 | 28.33 ± 0.58               | 19.34 ± 1.13                           | 0.27 ± 0.05               |

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเก  
โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเกโดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* โดยใช้กลั่นเชื้อร้อยละ 10 ไม่มีการเขย่า ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการวิเคราะห์เอทานอลทุก ๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งในการทดลองพบว่าปริมาณกลั่นเชื้อร้อยละ 10 ที่เลี้ยงในทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีปริมาณเอทานอลสูงสุดที่เวลา 12 ชั่วโมง และมีปริมาณเอทานอลลดลงที่เวลา 24 36 และ 48 ชั่วโมง (ดังภาพที่ 1) เนื่องจากที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาที่เชื้อยีสต์มีความสมดุลกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล และที่เวลา 24 36 และ 48 ชั่วโมง มีปริมาณยีสต์เพิ่มขึ้นแต่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีไม่เพียงพอในการผลิตเอทานอล

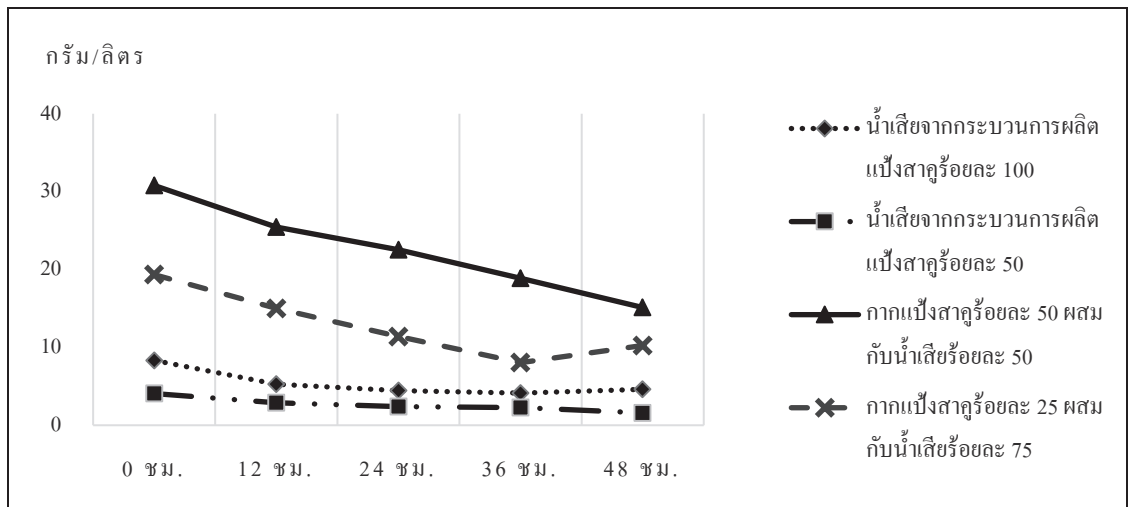
การศึกษาริมาณเอทานอลจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเก โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way Analysis of Variance) พบว่าปริมาณเอทานอลในน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเก ร้อยละ 100 น้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเก ร้อยละ 50 กากแป้งสาเก ร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 50 และกากแป้งสาเก ร้อยละ 25 ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 75 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95.0 ( $p < 0.05$ ) ค่า F-test = 3.863 ค่า p-value = 0.014 และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan พบว่าปริมาณเอทานอล ในน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเก ร้อยละ 100 แตกต่างกับกากแป้งสาเก ร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 50 สำหรับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเก ร้อยละ 50 แตกต่างกับกากแป้งสาเก ร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 50 และกากแป้งสาเก ร้อยละ 25 ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 75 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0 ( $p < 0.05$ )



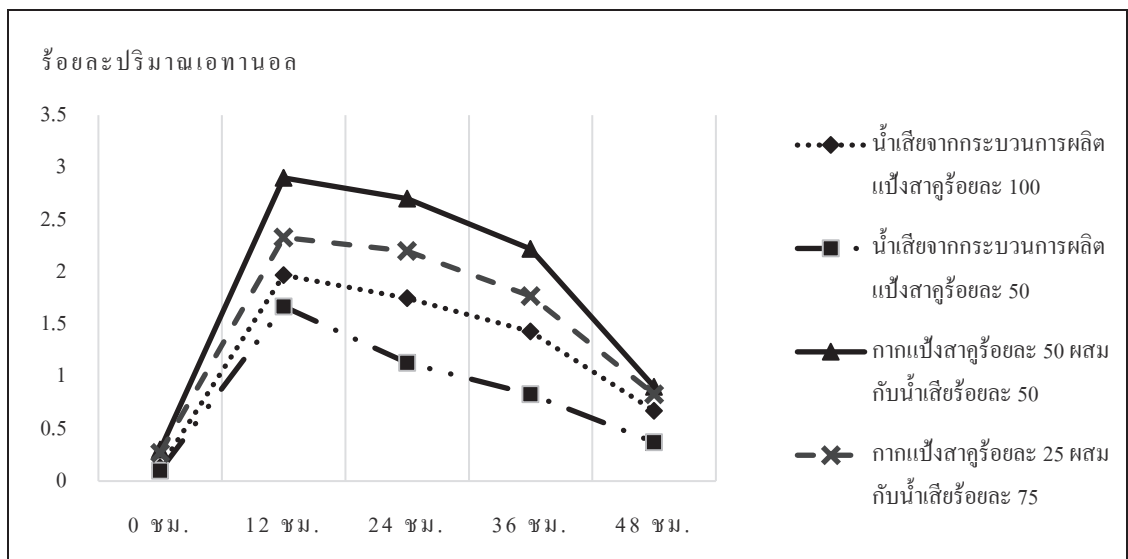
ภาพที่ 1 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตเอทานอลโดยกล้ำเชื้อ *S. cerevisiae*  
ความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  CFU/mL ที่เลี้ยงในของเสียในกระบวนการผลิตเอทานอล

3. การศึกษากระบวนการผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาธู โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

จากการศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาธู โดยวิธี Dinitrosalicylic Acid Method และปริมาณเอทานอล โดยใช้ปริมาณกล้ำเชื้อร้อยละ 10 ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ ทุก ๆ 12 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ลดลง (ดังภาพที่ 2 และ ภาพที่ 3) เนื่องจากในกระบวนการผลิตเอทานอล ยีสต์ใช้น้ำตาลรีดิวซ์เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเอทานอล และจากการศึกษาพบว่า กากแป้งสาธูร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 2.90 และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 25.45 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงที่สุด เนื่องจากกากแป้งสาธูร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการผลิตเอทานอลสูงสุด จึงส่งผลให้กากแป้งสาธูร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสีย ร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังการผลิตเอทานอลสูงสุด และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* จะนำน้ำตาลรีดิวซ์มาใช้ เป็นอาหารในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดน้อยลง



ภาพที่ 2 ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาหร่าย  
โดยยีสต์ *S. cerevisiae* ความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  CFU/mL



ภาพที่ 3 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาหร่าย  
โดยยีสต์ *S. cerevisiae* ความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  CFU/mL

### อภิปรายผล

การศึกษาการผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาหร่าย โดยยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งมีการวิเคราะห์น้ำตาลที่ละลายน้ำได้และปริมาณเอทานอลเริ่มต้นจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาหร่ายพบว่า กากแป้งสาหร่ายร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ก่อนการผลิตเอทานอลสูงสุดคือ

$30.79 \pm 0.16$  และผลิตเอทานอลได้สูงสุดร้อยละ  $0.30 \pm 0.00$  ซึ่งมีความสอดคล้องกับวิธีการทดลองของ Kongjindamunee [5] การศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณเอทานอลเริ่มต้นสูงสุดยังมีปริมาณเอทานอลน้อย ซึ่งมีผลการศึกษาที่แตกต่างกับ Kongjindamunee [5] เนื่องจาก Kongjindamunee [5] มีการใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 2 ที่สภาพความเป็นกรด-ด่าง 5.64 ภายใต้สภาพความสมบูรณ์ของอาหาร ยีสต์จึงมีสารอาหารเพียงพอในการดำรงชีวิตส่งผลให้ปริมาณเอทานอลที่ได้มีปริมาณที่สูงกว่าการศึกษาในครั้งนี้ ที่มีการใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 และมีการใช้ของเสียที่ต่างชนิดกันส่งผลให้ปริมาณเอทานอลต่างกัน

นอกจากนี้กากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการผลิตเอทานอลสูงสุด จึงส่งผลให้กากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังการผลิตเอทานอลสูงสุด และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* จะนำน้ำตาลรีดิวซ์มาใช้เป็นอาหารในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดน้อยลง มีความสอดคล้องกับวิธีการทดลองของ Pulavavan [6] โดยการหมักเอทานอลจากผักตบชวา ซึ่งจากการศึกษาพบว่ากากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด มีปริมาณสูงกว่าของ Pulavavan [6] และเวลาที่เอทานอลมีปริมาณสูงสุดและน้ำตาลรีดิวซ์มีปริมาณสูงสุดน้อยกว่า Pulavavan [6] โดยจากการศึกษาให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 2.90 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 25.45 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง ขณะที่ Pulavavan [6] ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 0.04 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 12.99 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง เนื่องจากของเสียที่ใช้ในการผลิตเอทานอลต่างชนิดกันส่งผลให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดแตกต่างกัน และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลโดยตรงกับการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ส่งผลให้สารอาหารมีปริมาณไม่เพียงพอทำให้อัตราการผลิตเอทานอลของยีสต์ลดลง

## สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยการผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเก โดยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* มีการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณเอทานอลเริ่มต้นจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเก พบว่า กากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและปริมาณเอทานอลเริ่มต้นมากที่สุด มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 30.79 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลร้อยละ 0.3 และน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาเกร้อยละ 50 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและปริมาณเอทานอลเริ่มต้นน้อยที่สุด มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 4.07 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลร้อยละ 0.1 และเมื่อทำการหมักเอทานอลชีวภาพโดยใช้กล้าเชื้อปริมาณร้อยละ 10 ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง พบว่ากากแป้งสาเกร้อยละ 50 ผสมกับน้ำเสียร้อยละ 50 มีปริมาณเอทานอลสูงสุดร้อยละ 2.90 ที่เวลา 12 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่เชื้อมีการเจริญเติบโตมากที่สุด ทำให้ในช่วงเวลานี้เป็นช่วงเวลาที่มีการผลิตเอทานอลสูงสุด ซึ่งในกระบวนการผลิตเอทานอลชีวภาพจากของเสียในกระบวนการผลิตแป้งสาเกโดยเชื้อ *S. cerevisiae* พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* จะนำน้ำตาลรีดิวซ์มาใช้เป็นอาหารในการเจริญเติบโต และผลิตเอทานอลเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดน้อยลง เอทานอลจะมีปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้น และเมื่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

