



วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ THE JOURNAL OF APPLIED SCIENCE

ISSN 1513-7805 [Print] ISSN 2586-9663 [Online]

ปีที่ 18 ฉบับที่ 2 [2562] Vol.18, No. 2 [2019]



ASEAN
CITATION
INDEX



บทความวิจัย

หน้า

1. A new variance estimator for unequal probability sampling without replacement in the presence of non-response 1
2. Parameter estimation methods in multiple linear regression analysis with intraclass correlation and heavy-tailed distributed data 11
3. การคัดแยกและเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตไฮโดรเจนจากคลองแสนแสบ
Isolation and cultivation of H₂-producing cyanobacteria from Sansab canal 22
4. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความเป็นพิษของถ่านกัมมันต์และเปลือกไข่ในการกำจัดสีย้อมเมทิลีนบลู
Comparison of the efficiency and cytotoxicity of activated carbon and eggshell adsorbent in removal of methylene blue dye 39
5. การดูดซับสีเมทิลีนบลูด้วยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และ ซีโอไลต์มาตรฐาน 4A
Adsorption of methylene blue dye by synthetic zeolite Na-A and standard zeolite 4A 51
6. ผลของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองและสมุนไพรต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จาจอพื้นเมืองสาละ
Effect of native rice species and herbs on quality of local Jajo halal product 64
7. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ และอายุที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยว
Antioxidant capacity in different cultivars of sunflower sprouts and their harvesting indices 79
8. การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดน้ำมันและบีตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด
Determination of optimum extraction condition for edible oil and β -carotene from carrot peel (*Daucus carota* L.)
using supercritical carbon dioxide 97

บทความวิชาการ

9. สมบัติวิทยากระแสของการทดสอบการไหลยืดดึง 116
Rheology properties of elongational flow experiments

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

และจะต้องเป็นผู้รับผิดชอบต่อผลทางกฎหมายใด ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นจากบทความนั้น”

Research Article

A new variance estimator for unequal probability sampling without replacement in the presence of non-response

Nuanpan Lawson^{1*} and Chugiat Ponkaew¹

¹Department of Applied Statistics, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok 10800, Thailand

*E-mail: nuanpan.n@sci.kmutnb.ac.th

Received: 13/05/2019; Revised: 17/06/2019; Accepted: 22/07/2019

Abstract

A new variance estimator for estimating the population total has been proposed under unequal probability sampling without replacement in the presence of nonresponse. The new variance estimator does not require the joint inclusion probability in the estimation under the reverse framework where the sampling fraction is negligible and equal response probabilities for all units. The efficiency of the new estimator is compared with the existing estimators via a simulation study.

Keywords: variance estimator, response probabilities, reverse framework, joint inclusion probability

Introduction

Lack of complete information in sample surveys effects planning, decision making in business and industry. Ignoring missing data can lead to bias in estimation and may lead to incorrect conclusions by drawing the results based on available incomplete data. In the case of full response, Horvitz & Thompson (1952) proposed a well-known population total estimator for unequal probability sampling without replacement. The Horvitz & Thompson's estimator (1952) is given by,

$$\hat{Y}_{HT} = \sum_{i \in s} \frac{y_i}{\pi_i}, \quad (1)$$

where π_i is the first order inclusion probability of unit i in sample s , $\pi_i = P(i \in s)$.

The variance estimator of $\hat{Y}_{HT}$, $\hat{V}(\hat{Y}_{HT})$ is given by,

$$\hat{V}(\hat{Y}_{HT}) = \sum_{i \in s} \left(\frac{1 - \pi_i}{\pi_i^2} \right) y_i^2 + \sum_{i \in s} \sum_{j \in s, j \neq i} \left(\frac{\pi_{ij} - \pi_i \pi_j}{\pi_{ij} \pi_i \pi_j} \right) y_i y_j, \quad (2)$$

where π_{ij} is the joint inclusion probability of units i and j in s of sample size n , $\pi_{ij} = P(i, j \in s)$. The joint inclusion probability is not always known and therefore later Hájek (1981) suggested an asymptotic approach to estimate the joint inclusion probability of the

variance of the population total estimator. However, Berger (1998) stated that the Hájek approach can be used to estimate the value of π_{ij} only for high entropy sampling and it requires π_i for all $i \in U$.

When nonresponse occurs, Särndal & Lundström (2005) proposed a new population total estimator created by adjusting the Horvitz & Thompson estimator using the inverse of the response probability under a two-phase framework. The estimated value of the variance of the new estimator was also proposed. However, the joint inclusion probabilities are usually unknown in practice. The Särndal & Lundström estimator is given by,

$$\hat{Y}_{SL} = \sum_{i \in S} \frac{r_i Y_i}{\pi_i p_i}, \quad (3)$$

where r_i is the response indicator variable of y_i and p_i is the response probability.

The variance of $\hat{Y}_{SL}$, $V(\hat{Y}_{SL})$ is given by,

$$V(\hat{Y}_{SL}) = \frac{1}{2} \sum_{i \in U} \sum_{j \in U, j \neq i} (\pi_i \pi_j - \pi_{ij}) \left(\frac{y_i}{\pi_i} - \frac{y_j}{\pi_j} \right)^2 + \sum_i \frac{y_i^2}{\pi_i} \left(\frac{1}{p_i} - 1 \right). \quad (4)$$

Lawson (2017) proposed a new estimator for estimating the population total along with a variance estimator for estimating the population total under unequal probability sampling with replacement when nonresponse occurs. A Taylor series is considered for estimating the variance of the population total estimator under the reverse framework when the response probabilities are uniform, $p_i = p$ for all units i in the population U and negligible sampling fraction. The response probabilities are not required to estimate variance in the Lawson's estimator. The Lawson (2017) estimator for estimating the population total is given by,

$$\hat{Y}_{NR} = N \hat{\bar{Y}}_{NR} = N \sum_{i \in S} \frac{r_i Y_i}{\pi_i} \bigg/ \sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i}, \quad (5)$$

where $\hat{\bar{Y}}_{NR} = \sum_{i \in S} \frac{r_i Y_i}{\pi_i} \bigg/ \sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i}$.

The variance of $\hat{Y}_{NR}$ is given by,

$$\begin{aligned} V(\hat{Y}_{NR}) &\approx n \sum_{i \in U} E_R(o_i^2) p_i - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in U} E_R(o_i) p_i \right)^2 \\ &= \frac{n}{p} \sum_{i \in U} \frac{1}{2} (y_i - \bar{y})^2 p_i - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in U} \frac{1}{\pi_i} (y_i - \bar{y}) p_i \right)^2, \end{aligned} \quad (6)$$

where $o_i = \frac{N}{\sum_{i \in U} r_i} \frac{r_i}{\pi_i} (y_i - \bar{y}_{NR})$, $\bar{y}_{NR} = \frac{\sum_{i \in U} r_i y_i}{\sum_{i \in U} r_i}$, $E_R(\cdot)$ is the expectation operator respect to nonresponse mechanism and P_i is the probability of the selection of unit i th in the population at any given time and it is defined by, $P_i = \frac{k_i}{K}$, where $K = \sum_{i \in U} k_i$.

The estimated variance of $\hat{y}_{NR}$ is defined by,

$$\begin{aligned} \hat{V}(\hat{y}_{NR}) &\approx \frac{n}{n-1} \left[\sum_{i \in S} \hat{o}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} \hat{o}_i \right)^2 \right], \\ &= \frac{N^2}{\left(\sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i} \right)^2} \frac{n}{n-1} \sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i^2} \left(y_i - \hat{y}_{NR} \right)^2, \end{aligned} \quad (7)$$

where $\hat{o}_i = \frac{N}{\sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i}} \frac{r_i}{\pi_i} (y_i - \hat{y}_{NR})$.

Recently Ponkaew & Lawson (2019) proposed a new variance estimator for estimating population total following Särndal & Lundström (2005) in the presence of nonresponse under unequal probability sampling without replacement under a reverse framework. The Ponkaew & Lawson (2019) estimator is a linear estimator defined by,

$$\hat{y}_r^{(1)} = \sum_{i \in S} \frac{r_i y_i}{\pi_i p}. \quad (8)$$

The estimated variance of the Ponkaew & Lawson (2019) estimator is considered in two situations where p is known and where p is unknown. The estimated value of the Ponkaew & Lawson (2019) variance estimators are defined by,

$$\hat{V}(\hat{y}_r^{(1)}) = \frac{1}{p^2} \left[\sum_{i \in S} \frac{(1-\pi_i)}{\pi_i^2} r_i y_i^2 + \sum_{i \in S} \sum_{j \in S, j \neq i} \tilde{D}_{ij} r_i r_j y_i y_j \right], \quad (9)$$

$$\hat{V}(\hat{y}_r^{(1)}) = \left(\frac{\sum_{i \in S} \frac{1}{\pi_i}}{\sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i}} \right)^2 \left[\sum_{i \in S} \frac{(1-\pi_i)}{\pi_i^2} r_i y_i^2 + \sum_{i \in S} \sum_{j \in S, j \neq i} \tilde{D}_{ij} r_i r_j y_i y_j \right], \quad (10)$$

where $\tilde{D}_{ij} = \frac{D_{ij}}{\pi_{ij}} = \frac{\pi_{ij} - \pi_i \pi_j}{\pi_{ij} \pi_i \pi_j}$.

However, the Ponkaew & Lawson (2019) estimator requires that the joint inclusion probabilities π_{ij} which are usually unknown in practice, be known (Berger, 2003).

In this paper, a new variance of the population total estimator under unequal probability sampling without replacement is proposed following Lawson (2017) by using an idea of Ponkaew & Lawson (2019). The proposed variance estimator does not require that the joint inclusion probabilities under the reverse framework when the response probabilities are uniform and sampling fraction is negligible to be known. A simulation study will be used to compare the efficiency of the new estimator against the existing estimators.

Methods

Suppose that a sample s of size n is selected with a probability proportional to size sampling without replacement (PPSWOR) from a finite population $U = \{1, 2, \dots, N\}$ of size N . Let $Y = \sum_{i \in U} y_i$ be the population total of study variable y . Let r_i denote the response indicator variable of y_i where r_i is equal to 1 if y_i is observed; otherwise $r_i = 0$ and let p_i denote the response probability, $p_i = P(r_i = 1)$. Let $\hat{Y} = \sum_{i \in s} o_i$ denote the population total estimator where o_i is the function of y_i , $o_i = f(y_i)$.

Under the reverse framework with unequal probability sampling with replacement when the response probabilities are uniform and the sampling fraction is negligible, Lawson (2017) showed that the variance of $\hat{Y} = \sum_{i \in s} o_i$, $V(\hat{Y})$ is defined by,

$$V(\hat{Y}) \approx E_R V_S \left(\sum_{i \in s} o_i \middle| \mathbf{R} \right) \approx n \sum_{i \in U} E_R(o_i^2) P_i - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in U} E_R(o_i) P_i \right)^2, \quad (11)$$

where $o_i = f(y_i)$, $P_i = \frac{k_i}{\sum_{i \in U} k_i}$, k_i is the size variable, $\mathbf{R} = (r_1, r_2, \dots, r_N)'$ and $E_R V_S(\cdot)$ is the expectation of variance operator respect to nonresponse mechanism and sampling design respectively.

Lawson (2017) proposed a new variance estimator for estimating the population total, $V(\hat{Y})$ is defined as follows.

$$\hat{V}(\hat{Y}) \approx \frac{n}{n-1} \left[\sum_{i \in s} \hat{o}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in s} \hat{o}_i \right)^2 \right], \quad (12)$$

where $\hat{o}_i$ is the estimator of o_i when o_i contains an unknown parameter and where otherwise $\hat{o}_i = o_i$.

The Ponkaew & Lawson (2019) variance estimator requires π_{ij} in the estimation. We can see that the Lawson's (2017) estimator in equation (12) does not require π_{ij} . In this section, we propose a new variance estimator following Lawson (2017) using Ponkaew & Lawson's (2019) estimator under PPSWOR when the sampling fraction is negligible. The new variance estimator does not require the joint inclusion. The details are shown as follows.

From the Ponkaew & Lawson (2019) estimator in equation (8) we can write $\hat{Y}_r^{(1)}$ in the following form.

$$\hat{Y}_r^{(1)} = \sum_{i \in S} \frac{r_i Y_i}{\pi_i p} = \sum_{i \in S} o_i, \quad (13)$$

where $o_i = f(Y_i) = \frac{r_i Y_i}{\pi_i p}$.

The variance of $\hat{Y}_r^{(1)}$, $V(\hat{Y}_r^{(1)})$ is defined by,

$$V(\hat{Y}_r^{(1)}) \approx E_R V_S \left(\hat{Y}_r^{(1)} \middle| R \right) = E_R V_S \left(\sum_{i \in S} o_i \middle| R \right). \quad (14)$$

Following Lawson (2017), $V(\hat{Y}_r^{(1)})$ in equation (14) is given by,

$$V(\hat{Y}_r^{(1)}) \approx n \sum_{i \in U} E_R(o_i^2) P_i - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in U} E_R(o_i) P_i \right)^2, \quad (15)$$

where $o_i = f(Y_i) = \frac{r_i Y_i}{\pi_i p}$ and $P_i = \frac{k_i}{\sum_{i \in U} k_i}$.

Consider $E_R(o_i)$ and $E_R(o_i^2)$ in equation (15),

$$E_R(o_i) = E_R \left(\frac{r_i Y_i}{\pi_i p} \right) = \frac{Y_i E_R(r_i)}{\pi_i p} = \frac{Y_i p}{\pi_i p} = \frac{Y_i}{\pi_i}. \quad (16)$$

Let $o_i^2 = \frac{r_i^2 Y_i^2}{\pi_i^2 p^2}$, $r_i^2 = r_i$. Then

$$E_R(o_i^2) = E_R \left(\frac{r_i^2 Y_i^2}{\pi_i^2 p^2} \right) = \frac{Y_i^2}{\pi_i^2 p}. \quad (17)$$

Substitute $E_R(o_i)$ in (16) and $E_R(o_i^2)$ in (17) into (15), a new variance estimator is given by,

$$V(\hat{Y}_r^{(1)}) \approx n \sum_{i \in U} \frac{Y_i^2}{p \pi_i^2} P_i - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in U} \frac{Y_i}{\pi_i} P_i \right)^2 = \frac{n}{p} \sum_{i \in U} \tilde{Y}_i^2 P_i - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in U} \tilde{Y}_i P_i \right)^2, \quad (18)$$

where $\tilde{Y}_i = \frac{Y_i}{\pi_i}$.

The estimator of $V(\hat{Y}_r^{(1)})$ is shown in (19).

$$\hat{V}(\hat{Y}_r^{(1)}) \approx \frac{n}{n-1} \left[\sum_{i \in S} \hat{o}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} \hat{o}_i \right)^2 \right], \quad (19)$$

where $\hat{o}_i = o_i = \frac{r_i Y_i}{\pi_i p}$ when p is known and $\hat{o}_i = \frac{r_i Y_i}{\pi_i \hat{p}}$ when p is unknown. Then we are able to

estimate p by $\hat{p} = \frac{r}{n}$ or $\hat{p} = \sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i} / \sum_{i \in S} \frac{1}{\pi_i}$ (Shao & Steel, 1999).

We can omit the term $n/(n-1)$ in equation (19) when it is closer to 1, then we can write $\hat{V}(\hat{Y}_r^{(1)})$ in the following form.

$$\hat{V}(\hat{Y}_r^{(1)}) \approx \sum_{i \in S} \hat{o}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} \hat{o}_i \right)^2. \quad (20)$$

We can write the proposed variance estimator in Theorem 1 as follows.

Theorem 1 Suppose that a sample s of size n is selected with probability proportional to size sampling without replacement (PPSWOR) from a finite population $U = \{1, 2, \dots, N\}$ of size N . Let $\hat{Y}_r^{(1)}$ denote the population total estimator under the reverse framework when the response probabilities are uniform and sampling fraction is negligible.

(1) Assume that p is known, the estimated variance of $\hat{Y}_r^{(1)}$ is defined by,

$$\begin{aligned} \hat{V}_1(\hat{Y}_r^{(1)}) &\approx \frac{n}{n-1} \frac{1}{p^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right], \\ \hat{V}_2(\hat{Y}_r^{(1)}) &\approx \frac{1}{p^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right], \text{ when } \frac{n}{n-1} \approx 1, \end{aligned}$$

where $\tilde{y}_i = \frac{y_i}{\pi_i}$.

(2) Assume that p is unknown, the estimated variance of $\hat{Y}_r^{(1)}$ is defined by,

$$\begin{aligned} \hat{V}_3(\hat{Y}_r^{(1)}) &\approx \frac{n}{n-1} \frac{1}{\hat{p}^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right], \quad \hat{p} = \frac{r}{n}, \\ \hat{V}_4(\hat{Y}_r^{(1)}) &\approx \frac{1}{\hat{p}^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right], \quad \hat{p} = \frac{r}{n} \text{ and } \frac{n}{n-1} \approx 1. \\ \hat{V}_5(\hat{Y}_r^{(1)}) &\approx \frac{n}{n-1} \frac{1}{\hat{p}^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right], \quad \hat{p} = \sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i} / \sum_{i \in S} \frac{1}{\pi_i}, \\ \hat{V}_6(\hat{Y}_r^{(1)}) &\approx \frac{1}{\hat{p}^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right], \quad \hat{p} = \sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i} / \sum_{i \in S} \frac{1}{\pi_i} \text{ and } \frac{n}{n-1} \approx 1, \end{aligned}$$

where $\tilde{y}_i = \frac{y_i}{\pi_i}$.

Proof

(1) Assume that p is known,

Substitute $\hat{o}_i = o_i = \frac{r_i y_i}{\pi_i p}$ into (19), we can write $\hat{V}(\hat{Y}_r^{(1)})$ with $\hat{V}_1(\hat{Y}_r^{(1)})$

$$\begin{aligned} \hat{V}_1(\hat{Y}_r^{(1)}) &\approx \frac{n}{n-1} \left[\sum_{i \in S} \left(\frac{r_i y_i}{\pi_i p} \right)^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} \frac{r_i y_i}{\pi_i p} \right)^2 \right] \\ &= \frac{n}{n-1} \frac{1}{p^2} \left[\sum_{i \in S} \frac{r_i y_i^2}{\pi_i^2} - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} \frac{r_i y_i}{\pi_i} \right)^2 \right] \\ &= \frac{n}{n-1} \frac{1}{p^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right]. \end{aligned}$$

Then

$$\hat{V}_1(\hat{Y}_r^{(1)}) \approx \frac{n}{n-1} \frac{1}{\rho^2} \left[\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i \in S} r_i \tilde{y}_i \right)^2 \right], \quad (21)$$

where $\tilde{y}_i = \frac{y_i}{\pi_i}$. We can find $\hat{V}_2(\hat{Y}_r^{(1)})$ by replacing $\frac{n}{n-1}$ in (21) with 1.

(2) Assume that ρ is unknown, the proof is similar to (1).

Note that when $n > 2$ then $n > n-1$ and $\frac{n}{n-1} > 1$. When ρ is known then $\hat{V}_2(\hat{Y}_r^{(1)}) < \hat{V}_1(\hat{Y}_r^{(1)})$ and when ρ is unknown then $\hat{V}_4(\hat{Y}_r^{(1)}) < \hat{V}_3(\hat{Y}_r^{(1)})$ and $\hat{V}_6(\hat{Y}_r^{(1)}) < \hat{V}_5(\hat{Y}_r^{(1)})$.

Results and discussion

A simulation study has been conducted to see the performance of the new variance estimator compared to the Ponkaew & Lawson (2019) estimator. In both situations; ρ is known and ρ is unknown, however Ponkaew & Lawson's (2019) estimator requires π_{ij} which is usually unknown in unequal probability sampling therefore we can apply the Hájek (1981) method to estimate unknown π_{ij} when π_i is known for all $i \in U$, the estimated value of π_{ij} is given by,

$$\hat{\pi}_{ij} \approx \pi_i \pi_j [1 - (1 - \pi_i)(1 - \pi_j)d^{-1}], \quad (22)$$

where $d = \sum_{i \in U} \pi_i (1 - \pi_i)$.

Substitute $\hat{\pi}_{ij}$ from (22) into (9) and (10), then the Ponkaew & Lawson (2019) estimator is given by,

$$\hat{V}_{00}(\hat{Y}_r^{(1)}) = \frac{1}{\rho^2} \left[\sum_{i \in S} \frac{(1 - \pi_i)}{\pi_i^2} r_i y_i^2 + \sum_{i \in S} \sum_{j \in S \setminus \{i\}} \hat{D}_{ij} r_i r_j y_i y_j \right], \text{ when } \rho \text{ is known,} \quad (23)$$

$$\hat{V}_{01}(\hat{Y}_r^{(1)}) = \left(\frac{\sum_{i \in S} \frac{1}{\pi_i}}{\sum_{i \in S} \frac{r_i}{\pi_i}} \right)^2 \left[\sum_{i \in S} \frac{(1 - \pi_i)}{\pi_i^2} r_i y_i^2 + \sum_{i \in S} \sum_{j \in S \setminus \{i\}} \hat{D}_{ij} r_i r_j y_i y_j \right], \text{ when } \rho \text{ is unknown,} \quad (24)$$

where $\hat{D}_{ij} = \frac{\hat{\pi}_{ij} - \pi_i \pi_j}{\hat{\pi}_{ij} \pi_i \pi_j}$.

We compare the efficiency of the new estimator with the Ponkaew & Lawson (2019) estimator via simulation study using the relative bias as a criterion following Thompson et al. (2010) where $y_i = k_i' \beta + \varepsilon_i$. The simulation steps are shown as below.

Step 1 In order to generate y_i , we generate $k_i \sim \text{Gam}(4, 5)$, $\varepsilon_i \sim N(0, 0.7)$ and $\beta_0 = 0$, $\beta_1 = 1$, $i = 1, 2, \dots, N$ where $N = 10,000$.

Step 2 A samples s of size $n = 25, 30, 50, 100, 300$ and 500 is selected using Midzuno (1952) scheme.

Step 3 In each sampling and sample size n , nonresponse is generated using a uniform response mechanism with probabilities of response $p = 0.7$.

Step 4 Compute the new variance estimators and the existing estimators.

Step 5 Repeat steps (2) to (4) for 5,000 times ($M=5,000$).

Step 6 The simulation relative bias of the variance estimator $\hat{V}(Y_r^{(m)})$ is computed,

$$RB_{SIM}[\hat{V}(Y_r^{(m)})] = \frac{E_{SIM}[\hat{V}(Y_r^{(m)})] - V_{SIM}(Y_r^{(m)})}{V_{SIM}(Y_r^{(m)})} \text{ where } E_{SIM}[\hat{V}(Y_r^{(m)})] = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \hat{V}(Y_{r(j)}^{(m)}) \text{ is the simulated}$$

expectation of the variance estimator and $V_{SIM}(Y_r^{(m)}) = \frac{1}{M-1} \sum_{j=1}^M [\hat{V}(Y_{r(j)}^{(m)}) - E_{SIM}(Y_r^{(m)})]^2$ is the

simulated variance of the estimator $\hat{Y}_r^{(m)}$, $m=1,2$. $E_{SIM}(Y_r^{(m)})$ is defined by $E_{SIM}(Y_r^{(m)}) = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \hat{Y}_{r(j)}^{(m)}$.

The simulation relative bias for the new estimator and all other existing estimators are shown in Table 1 where p is known and in Table 2 where p is unknown.

Table 1. The simulation relative bias (%) of $\hat{V}(Y_r^{(m)})$ when p is known

n	Simulation Relative Bias (%)		
	$\hat{V}_{00}(\hat{Y}_r^{(1)})$	$\hat{V}_1(\hat{Y}_r^{(1)})$	$\hat{V}_2(\hat{Y}_r^{(1)})$
25	18.56	18.76	18.27
30	17.65	17.73	16.29
50	16.36	16.14	15.72
100	6.82	5.34	3.23
300	6.53	6.46	6.02
500	6.38	5.42	4.37

From Table 1 we can see that the new variance estimator, $\hat{V}_2(\hat{Y}_r^{(1)})$ when $n/(n-1)$ is omitted performs well when compared to the Ponkaew & Lawson(2019) estimator, $\hat{V}_{00}(\hat{Y}_r^{(1)})$ when p is known. The $\hat{V}_1(\hat{Y}_r^{(1)})$ also gives smaller percent relative bias when compared to $\hat{V}_{00}(\hat{Y}_r^{(1)})$ except for $n=25$ and $n=30$.

We can also see similar results in Table 2 when p is unknown. All new variance estimators perform well when compared to the Ponkaew & Lawson (2019) estimator when $n/(n-1)$ is omitted. Some new variance estimators only give slightly higher percent relative bias when compared to the existing estimator for $n=25$ and $n=30$. The variance estimators when p is unknown give higher simulation percent relative bias when compared to the variance estimators when p is known. Therefore, it is an alternative useful variance estimator with free joint inclusion probability.

Conclusions

An alternative variance estimator with free joint inclusion probability for estimating the population total has been proposed under unequal probability sampling without replacement in the presence of nonresponse. We considered it under the reverse framework where the sampling fraction is negligible and the response probabilities are uniform. A simulation study was employed to see the performance of the new variance estimators compared to the existing

estimators in both cases where p is known and where p is unknown. We can see that the new variance estimators performed well, especially when $n/(n-1)$ is omitted and only gives slightly higher percent relative bias when compared to the existing estimators when $n/(n-1)$ is not closed to one.

Table 2. The simulation relative bias (%) of $\hat{V}(Y_r^{(m)})$ when p is unknown

n	Simulation Relative Bias (%)				
	$\hat{V}_{01}(Y_r^{(1)})$	$\hat{V}_3(Y_r^{(1)})$	$\hat{V}_4(Y_r^{(1)})$	$\hat{V}_5(Y_r^{(1)})$	$\hat{V}_6(Y_r^{(1)})$
25	225.85	232.30	227.01	226.39	217.34
30	201.56	208.38	196.04	202.29	190.20
50	159.24	157.53	156.67	156.93	156.08
100	130.50	123.33	118.87	121.59	117.16
300	105.52	101.83	101.16	101.55	100.88
500	104.61	97.91	95.93	96.56	94.60

Acknowledgements

This work was funded by The Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Thailand. Contract no 6245103. We appreciate the unknown referees for their helpful comments and we would like to thank them for helping to improve our paper.

References

- Berger, Y. G. (1998). Rate of convergence for asymptotic variance for the Horvitz-Thompson estimator. *Journal of Statistical Planning and Inference*, 74(1), 149-168. doi: 10.1016/S0378-3758(98)00107-4
- Berger, Y. G. (2003). A modified Hájek variance estimator for systematic sampling. *Statistics in Transition*, 6(1), 5-21.
- Hájek, J. (1981). *Sampling from a Finite Population*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Horvitz, D. G. & Thompson D. J. (1952). A generalization of sampling without replacement from a finite universe. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 663-685. <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483446>
- Lawson, N. (2017). *Variance estimation in the presence of nonresponse under probability proportional to size sampling*. pp. 116-119. In the 6th Annual International Conference on Computational Mathematics, Computational Geometry & Statistics (CMCGS 2017) and 5th Annual International Conference on Operations Research and Statistics (ORS 2017), 6-7 March 2017, Hotel Fort Canning, Singapore. doi: 10.5176/2251-1911_CMCGS17.32
- Midzuno, H. (1952). On sampling system with probability proportional to sum of sizes. *Annals of the Institute of Statistical Mathematics*, 3, 99-107.
- Ponkaew, C. & Lawson, N. (2019). Estimating variance in the presence of nonresponse under unequal probability sampling. *Suranaree Journal of Science and Technology*. (In press)
- Särndal, C. E. & Lundström, S. (2005). *Estimation in Surveys with Nonresponse* (1st ed.). Chichester, England: John Wiley & Sons.

- Shao, J. & Steel, P. (1999). Variance estimation for survey data with composite imputation and nonnegligible sampling fractions. *Journal of the American Statistical Association*, *94*(445), 254-265. doi: 10.1080/01621459.1999.10473841
- Thompson, K. J., Yung, W. & Haziza, D. (2010). The effect of nonresponse adjustments on variance estimation. *Survey Methodology*, *36*(1), 35-43.

Research Article

Parameter estimation methods in multiple linear regression analysis with intraclass correlation and heavy-tailed distributed data

Katechan Jampachaisri^{1*} and Khanittha Tinochai¹

Department of Mathematics, Faculty of Science, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

*E-mail: katechanj@nu.ac.th

Received: 11/05/2019; Revised: 02/07/2019; Accepted: 26/07/2019

Abstract

The underlying assumptions play an important role in the linear regression analysis. Non-validity of assumptions can cause the estimators of regression coefficients no longer possessing the properties of best linear unbiased estimator (BLUE). This research focuses on parameter estimation in regression model when random errors are correlated with intraclass correlation and followed heavy-tailed distribution simultaneously. Alternative to searching for techniques to remedy the problem of violation, hierarchical Bayes approach is implemented to estimate model parameter, in which prior knowledge about parameters is incorporated to reduce the effect of violated assumptions. Its performance is then compared to the classical approach, maximum likelihood (ML), through Monte Carlo simulation. The study indicates that hierarchical Bayes with informative priors yields the estimators more efficient than ML.