ก็จะส่งผลให้ยีสต์ไม่สามารถผลิตเอทานอลได้หรือผลิตได้น้อยลง สรุปได้ว่าสมรรถนะของเสียจากกระบวนการผลิตแป้งสาธูมาผลิตเอทานอลได้

### กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการวิจัยทางวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง อีกทั้งขอขอบคุณ คุณชามาดา ชัยเจริญ และคุณปนัดดา พรหมรักษ์ ที่อำนวยความสะดวกด้านเครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

### เอกสารอ้างอิง

- [1] Niwaswong, C., & Ruengwiriychai, C. (2012). Production of Cellulosic Ethanol in Thailand. *KKU Science Journal*, 40(4), 1073-1088. (In Thai).
- [2] Ministry of Energy. (2016). *Feasibility Study on Production of Cellulosic Ethanol to Commercial* (Online). Retrieved 29 March 2016, from <http://webkc.dede.go.th>. (In Thai).
- [3] Altintas, M.N., Ulgen, K.O., Kirdar, B. Onsan, Z.I., & Oliver, S.G. (2002). Improvement of Ethanol Production from Starch by Recombinant Yeast through Manipulation of Environmental Factors. *Enzyme and Microbial Technology*, 31, 640-647.
- [4] Limthong, S. (1997). *Yeast and Technology Yeast*. Kasetsart University, Bangkok. (In Thai).
- [5] Kongjindamunee, W. (2013). *Ethanol Production from Corn cob*. Master of Engineering in Chemical Engineering. Prince of Songkla University. (In Thai).
- [6] Pulavavan, M. (2012). *Production of Ethanol from Reducing Sugar Obtained from Pretreated Water Hyacinth using Trichoderma harzianum*. Master of Chemical Environment. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. (In Thai).



# การพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวแบบครบวงจรผ่านสมาร์ทโฟน ในจังหวัดราชบุรี

## Development of Smartphone-based Navigation System in Ratchaburi

พิชญ์สินี พุทธิทวีศรี<sup>1\*</sup> คลใจ นารเรือง<sup>2</sup> และวรรณพรพรรณ รีมผดี<sup>3</sup>

Pichsinee Puttitaweessri<sup>1\*</sup>, Donjai Kranruang<sup>2</sup> and Wannapat Rimphati<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบและพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี ซึ่งเป็นเครื่องมือสนับสนุนการท่องเที่ยวจังหวัดราชบุรี โดยแบ่งการทำงานเป็น 2 ส่วน ได้แก่ 1) เว็บไซต์บริหารจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวราชบุรี เป็นระบบฐานข้อมูลสำหรับผู้ดูแลระบบจัดการข้อมูลให้มีเนื้อหาที่ทันสมัย และเชื่อมโยงข้อมูลกับส่วนของแอปพลิเคชัน และ 2) แอปพลิเคชัน Tour Ratchaburi ทำงานบนระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ โดยแสดงข้อมูลการท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรีแบบครบวงจร ได้แก่ สถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร แหล่งซื้อของฝาก ข้าวสารและกิจกรรมการท่องเที่ยว สามารถค้นหาเส้นทางและนำทางผู้ใช้ให้สามารถเดินทางไปยังสถานที่ต่างๆ ได้ตามความต้องการผ่าน Google Map และแนะนำสถานที่ใกล้เคียงกับสถานที่ที่ค้นหาได้ ผลการประเมินประสิทธิภาพของระบบ พบว่า ผู้ใช้มีความพึงพอใจในภาพรวมอยู่ในระดับมาก ( $\bar{x} = 4.23$ , S.D. = 0.50) โดยผู้ใช้อยู่ละ 92 มีความพึงพอใจในภาพรวมต่อประสิทธิภาพของระบบในระดับสูง

**คำสำคัญ:** ระบบนำทางการท่องเที่ยว ราชบุรี ระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์

<sup>1</sup> ผศ., สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต กรุงเทพฯ 10300

<sup>2</sup> อ., สาขาวิชาวิทยาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต กรุงเทพฯ 10300

<sup>3</sup> อ., สาขาวิชาธุรกิจการโรงแรม โรงเรียนการท่องเที่ยวและการบริการ มหาวิทยาลัยสวนดุสิต กรุงเทพฯ 10300

<sup>1</sup> Asst. Prof., Computer Science Program, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University, Bangkok, 10300, Thailand

<sup>2</sup> Lecturer, Computer Science Program, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University, Bangkok, 10300, Thailand

<sup>3</sup> Lecturer, Hotel Business Program, School of Tourism and Hospitality Management, Suan Dusit University, Bangkok, 10300, Thailand

\* Corresponding: E-mail address: p.pichsinee@gmail.com. Tel.: 089-7788708

## Abstract

The purpose of this research was to design and develop a smartphone-based tourism navigation system in Ratchaburi province as a tool to support tourism in Ratchaburi province. The tourism navigation system in Ratchaburi province are divided into two parts: 1) Data Management System: back-end of the application has a database on a website for data management services. The database is the source of Ratchaburi province tourism information that connects to the application. 2) Tour Ratchaburi application: offers extensive tourist information in Ratchaburi province, including leisure attractions, restaurants, shopping places and souvenirs, news and tourism events in Ratchaburi province. The users can use in finding accommodations and tourist services. It also connects to Google Maps to guide tourists to various locations as their desires. The results of the performance evaluation of the tourism navigation system showed that the satisfaction of users who took an official tour using the application at the high level ( $\bar{X} = 4.23$ , S.D. = 0.50). 92% of the users were satisfied with the performance of Smartphone-based tourism navigation system in Ratchaburi province.

**Keywords:** Tourism Navigation System, Ratchaburi Province, Android Platform.

## บทนำ

จังหวัดราชบุรีมีจุดเด่นในด้านศิลปะ ประเพณี วัฒนธรรม ตลอดจนความสัมพันธ์ด้านชนเผ่า ซึ่งประกอบด้วยเชื้อสาย 8 ชนเผ่า จึงเป็นทุนทางสังคมที่จะส่งเสริมการพัฒนาด้านการท่องเที่ยว อีกทั้งจังหวัดราชบุรีมีศักยภาพด้านการท่องเที่ยวที่สำคัญ คือ การท่องเที่ยวเชิงนิเวศน์ การท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรม และวิถีชีวิตชุมชน ด้วยความอุดมสมบูรณ์ของธรรมชาติ และระยะทางที่ไม่ไกลจากกรุงเทพมหานคร ส่งผลให้จังหวัดราชบุรีได้รับความนิยมในกลุ่มนักท่องเที่ยวมากขึ้น มีนักท่องเที่ยวและรายได้จากการท่องเที่ยวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง อันเป็นแนวโน้มที่ดีของการท่องเที่ยวจังหวัดราชบุรี [1] จากการเข้าสู่ประชาคมอาเซียนในปี 2558 การเปิดเสรีบริการด้านการท่องเที่ยว ซึ่งรวมถึงธุรกิจท่องเที่ยวและบริการที่เกี่ยวข้องภายใต้กรอบอาเซียนมีแนวโน้มการแข่งขันของเพื่อนบ้านในกลุ่มอาเซียนเพิ่มมากขึ้น ผู้ประกอบการไทยควรเร่งปรับตัวโดยใช้ประโยชน์จากการเป็นอาเซียนปรับกลยุทธ์ทางธุรกิจเพื่อเพิ่มส่วนแบ่งตลาด หนึ่งในกลยุทธ์ที่สำคัญ คือ เทคโนโลยี ควรนำเทคโนโลยีสารสนเทศมาสนับสนุนข้อมูลการท่องเที่ยวให้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของอุตสาหกรรมท่องเที่ยวในศตวรรษที่ 21 คือ การนำเทคโนโลยีใหม่ๆ เข้ามาช่วยอำนวยความสะดวกแก่นักท่องเที่ยว [2-3] นอกจากนี้ ควรมีการจัดการข้อมูลด้านการท่องเที่ยวหรือ ห่วงโซ่อุปทานด้านการท่องเที่ยว (Tourism Supply Chain) อย่างครบองค์ประกอบ เริ่มตั้งแต่การวางแผนการท่องเที่ยว การติดต่อโรงแรมที่พัก การจองตั๋วเครื่องบิน สถานที่ท่องเที่ยว ร้านอาหาร ระบบขนส่งมวลชนสาธารณะ ที่ใช้ในการเดินทาง ให้เป็นไปอย่างราบรื่นตรงตามความต้องการของนักท่องเที่ยว [4] ซึ่งอุตสาหกรรมท่องเที่ยวมีองค์ประกอบที่สำคัญ 4 ส่วน ได้แก่ 1) การขนส่ง 2) ที่พัก 3) สิ่งดึงดูดใจ กิจกรรม และสิ่งอำนวยความสะดวก และ 5) การขาย [5]

การวิจัยในครั้งนี้มีแนวคิดในการพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี เพื่อส่งเสริมและ  
บริการข้อมูลการท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรี และใช้เป็นเครื่องมือสนับสนุนการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี  
โดยใช้วงจรการพัฒนาแบบ (System Development Life Cycle: SDLC) [6] เป็นกระบวนการในการวิเคราะห์  
ออกแบบและสร้างระบบสารสนเทศ ประกอบด้วยขั้นตอน 5 ขั้นตอน ได้แก่ การวางแผนระบบ (Systems  
Planning) การวิเคราะห์ระบบ (Systems Analysis) การออกแบบระบบ (Systems Design) การพัฒนาและติดตั้ง  
ระบบ (Systems Implementation) และการดูแลและรักษาระบบ (Systems Support and Security) ซึ่งระบบแบ่ง  
การทำงานเป็น 2 ส่วน คือ เว็บไซต์บริหารจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวราชบุรี เป็นระบบฐานข้อมูลสำหรับผู้ดูแล  
ระบบจัดการข้อมูลให้มีเนื้อหาที่ทันสมัย และ แอปพลิเคชัน Tour Ratchaburi แสดงข้อมูลการท่องเที่ยวใน  
จังหวัดราชบุรีแบบครบวงจร ได้แก่ สถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร แหล่งซื้อของฝาก ข้าวสารและกิจกรรม  
การท่องเที่ยว สามารถค้นหาเส้นทางและนำทางผู้ใช้ให้สามารถเดินทางไปยังสถานที่ต่างๆ ได้ตามต้องการผ่าน  
Google Map และนำสถานที่ใกล้เคียงกับสถานที่ปัจจุบันเพื่ออำนวยความสะดวกแก่ผู้ใช้ในการตัดสินใจเดินทาง  
ท่องเที่ยวในบริเวณใกล้เคียงตามความต้องการของผู้ใช้ นอกจากนี้ แอปพลิเคชันสามารถแสดงคำศัพท์เบื้องต้น  
ในกลุ่มท่องเที่ยวของแต่ละประเทศในอาเซียน สำหรับผู้ประกอบการในจังหวัดใช้เป็นช่องทางในการสื่อสาร  
เบื้องต้นกับนักท่องเที่ยวเพื่อเตรียมพร้อมการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรีเข้าสู่ประชาคมอาเซียน