Keywords: intraclass correlation, maximum likelihood, hierarchical Bayes, heavy-tailed distribution

Introduction

Multiple linear regression analysis is extensively used in many fields. Its assumptions about random error, independent and normally distributed with constant variance, are of importance for statistical inference, especially in estimation and hypothesis testing. The accuracy of parameter estimation plays a significant role in prediction. In practice, we occasionally encounter various problems when dealing with real world situations. Outliers or influential observations may lead to nonnormal distributed data or heteroscedasticity or both. Data, especially in science, business and economic area, are usually collected over time, causing the violation of independence among observations, called autocorrelation or serial correlation. Consequently, statistical inference based on the traditional least square estimators is not efficient and does not possess the property of best linear unbiased estimator (BLUE) (Montgomery et al., 2012). Furthermore, violating the underlying assumptions of a model also has the effect on established relationship. One structure of correlated random errors is called intraclass correlation. Intraclass correlation describes the same degree of relationship between observations. If this occurs, traditional statistical methods that assumes independence cannot be utilized, due to incorrect estimates of variance for parameter estimators and hence p-values.

Several techniques have been proposed to account for between-observation correlation in model parameter estimation. Paul (1990) introduced the estimate of intraclass correlation in

generalized linear model using the estimating equation approach which can be solved iteratively and then the model parameters were estimated using maximum likelihood method. The proposed method was also applied to familial data with multivariate normal distribution. Tanizaki (2003) compared the maximum likelihood estimator with Bayes estimator in linear regression with the presence of first-order autocorrelated errors in small samples. The results showed that Bayes approach provides less biased and more efficient estimator than maximum likelihood approach. Farrell & Ludwig (2008) considered parameter estimation in multilevel response time model based on maximum likelihood and Bayesian approaches, which assume to be ex-Gaussian error distribution. Babatunde et al. (2014) performed bootstrapping experiments to estimate parameters in regression model with autocorrelated errors. The study also revealed that the estimated parameters were affected by the levels of autocorrelation, leading to biased and inefficient estimators.

In addition to correlated error components, lots of studies have contributed to tackling non-normal data, especially in longer and heavier tail than normal distribution, such as t distribution. Ravi & Butar (2010) utilized the maximum likelihood method to estimate parameters in stock-market data based on heavy-tailed distribution. Nadarajah & Kotz (2008) provided a review of methods for estimation and simulation in multivariate t distributions. Lange et al. (1989) illustrated robust statistical inferences in general linear model with multivariate t distributed errors and applied to various data, using both linear and nonlinear regression. Fernandez & Steel (1999) considered the likelihood-based parameter estimations in multivariate linear regression model with independent Student- t distributed errors. Rahman & Khan (2007) demonstrated the use of Bayesian method to derive predictive distribution for multiple linear regression models when error components followed multivariate Student- t distribution.

Various techniques have been proposed to solve for violation of the underlying assumptions under formulated model in an attempts to improve the properties of parameter estimators. However, most studies usually focus on one problem at a time. Unfortunately, when one problem is remedied, another problem possibly occurs. Only a few of them have tackled several problems simultaneously. Ayinde et al. (2014) examined performances of four estimators; Ordinary Least Square (OLS), Cochrane-Orcutt (COR), Maximum Likelihood (ML) and Principal Component (PC) based estimators in linear regression model under related regressors and error terms for prediction. Instead of seeking remedial approaches, this research focuses on parameter estimation techniques that can mitigate non-validity of the underlying assumptions when random errors in regression model are simultaneously correlated and follow heavy-tailed distribution. We incorporate prior knowledge about parameters into estimation process using hierarchical Bayes approach. The result is then compared to the classical approach, maximum likelihood (ML). Bias, variance and mean square error of maximum likelihood and hierarchical Bayes estimators are examined through Monte Carlo simulations. Gibbs sampling is performed to obtain the parameter estimates due to computer-based process in hierarchical Bayes.

The outline of this paper is as follows. Multiple linear regression model with intraclass correlation is described in the next section, accompanying with parameter estimation methods, including maximum likelihood (ML) and hierarchical Bayes (HB), and Gibbs sampling procedure. Simulation result is provided in the third section. The conclusion is drawn in the final section.

Methods

1. Multiple linear regression model with intraclass correlation

Consider the multiple linear regression model

$$\underline{y} = X\underline{\beta} + \underline{\varepsilon}, \quad (1)$$

where $\underline{y}$ is an $n \times 1$ vector of response variables, X is an $n \times p$ matrix of regressors, $\underline{\beta}$ is a $p \times 1$ vector of the regression coefficients, and $\underline{\varepsilon}$ is an $n \times 1$ vector of random errors. The underlying assumption about $\underline{\varepsilon}$ is assumed to be independent and normally distributed with zero mean and constant variance, $\underline{\varepsilon} \sim N(\mathbf{0}, \sigma^2 \mathbf{I})$, where $\mathbf{I}$ is the $n \times n$ identity matrix.

Consider the form of intraclass correlation. Let $\Sigma = \sigma^2 \Omega$ be an $n \times n$ positive definite matrix, where Ω denotes an $n \times n$ intraclass correlation coefficient matrix (Donner & Bull, 1983; Press, 2005) and ρ denotes intraclass correlation coefficient, written as

$$\Sigma = \sigma^2 \Omega = \sigma^2 \begin{bmatrix} 1 & \rho & \cdots & \rho \\ \rho & 1 & \cdots & \rho \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \rho & \cdots & \cdots & 1 \end{bmatrix}, \quad (2)$$

where $-\frac{1}{n-1} < \rho \leq 1$.

Alternatively,

$$\Sigma = \sigma^2 \Omega = \sigma^2 [(1-\rho)I_n + \rho \underline{e}\underline{e}'],$$

where $\underline{e}$ is an $n \times 1$ vector one and I_n is the $n \times n$ identity matrix. The determinants of Ω and Σ are then obtained as following:

$$|\Omega| = (1-\rho)^{n-1} [1+(n-1)\rho],$$

and

$$|\Sigma| = \sigma^{2n} (1-\rho)^{n-1} [1+(n-1)\rho], \quad |\Sigma| > 0.$$

Also, the inverse matrices of Ω and Σ are

$$\begin{aligned} \Omega^{-1} &= \frac{I_n}{(1-\rho)} - \frac{\rho \underline{e}\underline{e}'}{(1-\rho)[1+(n-1)\rho]}, \\ \Sigma^{-1} &= \frac{I_n}{\sigma^2(1-\rho)} - \frac{\rho \underline{e}\underline{e}'}{\sigma^2(1-\rho)[1+(n-1)\rho]}. \end{aligned}$$

In this paper, we consider regression model when random errors are correlated and have heavy-tailed distribution. The errors in this case are assumed to follow multivariate t distribution, denoted as $\underline{\varepsilon} \sim t(\nu, \mathbf{0}, \Sigma)$, where $\Sigma = \sigma^2 \Omega$. Thus, the random variable $\underline{Y}$ also follows multivariate t distribution, $\underline{Y} \sim t(\nu, X\underline{\beta}, \Sigma)$.

Joint probability distribution function of $\underline{Y}$ can be expressed as

$$f(\underline{y} | \underline{\beta}, \sigma^2) = \frac{\Gamma\left(\frac{\nu+n}{2}\right)}{(\nu\pi\sigma^2)^{\frac{n}{2}} \Gamma\left(\frac{\nu}{2}\right) |\Omega|^{\frac{1}{2}}} \left[1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} (\underline{y} - X\underline{\beta})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\underline{\beta}) \right]^{-\frac{(\nu+n)}{2}}. \quad (3)$$

Since $(\underline{y} - X\underline{\beta})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\underline{\beta}) = (\underline{y} - X\hat{\underline{\beta}})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\hat{\underline{\beta}}) + (\hat{\underline{\beta}} - \underline{\beta})' X' \Omega^{-1} X (\hat{\underline{\beta}} - \underline{\beta})$, equation (3) can be rewritten as

$$f(\underline{y} | \underline{\beta}, \sigma^2) = \frac{\Gamma\left(\frac{\nu+n}{2}\right)}{(\nu\pi\sigma^2)^{\frac{n}{2}} \Gamma\left(\frac{\nu}{2}\right) |\Omega|^{\frac{1}{2}}} \left\{ 1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} \left[(\underline{y} - X\hat{\underline{\beta}})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\hat{\underline{\beta}}) + (\hat{\underline{\beta}} - \underline{\beta})' X' \Omega^{-1} X (\hat{\underline{\beta}} - \underline{\beta}) \right] \right\}^{-\frac{(\nu+n)}{2}}. \quad (4)$$

2. Maximum likelihood estimation (ML)

The principle of maximum likelihood method is to find the estimate values of parameters that most likely to occur by maximizing the likelihood function, which is a joint function of all parameters and observed values. In practice, the likelihood function is usually replaced by the log-likelihood function for convenient in calculation. The estimations of parameters $\underline{\beta}$ and σ^2 can be demonstrated as follow.

2.1 Estimation of parameter $\underline{\beta}$

Consider the likelihood function

$$\begin{aligned} L(\underline{\beta}, \sigma^2 | \underline{y}) &= \prod_{i=1}^n f(y_i | \underline{\beta}, \sigma^2) \\ &= \frac{\Gamma\left(\frac{\nu+n}{2}\right)}{(\nu\pi\sigma^2)^{\frac{n}{2}} \Gamma\left(\frac{\nu}{2}\right) |\Omega|^{\frac{1}{2}}} \left[1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} (\underline{y} - X\underline{\beta})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\underline{\beta}) \right]^{-\frac{(\nu+n)}{2}}. \end{aligned}$$

Then, the log-likelihood function is

$$\ln L(\underline{\beta}) = \ln \Gamma\left(\frac{\nu+n}{2}\right) - \frac{n}{2} \ln \nu\pi\sigma^2 - \ln \Gamma\left(\frac{\nu}{2}\right) - \frac{1}{2} \ln |\Omega| - \frac{(\nu+n)}{2} \ln \left[1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} (\underline{y} - X\underline{\beta})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\underline{\beta}) \right].$$

Next, differentiate the log-likelihood function with respect to the parameter $\underline{\beta}$ and equate to zero, the maximum likelihood estimator of $\underline{\beta}$ is thus derived as

$$\hat{\beta} = (X' \Omega^{-1} X)^{-1} X' \Omega^{-1} y. \quad (5)$$

2.2 Estimation of parameter σ^2

Similarly, differentiate the log-likelihood function with respect to the parameter σ^2 and equate to zero, the maximum likelihood estimator of σ^2 , after replacing β with $\hat{\beta}$, is resulted as.

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{1}{n} (y - X \hat{\beta})' \Omega^{-1} (y - X \hat{\beta}). \quad (6)$$

3. Hierarchical Bayes estimation (HB)

Parameter estimation with classical approach, such as least squares method or maximum likelihood method, considers a known probability density function consisting of constant, but unknown parameters, while Bayesian approach consider parameters as random variables with some probability density function, called prior distribution. The form of prior distribution is defined by its own parameters, called hyperparameters. Hierarchical Bayes approach (Gill, 2008) is involved when the form of probability density function of hyperparameters are known. Let $Y_1, Y_2, \dots, Y_n$ be random samples from a population with probability density function $f(y; \theta) = f(y | \theta)$, where parameter θ is a value of random variable Θ and $f(y_i | \theta)$ is a conditional density function of random variable Y when defined $\Theta = \theta$. Let $h(\theta | Y_1, Y_2, \dots, Y_n)$ be a conditional density function of random variable Θ given the observed values $Y_1, Y_2, \dots, Y_n$. Suppose $Y_1 = y_1, Y_2 = y_2, \dots, Y_n = y_n$ then $h(\theta | y)$ is the posterior density function. $\pi(\theta)$ is a prior density function of Θ . For continuous random variable Θ , the posterior density function can be derived as following.

$$h(\theta | y) = \frac{L(\theta) \cdot \pi(\theta)}{\int_{\theta} L(\theta) \cdot \pi(\theta) d\theta} \propto L(\theta) \cdot \pi(\theta). \quad (7)$$

Likewise, the integral sign in equation (7) can be replaced by summation to obtain the posterior density function for discrete random variable Θ .

In this research, the derivation of parameter estimators is divided into two cases as follows.

3.1 Noninformative priors for β and σ^2

Assuming independent noninformative priors for both β and σ^2 as $\pi(\beta) \propto c$, where c is constant, and $\pi(\sigma^2) \propto \frac{1}{\sigma^2}$.

Consider the joint posterior density functions of β and σ^2

$$h(\beta, \sigma^2 | y) \propto \frac{\Gamma\left(\frac{\nu+n}{2}\right)}{(\nu\pi\sigma^2)^{\frac{n}{2}} \Gamma\left(\frac{\nu}{2}\right) |\Omega|^{\frac{1}{2}}} \times \left\{ 1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} \left[(\underline{y} - X\hat{\beta})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\hat{\beta}) + (\hat{\beta} - \underline{\beta})' X' \Omega^{-1} X (\hat{\beta} - \underline{\beta}) \right] \right\}^{-\frac{(\nu+n)}{2}}. \quad (8)$$

Then, the full conditional posterior density function of β with squared error loss function is obtained as

$$h_1(\beta | \sigma^2, y) \propto \left\{ 1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} (\underline{y} - X\hat{\beta})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\hat{\beta}) + \frac{1}{\nu} (\hat{\beta} - \underline{\beta})' \left(\left(\frac{X' \Omega^{-1} X}{\sigma^2} \right)^{-1} \right) (\hat{\beta} - \underline{\beta}) \right\}^{-\frac{(\nu+n)}{2}}.$$

Thus, the posterior density of parameter β is resulted as multivariate t distribution

$$\beta | \sigma^2, Y \sim t \left(\nu, \hat{\beta}, \left(\frac{X' \Omega^{-1} X}{\sigma^2} \right)^{-1} \right). \quad (9)$$

Solving the joint posterior density functions of β and σ^2 in equation (8), then we obtain the full conditional posterior density function of σ^2 as

$$h_2(\sigma^2 | \beta, y) \propto \frac{1}{(\sigma^2)^{\frac{n}{2}}} \times \left\{ 1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} \left[(\underline{y} - X\hat{\beta})' \Omega^{-1} (\underline{y} - X\hat{\beta}) + (\hat{\beta} - \underline{\beta})' X' \Omega^{-1} X (\hat{\beta} - \underline{\beta}) \right] \right\}^{-\frac{(\nu+n)}{2}}. \quad (10)$$

Since, the full conditional posterior density function of σ^2 is complicated and cannot rearrange into a known closed form. Hence, numerical procedure, such as Gibbs sampling, is applied to find the estimate of parameter σ^2 .

3.2 Informative priors for β and σ^2

Suppose parameters β and σ^2 are independent and assume informative priors for β and σ^2 as follows. $\beta \sim N(\underline{\mu}, m\sigma^2 I_p)$, and hyperparameter $\underline{\mu} \sim N(\underline{\mu}_0, \nu_0 I_p)$, where m , $\underline{\mu}_0$ and ν_0 are known values. $\sigma^2 \sim IG(\alpha, \gamma)$ and hyperparameters α and γ are distributed as inverted gamma, $\alpha \sim IG(f_0, e_0)$ and $\gamma \sim IG(r_0, m_0)$, where f_0 , e_0 , r_0 and m_0 are known values.

The joint posterior density function of $\beta, \sigma^2, \mu, \alpha$ and γ are expressed as

$$h(\beta, \sigma^2, \mu, \alpha, \gamma | y) \propto \frac{\Gamma\left(\frac{\nu+n}{2}\right)}{(\nu\pi\sigma^2)^{\frac{n}{2}} \Gamma\left(\frac{\nu}{2}\right) |\Omega|^{\frac{1}{2}}} \times \left\{ 1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} \left[(y - X\hat{\beta})' \Omega^{-1} (y - X\hat{\beta}) + (\beta - \hat{\beta})' X' \Omega^{-1} X (\beta - \hat{\beta}) \right] \right\}^{-\frac{(\nu+n)}{2}} \\ \cdot \frac{1}{(2\pi m\sigma^2)^{\frac{p}{2}}} e^{-\frac{1}{2m\sigma^2}(\beta - \mu)'(\beta - \mu)} \times \frac{1}{(2\pi\nu_0)^{\frac{p}{2}}} e^{-\frac{1}{2\nu_0}(\mu - \mu_0)'(\mu - \mu_0)} \\ \cdot \frac{\gamma^\alpha}{\Gamma(\alpha)} (\sigma^2)^{-(\alpha+1)} e^{-\frac{\gamma}{\sigma^2}} \times \frac{e_0^{f_0}}{\Gamma(f_0)} (\alpha)^{-(f_0+1)} e^{-\frac{e_0}{\alpha}} \times \frac{m_0^{r_0}}{\Gamma(r_0)} (\gamma)^{-(r_0+1)} e^{-\frac{m_0}{\gamma}}.$$

Then, the full conditional posterior density function of β is obtained as

$$h_1(\beta | \sigma^2, \mu, \alpha, \gamma, y) \propto \left\{ 1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} \left[(y - X\hat{\beta})' \Omega^{-1} (y - X\hat{\beta}) + (\beta - \hat{\beta})' X' \Omega^{-1} X (\beta - \hat{\beta}) \right] \right\}^{-\frac{(\nu+n)}{2}} \\ \cdot e^{-\frac{1}{2m\sigma^2}(\beta - \mu)'(\beta - \mu)}, \quad (11)$$

and the full conditional posterior density function of σ^2 is

$$h_2(\sigma^2 | \beta, \mu, \alpha, \gamma, y) \propto \left\{ 1 + \frac{1}{\nu\sigma^2} \left[(y - X\hat{\beta})' \Omega^{-1} (y - X\hat{\beta}) + (\beta - \hat{\beta})' X' \Omega^{-1} X (\beta - \hat{\beta}) \right] \right\}^{-\frac{(\nu+n)}{2}} \\ \cdot \frac{1}{(\sigma^2)^{\frac{n+p}{2} + (\alpha+1)}} e^{-\frac{1}{\sigma^2}(\beta - \mu)'(\beta - \mu) - \frac{\gamma}{\sigma^2}}. \quad (12)$$

Next, the full conditional posterior density function of μ is yielded as

$$h_3(\mu | \beta, \sigma^2, \alpha, \gamma, y) \propto e^{-\frac{1}{2}(\mu - \hat{\mu})' A^{-1}(\mu - \hat{\mu})},$$

where $A^{-1} = \left(\frac{1}{m\sigma^2} + \frac{1}{\nu_0} \right)$ and $\tilde{\mu} = A \left(\frac{\beta}{m\sigma^2} + \frac{\mu_0}{\nu_0} \right)$.

Thus, the posterior distribution of μ follows normal distribution,

$$\mu | \beta, \sigma^2, \alpha, \gamma, \underline{Y} \sim N(\tilde{\mu}, A). \quad (13)$$

Finally, full conditional posterior density functions of α, γ are resulted as

$$h_3(\alpha | \beta, \sigma^2, \gamma, \underline{y}) \propto \frac{1}{\Gamma(\alpha)} (\alpha)^{-(f_0+1)} e^{-\frac{e_0}{\alpha}} \gamma^\alpha (\sigma^2)^{-\alpha}, \quad (14)$$

$$h_4(\gamma | \beta, \sigma^2, \alpha, \underline{y}) \propto (\gamma)^{-(r_0+1-\alpha)} e^{-\frac{m_0}{\gamma} - \frac{\gamma}{\sigma^2}}. \quad (15)$$

Similar to noninformative priors, full conditional posterior density functions of β and σ^2 are complicated and cannot be simplified to an explicit form. To ease computation, Gibbs sampler is used to obtain the estimates of parameters by alternately generating parameters from marginal posterior distributions. With large enough sample, a sequence of simulated parameter which approximately follows a specified probability distribution is obtained and therefore its characteristics, such as mean and variance, can be estimated.

4 Gibbs Sampling Procedure

4.1 Gibbs sampler for noninformative priors

The estimates of parameters using hierarchical Bayes method with vague priors can obtain via Gibbs sampler as following steps.

- 1) Drawing $\beta^{(t+1)}$ from $\beta^{(t+1)} | \sigma^{2(t)}, \underline{y} \sim t \left(\nu, \hat{\beta}, \left(\frac{X' \Omega^{-1} X}{\sigma^{2(t)}} \right)^{-1} \right)$,
- 2) Drawing $(\sigma^2)^{(t+1)}$ from $\sigma^{2(t+1)} | \beta^{(t+1)}, \underline{y} \sim IG(0.01, 0.01)$.

4.2 Gibbs sampler for informative priors

The conditional posterior distribution of β and σ^2 are constructed according to the following steps.

- 1) Drawing $\beta^{(t+1)}$ from $\beta^{(t+1)} | \sigma^{2(t)}, \alpha^{(t)}, \gamma^{(t)}, \underline{y} \sim t(\nu, \mu, \sigma^{2(t)})$, where $\mu \sim N(\mu_0, \nu_0)$ and $\sigma^{2(t)} \sim IG(\alpha, \gamma)$,
- 2) Drawing $\sigma^{2(t+1)}$ from $\sigma^{2(t+1)} | \beta^{(t+1)}, \alpha^{(t)}, \gamma^{(t)}, \underline{y} \sim IG(\alpha, \gamma)$, where $\alpha \sim IG(f_0, e_0)$ and $\gamma \sim IG(r_0, m_0)$,
- 3) Drawing $\mu^{(t+1)}$ from $\mu^{(t+1)} | \beta^{(t+1)}, \sigma^{2(t+1)}, \underline{y} \sim N(\tilde{\mu}, A)$, where

$$A^{-1} = \left(\frac{1}{m(\sigma^2)^{(t+1)}} + \frac{1}{V_0} \right) \text{ and } \tilde{\mu} = A \left(\frac{\beta^{(t+1)}}{m(\sigma^2)^{(t+1)}} + \frac{\mu_0}{V_0} \right),$$

- 4) Drawing $\alpha^{(t+1)}$ from $\alpha^{(t+1)} | \beta^{(t+1)}, \sigma^{2(t+1)}, \mu^{(t+1)}, \gamma^{(t)}, y \sim IG(f_0, e_0)$, where
 $f_0 = 0.01, e_0 = 0.01$,
- 5) Drawing $\gamma^{(t+1)}$ from $\gamma^{(t+1)} | \beta^{(t+1)}, \sigma^{2(t+1)}, \mu^{(t+1)}, \alpha^{(t+1)}, y \sim IG(r_0, m_0)$, where
 $r_0 = 0.01, m_0 = 0.01$.

Results and Discussion

In this paper, the multiple linear regression model with two regressors is considered with the presence of correlated random errors with intraclass correlation structure and multivariate t distribution, Both regressors are constructed from standard normal distribution. Data are constructed on three correlation coefficient levels as low ($\rho = 0.1$), moderate ($\rho = 0.5$) and high ($\rho = 0.9$) with the sample size of 60, 100, 250 and 350. The simulation is repeated 1,000 times and Gibbs sampler is implemented for parameter estimation. For each situation, three estimates of parameter obtained from maximum likelihood (*ML*), hierarchical Bayes using noninformative priors (*HBN*) and informative priors (*HBI*) are compared. The bias, variance and mean square error (MSE) are considered as criteria for comparison.

Table 1. The MSE, bias and variance of three regression coefficients ($\beta_0, \beta_1, \beta_2$).

n	ρ	MSE			Bias			Variance		
		<i>ML</i>	<i>HBN</i>	<i>HBI</i>	<i>ML</i>	<i>HBN</i>	<i>HBI</i>	<i>ML</i>	<i>HBN</i>	<i>HBI</i>
60	0.1	4.705	6.089	0.572	2.005	2.507	0.011	0.260	0.006	0.156
	0.5	5.131	5.331	0.916	2.013	2.464	0.031	0.652	0.019	0.571
	0.9	4.225	4.596	0.138	2.022	2.293	0.034	1.044	0.072	0.915
100	0.1	4.617	4.094	0.540	2.004	2.141	0.021	0.210	0.013	0.138
	0.5	5.165	2.093	0.870	2.004	2.009	0.001	0.601	0.058	0.540
	0.9	4.178	1.087	0.119	2.057	1.326	0.055	0.934	0.334	0.867
250	0.1	4.543	0.773	0.512	2.007	1.019	0.009	0.150	0.048	0.119
	0.5	5.137	0.910	0.971	2.001	0.723	0.016	0.537	0.250	0.511
	0.9	4.180	0.603	0.110	2.035	0.173	0.042	0.998	0.880	0.970
350	0.1	4.550	0.603	0.485	2.013	0.736	0.016	0.128	0.062	0.110
	0.5	5.064	0.865	0.905	2.014	0.736	0.024	0.495	0.062	0.484
	0.9	4.705	6.089	0.572	2.035	0.124	0.038	0.922	0.849	0.904

The MSE, bias and variance of three regression coefficients obtained from *ML*, *HBN* and *HBI* can be found in Table 1. On overall, MSEs for *HBI* are smallest in most cases, except for $\rho = 0.5$ and $n = 250, 350$. In all situations, *HBI* also yields the least bias while *HBN* yields the least variance. However, the bias of *HBN* seems to reduce for larger sample sizes. It is also observed that MSEs of three methods tend to decrease with increasing n .

Table 2. The MSE, bias and variance of the estimated error variance (σ^2)

<i>n</i>	ρ	MSE			Bias			Variance		
		<i>ML</i>	<i>HBN</i>	<i>HBI</i>	<i>ML</i>	<i>HBN</i>	<i>HBI</i>	<i>ML</i>	<i>HBN</i>	<i>HBI</i>
60	0.1	4.664	5.744	0.068	2.069	2.231	0.067	0.383	0.767	0.063
	0.5	15.146	34.943	0.066	3.775	4.767	0.038	0.896	12.217	0.064
	0.9	380.125	1221.248	0.070	19.114	24.738	0.048	14.769	609.294	0.067
100	0.1	4.825	3.408	0.042	2.141	1.675	0.033	0.241	0.603	0.005
	0.5	15.294	20.921	0.040	3.842	3.322	0.036	0.532	9.887	0.038
	0.9	387.047	736.790	0.041	19.451	13.107	0.034	8.724	564.987	0.040
250	0.1	4.865	0.235	0.015	2.184	0.401	0.017	0.094	0.074	0.015
	0.5	15.637	1.400	0.015	3.925	0.506	0.017	0.234	1.144	0.014
	0.9	388.775	5.716	0.016	19.622	0.145	0.015	3.765	5.695	0.015
350	0.1	4.902	0.067	0.012	2.199	0.202	0.002	0.068	0.026	0.012
	0.5	15.867	0.066	0.011	3.964	0.202	0.013	0.158	0.026	0.011
	0.9	384.836	0.015	0.011	19.794	0.033	0.008	3.053	0.014	0.011

Table 2 displays MSE, bias and variance of the estimated error variance obtained from *ML*, *HBN* and *HBI*. The results reveal that *HBI* produces the smallest bias, variance and hence MSEs in all situations. The variance of three estimators tends to decrease as the sample size increases. In addition, the bias and MSEs for *HBN* and *HBI* are likely to be lower as an increase of *n*.

Conclusion

Several applications of regression model involve prediction which requires good estimates of model parameters. When the assumption of regression analysis is violated, it can influence the quality of parameter estimates and then prediction performance. This research focuses on parameter estimation method when random errors in regression model are correlated with intraclass structure and follow heavy-tailed distribution. Instead of seeking for techniques to resolve the problems, we choose to include more information, both informative and noninformative priors, into the estimation method, called hierarchical Bayes approach, in order to lessen the problem and then compare the result with the classical approach, maximum likelihood.

For regression coefficient estimation, the simulated study indicates that *HBN* yields the smallest variance while *HBI* yields the smallest bias and MSEs. For error variance estimation, *HBI* yields the smallest bias, variance and thus MSEs in all situations under study. As a result, *HBI* tends to produce the estimators for regression coefficients and error variance more efficient than *ML* and *HBN*, which is benefit for prediction performance.

As seen that the parameter estimation based on hierarchical Bayes approach performs rather well when error components violate the model assumptions, specifically correlated errors with intraclass structure and heavy-tailed distribution. Hence, informative priors incorporating into the parameter estimation method can abate the mentioned problem of violation which is useful in practice.

Acknowledgement

This research is financially supported by Naresuan University, Thailand. The authors would like to express their deep thanks to all referees and the editor for valuable comments and suggestions to improve this work.

References

- Ayinde, K., Apata, E. O. & Alaba, O. O. (2012). Estimators of linear regression model and prediction under some assumptions violation. *Open Journal of Statistics*, 2, 534-546.
- Babatunde, O. S., Ikughur, A. J., Ogunmola, A. O. & Oguntunde, P. E. (2014). On the effect of autocorrelation in regression model due to specification error. *International Journal of Modern Mathematical Science*, 10(3), 239-246.
- Donner, A. & Bull, S. (1983). Inferences concerning a common intraclass correlation coefficient. *Biometrics*, 39(3), 771-775.
- Farrell, S. & Ludwig, C. (2008). Bayesian and maximum likelihood estimation of hierarchical response time model. *Psychonomic Bulletin & Review*, 15(6), 1209-1217.
- Fernandez, C. & Steel, M. F. J. (1999). Multivariate Student-*t* regression model: pitfalls and inference. *Biometrika*, 86(1), 153-167.
- Gill, J. (2008). *Bayesian Methods: a Social and Behavioral Sciences Approach* (2nd ed.). USA: Chapman & Hall.
- Lange, K. L., Little, R. J. A. & Taylor, J. M. G. (1989). Robust statistical modeling using the *t* distribution. *Journal of the American Statistical Association*, 84(408), 881-896.
- Montgomery, D. C., Peck, E. A. & Vining, G. G. (2012). *Introduction to Linear Regression* (5th ed.). New Jersey, USA: John Wiley & Sons.
- Nadarajah, S. & Kotz, S. (2008). Estimations for the multivariate *t* distribution. *Acta Applicandae Mathematicae*, 102(1), 99-118.
- Paul, S. R. (1990). Maximum likelihood estimation of intraclass correlation in the analysis of familial data: estimating equation approach. *Biometrika*, 77(3), 549-555.
- Press, S. J. (2005). *Applied Multivariate Analysis: Using Bayesian and Frequentist Methods of Inference* (2nd ed.). Florida, USA: R. E. Krieger.
- Rahman, A. & Khan, S. (2007). *Prediction distribution for linear regression model with multivariate Student-t errors under the Bayesian approach*. pp. 188-193. In the 3rd International Conference on Research and Education in Mathematics (ICREM3), 10-12 April 2007, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Ravi, A. & Butar, F. (2010). An insight into heavy-tailed distribution. *Journal of Mathematical Sciences & Mathematics Education*, 5(1), 19-31.
- Tanizaki, H. (2003). On regression models with autocorrelated error: small sample properties. *International Journal of Pure and Applied Science*, 5(3), 247-252.