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันมีผู้พัฒนาระบบสารสนเทศเพื่อใช้สนับสนุนข้อมูลการท่องเที่ยวในหลากหลายรูปแบบ อาทิ การ  
ให้บริการข้อมูลการท่องเที่ยวและวางแผนเส้นทางการเดินทางผ่านแผนที่กูเกิ้ล (Google Map) และเทคโนโลยี  
การรู้จำภาพ (Image Recognition) โดยอาศัยฟังก์ชันการทำงานของ GPS บนโทรศัพท์มือถือและคิวอาร์  
โค้ด (QR Code) สำหรับนักท่องเที่ยวที่เดินทางมาท่องเที่ยวโบราณสถาน ที่เมืองนิวไทเป ประเทศไต้หวัน [7]  
การพัฒนาแอปพลิเคชันสำหรับสมาร์ทโฟนเพื่อพัฒนาการแนะนำนักท่องเที่ยวด้วยตนเอง ณ เมืองเว้ ประเทศ  
เวียดนาม สำหรับใช้เป็นช่องทางในการให้ข้อมูลการเดินทางท่องเที่ยว โดยมีระบบการสแกน QR Code เพื่อ  
เข้าถึงเว็บไซต์ที่ให้ข้อมูลสถานที่ท่องเที่ยวและสามารถแชร์ข้อมูลสถานที่ท่องเที่ยวบนสื่อสังคมออนไลน์ได้ [8]  
การพัฒนาแอปพลิเคชัน Smart Traveling เพื่ออำนวยความสะดวกแก่นักท่องเที่ยวที่เดินทางมาเที่ยวประเทศ  
อินโดนีเซีย โดยการสแกนรูปภาพสถานที่ท่องเที่ยวเพื่อเข้าถึงข้อมูลสถานที่ท่องเที่ยว ข้อมูลกิจกรรม สถานที่  
ตำรวจที่ และโรงพยาบาล ที่ใกล้เคียงกับสถานที่ปัจจุบัน โดยอาศัยฟังก์ชันการทำงานของ Google Cloud Vision  
Application Program Interface (API) เพื่อจดจำและเข้าถึงข้อมูลสถานที่ท่องเที่ยว [9] การพัฒนาแอปพลิเคชัน  
Visit Samosir สำหรับแนะนำการท่องเที่ยวเกาะ Samosir Island ประเทศอินโดนีเซีย โดยสามารถแชร์ข้อมูลบน  
สื่อสังคมออนไลน์ได้ [10] การพัฒนาแอปพลิเคชันเพื่อให้ข้อมูลการท่องเที่ยวท้องถิ่นและแนะนำนักท่องเที่ยว  
ให้ไปยังเว็บไซต์ที่สนใจเกี่ยวกับวัฒนธรรมพื้นบ้าน โดยเน้นความสนใจไปที่การศึกษาวัฒนธรรมพื้นบ้านและ  
การแนะนำเส้นทางในเขตลาดชันเพื่อกระตุ้นให้เกิดการออกกกำลังกาย [11] การพัฒนาระบบนำทางการ  
ท่องเที่ยวเชิงวัฒนธรรมผ่านดาวเทียมบอกพิกัด โดยใช้ Google Map ระบุตำแหน่งของสถานที่ท่องเที่ยวร่วมกับ

GPS บนโทรศัพท์สมาร์ทโฟน ช่วยหาตำแหน่งของนักท่องเที่ยวและนำทางไปยังสถานที่ท่องเที่ยวที่ต้องการ และแสดงประวัติความเป็นมาของสถานที่ท่องเที่ยวในรูปแบบของเสียง [12] เป็นต้น

เมื่อเทียบกับงานวิจัยดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยได้นำเสนอระบบบริการข้อมูลบนเว็บแอปพลิเคชันผ่าน โทรศัพท์สมาร์ทโฟน ด้วยการประยุกต์ใช้ Google Map ในการอำนวยความสะดวกให้แก่ผู้ใช้ในการเข้าถึง ข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวกับสถานที่ท่องเที่ยว และทำให้ผู้ใช้สามารถวางแผนการเดินทางไปยังสถานที่ท่องเที่ยวที่ สนใจด้วยตัวเอง โดยสามารถแนะนำสถานที่ใกล้เคียงกับสถานที่ปัจจุบัน ได้แก่ สถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร และ แหล่งซื้อของฝาก เพื่ออำนวยความสะดวกแก่ผู้ใช้ในการตัดสินใจเดินทางท่องเที่ยวในบริเวณ ใกล้เคียงตามความต้องการ [1] แต่ยังไม่มีระบบการสแกน QR Code เพื่อเข้าถึงข้อมูล [6-7] การแสดงผลข้อมูล สถานที่ท่องเที่ยวในรูปแบบเสียง [8] และการแชร์ข้อมูลบนสื่อสังคมออนไลน์ [2, 7] แต่มีส่วนที่แตกต่างจาก งานวิจัยดังกล่าว คือ มีการแสดงคำศัพท์เบื้องต้นในกลุ่มท่องเที่ยวของแต่ละประเทศในอาเซียน สำหรับ ผู้ประกอบการในจังหวัดใช้เป็นช่องทางในการสื่อสารเบื้องต้นกับนักท่องเที่ยว และมีระบบบริหารจัดการข้อมูล การท่องเที่ยวราชบุรี เป็นระบบฐานข้อมูลที่ดูแลข้อมูลโดยการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรี ดังนั้น ข้อมูลจึง มีความทันสมัย เป็นปัจจุบัน และเชื่อถือได้ และจากการศึกษาแอปพลิเคชันแนะนำการท่องเที่ยวในจังหวัด ราชบุรีบน Google Play พบว่ามีแอปพลิเคชันที่นำเสนอข้อมูลสถานที่ท่องเที่ยวจังหวัดราชบุรี ได้แก่ ส่วนฝั่ง D+Plus Guide แนะนำที่พัก สถานที่ท่องเที่ยว และร้านอาหาร ในอำเภอสวนผึ้ง Get Ratchaburi Go แนะนำ ข้อมูลที่พักในจังหวัดราชบุรี RatchaburiInfo ให้บริการข้อมูลสถานีดารวจ โรงพยาบาล ห้างสรรพสินค้า และ สถานที่ท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรี และ Western Thailand แนะนำการท่องเที่ยว ที่พัก และร้านอาหารในจังหวัด กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งทั้งสี่แอปพลิเคชันมีระบบนำทางผ่าน Google Map แต่ยังไม่ มีฟังก์ชันการแนะนำสถานที่ใกล้เคียงกับสถานที่ปัจจุบัน และการให้ข้อมูลข่าวสารและกิจกรรมภายในจังหวัดราชบุรี

## วิธีดำเนินการวิจัย

### ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มเป้าหมายในการวิจัย ได้แก่ นักท่องเที่ยวที่เดินทางมาเที่ยวจังหวัดราชบุรี บุคลากรของการ ท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรี และผู้ประกอบการในจังหวัดราชบุรี โดยกลุ่มตัวอย่างในการวิจัย คือ นักท่องเที่ยวที่เดินทางมาเที่ยวจังหวัดราชบุรี บุคลากรของการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรี และ ผู้ประกอบการในจังหวัดราชบุรี ที่อาสาสมัครด้วยความเต็มใจ (Volunteer Sampling) จำนวน 106 คน

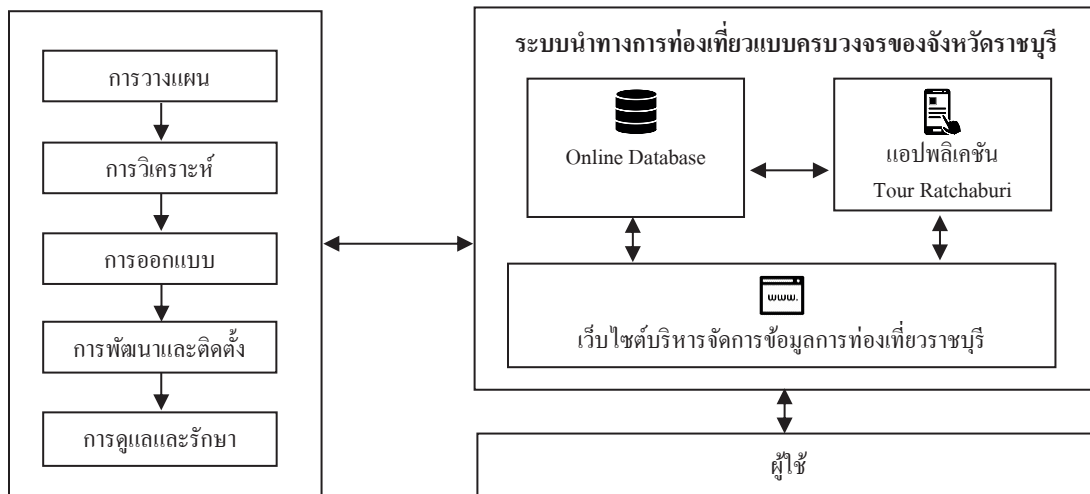
ผู้เชี่ยวชาญประกอบด้วย ผู้เชี่ยวชาญด้านแอปพลิเคชันและผู้เชี่ยวชาญด้านวัดและประเมินผล ด้านละ 3 ท่าน โดยการเลือกแบบเจาะจง (Purposive Sampling)

### เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี
2. แบบประเมินความพึงพอใจที่มีต่อประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี

## วิธีดำเนินการวิจัย

1. ระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี การออกแบบและพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี ใช้กระบวนการ SDLC [6] ซึ่งมีขั้นตอนและรายละเอียดในการดำเนินการ ดังนี้



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดในการพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี

1) การวางแผนระบบ ศึกษาความเป็นไปได้โดยการศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้อง กำหนดความต้องการและองค์ประกอบในการพัฒนาระบบ โดยวัตถุประสงค์ของการพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี เพื่อส่งเสริมและบริการข้อมูลการท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรี และใช้เป็นเครื่องมือสนับสนุนการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี กลุ่มเป้าหมายได้แก่ นักท่องเที่ยวที่เดินทางมาเที่ยวจังหวัดราชบุรี บุคลากรของการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรี และผู้ประกอบการในจังหวัดราชบุรี

2) การวิเคราะห์ระบบ ผู้วิจัยได้จัดการสนทนากลุ่มเพื่อรับทราบความต้องการและข้อเสนอแนะแนวทาง รูปแบบ รายละเอียดของข้อมูลเกี่ยวกับห่วงโซ่อุปทานด้านการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี จากบุคลากรของการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรี ตัวแทนประชาชน และผู้ประกอบการในจังหวัดราชบุรีเพื่อเป็นตัวแทนของคนทุกกลุ่ม จำนวน 10 คน ได้มาจากการเลือกแบบเจาะจง ร่วมกับการเก็บรวบรวมข้อมูลภาคสนามจากแหล่งปฐมภูมิ แล้วนำมาเป็นแนวทางในการออกแบบและพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี

3) การออกแบบระบบ เป็นการออกแบบส่วนติดต่อกับผู้ใช้ (User Interfaces Design) ได้แก่ การแสดงผลบนจอภาพแอปพลิเคชัน (Screen Format) ส่วนนำเข้าข้อมูล (Input Interface) ส่วนแสดงผลข้อมูล (Output Interface) การจัดวางองค์ประกอบหน้าจอ พื้นหลัง และรูปแบบตัวอักษร โดยเน้นการออกแบบที่ง่ายต่อการใช้งาน และมีสีสันสดใส การออกแบบรายละเอียดของเนื้อหา (Content) ที่จะปรากฏอยู่ในระบบ ซึ่งบุคลากรของการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรีช่วยให้คำแนะนำ ตรวจสอบความถูกต้องและความเหมาะสมของข้อมูลในการจัดทำ

4) การพัฒนาและติดตั้งระบบ เป็นการพัฒนาระบบตามที่ได้ออกแบบไว้ นำระบบที่พัฒนามาทดสอบ เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง จนมั่นใจว่าถูกต้องและตรงตามความต้องการ พร้อมทั้งนำไปติดตั้งเพื่อใช้งานบนสถานการณ์จริง

4.1) การพัฒนาระบบ เป็นการเขียนโปรแกรมตามที่ได้ออกแบบ โดยพัฒนาแอปพลิเคชันด้วยภาษา JAVA บนโปรแกรม Eclipse พัฒนาเว็บไซต์ด้วยภาษา PHP ร่วมกับระบบจัดการฐานข้อมูล MySQL หลังจากพัฒนาระบบเสร็จแล้วทำการทดสอบการทำงานเบื้องต้น โดยการนำระบบที่พัฒนาเสร็จแล้วมาทำการทดสอบแบบ Black Box Testing เพื่อทดสอบฟังก์ชันการทำงานของระบบ ซึ่งพิจารณาจากความถูกต้องของข้อมูลนำเข้า และผลลัพธ์ที่ได้ โดยประเมิน 3 ด้าน ได้แก่ ด้านการตอบสนองต่อการใช้งานระบบ (System Requirements Test) ด้านการทำได้ตามฟังก์ชันงานของระบบ (Functional Test) ด้านความง่ายต่อการใช้งานระบบ (Usability Test) ซึ่งเป็นการทดสอบโดยผู้เชี่ยวชาญด้านแอปพลิเคชัน จำนวน 3 ท่าน จากนั้นปรับแก้ระบบตามข้อเสนอแนะ

4.2) การติดตั้งระบบ หลังจากทดสอบความสมบูรณ์และความถูกต้องของการทำงานของระบบในแต่ละหน้าที่แล้ว ขั้นตอนต่อไปติดตั้งเว็บไซต์บริหารจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวราชบุรีบนเครื่องแม่ข่าย และอัปโหลดแอปพลิเคชัน Tour Ratchaburi เข้าสู่โทรศัพท์มือถือระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ จากนั้นทำการประเมินประสิทธิภาพของระบบโดยผู้ใช้ (Beta Testing) ซึ่งเป็นการประเมินประสิทธิภาพของระบบในสถานที่จริง และใช้ข้อมูลจริงทั้งหมดในการทดสอบ โดยประเมินความพึงพอใจที่มีต่อประสิทธิภาพของระบบโดยกลุ่มตัวอย่างที่กำหนด

หลังจากการประเมินประสิทธิภาพของระบบ ได้ปรับปรุงแก้ไข และส่งมอบให้กับการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรี องค์การบริหารส่วนตำบลสวนผึ้ง และชมรมส่งเสริมการท่องเที่ยวจังหวัดราชบุรี เพื่อนำไปเผยแพร่ให้นักท่องเที่ยว ผู้ประกอบการ และนำไปใช้เป็นเครื่องมือสนับสนุนการท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรี

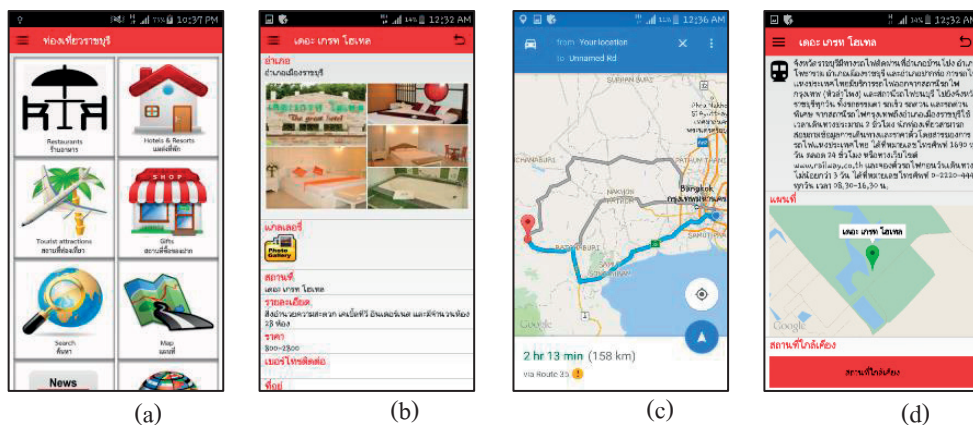
5) การดูแลและรักษาระบบ หลังจากการติดตั้งการใช้งานระบบเจ้าหน้าที่ของการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรี ดำเนินการเก็บรวบรวมคำร้อง ข้อเสนอแนะจากการใช้งานระบบ เพื่อนำมาวิเคราะห์และปรับปรุงการทำงานของระบบ

2. ประเมินความพึงพอใจที่มีต่อประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี สร้างแบบประเมินสำหรับใช้ประเมินประสิทธิภาพของระบบโดยผู้ใช้นำแบบประเมินไปตรวจสอบความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา (Content Validity) โดยผู้เชี่ยวชาญด้านวัดและประเมินผล จำนวน 3 ท่าน ตรวจสอบความเหมาะสมของเนื้อหาและความถูกต้องในสำนวนภาษา และความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ (IOC) โดยค่าดัชนีความสอดคล้องรายข้อต่ำสุด คือ 0.67 และสูงสุด คือ 1.00 ซึ่งผ่านเกณฑ์ 0.50 ที่ตั้งไว้ จากนั้นนำแบบประเมินที่ผ่านการแก้ไขจากผู้เชี่ยวชาญแล้วไปทดลองใช้กับนักท่องเที่ยว จำนวน 30 คน ที่ไม่ใช่กลุ่มตัวอย่างในการศึกษา และหาค่าความเชื่อมั่น (Reliability) ได้เท่ากับ 0.931 จากนั้นนำแบบประเมินที่สมบูรณ์ไปใช้การเก็บรวบรวมข้อมูลกับกลุ่มตัวอย่างต่อไป

## ผลการวิจัย

1. ผลการออกแบบและพัฒนาระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี แบ่งการทำงานออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ แอปพลิเคชัน Tour Ratchaburi ทำงานบนระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ และเว็บไซต์บริหารจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวราชบุรี ทำงานบนเว็บไซต์

1.1 แอปพลิเคชัน Tour Ratchaburi นำเสนอข้อมูลการท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรี โดยแสดงข้อมูลไว้เป็นหมวดหมู่ ประกอบด้วย เมนู ร้านอาหาร (Restaurants) แหล่งที่พัก (Hotels & Resorts) สถานที่ท่องเที่ยว (Tourist Attractions) สถานที่ซื้อของฝาก (Gift) ค้นหา (Search) แผนที่ (Map) ข่าวสารและกิจกรรม (News) และภาษาอาเซียนสำหรับนักท่องเที่ยว (Language AEC For Tourist) (a) โดยแสดงข้อมูลรายละเอียดของแต่ละสถานที่ที่เลือกดู (b) สามารถค้นหาเส้นทางและนำทางผู้ใช้ให้สามารถเดินทางไปยังสถานที่ต่างๆ ได้ตามต้องการผ่าน Google Map (c) เมื่อผู้ใช้แตะปุ่ม “สถานที่ใกล้เคียง” ระบบจะแนะนำสถานที่ใกล้เคียงกับสถานที่ปัจจุบันอย่างครบวงจร (d) โดยทำการคัดเลือกสถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร และ แหล่งซื้อของฝากที่อยู่ในอำเภอเดียวกันขึ้นมาแสดง เพื่ออำนวยความสะดวกแก่ผู้ใช้ในการตัดสินใจเดินทางท่องเที่ยวในบริเวณใกล้เคียงตามความต้องการของผู้ใช้ แสดงได้ดังภาพที่ 2

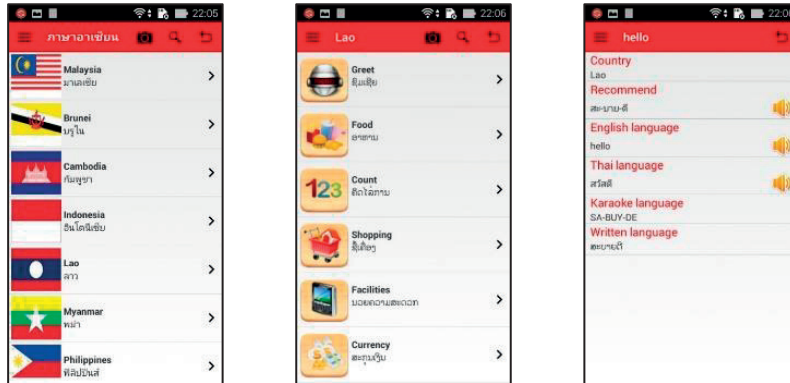


ภาพที่ 2 หน้าจอแสดงข้อมูลการท่องเที่ยวและการนำทาง

ผู้ใช้สามารถค้นหาข้อมูลเกี่ยวกับสถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร และแหล่งซื้อของฝาก โดยเลือกเมนู ค้นหา (Search) ซึ่งสามารถค้นหาข้อมูลได้หลายวิธี เช่น การใส่คำสำคัญ (Keyword) ของร้านอาหาร ที่พัก สถานที่ท่องเที่ยว และแหล่งซื้อของฝาก ที่ต้องการค้นหา อาทิ ค้นหาที่พักด้วยช่วงราคาของที่พัก ค้นหาร้านอาหารโดยการอาหาร ค้นหาสถานที่ตามอำเภอที่ตั้ง หรือค้นหาตามหมวดหมู่สถานที่ เป็นต้น โดยบุคลากรของการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดราชบุรีเป็นผู้ดูแลระบบบริหารจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวราชบุรี ซึ่งเชื่อมโยงข้อมูลกับแอปพลิเคชัน ดังนั้น ข้อมูลจึงมีความทันสมัย เป็นปัจจุบัน และเชื่อถือได้

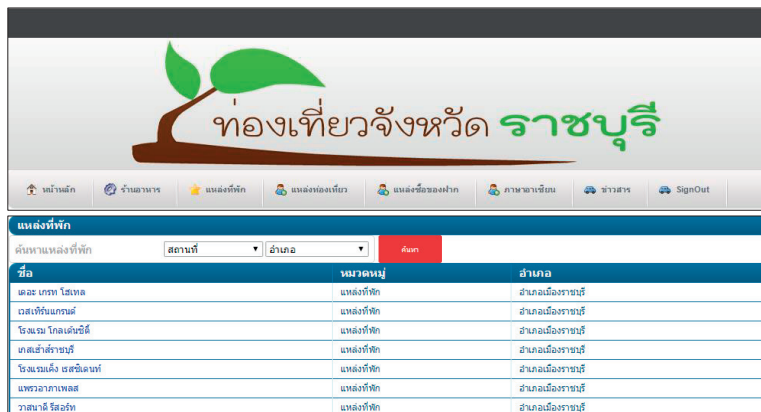
นอกจากนี้ แอปพลิเคชันสามารถแสดงคำศัพท์เบื้องต้นในกลุ่มท่องเที่ยว ได้แก่ หมวดการทักทาย (Greet) อาหาร (Food) การนับเลข (Count) ช้อปปิ้ง (Shopping) สิ่งอำนวยความสะดวก (Facilities)

สกุลเงิน (Currency) และการเดินทาง (Travel) ของแต่ละประเทศในอาเซียน ซึ่งจะแสดงคำอ่าน การออกเสียง และความหมายของคำศัพท์ สำหรับผู้ประกอบการในจังหวัดใช้เป็นช่องทางในการสื่อสารเบื้องต้นกับนักท่องเที่ยว เพื่อเตรียมพร้อมการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรีเข้าสู่ประชาคมอาเซียน แสดงได้ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 หน้าจอแสดงคำศัพท์เบื้องต้นในกลุ่มท่องเที่ยวของแต่ละประเทศในอาเซียน

1.2 เว็บไซต์บริหารจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวราชบุรี เป็นระบบฐานข้อมูลสำหรับผู้ดูแลระบบจัดการข้อมูลให้มีเนื้อหาที่ทันสมัย และเชื่อมโยงข้อมูลกับส่วนของแอปพลิเคชัน ซึ่งประกอบด้วยเมนู หน้าหลัก ร้านอาหาร แหล่งที่พัก แหล่งท่องเที่ยว แหล่งซื้อของฝาก ภาษาอาเซียน ข่าวสาร และ Sign Out ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 หน้าจอการจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวราชบุรี

2. ผลการประเมินประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยว โดยผู้เชี่ยวชาญ เป็นการประเมินประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยว โดยผู้เชี่ยวชาญด้านแอปพลิเคชัน จำนวน 3 ท่าน พบว่า ผู้เชี่ยวชาญมีความพึงพอใจต่อประสิทธิภาพของระบบในภาพรวมอยู่ในระดับ มาก ( $\bar{X} = 4.44, S.D. = 0.38$ ) เมื่อวิเคราะห์เป็นรายด้าน พบว่า ผู้เชี่ยวชาญมีความพึงพอใจด้านการตอบสนองต่อการใช้งานระบบ เป็นอันดับแรก ( $\bar{X} = 4.56, S.D. = 0.42$ )

รองลงมาได้แก่ ด้านความง่ายต่อการใช้งานระบบ ( $\bar{X} = 4.44$ , S.D. = 0.29) และด้านการทำได้ตามฟังก์ชันงานของระบบ ( $\bar{X} = 4.33$ , S.D. = 0.58) ตามลำดับ

3. ผลการประเมินความพึงพอใจที่มีต่อประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี โดยผู้ใช้ เป็นการประเมินความพึงพอใจที่มีต่อประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี โดยกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 106 คน ที่อาสาสมัครด้วยความเต็มใจ พบว่าผู้ใช้มีความพึงพอใจในภาพรวมอยู่ในระดับมาก ( $\bar{X} = 4.23$ , S.D. = 0.50) เมื่อวิเคราะห์เป็นรายด้าน พบว่า ด้านเนื้อหาหรือสาระที่ปรากฏในระบบนำทาง มีความพึงพอใจโดยรวมในระดับมาก ( $\bar{X} = 4.15$ , S.D. = 0.57) หัวข้อที่ผู้ใช้มีความพึงพอใจสูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่ มีข้อมูลแหล่งขายของฝากหรือของที่ระลึก สอดคล้องกับแหล่งท่องเที่ยวในแต่ละพื้นที่ ( $\bar{X} = 4.21$ , S.D. = 0.69) มีข้อมูลร้านอาหารแนะนำ พร้อมทั้งข้อมูลประกอบการเลือกตัดสินใจ เช่น ราคา ความสะอาด เป็นต้น ( $\bar{X} = 4.18$ , S.D. = 0.66) และมีข้อมูลโรงแรมที่พัก ที่ครบถ้วนครอบคลุมทุกพื้นที่ ( $\bar{X} = 4.13$ , S.D. = 0.69) ตามลำดับ

ด้านการออกแบบและจัดรูปแบบ มีความพึงพอใจโดยรวมในระดับ มาก ( $\bar{X} = 4.24$ , S.D. = 0.54) หัวข้อที่ผู้ใช้มีความพึงพอใจสูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่ รูปแบบและวิธีการนำเสนอข้อมูลมีความเหมาะสม เข้าใจง่าย ( $\bar{X} = 4.29$ , S.D. = 0.60) การจัดวางองค์ประกอบหน้าจომีความสวยงาม ได้สัดส่วน ( $\bar{X} = 4.28$ , S.D. = 0.67) และสีตัวอักษร พื้นหลัง และภาพประกอบ มีความชัดเจน ( $\bar{X} = 4.27$ , S.D. = 0.63) ตามลำดับ

ด้านประโยชน์ของระบบต่อการนำไปใช้งาน มีความพึงพอใจโดยรวมในระดับ มาก ( $\bar{X} = 4.29$ , S.D. = 0.57) หัวข้อที่ผู้ใช้มีความพึงพอใจสูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่ เป็นช่องทางที่ดีสำหรับเป็นข้อมูลด้านการท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรี ( $\bar{X} = 4.37$ , S.D. = 0.69) ภาพรวมของระบบนำทางมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมสำหรับนำไปใช้งานจริง ( $\bar{X} = 4.30$ , S.D. = 0.69) และ สามารถใช้เป็นแหล่งข้อมูลสำหรับศึกษาหาความรู้ได้ ( $\bar{X} = 4.27$ , S.D. = 0.68) ตามลำดับ

ผลการประเมินร้อยละความพึงพอใจในภาพรวมที่มีต่อประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี โดยผู้ใช้ จำนวน 106 คน พบว่า ผู้ใช้ร้อยละ 92 มีความพึงพอใจในภาพรวมต่อประสิทธิภาพของระบบในระดับสูง (ค่าเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 3.50 จากคะแนนเต็ม 5.00)

### สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากผลการวิจัย สามารถสรุปและอภิปรายผลได้ดังนี้

1. ระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี มีส่วนของแอปพลิเคชันที่นำทางการท่องเที่ยวในจังหวัด โดยแสดงข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร แหล่งซื้อของฝาก ข่าวสารและกิจกรรมการท่องเที่ยวภายในจังหวัดราชบุรี ซึ่งใช้งานบนระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ สามารถค้นหาเส้นทางและนำทางผู้ใช้

ให้เดินทางไปยังสถานที่ต่างๆ ได้ตามต้องการผ่าน Google Map และแนะนำสถานที่ใกล้เคียงกับสถานที่ปัจจุบัน โดยระบบทำการคัดเลือกสถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร และแหล่งซื้อของฝาก ที่อยู่ในอำเภอเดียวกันขึ้นมา แสดงเพื่ออำนวยความสะดวกแก่ผู้ใช้ในการตัดสินใจเดินทางท่องเที่ยวในบริเวณใกล้เคียงตามความต้องการ นอกจากนี้ แอปพลิเคชันสามารถแสดงคำศัพท์เบื้องต้นในกลุ่มท่องเที่ยวของแต่ละประเทศในอาเซียน สำหรับผู้ประกอบการในจังหวัดใช้เป็นช่องทางในการสื่อสารเบื้องต้นกับนักท่องเที่ยว เพื่อเตรียมพร้อมการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรีเข้าสู่ประชาคมอาเซียน ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดของ ฉินฉานันท์ เอี่ยมเพ็ชร [2] และ ไสริยา หอมชื่น [3] ที่กล่าวว่า ลักษณะของอุตสาหกรรมท่องเที่ยวในศตวรรษที่ 21 คือ การนำเทคโนโลยีใหม่ๆ เข้ามาช่วยอำนวยความสะดวกแก่นักท่องเที่ยว ผู้ประกอบการควรนำเทคโนโลยีสารสนเทศมาสนับสนุนข้อมูลการท่องเที่ยวมากขึ้น เพื่อให้ข้อมูลแก่นักท่องเที่ยว และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang & Hsu [7] Nguyen [8] Meiliana *et al.* [9] Tobing [10] Chao *et al.* [11] และฉวีวรรณ พุ่งสืบสาม [12] ในการนำเสนอระบบบริการข้อมูลบนเว็บแอปพลิเคชันผ่านโทรศัพท์เคลื่อนที่ ด้วยการประยุกต์ใช้ Google Map สามารถเพิ่มความสะดวกให้นักท่องเที่ยวในการเข้าถึงข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวกับสถานที่ท่องเที่ยวได้ และทำให้นักท่องเที่ยวสามารถวางแผนการเดินทางไปยังสถานที่ท่องเที่ยวที่สนใจด้วยตัวเอง นอกจากนี้ ระบบนำทางการท่องเที่ยวมีส่วนของระบบฐานข้อมูลเพื่อเชื่อมโยงข้อมูลกับส่วนของแอปพลิเคชัน สำหรับผู้ดูแลระบบสามารถบริหารจัดการข้อมูลการท่องเที่ยวให้ทันสมัยผ่านเว็บไซต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ดาราวรรณ ญานะนันท์ และคณะ [13] เกี่ยวกับคุณภาพของระบบฐานข้อมูลท่องเที่ยวออนไลน์ ควรมีความทันสมัยและความน่าเชื่อถือของข้อมูล การเชื่อมโยงข้อมูลมีรูปแบบที่ง่ายและชัดเจน รวมถึงการนำเสนอหาและข้อมูลไปใช้งานจริง