Research Article

การคัดแยกและเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตไฮโดรเจนจาก คลองแสนแสบ

Isolation and cultivation of H₂-producing cyanobacteria from Sansab canal

วิชญบุญ พนิจกิจจาพร^{1*}, ภัคพงศ์ พจนารณ¹ และสัญญา กุดัน²

Wichayaboon Phinitkitjaporn^{1*}, Pakpong Pochanart¹ and Sanya Kudan²

¹ คณะบริหารการพัฒนาสิ่งแวดล้อม สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์ เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240

¹ Graduate School of Environmental Development Administration, National Institute of Development Administration, Bangkok District, Bangkok 10240, Thailand

² ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร 10240

² Department of Biotechnology, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bangkok District, Bangkok 10240, Thailand

*E-mail: Wichayaboon.kmitl@gmail.com

Received: 04/01/2019; Revised: 22/08/2019; Accepted: 10/09/2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยง *Arthronema africanum* strain BKP-Sansab ซึ่งคัดเลือจาก
คลองแสนแสบ กรุงเทพมหานคร ฯ เพื่อศึกษาการผลิตไฮโดรเจน ผลการทดลองพบว่า *A. africanum* strain BKP-
Sansab มีความต้องการปัจจัยในการผลิตไฮโดรเจนที่หลากหลาย โดยเซลล์สามารถปรับตัวได้ในอาหาร BG-11₀₁
(Blue - Green Medium สูตรดัดแปลง) ประกอบด้วยเหล็ก 46 ไมโครโมลาร์ โซเดียมคาร์บอเนต 0.8 กรัม และค่า pH
7.5 ภายใต้สภาวะที่มีแสงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวเซลล์แล้วนำไปแยกที่ความเร็ว
รอบ 160 รอบต่อวินาที ที่อุณหภูมิห้อง และความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าระดับการผลิต
ไฮโดรเจนสะสมเพิ่มขึ้นถึง 55.42 $\mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ เมื่อปรับเซลล์ภายใต้สภาวะที่มีแสงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหาร
BG-11₀₁ เทียบกับอาหาร BG-11₀ (Blue - Green Medium สูตรปราศจากไนโตรเจน) ที่มีระดับการผลิตไฮโดรเจน
สะสมอยู่ที่ 42.09 $\mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ นอกจากนี้ เซลล์ไม่สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ในอาหารสูตร BG-11 (Blue -
Green Medium สูตรปกติ)

คำสำคัญ: *Arthronema africanum*, การผลิตไฮโดรเจน, ไชยาโนแบคทีเรีย, คลองแสนแสบ

Abstract

This research focused on the isolation of *Arthronema africanum* strain BKP-Sansab. Samples were collected from the Sansab canal in Bangkok, Thailand to study the hydrogen production. Results showed that *A. africanum* strain BKP-Sansab required various enhancing factors for hydrogen production. The cells were able to adapt in BG-11₀₁ (modified Blue - Green Medium) containing 46 μM iron, 0.8 gram sodium carbonate and pH 7.5 under continuous light for one week. After that, cells were harvested and cultivated by agitating at 160 rpm at room temperature under a light condition of 2,500 Lux for 24 hours. It was found that the accumulation level of hydrogen production increased to 55.42 $\mu\text{molH}_2/\text{mgChl}/\text{h}$ after 24 hours incubation under light condition in BG-11₀₁ comparing to BG-11₀ (Blue - Green Medium without nitrogen source) which the accumulation level of hydrogen production was 42.09 $\mu\text{molH}_2/\text{mgChl}/\text{h}$. Besides, cells were incapable of producing hydrogen in BG-11 (normal Blue - Green Medium).

Keywords: *Arthronema africanum*, hydrogen production, cyanobacteria, Sansab canal

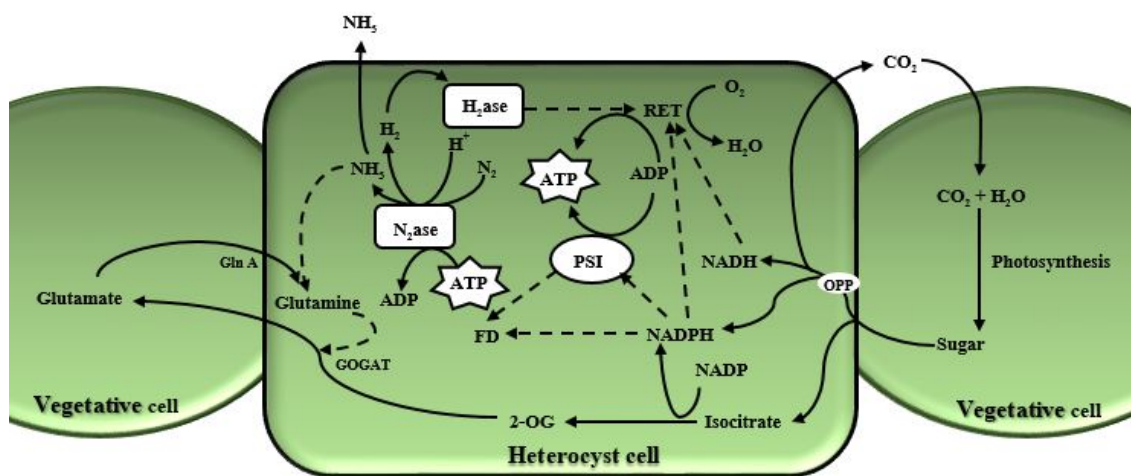
บทนำ

แก๊สไฮโดรเจนเป็นหนึ่งในแหล่งพลังงานทางเลือกที่มีศักยภาพและคุณภาพที่สามารถใช้ทดแทนพลังงานเชื้อเพลิงฟอสซิลได้ดี ถือได้ว่าเป็นเชื้อเพลิงอนาคต (Elam et al., 2003) ซึ่งสามารถผลิตได้จากน้ำหรือการย่อยสลายชีวมวล เมื่อเกิดการเผาไหม้กับแก๊สออกซิเจน จะมีเพียงไอน้ำเป็นผลพลอยได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งแตกต่างจากเชื้อเพลิงชนิดอื่นที่ก่อให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์หลังจากการเผาไหม้ในปริมาณมาก เมื่อสะสมอยู่ในชั้นบรรยากาศเป็นระยะเวลานานจะเป็นต้นเหตุที่ก่อให้เกิดภาวะเรือนกระจก ส่งผลกระทบโดยตรงและก่อให้เกิดปัญหาโลกร้อนตามมา

ในปัจจุบันงานวิจัยหลายแขนงพบว่าจุลสาหร่าย (microalgae) มีความสามารถในการผลิตแก๊สไฮโดรเจนได้ อาทิ สาหร่ายสีเขียว ได้แก่ *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. และ ไชยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ ไชยาโนแบคทีเรียเซลล์เดี่ยว (unicellular cyanobacteria) เช่น *Microcystis* sp., *Gloeocapsa* sp., และ *Synechococcus* sp. ไชยาโนแบคทีเรียเส้นสาย (filamentous cyanobacteria) เช่น *Tolypothrix* sp., *Spirulina* sp., และ *Oscillatoria* sp. (Kamglomjai, 2009) นอกจากนี้ ไชยาโนแบคทีเรียบางชนิดยังสามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนในอากาศได้ (nitrogen-fixing cyanobacteria) เช่น *Nostoc* sp., และ *Anabaena* sp. (Nakthong, 2013) สิ่งมีชีวิตเหล่านี้มีเอนไซม์ที่สำคัญในการเร่งกระบวนการผลิต

แก๊สไฮโดรเจนคือ เอนไซม์ไนโตรจีเนส (N_2ase) และเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการผลิตหรือการนำไฮโดรเจนกลับไปใช้ในเซลล์คือ เอนไซม์ไฮโดรจีเนส (H_2ase)

เอนไซม์ไนโตรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่พบได้ในโครงสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์ (heterocyst) ของไซยาโนแบคทีเรียเส้นสายซึ่งเจริญในสภาวะที่ขาดไนโตรเจน (nitrogen deficiency) ภายในเซลล์เฮเทอโรซิสต์นี้ ไซยาโนแบคทีเรียจะตรึงไนโตรเจนจากอากาศแล้วเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียกับไฮโดรเจนโดยใช้พลังงานจาก ATP (Lindberg, 2003) อย่างไรก็ตามเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะถูกยับยั้งการทำงานในสภาวะที่มีออกซิเจนที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ด้วยเหตุนี้เอนไซม์ไนโตรจีเนสจึงทำงานเฉพาะในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งส่งผลให้กระบวนการตรึงไนโตรเจนจะทำงานในขณะที่ไม่มีแสงเท่านั้น ดังนั้นไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดจึงได้พัฒนากลไกที่ป้องกันการทำงานของเอนไซม์จากการยับยั้งของออกซิเจน โดยการสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์ขึ้นมาแยกจากเซลล์ปกติ ภายในเซลล์เฮเทอโรซิสต์นี้จะไม่มีระบบแสงสอง (PSII) มีแต่ระบบแสงหนึ่ง (PSI) และมีเอนไซม์ไนโตรจีเนสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจนที่เกิดขึ้นภายในเซลล์เฮเทอโรซิสต์ แล้วส่งสารประกอบไนโตรเจนไปสู่เซลล์ข้างเคียง (รูปที่ 1) ส่วนไซยาโนแบคทีเรียที่ไม่มีเซลล์เฮเทอโรซิสต์ เอนไซม์ไนโตรจีเนสจะอยู่ภายในเซลล์ร่างกาย (vegetative cell) (Lindberg, 2003; Hallenbeck, 2012)



รูปที่ 1. กระบวนการตรึงไนโตรเจนของไซยาโนแบคทีเรีย (ดัดแปลงจาก Lindberg, 2003)

ไซยาโนแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่อาศัยได้ดีและที่สำคัญสามารถนำพลังงานแสงอาทิตย์และคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เป็นแหล่งพลังงานได้โดยตรงผ่านกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงซึ่งเป็นการช่วยลดปริมาณแก๊สเรือนกระจกและเพิ่มออกซิเจนได้ (Kamglomjai, 2009) นอกจากนี้

ไซยาโนแบคทีเรียยังถูกจัดเป็นผู้ผลิตปฐมภูมิ (primary producer) อีกด้วย (Hamilton et al., 2016) ซึ่งคุณสมบัติเชิงบวกหลายด้านของไซยาโนแบคทีเรียนี้ จึงนิยมนำมาใช้เป็นต้นแบบในงานวิจัยทางชีวเคมี พันธุวิศวกรรม และเทคโนโลยีชีวภาพ (Al-Haj et al., 2016)

อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการผลิตไฮโดรเจนยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (ตารางที่ 1) และภาวะสิ่งแวดล้อม (environmental condition) ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส (pH) ภาวะเค็ม (salinity) การมีสารอาหาร (nutrient availability) และแก๊สในบรรยากาศ (gaseous atmosphere) (Dutta et al., 2005) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการคัดแยกและเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่ผลิตไฮโดรเจนได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติในกรุงเทพมหานคร ๑ เขต ตะวันออก เพื่อศึกษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมของการผลิตไฮโดรเจนจากไซยาโนแบคทีเรีย

ตารางที่ 1. อัตราการผลิตไฮโดรเจนของไซยาโนแบคทีเรียชนิดและสายพันธุ์ต่าง ๆ

ไซยาโนแบคทีเรีย	อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุด
<i>Anabaena cylindrica</i> B-629	0.103 $\mu\text{mol/mg dry wt/h}$
<i>Anabaena cylindrica</i> IAMM-1	2.1 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Anabaena flos-aquae</i> UTEX LB 2558	3.2 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	2.6 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Anabaena variabilis</i> AVM13	68 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Anabaena variabilis</i> IAMM-58	4.2 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Anabaena variabilis</i> PK84	167.6 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Calothrix scopulorum</i> 1410/5	0.128 $\mu\text{mol/mg dry wt/h}$
<i>Calothrix membranacea</i> B-379	0.108 $\mu\text{mol/mg dry wt/h}$
<i>Cyanothece</i> 7822	0.92 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Gloeobacter</i> PCC 7421	1.38 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Nostoc muscorum</i> IAMM-14	0.60 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Oscillatoria brevis</i> B-1567	0.168 $\mu\text{mol/mg dry wt/h}$
<i>Oscillatoria</i> sp. Miami BG7	0.250 $\mu\text{mol/mg dry wt/h}$
<i>Oscillatoria limosa</i>	0.83 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$
<i>Synechocystis</i> PCC 6308	0.13 $\mu\text{mol/mg chl a/h}$

ที่มา: คัดแปลงจาก Dutta et al. (2005)

วิธีการทดลอง

1. การคัดแยกเชื้อ

การคัดแยกเชื้อจะเริ่มจากการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มจากแหล่งดินและแหล่งน้ำธรรมชาติ ในกรุงเทพมหานคร ตะวันออก ได้แก่ เขตบางกะปิ สะพานสูง บึงกุ่ม คันนายาว ลาดกระบัง มีนบุรี หนองจอก คลองสามวา และประเวศ นำตัวอย่างน้ำและดินมาใส่ในอาหารเหลว BG-11 (Blue - Green Medium สูตรปกติ) ที่ประกอบด้วย NaNO_3 10.0 mg/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 11.0 mg/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.0 mg/L, citric acid 1.0 mg/L, Na_2EDTA 1.0 mg/L, K_2HPO_4 1.0 mg/L, Na_2CO_3 1.0 mg/L, trace metal mix 1.0 mg/L และแอมพิซิลลิน (ampicillin) 0.2 g/L แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ในที่มีแสง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นนำตัวอย่างมาเจือจางและ spread ลงบนอาหารเพาะเชื้อ BG-11 บ่มในที่ที่มีแสงเป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ เมื่อเชื้อขึ้นเป็นโคโลนีให้ใช้ลูปเขี่ยเชื้อลงบนอาหาร BG-11 ใหม่ ทำซ้ำจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ สำหรับเชื้อที่มีขนาดเล็กยากต่อการแยกให้บริสุทธิ์ ให้ใช้วิธี unicellular ด้วยปิเปตต์รูเล็ก (capillary pipette) ดูดเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง จากนั้นนำเซลล์ไปใส่ในอาหารเหลว BG-11 บ่มเป็นเวลา 1 เดือน ขั้นตอนนี้ใช้แอมพิซิลลิน 200 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 มิลลิตร เพื่อกำจัดแบคทีเรียแกรมบวก และใช้ไซโคลเฮกซิมิด (cycloheximide) 100 ไมโครกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิตร เพื่อกำจัดเชื้อรา ยีสต์ และโพรโตซัวที่ไม่ต้องการ (Hossain et al., 2016)

2. วิธีการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ (starter)

หลังจากได้เชื้อบริสุทธิ์ การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ เริ่มจากการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียบนจานอาหารแข็ง BG-11 เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ จากนั้น จึงนำโคโลนีเดี่ยว 1 โคโลนีบนอาหารแข็งมาเพาะเลี้ยงต่อในฟลasks ขนาด 250 มิลลิตรที่มีอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิตร นำเซลล์ไปเขย่าด้วยความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง และให้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์

3. วิธีการวัดการเติบโต

เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำสารละลายเซลล์หัวเชื้อมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Hettich Universall 320R, ประเทศเยอรมนี) ที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำเซลล์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิตร โดยให้มีค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์เริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ประมาณ 0.1 แล้วนำไปเพาะเลี้ยงโดยเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ ศึกษาการเติบโตโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของไซยาโนแบคทีเรียด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Shimadzu UV-1601, ประเทศญี่ปุ่น) ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4. วิธีการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำสารละลายเซลล์หัวเชื้อ มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำเซลล์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิตร โดยให้

ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์เริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ประมาณ 0.1 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงโดยเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เก็บสารละลายเซลล์ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ เติมน้ำตาล 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และ 665 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอล 95% เป็นสารละลายเปรียบเทียบ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีของ Mackinney (1941) (อ้างอิงตาม Mokashi et al., 2016) ดังสมการที่ (1) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} = [(2.55 \times 10^{-3})(E_{650}) + (0.4 \times 10^{-3})(E_{665})] \text{ mg/ml} \quad (1)$$

โดย E650 และ E665 คือค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 และ 665 นาโนเมตร ตามลำดับ

5. วิธีการวัดปริมาณการผลิตไฮโดรเจน

เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำสารละลายเซลล์หัวเชื้อมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำเซลล์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์เริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตรสำหรับไซยาโนแบคทีเรีย ประมาณ 0.1 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงโดยเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องภายใต้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำไซยาโนแบคทีเรียมาเก็บเกี่ยวเซลล์โดยปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำการล้างเซลล์ 2 ครั้งในอาหารเพาะเลี้ยงและกระจายเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง BG-11 และ BG-11₀ (Blue - Green Medium สูตรปราศจากไนโตรเจน) จากนั้นนำเซลล์ไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำเซลล์ใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์ตัวอย่าง (GC-vials) ขนาด 10 มิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดจุกยางและฟลอปูนิเยม นำไปใส่อากาศโดยการฟองอาร์กอน เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปบ่มในที่มืดและสว่าง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบกัน นำแก๊สบริเวณช่องว่างเหนือของเหลว (head space) มาวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (gas chromatograph) (Shimadzu GC-15A, ประเทศญี่ปุ่น) เทียบกับแก๊สไฮโดรเจนมาตรฐาน 4% ในแก๊สอาร์กอนเป็นแก๊สมาตรฐาน ซึ่งมีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แก๊สแสดงไว้ในตารางที่ 2 นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีมาคำนวณปริมาณไฮโดรเจนเทียบกับปริมาณคลอโรฟิลล์ ดังสมการที่ 2

$$n = (PV/RT) \times 1,000,000 \quad (2)$$

โดยที่ n คือ จำนวนโมลของไฮโดรเจน, P คือ ความดันบรรยากาศ 1 atm, V คือ ปริมาตรแก๊สไฮโดรเจน (L), R คือ ค่าคงที่ 0.082 atm L/mol K, T คือ อุณหภูมิในหน่วยเคลวิน และ 1,000,000 คือ ค่าที่ใช้เปลี่ยนหน่วย mol ให้เป็น μmol

ตารางที่ 2. สภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของแก๊สด้วยเครื่อง GC-TCD

พารามิเตอร์	สภาพที่ใช้ในการเดินระบบ
Carrier Gas	- Argon flow rate 30 ml/ min (99.999% purify)
Column	- Pack column 1.5 m x 1.0 mm - Molecular sieve 5A mesh 80/ 100
Selector	- Thermal conductivity detector (TCD)
Temperature Program	- Injection temperature: 100°C - Oven temperature: 40°C - Detector temperature: 200°C

6. วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการจัดจำแนกสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรีย

ส่งตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์และจัดจำแนกสายพันธุ์ไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายด้วยเทคนิค molecular genetic และ polyphasic approach ณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. วิธีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจน

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่คัดเลือกในฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยให้มีการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ประมาณ 0.1 นำเซลล์ไปวางบนเครื่องเขย่า โดยเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงและล้างเซลล์ 2 ครั้ง ในอาหารที่ทำการทดสอบ กระจายตะกอนเซลล์ลงในอาหาร BG-11 ที่มีสภาวะแตกต่างกัน เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจน ดังนี้ แปรผันระยะเวลาเพาะเลี้ยง (3, 5, 7 และ 14 วัน) แปรผันผลของเหล็กไอออน (Fe^{3+}) (ความเข้มข้น 0, 23, 46, 92 และ 184 ไมโครโมลาร์) แปรผันผลของแหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน โดยให้มีความเข้มข้นโซเดียมคาร์บอเนตเท่ากับ 0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.60 และ 3.20 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของโซเดียมไบคาร์บอเนตเท่ากับ 0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.60 และ 3.20 กรัมต่อลิตร และแปรผันค่า pH (5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว เก็บเกี่ยวเซลล์ใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์ตัวอย่างขนาด

10 มิลลิลิตร ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ปิดจุกยางและฟาลูมิเนียม นำไปใส่อากาศโดยการพ่นอาร์กอนเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปบ่มทั้งในที่มืดและที่สว่างเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบกัน นำแก๊สบริเวณช่องว่างเหนือของเหลวมาวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟเทียบกับแก๊สไฮโดรเจนมาตรฐาน 4% ในแก๊สอาร์กอน เป็นแก๊สมาตรฐาน นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ มาคำนวณปริมาณไฮโดรเจนเทียบกับปริมาณคลอโรฟิลล์

8. ศึกษาระยะเวลาในการบ่มที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจน

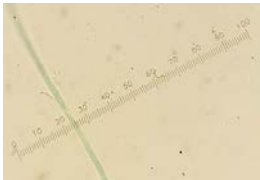
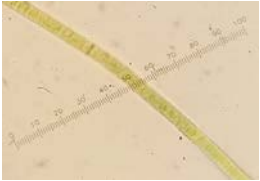
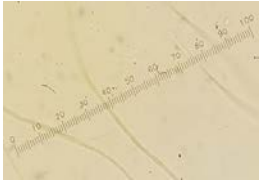
เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียที่คัดเลือกในฟลาสกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยให้มีค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ประมาณ 0.1 นำเซลล์ไปวางบนเครื่องเขย่า โดยเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงและล้างเซลล์ 2 ครั้ง ในอาหารที่ทำการทดสอบ กระจายตะกอนเซลล์ลงในอาหาร BG-11₀₁ (Blue - Green Medium สูตรดัดแปลงจากอาหาร BG-11₀) ที่มีค่า pH 7.5 ความเข้มข้นของเหล็กไอออน (Fe^{3+}) 46.0 ไมโครโมลาร์ และความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต 0.8 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำเซลล์ไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว เก็บเกี่ยวเซลล์ใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์ตัวอย่างขนาด 10 มิลลิลิตร ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ปิดจุกยางและฟาลูมิเนียม นำไปใส่อากาศโดยการพ่นอาร์กอนเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปบ่มทั้งในที่มืดและที่สว่างเป็นเวลา 2, 4, 8, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบกัน นำแก๊สบริเวณช่องว่างเหนือของเหลวมาวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟเทียบกับแก๊สไฮโดรเจนมาตรฐาน 4% ในแก๊สอาร์กอนเป็นแก๊สมาตรฐาน นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ มาคำนวณปริมาณไฮโดรเจนเทียบกับปริมาณคลอโรฟิลล์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

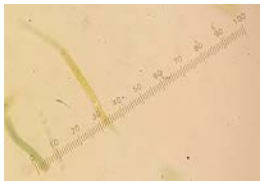
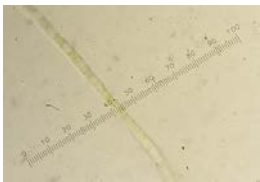
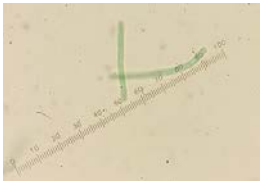
จากการเก็บตัวอย่างน้ำและส้อมจากแหล่งดินและแหล่งน้ำธรรมชาติจากกรุงเทพมหานคร เขตตะวันออกทั้ง 9 เขต ได้แก่ เขตบางกะปิ สะพานสูง บึงกุ่ม คันนายาว ลาดกระบัง มีนบุรี หนองจอก คลองสามวาและประเวศ พบว่าสามารถเก็บตัวอย่างได้ทั้งหมด 48 ไอโซเลท

เมื่อนำจุลสาหร่ายที่แยกได้ มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการและทำให้บริสุทธิ์ พบว่าสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลท และได้นำไปจัดจำแนกชนิดของจุลสาหร่ายเบื้องต้นโดยใช้ไซโคลเฮกซิมิด (cycloheximide) ปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร ในการจำแนก เนื่องจากไซโคลเฮกซิมิดจะส่งผลในการยับยั้งเซลล์ยูคาริโอตทุกชนิด (Nagle et al., 2010) ดังนั้นเมื่อใส่ไซโคลเฮกซิมิดลงไปจะสามารถกำจัดสาหร่ายสีเขียวออกไปได้ จึงพบว่ามีไซยาโนแบคทีเรียบริสุทธิ์เพียง 9 ไอโซเลท ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3. แสดงลักษณะพื้นฐานวิทยาของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ จำนวน 9 ไอโซเลท
ภาพถ่ายกำลังขยาย 1,000 เท่า

ชื่อ	รูปถ่าย	ลักษณะ	สถานที่	ละติจูด-ลองจิจูด
KAN-02		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 2 μm	คันทาว (น้ำ)	13°49'57" N 100°40'39" E
NHJ-02		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 2 μm	หนองจอก (น้ำ)	13°50'04" N 100°50'14" E
KSW-02		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 8 μm	คลองสามวา (น้ำ)	13°51'35" N 100°42'02" E
PRW-01		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 2 μm	ประเวศ (น้ำ)	13°41'14" N 100°39'35" E
MBR-02	-	เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 5 μm	มีนบุรี (น้ำ)	13°48'47" N 100°45'54" E
LKB-KMITL		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 6 μm	ลาดกระบัง (น้ำ)	13°43'51" N 100°47'04" E

ตารางที่ 3. แสดงลักษณะพื้นฐานวิทยาของไซยาโนแบคทีเรียที่สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ จำนวน 9 ไอโซเลท
ภาพถ่ายกำลังขยาย 1000x (ต่อ)

ชื่อ	รูปถ่าย	ลักษณะ	สถานที่	ละติจูด-ลองจิจูด
LKB-02		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 4 μm	ลาดกระบัง (น้ำ)	13°43'39" N 100°46'44" E
LKB-03		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 5 μm	ลาดกระบัง (ดิน)	13°43'49" N 100°46'34" E
BKP-Sansap		เซลล์เป็นเส้นสาย ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 5 μm	บางกะปิ (น้ำ)	13°45'35" N 100°36'49" E

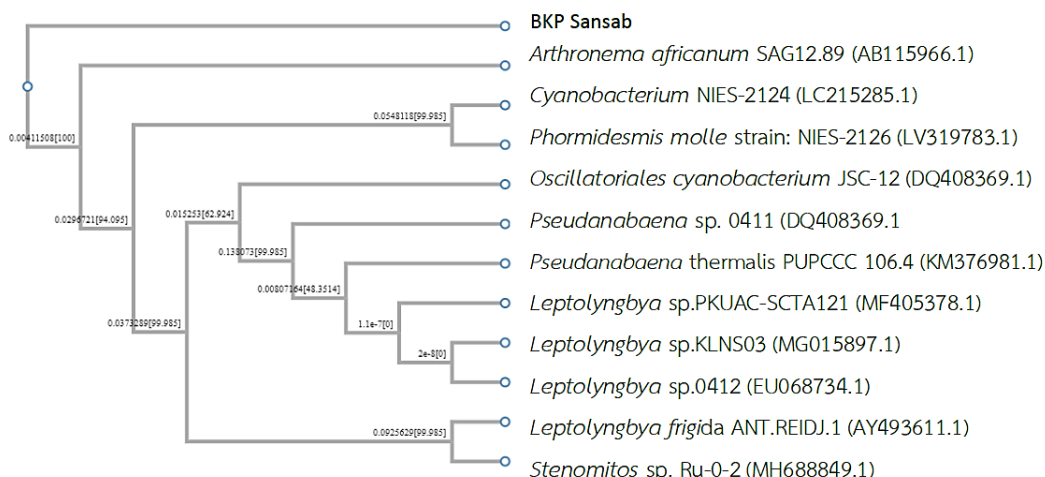
เมื่อนำไซยาโนแบคทีเรียมาศึกษาการผลิตไฮโดรเจนพบว่าสามารถผลิตไฮโดรเจนได้ดีเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่ปราศจากแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากในอาหารที่เติมแหล่งไนโตรเจนจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจิเนส และไฮโดรจิเนส จึงส่งผลต่อการผลิตไฮโดรเจน และในสภาวะที่เซลล์ขาดไนโตรเจน จะมีการสะสมไกลโคเจนเพิ่มขึ้น โดยสายพันธุ์ BKP-Sansab เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตไฮโดรเจนได้สูงสุด คือ $33.99 \pm 0.93 \mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ ดังตารางที่ 4 ภายหลังจากนำมาศึกษาวิเคราะห์ลักษณะทางชีวโมเลกุลด้วยเทคนิค molecular genetic และ polyphasic approach แล้วนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ไปใช้ในการจำแนกและการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic analysis) ด้วยโปรแกรม MEGA6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0, Pennsylvania State University) ด้วยวิธี Neighbor-Joining (NJ-method) และกำหนดค่า bootstrap เท่ากับ 500 พบว่าไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ BKP-Sansab มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับสายพันธุ์ *Arthronema africanum* accession number AB115966.1 อยู่ 94% (รูปที่ 2 และ 3) ดังนั้นจึงถูกคัดเลือกมาศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจนต่อไป