## 2. ผลการประเมินความพึงพอใจต่อประสิทธิภาพของระบบนำทางการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรี

ผู้ที่มีความพึงพอใจในภาพรวมอยู่ในระดับ มาก ( $\bar{X} = 4.23$ , S.D. = 0.50) เนื่องจากระบบนำทางการท่องเที่ยวเป็นช่องทางที่ดี สำหรับเป็นข้อมูลด้านการท่องเที่ยวในจังหวัดราชบุรี เหมาะสมสำหรับนำไปใช้งานจริง เป็นแหล่งข้อมูลสำหรับศึกษาหาความรู้ สามารถเข้าถึงข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของพรกมล ระหาญนอก [14] เกี่ยวกับการจัดเก็บข้อมูลเป็นระบบในรูปแบบฐานข้อมูล เพื่อให้สามารถจัดเก็บ เรียกค้น แก้ไขข้อมูลได้สะดวกรวดเร็ว และสามารถประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการท่องเที่ยวรวมถึงเป็นแหล่งเรียนรู้ของชุมชน ระบบมีการออกแบบรูปแบบและวิธีการนำเสนอข้อมูลให้มีความเหมาะสมและเข้าใจง่าย จัดวางองค์ประกอบหน้าจอสวยงามได้สัดส่วนสัดส่วนอักษร พื้นหลัง และภาพประกอบ มีความชัดเจน ใช้งานง่าย เมนูไม่ซับซ้อน ตอบสนองตามคำสั่งของผู้ใช้ได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ดาราวรรณ ญานะนันท์ และคณะ [13] เกี่ยวกับคุณภาพของระบบฐานข้อมูลท่องเที่ยวออนไลน์ ควรมีการนำเสนอข้อมูลเป็นระบบ สามารถเข้าถึงข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว ข้อมูลมีความหลากหลาย และมีรูปแบบการเชื่อมโยงข้อมูลที่ง่ายและชัดเจน นอกจากนี้ ระบบสามารถนำเสนอข้อมูลการท่องเที่ยวของจังหวัดราชบุรีอย่างครบถ้วนในทุกๆ ด้าน ได้แก่ สถานที่ท่องเที่ยว ที่พัก ร้านอาหาร แหล่งซื้อของฝาก พร้อมทั้งข้อมูลประกอบ การเลือกตัดสินใจ เช่น ธรรมชาติ ราคา ความสะอาด เป็นต้น ที่ครอบคลุมกับแหล่งท่องเที่ยวในแต่ละพื้นที่ มีการนำเสนอข่าวสารและ

กิจกรรมการท่องเที่ยวที่ทันสมัย ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดของ สุภาพร มากแจ้ง [15] ที่ได้นำเสนอเกี่ยวกับองค์ประกอบของอุตสาหกรรมท่องเที่ยวที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการท่องเที่ยว ประกอบด้วย ธุรกิจการขนส่ง ธุรกิจอาหารและการพักผ่อน และ ธุรกิจการนำเที่ยว และยังสอดคล้องกับแนวคิดของ สิริยุพา เลิศกาญจนพร [5] เกี่ยวกับห่วงโซ่อุปทานด้านการท่องเที่ยว ซึ่งถือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในอุตสาหกรรมท่องเที่ยว

### คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2558 และมหาวิทยาลัยสวนดุสิต

### เอกสารอ้างอิง

- [1] Information and Communication Division, Office of the Ratchaburi Province. (2014). *General information for Ratchaburi* (Online). Retrieved 24 December 2014, from <http://123.242.157.9/hdetail.php?QNo=3&QStA&QGroup=0>.
- [2] Iamphet, N. (2012). *Thai Tourism in ASEAN and AEC Turnaround* (Online). Retrieved 7 February 2014, from <http://th.aectourismthai.com/content2/103>.
- [3] Homchuen, S. (2014). World Travel & Tourism Council the Asia Summit: Staying Ahead of Tomorrow. *TAT Tourism Journal*, 11(1), 31-40.
- [4] Piboonrungrroj, P. & Disney, S. M. (2009). Tourism Supply Chains: A Conceptual Framework. In *Exploring Tourism III: Issues in PhD Network Conference* (pp.132-149). 2009, July 1-2, Nottingham: UK.
- [5] Lerdkanjanaporn, S. (2016). *Tourism Supply Chain Management in the Tourism Industry* (Online). Retrieved 7 January 2016, from [http://tpir53.blogspot.com/2011/02/blog-post\\_28.html](http://tpir53.blogspot.com/2011/02/blog-post_28.html).
- [6] Tilley, S., & Rosenblatt, H. J. (2016). *Systems Analysis and Design* (11<sup>th</sup> ed.). USA: Cengage Learning.
- [7] Yang, S. Y., & Hsu, C. L. (2016). A Location-based Services and Google Maps-based Information Master System for Tour Guiding. *Computers & Electrical Engineering*, 54, 87-105.
- [8] Nguyen, V. D. (2013). *Application for Smart Phones for Developing Personalised Tourist Guides at Hue City in Vietnam*, The Graduate School. Master of Arts in Media Arts and Design. Chiang Mai University.
- [9] Meiliana, Devita, I., Mochamad, R. H., Nur, V. A., & Dewi, S. (2017). Mobile Smart Travelling Application for Indonesia Tourism, In *Computer Science and Computational Intelligence 2017 (ICCCSI)*, (pp. 556-563). 13-14 October 2017, Bali, Indonesia: Science Direct.
- [10] Tobing, R. D. H. (2015). Mobile Tourism Application for Samosir Regency on Android Platform, In *Technology Management and Emerging Technologies 2015 (ISTMET)*, 249-253. 25-27 August 2015, Langkawi, Kedah, Malaysia. IEEE.
- [11] Chao, C. L., Lin, K. C., Tseng, C. M., Erdene, T., & Chen, Y. F. (2014). An App for Promoting Health and Local Tourism, In *Computer, Consumer and Control 2014 (IS3C)*, 1175-1178. 10-12 June 2014, Taichung, Taiwan. IEEE.

- [12] Thoongsibsarm, C. (2014). *Cultural Tourism Navigator through Global Positioning System*. Master Dissertation. Master of Science (Software Engineering). Chiang Mai University.
- [13] Yananan, D., Chaiyasit, W., Kongkakul, M. & Chumuang, N. (2009). *Development Online Database System for Tourism in Amphur Suanphung, Ratchaburi Province* (Online). Retrieved 5 January 2015, from <http://newtdc.thailis.or.th/docview.aspx?tdcid=9855>
- [14] Rahonnok, P. (2010). *The Creation of Community Identity Database for Loei Tourism Promotion: A Case Study of Chiang Khan District* (Online). Retrieved 5 January 2015, from <http://dric.nrct.go.th/Search/SearchDetail/279309>.
- [15] Makchang, S. (2011). *Principle of Tour Guide*. Bangkok: Odian Store.

## ดัชนี (Index)

### ดัชนีผู้เขียน (Author Index)

### หน้า

|                          |                           |    |
|--------------------------|---------------------------|----|
| กนกพร สังขรักษ์          | Kanokphorn Sangkharak     | 1  |
| จิตาภา สุวรรณฤกษ์        | Jidapa Suwannarurk        | 11 |
| จุฑารัตน์ สติธิปัญญา     | Chutarat Sathirapanya     | 11 |
| จุฑารัตน์ แสงเสถียร      | Jutarat Saengsathien      | 75 |
| ณฐมน ดอกบัวแก้ว          | Natamon Dorkbuakaew       | 43 |
| นิชกานต์ เวชสิทธิ์       | Nichakarn Watchasit       | 33 |
| คลใจ ฆารเรือง            | Donjai Kranruang          | 97 |
| ทวีภรณ์ ศิริคช           | Thaweeporn Keereekoch     | 33 |
| ทักษพร หลีน้อย           | Thaksaporn Leenoi         | 89 |
| ธวัชชัย ศรีสุวรรณ        | Thawatchai Srisuwan       | 33 |
| นภาพรณัฏฐ์ ตั้งอุบลรัตน์ | Napaporn Tangadulrat      | 11 |
| นริสา บินหะยีดิง         | Narisa Binhayeeding       | 1  |
| ประภัสสร เสงสัน          | Praphatson Sengsoon       | 21 |
| พฤทธิกร สุภพ             | Preuttioporn Supaphon     | 63 |
| พิชญ์สินี พุทธิทวีศรี    | Pichsinee Puttitaweessri  | 97 |
| พีรนาฏ คิด้ดี            | Peeranart Kiddee          | 87 |
| ภัทรานิษฐ์ แอโตะ         | Pattranis Airsoe          | 87 |
| มณฑล เลิศวรปรีชา         | Monthon Lertworapreecha   | 87 |
| วรรณพรรณ ริมผดี          | Wannapat Rimphati         | 97 |
| วรรณฤดี หิรัญรัตน์       | Wanrudee Hiranrat         | 63 |
| วิไลลักษณ์ กล่อมพงษ์     | Vilailak Klompong         | 53 |
| ศรดา โฉมปรางค์           | Saruda Chomprang          | 33 |
| สภาร ทิจันทร์            | Sakhan Teejuntuk          | 75 |
| สนั่น สุขธีรสกุล         | Sanan Subhaddhirasakul    | 33 |
| สมพร แม่ลิ้ม             | Somporn Maelim            | 75 |
| สมฤทัย จิตภักดีบดินทร์   | Somrutai Jitpukdeebodintr | 43 |
| อนุกุล โรจนสุขสมบูรณ์    | Anukoon Rotjanasuksomboon | 11 |
| อักรเดช กองคำ            | Ukkaradate Kongkam        | 21 |
| อัษฎาวุธ หิรัญรัตน์      | Asadhawut Hiranrat        | 63 |
| ฮิโปรเฮง บาพะ            | Hiproheng Baha            | 63 |