ตารางที่ 4. อัตราการผลิตไฮโดรเจนของไซยาโนแบคทีเรียทั้ง 9 ไอโซเลต

No	Isolated name	Hydrogen production rate ($\mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$)			
		BG11		BG-11 ₀	
		สว่าง	มืด	สว่าง	มืด
1	KAN-02	-	-	-	0.63±0.09
2	NHJ-02	-	-	-	6.49±1.13
3	KSW-02	-	-	-	2.60±0.41
4	PRW-01	-	1.73±0.03	-	13.97±4.96
5	MBR-02	-	-	-	1.49±0.38
6	LKB-KMITL	-	-	-	2.14±0.15
7	LKB-02	-	-	-	2.52±0.87
8	LKB-03	-	-	-	0.78±0.03
9	BKP-Sansab	-	-	33.99±0.93	-



รูปที่ 2. *Arthronema africanum* strain BKP-Sansab ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่กำลังขยาย 100x (ซ้าย) และ 1000x (ขวา)

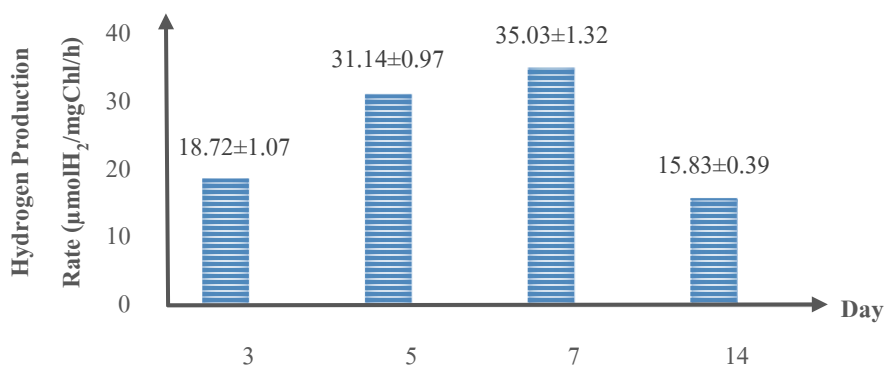


รูปที่ 3. แผนภูมิแสดงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม MEGA6

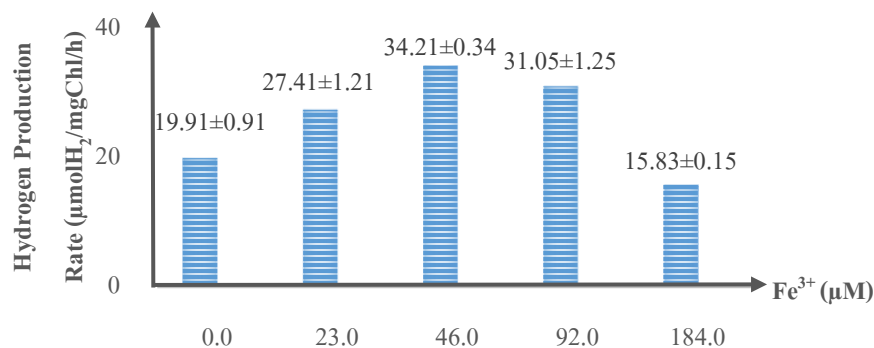
ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโดรเจน พบว่า *Arthronema africanum* strain BKP-Sansab สามารถผลิตไฮโดรเจนได้เมื่อบ่มในที่มืดและเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากไนโตรเจนเท่านั้น ซึ่งโดยทั่วไปไซยาโนแบคทีเรียที่ไม่มีเซลล์เฮเทอโรซิสต์จะผลิตไฮโดรเจนผ่านการตรึงไนโตรเจนในอากาศด้วยเอนไซม์ไนโตรจีเนส และจะทำงานในขณะที่ไม่มีแสงเท่านั้น (Hallenbeck, 2012) แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีการพบการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในสภาวะที่มีแสงในไซยาโนแบคทีเรียแบบเส้นสายชนิดไม่มีเฮเทอโรซิสต์เช่นกัน (Berrendero et al., 2016) สำหรับสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไฮโดรเจนคือ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน สามารถให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดอยู่ที่ $35.03 \pm 1.32 \mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ (รูปที่ 4) เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เซลล์มีการเติบโตอย่างเต็มที่ ความเข้มข้นของเหล็กที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไฮโดรเจนอยู่ที่ 46 ไมโครโมลาร์ สามารถให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงสุดอยู่ที่ $34.21 \pm 0.34 \mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ (รูปที่ 5) เนื่องจากเหล็กเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Schut & Adams, 2009) ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนจากโซเดียมคาร์บอเนต 0.8 กรัม ให้ผลผลิตไฮโดรเจนอยู่ที่ $48.76 \pm 0.09 \mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ ซึ่งสูงกว่าการใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นเดียวกันเป็นแหล่งคาร์บอนอินทรีย์ (รูปที่ 6) เนื่องจากมีความเป็นกรดสูงกว่าเมื่อแตกตัวกับน้ำ นอกจากนี้แหล่งคาร์บอนยังส่งผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสและเอนไซม์รีเวิร์สซิงเกิลไฮโดรจีเนส จึงทำให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงขึ้น (Khetkorn et al., 2010) อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง ปริมาณไฮโดรเจนจะลดลง เนื่องจากความเข้มข้นที่สูงขึ้นนี้ส่งผลให้เซลล์จะต้องใช้พลังงานในการขับออกนอกเซลล์ ทำให้ความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนลดลง (Baebprasert et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ที่ 7.5

(รูปที่ 7) ซึ่งให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดอยู่ที่ $47.08 \pm 2.82 \mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ เนื่องจากเป็นค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

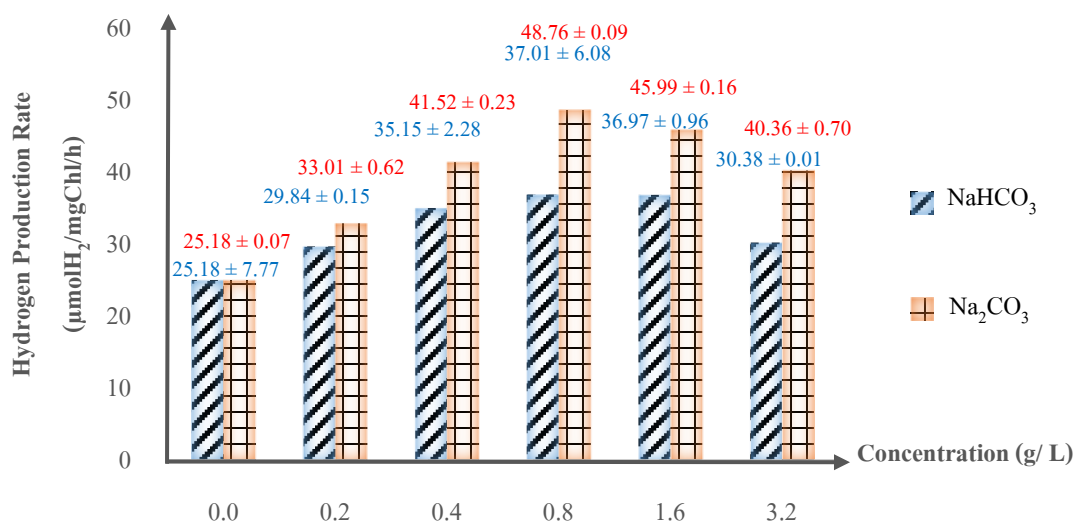
เมื่อนำ *A. africanum* strain BKP-Sansab ไปเพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11₀₁ (อาหารสูตรดัดแปลงจากอาหาร BG-11₀ ที่ประกอบด้วยความเข้มข้นของเหล็ก 46.0 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต 0.8 กรัมต่อลิตร ค่า pH ที่ 7.5 และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน) พบว่าให้ผลผลิตไฮโดรเจนสูงกว่าเมื่อเทียบกับอาหาร BG-11₀ ในขณะที่อาหารสูตร BG11 ไม่มีอัตราการผลิตไฮโดรเจนเกิดขึ้นเลย โดยอัตราการผลิตไฮโดรเจนสะสมสูงสุดอยู่ในช่วงระยะเวลาการบ่มที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งให้ค่าการผลิตไฮโดรเจนอยู่ที่ 55.42 ± 1.17 และ $42.09 \pm 0.76 \mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ ในอาหารสูตร BG-11₀₁ และสูตร BG-11₀ ตามลำดับ ซึ่งปริมาณไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นร้อยละ 31.67 ดังนั้นอาหารสูตร BG-11₀₁ จึงมีความเหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจนของไซยาโนแบคทีเรีย *A. africanum* strain BKP-Sansab ดังรูปที่ 8



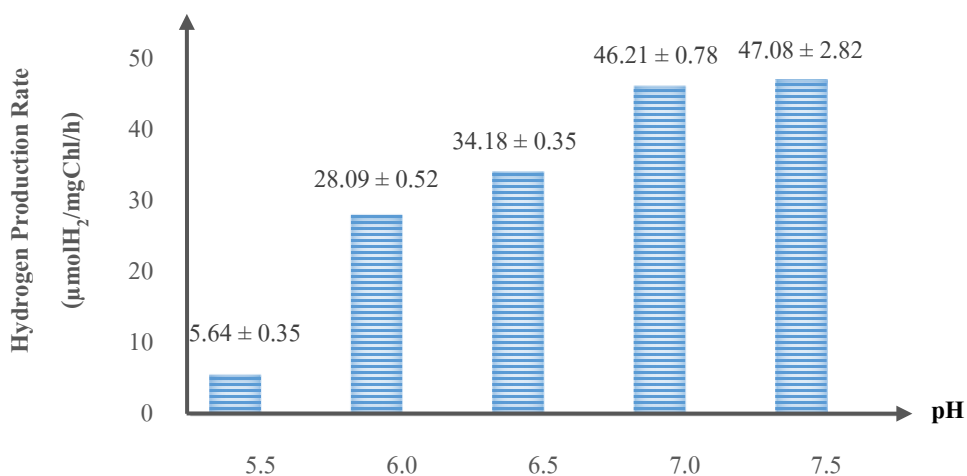
รูปที่ 4. แสดงผลของระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจน (วัน)
(ค่าที่อยู่เหนือแท่งกราฟคือค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)



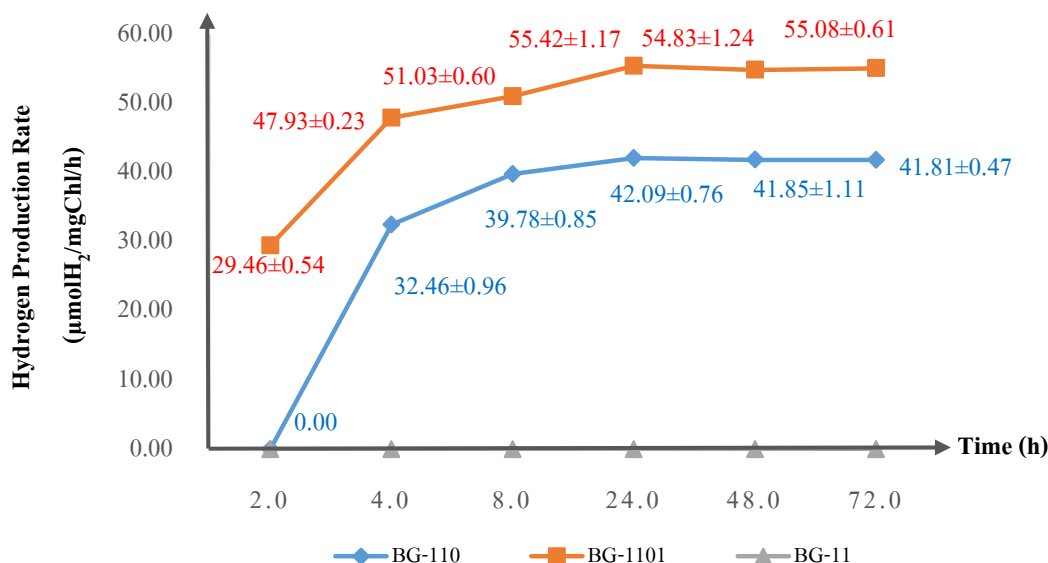
รูปที่ 5. แสดงผลของความเข้มข้นของ Fe^{3+} (ไมโครโมลาร์) ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไฮโดรเจน
(ค่าที่อยู่เหนือแท่งกราฟคือค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)



รูปที่ 6. แสดงผลของความเข้มข้นและชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจน (กรัมต่อลิตร)
(ค่าที่อยู่เหนือแท่งกราฟคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)



รูปที่ 7. แสดงผลของค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจน
(ค่าที่อยู่เหนือแท่งกราฟคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)



รูปที่ 8. แสดงผลของช่วงเวลาการบ่มที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจน (ชั่วโมง)
(ค่าที่อยู่เหนือแท่งกราฟคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สรุปผลการทดลอง

Arthonema africanum strain BKP-Sansab ซึ่งคัดเลือกจากคลองแสนแสบ กรุงเทพมหานคร ฯ สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ในสภาวะที่มีแสงสว่างเท่านั้น โดยให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดอยู่ที่ 55.42 ± 1.17 $\mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11₀₁ (Blue - Green Medium สูตรดัดแปลงจากอาหาร BG-11₀) ซึ่งมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไฮโดรเจนมากกว่า เมื่อเทียบกับอาหารสูตร BG-11₀ (Blue - Green Medium สูตรปราศจากไนโตรเจน) ที่ให้อัตราการผลิตไฮโดรเจนสูงสุดอยู่ที่ 42.09 ± 0.76 $\mu\text{molH}_2/\text{mgChl/h}$ ซึ่งอัตราการผลิตไฮโดรเจนเพิ่มขึ้นร้อยละ 31.67 ในขณะที่อาหารสูตร BG-11 (Blue - Green Medium สูตรปกติ) ไม่พบการผลิตไฮโดรเจน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์ (ทุนการศึกษาประเภทที่ 1) และสำนักงานโยธาและแผนพลังงานสำหรับทุนส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน แผนพลังงานทดแทน เป็นจำนวนเงิน 99,800 บาท ได้รับการสนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์การทํางานจากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง และขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ อาจารย์ประจำ