| ดัชนีคำสำคัญ                               | หน้า |
|--------------------------------------------|------|
| กลิ่นเท้า                                  | 43   |
| การควบคุมการทรงตัว                         | 12   |
| การทดแทนสังกะสี                            | 75   |
| การพัฒนาสุขภาพที่ยั่งยืน                   | 12   |
| การสกัดด้วยเอทานอล                         | 43   |
| ของเสีย                                    | 87   |
| คุณภาพ                                     | 53   |
| ไคโตซาน                                    | 53   |
| จอกหูหนู                                   | 63   |
| เชื้อยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 87   |
| น้ำมันหอมระเหย                             | 33   |
| ไบโอดีเซล                                  | 1    |
| ปลากระพงขาว                                | 53   |
| ป่าดิบชื้น                                 | 75   |
| แป้งสาเก                                   | 87   |
| พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต                       | 1    |
| พื้นที่นุกรุก                              | 75   |
| ชาคมชนิดน้ำ                                | 33   |
| ระบบนำทางการท่องเที่ยว                     | 97   |
| ระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์                    | 97   |
| ราชบุรี                                    | 97   |
| ราเอนโคไฟท์                                | 63   |
| ราแม่บทใหญ่                                | 12   |
| โรคทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ              | 21   |
| โรคที่สัมพันธ์กับการปฏิบัติงาน             | 21   |
| ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์                     | 63   |
| ไลเพส                                      | 1    |
| ว่านสาวหลง                                 | 33   |
| สารสกัดจากใบพลู                            | 43   |
| อุณหภูมิต่ำ                                | 53   |
| เอทานอลชีวภาพ                              | 87   |
| เอนไซม์ตรีง                                | 1    |

| <b>Keywords Index</b>                  | <b>Page</b> |
|----------------------------------------|-------------|
| <i>Amomum biflorum</i>                 | 34          |
| Android Platform                       | 98          |
| Antimicrobial                          | 64          |
| Balance Control                        | 12          |
| Betel Leaf Extract                     | 44          |
| Biodiesel                              | 2           |
| Bio-Ethanol                            | 88          |
| Borneo Camphor Liquid Inhaler          | 34          |
| Chitosan                               | 54          |
| Cold Storage                           | 54          |
| Endophytic Fungus                      | 64          |
| Essential Oil                          | 34          |
| Foot Malodor                           | 44          |
| Giant Perch                            | 54          |
| Immobilized Enzyme                     | 2           |
| Land Encroachment                      | 76          |
| Lipase                                 | 2           |
| Mae Bot Yai Thai Dance                 | 12          |
| Musculoskeletal Disorders              | 22          |
| Plant Succession                       | 76          |
| Polyhydroxybutyrate                    | 2           |
| Quality                                | 54          |
| Ratchaburi Province                    | 98          |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i>        | 88          |
| Sago Starch                            | 88          |
| <i>Salvinia cucullata</i> Roxb         | 64          |
| Sustainable Health Development         | 12          |
| The Ethanolic Extract                  | 44          |
| Tourism Navigation System              | 98          |
| Tropical Rain Forest                   | 76          |
| Waste                                  | 88          |
| WMSDs                                  | 22          |
| Work Related Musculoskeletal Disorders | 22          |

## Lists of Reviewers

Manuscripts of research articles and academic articles of Thaksin University Journal, Volume 22, No. 1 (January-June 2019) were reviewed by the reviewers as follows:

- |                                                |                                                                                         |
|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Prof. Dr. Pranee Anprung, Professor         | Faculty of Science, Chulalongkorn University                                            |
| 2. Prof. Dr. Saisamorn Lumyong                 | Faculty of Science, Chiang Mai University                                               |
| 3. Assoc. Prof. Dr. Chantana Chantrapornchai   | Faculty of Engineering, Kasetsart University                                            |
| 4. Assoc. Prof. Dr. Ekkarat Boonchieng         | Faculty of Science, Chiang Mai University                                               |
| 5. Assoc. Prof. Dr. Jaruntorn Boonyanuphap     | Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University           |
| 6. Assoc. Prof. Dr. Klanarong Sriroth          | Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University                                          |
| 7. Assoc. Prof. Dr. Manat Chaijan              | School of Agricultural Technology, Walailak University                                  |
| 8. Assoc. Prof. Dr. Monthon Lertcanawanichakul | School of Allied Health Sciences, Walailak University                                   |
| 9. Assoc. Prof. Dr. Orawan Buranruk            | Faculty of Associated Medical Science, Khon Kaen University                             |
| 10. Assoc. Prof. Dr. Parichart Visuthismajarn  | Faculty of Environmental Management, Prince of Songkla University                       |
| 11. Assoc. Prof. Dr. Pornthap Thanonkeo        | Faculty of Technology, Khon Kaen University                                             |
| 12. Assoc. Prof. Dr. Suppachai Tiyaworanant    | Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University                                |
| 13. Assoc. Prof. Dr. Surachai Pornpakaku       | Faculty of Science, Chulalongkorn University                                            |
| 14. Assoc. Prof. Dr. Wattana Jalayondeja       | Faculty of Physical Therapy, Mahidol University                                         |
| 15. Assoc. Prof. Narumon Jeyashoke             | School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi |
| 16. Assoc. Prof. Navaporn Chadchavalpanichaya  | Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University                                |
| 17. Assoc. Prof. Sarote Sirisansaneeeyakul     | Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University                                          |
| 18. Assoc. Prof. Somnuke Gulsatitporn          | Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University                             |
| 19. Asst. Prof. Dr. Amnart Pohthong            | Faculty of Science, Prince of Songkla University                                        |
| 20. Asst. Prof. Dr. Sunee Chansakaow           | Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University                                              |
| 21. Asst. Prof. Dr. Tanit Padumanonda          | Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University                                |

# General Information of Thaksin University

## About the Journal

Thaksin University Journal is a peer-reviewed journal publishing research articles, academic articles, socially-engaged articles in Multidisciplinary of sciences and technology of researchers, educators, and staff of Thaksin University and other institutions.

## Publication Conditions

1. The work described has not been published previously.
2. The author must be a member of Thaksin University Journal except for special articles that the Editor gives an exception.
3. The manuscript must be typed in Thai or English with both Thai and English abstracts.
4. Content and ideas published in this journal must be the author's only; the Editor does not necessarily agree with it.
5. The reviewers must review the manuscript.

## Types of Published Articles

1. Research articles
2. Academic articles
3. Socially-Engaged articles
4. Letter to editor (to propose supportive or argumentative ideas of researchers, including presenting interesting knowledge and experience)

## Journal Conditions

1. Manuscript must be typed on white A4-size paper, single side, with page number and Angsana **New Font size 14** with **not more than 8 pages** length, including figures and tables.
2. Margins
  - Top margin 1"
  - Bottom margin 1"
  - Left margin 1.5"
  - Right margin 1"

### 3. Manuscript Online Submission

The corresponding author must submit the manuscript online via Thai Journals Online (ThaiJo2) at <https://www.tci-thaijo.org/index.php/tsujournal>.

4. The application for membership can be processed into ways:

**Journal Authors**

Researchers, academicians, or students who want to submit the article(s) must pay for reviewers' compensation, **2,000 Baht/ 70 US Dollar per article** if the article is accepted.

via **Siam Commercial** Bank account:

**Account Name: Thaksin University Journal**

**Account Number: 408-197495-9**

**Branch: Thaksin University (Phatthalung)**

After completing the payment, the membership applicant must attach the file of payment slip online at <https://www.tci-thaijo.org/index.php/tsujournal> or contact the journal coordinators at the following address:

Research and Development Institute, Thaksin University, Phatthalung Campus

222 Moo. 2, Bann Prao Sub-District, Papayom District, Phatthalung, Thailand 93210

Tel. 074-609600 ext. 7242 or 081-5407304 Fax No. 074-609654-5

E-mail address: [tsujournal@gmail.com](mailto:tsujournal@gmail.com)

5. Article cancellation or dismissal has conditions as follows:

**Article cancellation** is done before article publication.

**Article dismissal** is done during or after article publication.

The cancellation or dismissal can be proceeded by downloading the form at <https://www.tci-thaijo.org/index.php/tsujournal>; however, **if the article has already been sent to the reviewers, the corresponding author must be responsible for the reviewing fees.**

## Manuscript Guidelines

The article must consist of:

### 1. Title

Title must be in Thai and English, **center** of the page. **The first alphabets** of all words of the title must be **capitalized with bold 20 font size**.

### 2. Authors

Identify all authors with **14 font size, center** of the page with **logarithm**. Position, academic title, and affiliation in the footnote on the first page: Department, Faculty and University stated in the same page, both Thai and English.

### 3. Abstract

Abstract must be in Thai and English, **not more than 200 words**, with 14 font size.

### 4. Keywords

Keywords both in Thai and English related to the article, not more than 5 words, below the abstract. It must be typed with 14 font size, left-margin. Proper nouns (the first alphabet of each word) must be capitalized.

### 5. Main Body consists of:

- 1) Introduction: Significance or background of the study, research objectives, and/or review of related literature
- 2) Research methodology
- 3) Results
- 4) Discussion
- 5) Conclusion
- \* 4) and 5) can probably be merged
- 6) Acknowledgement (if any)
- 7) References that must be **APA 6<sup>th</sup> Edition** and in **English only**

### 6. Attachment

This is attached with the manuscript to certify that the experiment is biological safe, ethical (using animal samples) or moral (doing experiment in human).

### 7. Abbreviation and Signs

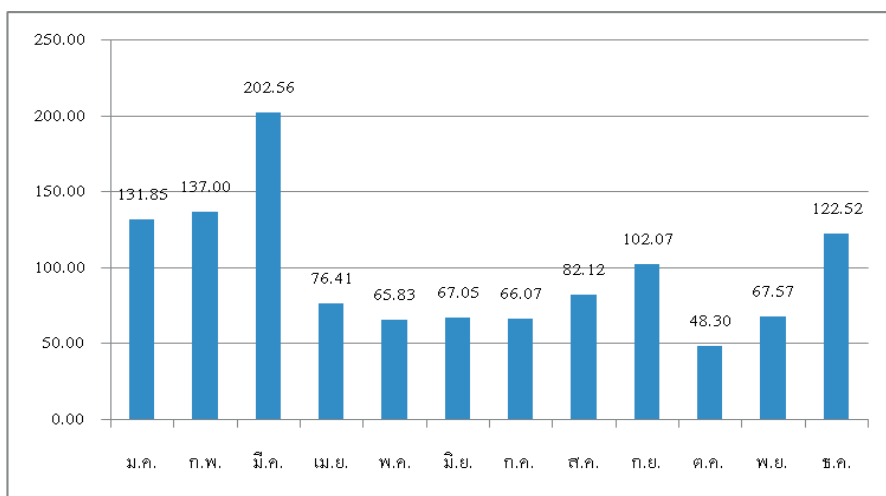
Abbreviation comes up with its full version in the first time, and only abbreviation later. Please avoid using abbreviation in the title and abstract. It is not recommended to use the abbreviation that is used less than four times in the article. The author(s) must provide definition or description of any signs used in the article when appearing in the first time.

## 8. Figure

Figure is at the center of the page, following by description below the figure in 14 font size. It must be clear monochrome (black and white color). If necessary, it can be colored. The word “figure” is bold, and the description is normal and set in the center of the page. Lined figure must be in clear black.

### Example

kilogram /rai



**Figure 1** Fall of Monthly Leaves

## 9. Table

“Table” must be bold and at the left side of the column, and the description is above the table, with 14 font size.

### Example

**Table 1** Percentage of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium intensity in remains of decayed leaves in each period of time

| Week | Nitrogen<br>(percent) | Phosphorus<br>(percent) | Potassium<br>(percent) |
|------|-----------------------|-------------------------|------------------------|
| 0    | 0.81 ± 0.15           | 0.12 ± 0.08             | 0.44 ± 0.14            |
| 1    | 1.00 ± 0.05           | 0.09 ± 0.05             | 0.24 ± 0.12            |
| 2    | 0.89 ± 0.15           | 0.11 ± 0.02             | 0.10 ± 0.02            |
| 3    | 0.83 ± 0.14           | 0.17 ± 0.08             | 0.08 ± 0.02            |
| 4    | 0.78 ± 0.15           | 0.24 ± 0.24             | 0.09 ± 0.01            |
| 6    | 0.87 ± 0.11           | 0.16 ± 0.01             | 0.09 ± 0.02            |
| 8    | 0.84 ± 0.04           | 0.20 ± 0.13             | 0.09 ± 0.02            |
| 10   | 0.84 ± 0.07           | 0.20 ± 0.07             | 0.08 ± 0.02            |
| 12   | 0.80 ± 0.03           | 0.24 ± 0.03             | 0.07 ± 0.02            |

## References

The reference lists must be **APA 6<sup>th</sup> Edition** referencing in **English only**.

Numeric referencing is as follows:

1. Put the number in the bracket [ ] at the end of message or author's name such as [1].
2. Put the continuous number started from 1. Any repeated list uses the same numbers.
3. All in-text citation must be in the reference lists based on the identified number in the bracket [ ].
4. Multi-citations for the same message:
  - 4.1 In case of not more than 2 lists, put the numbers of reference lists in numerical order using comma such as [1, 5].
  - 4.2 In case of more than 2 lists and those are continuous lists, use hyphen (-) such as [1-3], [1-5].
  - 4.3 In case of more than 2 lists and those are continuous and discontinuous lists, put comma (,) and hyphen (-) such as [1, 4-5].

## In-text Citation

Identify number in the bracket “[ ]” at the end of message in sequences.

### Example

1. Use of some chemical fertilizers or single fertilizers in too long length, which affect the lack of plant nutrition [1]...
2. Scherer [2] reported that...
3. and it also causes imbalance of plant nutrition in the soil [3-4]...

## Referencing

Start the list with surname of the author, abbreviation of middle name (if any), and first name respectively, for example, Kessaratikoon, P., Choosiri, N., & Boonkrongcheep, R.

### 1) Books

Name of author/(year).//*Book Title*.//publication place:/:press.

#### **Example**

- [1] Havlin, J. L., Beaton, J. D., Tisdale, S. L., & Nelson, W. L. (2005). *Soil Fertility and Fertilizers: an Introduction to Nutrient Management*. New Jersey: Pearson Education, Inc.,

Name of author/(year).// *Book Title* (edition).//publication place:/:press.

#### **Example**

- [2] Satirajinda, M. (2000). *Iron & Steel Heat Treatment Engineering* (7<sup>th</sup> Ed). Bangkok: The Engineering Institute of Thailand under His Majesty the King's Patronage.

## 2) Research Articles

Author's name/(year).// Title of Article./Journal, // volume/(issue),/page number.

### Example

- [3] Keereekoch, T., Srisuwan, T., Patimin, S., Khunphan, R., Yayaman, A., Dinteb, H., & Subhadhirasakul, S. (2016). Effects of Steam Sterilization and Potassium Permanganate Soak on Microbial Load and Quality of Ginger Powder. *Thaksin University Journal*, 19(2), 9-21.

## 3) Proceeding Articles

Author's name/(year).//Title of Article.//In/Conference's Name./page//date/month/year,/ Conference venue//place://press.

### Example

- [4] Boonkrongcheep, R., Maeha, A., & Kessaratikoon, P. (2016). Measurement and Analysis of Specific Activities of Natural Radionuclides ( $^{40}\text{K}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  and  $^{232}\text{Th}$ ) in Thai Rice Bag Samples. In *The 24<sup>th</sup> Thaksin University National Academic Conference*, 18. May 21-24, 2016, The 60<sup>th</sup> Anniversary of His Majesty the King's Accession to the Throne International Convention Center. Songkhla: Thaksin University.

## 4) Book Chapter

Author's name/ (year).//Title of Chapter.//In/Editors (if any).//Name of Book./page number// publication place://press.

### Example

- [5] Lawrence, J. A., & Dodds, A. E. (2003). Goal-Directed Activities and Life-Span Development. In J. Valsiner & K. Connolly (Eds.). *Handbook of Developmental Psychology*. 517-533. London, England: Sage Publications.

## 5) Articles in the Newspaper

Author's name/(year,date).//Title of Article.//Name of Newspaper.//page number.

### Example

- [6] Schultz, S. (2005, December 28). "Calls Made to Strengthen State Energy Policies. *The Country Today*. 1A, 2A.

## 6) Thesis

Researcher's name/(year).//Thesis Title.//level of study/degree//publication place://institution.

### Example

- [7] Paungfoo, C. (2003). *Use of Molecular Biology Techniques in Studying the Nitrifying Bacteria Community from Shrimp Farming System*. Doctoral Dissertation. Prince of Songkla University.

## 7) Information from the Internet

Use the general form of citation following by website; for example, the author borrows the ideas from a book on the website, so the reference list consists of the name of author, year of publication, book title, and publication place. Another information should be added: searching date and URL – Retrieved + date + from URL

Author's name/(year).//Title (Online).//publication place/:/press./Retrieve ...from http://www.....

### Example

- [8] Department of Foreign Trade. (2012). *The Situation of Sawn Rubber Wood Thailand* (Online). Retrieved 3 August 2016, from <http://www.dft.go.th/en-us/Information-Service/PR-Materials/ctl/DetailUserContent/mid/660/conternted/4252>.

## 8) List of Interviewees

Name of interviewee/position,/interviewing place,/interviewing date/interview.

### Example

- [9] Pardee, H. N. Professor of Economics and Political Science, University of California. 2000, November 8, Interview.

## 9) Patent

Name of patent register/(year)./Name of Invention. country. patent number.

### Example

- [10] Jansun, E. *et. al.* (2015). *Kit for Gold Nanoparticles Synthesis from Gold-Leaf*. Thailand. No. 1303000492.

## 10) Articles with Digital Object Identifier (DOI) or Database's Unique Identifier (If it is presented on the first page of article.)

Surname. Name.//year).// Title of Article. *Journal*./Volume/(Issue)/page. DOI.

### Example

- [11] Noojeensang, K., & Waewsak, J. (2016). Assessment of Sea Wave Power Potential in the Gulf of Thailand Using Simulating Wave Nearshore (SWAN). *Thaksin University Journal*, 19(1), 12-20. DOI: 10.14456/tsuj.2016.2.



## Membership Application Form

### Thaksin University Journal and Parichart Journal

Date of Application.....

Membership No.....

(Staff Only)

#### Membership Type(s):

##### 1) Personal

(Mr./Mrs./Miss).....

##### 2) Institution/Organization.....

Postal Address: ..... Sub-district.....

District..... Province..... Postal Code.....

Tel..... Fax No. .... E-mail.....

☐ **Thaksin University Journal**

This journal publishes research and academic articles in the field of multidisciplinary of sciences and technology.

☐ **Parichart Journal**

This journal publishes research and academic articles in the field of arts, humanities, and social sciences, economics, eco-metrics, and finance.

This is a biannual publication (January-June and July-December).

| Membership Fee of Thaksin University Journal and Parichart Journal |                          |                                  |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| No.                                                                | Types of Membership      | Baht/year                        |
| 1                                                                  | Personal                 | 200 Baht/ 10 US Dollars per year |
| 2                                                                  | Institution/Organization | 500 Baht/ 20 US Dollars per year |

I would like to apply for membership of the journal for .....year(s), I have already paid for the membership fee.....Baht (.....) via **Siam Commercial Bank** account:

☐ Account Name: **Thaksin University Journal** Account No.: **408-197495-9** Branch: **Thaksin University (Phatthalung)**

I also sent the payment slip to the Journal Editor via **tsujournal@gmail.com**.

☐ Account Name: **Parichart Journal** Account No.: **408-197718-5** Branch: **Thaksin University (Phatthalung)**

I also sent the payment slip to the Journal Editor via **parichartjournal@gmail.com**.

**Contact:** Thaksin University and Parichart Journal Management Division

Research and Development Institute, Thaksin University, Phatthalung Campus

222 Moo. 2, Baan Prao Sub-district, Papayom District, Phatthalung, Thailand

93210 Tel. 0-7460-9600 ext. 7242, 081-5407304 Fax No. 0-7460-9654-5

(Signed).....

(.....)

Position.....

...../...../.....



สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ  
222 หมู่ 2 ต.บ้านพร้าว อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93210  
โทรศัพท์ 0-7460-9600 ต่อ 7242 โทรศัพท์/โทรสาร 0-7460-9655  
E-mail Address : tsujournal@gmail.com, research.tsu@gmail.com