สำนักวิจัยด้านพลังงานชีวภาพคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความ
อนุเคราะห์ใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีในการวิเคราะห์ปริมาณการผลิตแก๊สไฮโดรเจนครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Al-Haj, L., Lui, Y. T., Abed, R. M. M., Gomaa, M. A. & Purton, S. (2016). Cyanobacteria as chassis for industrial biotechnology: progress and prospects. *Life*, 6(4), 42, 17 pp. doi: 10.3390/life6040042
- Baebprasert, W., Lindblad, P. & Incharoensakdi, A. (2010). Response of H₂ production and Hox-hydrogenase activity to external factors in the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *International Journal of Hydrogen Energy* 35(13), 6611-6616. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.04.047>
- Berrendero, E., Valiente, E. F., Perona, E., Gómez, C. L., Loza, V., Muñoz-Martín, M. A. & Mateo, P. (2016). Nitrogen fixation in a non-heterocystous cyanobacterial mat from a mountain river. *Scientific Reports*, 6, Article number 30920, 13 pp. doi: 10.1038/srep30920
- Dutta, D., De, D., Chaudhuri, S. & Bhattacharya, S. K., (2005). Hydrogen production by cyanobacteria. *Microbial Cell Factories*, 4, 36, 11 pp. doi:10.1186/1475-2859-4-36
- Elam, C. C., Padró, C. E., Sandrock, G., Luzzi, A., Lindblad, P. & Hagen, E. F. (2003). Realizing the hydrogen future: the international energy agency's efforts to advance hydrogen energy technologies. *International Journal of Hydrogen Energy*, 28(6), 601-607.
- Hallenbeck, P. C. (2012). Hydrogen production by cyanobacteria. In P. C. Hallenbeck (Ed.) *Microbial Technologies in Advanced Biofuels Production* pp. 15-28. New York: Springer Science+Business Media.
- Hamilton, T. L., Bryant, D. A. & Macalady, J. L. (2016). The role of biology in planetary evolution: cyanobacterial primary production in low-oxygen Proterozoic oceans. *Environmental Microbiology*, 18(2), 325-340. doi: 10.1111/1462-2920.13118
- Hossain, M. F., Ratnayake, R. R. & Wasantha Kumara, K. L. (2016). Isolation purification and culturing of cyanobacteria and microalgae towards biodiesel production: Current status. *American Journal of Biomass and Bioenergy*, 5(3), 111-129. doi: 10.7726/ajbb.2016.1009
- Kamglomjai, N. (2009). *Isolation of microorganism for producing hydrogen gas from food wastewater* (Master thesis) Department of Environmental Science, Faculty of Environment, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

- Khetkorn W., Lindblad, P. & Incharoensakdi, A. (2010). Enhanced biohydrogen production by the N₂ Fixing Cyanobacterium *Anabaena siamensis* strain TISTR 8012. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(23), 12767-12776. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.08.135>
- Lindberg, P. (2003). Cyanobacterial hydrogen metabolism-uptake hydrogenase and hydrogen production by nitrogenase in filamentous cyanobacteria (Ph.D. thesis) Department of Physiological Botany, Faculty of Science and Technology, Uppsala University, Uppsala, Sweden.
- Mokashi, K., Shettyb, V., Annie, S., & Georgec, G. (2016, June). Sodium Bicarbonate as Inorganic Carbon Source for Higher Biomass and Lipid Production Integrated Carbon Capture in *Chlorella vulgaris*. *Achievement in the life Sciences*, 10(1), 111-117.
- Mokashi, K., Shetty, V., George, S. A. & Sibi, G. (2016) Sodium bicarbonate as inorganic carbon source for higher biomass and lipid production integrated carbon capture in *Chlorella vulgaris*. *Achievement in the life Sciences*, 10(1), 111-117. doi: 10.1016/j.als.2016.05.011.
- Nagel, V., Mhalsekar, N. & Tagtap, T. (2010, June). Isolation optimization and characterization of selected cyanophycean members. *Indian Journal of Marine Sciences*, 39(2), 212-218.
- Nakthong, K. (2013). *Optimization and production of phycocyanin from cyanobacterium Oscillatoria sp.* (Master thesis) Department of Biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok. (in Thai)
- Schut, G. J., & Adams, M. W. (2009). The iron-hydrogenase of thermotogamaritima utilizes ferredoxin and NADH synergistically: A new perspective on anaerobic hydrogen production. *Journal of Bacteriology*, 191(13), 4451-4457.

Research Article

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความเป็นพิษของถ่านกัมมันต์ และเปลือกไข่ในการกำจัดสีย้อมเมทิลีนบลู

Comparison of the efficiency and cytotoxicity of activated carbon and eggshell adsorbent in removal of methylene blue dye

ประกายเพชร ปานแก้ว¹ ภาสวิญญ์ ทรงจิตสมบุญ² และ วรณีย์ จีรังกูรสกุล^{3*}

Prakaipet Pankaew¹, Passavitch Songjitsomboon² and Wannee Jiraungkoorskul^{3*}

¹สาขาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคนิคการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹Veterinary Technology Program, Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

²สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาลัยนานาชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อำเภอพุทธมณฑล นครปฐม 73170

²Biological Science Program, Mahidol University International College, Mahidol University, Phutthamonthon District, Nakhonpathom 73170, Thailand

³ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

³Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand

*E-mail: wannee.jir@mahidol.ac.th

Received: 14/02/2019; Revised: 29/08/2019; Accepted: 16/09/2019

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการใช้สีย้อมกันอย่างมากเนื่องจากมีประโยชน์หลายอย่าง แต่ทุกสิ่งย่อมมีทั้งข้อดีและข้อเสีย สีย้อมเหล่านี้ก็มีความอันตรายอยู่ เช่น มีสารก่อมะเร็ง สามารถทำให้เกิดอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำและผู้ใช้สีย้อมลงในแหล่งน้ำโดยไม่มีการบำบัดก่อนทำให้สีย้อมเหล่านี้เกิดการตกค้างในแหล่งน้ำ มีผลต่อสัตว์รวมถึงมนุษย์ที่มีการใช้น้ำหรือมีการบริโภคสัตว์จากแหล่งน้ำ ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นที่จะต้องหาวิธีบำบัดน้ำที่มีสีย้อมปนเปื้อนอยู่ก่อนที่จะปล่อยลงในแหล่งน้ำ การใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาเป็นตัวดูดซับ เช่น เปลือกไข่คือทางเลือกที่ดีเนื่องจากมีต้นทุนต่ำ หาได้ง่าย ใช้ในครัวเรือนและเป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีมาก สามารถกำจัด

ได้โดยการฝังกลบ มีรายงานการวิจัยหลายงานที่ใช้เปลือกไข่เป็นตัวดูดซับเนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นรูพรุน โดยงานวิจัยนี้ต้องการทดสอบเปรียบเทียบการดูดซับสีซีย้อมเมทิลีนบลูกับถ่านกัมมันต์ซึ่งเป็นวัสดุที่มีการดูดซับสีได้ดี แต่กระบวนการผลิตถ่านนั้นส่งผลให้เกิดมลพิษ ทำให้เกิดภาวะโลกร้อนเนื่องจากการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก โดยทำการวัดปริมาณสีซีย้อมเมทิลีนบลูที่ถูกดูดซับด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์เปรียบเทียบกันและนำไปทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ไรทะเลเป็นสัตว์ทดลองเนื่องจากเป็นสัตว์ที่มีร่างกายไม่ซับซ้อน มีขนาดเล็ก หาได้ง่าย และสามารถมองเห็นโครงสร้างทั้งหมดได้ จากนั้นนำเนื้อเยื่อของไรทะเลมาทำพาราฟินบล็อกและซีย้อมสี ศึกษาการเกิดพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเพื่อดูลักษณะความผิดปกติที่เกิดขึ้น พบว่าเปลือกไข่สามารถนำมาใช้เป็นตัวดูดซับสีซีย้อมเมทิลีนบลูที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำได้เช่นเดียวกับถ่านกัมมันต์ แต่จะต้องใช้ในปริมาณที่มากกว่า การใช้เปลือกไข่เป็นตัวดูดซับสีซีย้อมเมทิลีนบลูไม่ได้ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าถ่านกัมมันต์ ดังนั้นเปลือกไข่นับเป็นอีกทางเลือกที่ดีสำหรับการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนของสีซีย้อมเมทิลีนบลู

คำสำคัญ: คาร์บอน, ความเป็นพิษต่อเซลล์, สีซีย้อม, เปลือกไข่, จุลพยาธิวิทยา

Abstract

Currently, the dye is used worldwide due to its benefits. But everything has both advantages and disadvantages. The chemicals in each dye are dangerous, such as carcinogens, and can cause serious harm to aquatic organisms and consumers. The emission of dyes into water resources without treatment, can affect human and animals, and also the environment. Therefore, it needs to treat the contaminated water before releasing into the environment. The agro-waste such as eggshell, is a good choice for a water treatment because of its low cost, easy to find, household use and waste material that can be eliminated by landfill. Many researches have chosen to use egg shells due to porosity. This research would like to compare the adsorption of methylene blue dye with the activated carbon, which is the best absorbent, but the process of production resulting in pollution, and causing global warming. To compare the efficiency of eggshell and activated carbon in reducing the amount of methylene blue dye, UV-Visible spectrophotometer was employed, and the toxicity was analysed by using brine shrimp bioassay. We used brine shrimp as experimental animal because this animal is not complicated, small, easy to obtain and able to see the whole structure. It was found that the eggshell can be used as an adsorbent for methylene blue dye as well as activated carbon, but must be used in greater quantities. The use of eggshell as a dye absorbing does not cause cytotoxicity than activated carbon. Thus, eggshell is another alternative choice for water treatment.

Keywords: carbon, cytotoxicity, dye, eggshell, histopathology

บทนำ

ในปัจจุบันมีการใช้สีย้อมกันอย่างมากทั้งในวงการแพทย์ วิทยาศาสตร์ อุตสาหกรรม ใช้สำหรับการวิจัย การผลิตสินค้า การตรวจวินิจฉัยโรค จึงถือว่าสีย้อมเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นมากในปัจจุบัน แต่ในทางตรงกันข้ามสีย้อมเหล่านี้ก็มีความอันตรายอยู่เช่นกัน เช่น สีย้อมมีสารก่อมะเร็ง สามารถทำให้เกิดอันตรายร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และผู้ใช้น้ำ (Ngadi et al., 2013) ซึ่งอันตรายเหล่านี้สามารถเกิดขึ้นได้จากการทิ้งสีย้อมลงในแหล่งน้ำโดยไม่มีการบำบัดก่อน จึงทำให้สีย้อมเหล่านี้เกิดการตกค้างในแหล่งน้ำ ส่งผลต่อสัตว์ รวมถึงมนุษย์ที่มีการใช้น้ำหรือมีการบริโภคสัตว์จากแหล่งน้ำ ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม (Hassaan & El Nemr, 2017) ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องหาวิธีบำบัดน้ำที่มีสีย้อมปนเปื้อนอยู่ก่อนที่จะปล่อยลงในแหล่งน้ำ ยกตัวอย่างเช่น การตกตะกอนทางเคมี การกรอง การใช้ไฟฟ้า และการดูดซับ (Li et al., 2013) ในปัจจุบันมีการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาเป็นตัวดูดซับ (Adegoke & Bello, 2015) เช่น กาบมะพร้าว (Jibril et al., 2013) แกลบข้าวสาลี (Banerjee et al., 2014) เมล็ดทุเรียน (Azmir et al., 2015) และซังข้าวโพด (Berber-Villamar et al., 2018) เป็นต้น

ผู้วิจัยได้สังเกตเห็นวัสดุเหลือใช้ในครัวเรือนที่อาจนำมาใช้ประโยชน์ในการบำบัดน้ำได้ โดยมีต้นทุนต่ำ หาได้ง่าย ใช้ในครัวเรือน เป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีมาก เช่น เปลือกไข่ซึ่งมีรายงานว่าองค์ประกอบโดยน้ำหนักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (94%) แมกนีเซียมคาร์บอเนต (1%) แคลเซียมฟอสเฟต (1%) และอินทรีย์วัตถุ (4%) เป็นวัสดุชีวภาพที่มีรูพรุน การที่เป็นรูพรุนก่อให้เกิดการเคลื่อนที่ของก๊าซผ่านเปลือกไข่ มีการใช้เทคนิคการทดลองหลายอย่างเพื่อศึกษาความเป็นรูพรุนของเปลือกไข่ไก่ซึ่งรวมถึงการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ดังนั้นในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาจึงมีการศึกษาจำนวนมาก เกี่ยวกับการนำเปลือกไข่มาใช้ประโยชน์จากองค์ประกอบและลักษณะทางกายภาพ ตัวอย่างของการใช้งานเปลือกไข่ เช่น การใช้เป็นตัวดูดซับสารปนเปื้อนในการบำบัดน้ำและดิน (Arzate-Vázquez et al., 2019) เปลือกไข่เป็นผลพลอยได้จากสัตว์ที่อาจสามารถใช้งานได้หลากหลาย รวมถึงมีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นตัวดูดซับ มีการคาดการณ์ว่าเปลือกไข่อาจมีรูพรุนประมาณ 7,000 - 17,000 รูซึ่งทำให้กลายเป็นวัสดุที่น่าสนใจสำหรับการใช้ดูดซับ ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาตลาดไข่มีการเติบโตเนื่องจากความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มขึ้น ในปี พ.ศ. 2560 ทุกประเทศในสหภาพยุโรป (EU-28) ผลิตเปลือกไข่ประมาณ 700 กิโลตัน (Santos et al., 2019) FAO รายงานว่าในปี พ.ศ. 2547 สหรัฐอเมริกาผลิตเปลือกไข่ประมาณ 600,000 ตัน และยังพบว่าการผลิตไข่ทั่วโลกในปี 2551 มีจำนวนเกือบ 62 ล้านตัน โดยจีนมีผลผลิตมากที่สุด เปลือกไข่มีองค์ประกอบแร่คล้ายกับปะการังจึงเป็นวัสดุที่มีแนวโน้มสำหรับการนำมาสังเคราะห์เป็นเซรามิกแคลเซียมฟอสเฟต ผงเปลือกไข่มีรายงานว่าปลอดภัยต่อการนำมาใช้งานในสัตว์หลายชนิดและรวมถึงมนุษย์ที่ยุโรปและเอเชีย ซึ่งในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ผสมเปลือกไข่จำหน่ายเพื่อเสริมสร้างสุขภาพของกระดูก (Salama et al., 2019)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการทำการทดสอบเปรียบเทียบกับถ่านกัมมันต์ซึ่งเป็นวัสดุที่มีการดูดซับสีย้อมได้ดี (Lu et al., 2011) แต่กระบวนการผลิตถ่านนั้นส่งผลให้เกิดมลพิษ ทำให้เกิดภาวะโลกร้อนเนื่องจากการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก (Chidumayo & Gumbo, 2013) ซึ่งทางผู้วิจัยได้เลือกสีย้อมเมทิลีนบลูมาใช้ในการศึกษาเพราะเป็นสีที่มี

การใช้มาก พบได้ในงานหลายด้าน โดยจะทำการทดสอบทางพิษวิทยาในสัตว์ทดลองคือ ไรทะเล (Hlywka et al., 1997; Hartl & Humpf, 2000; Hazra & Chatterjee, 2008; Apu et al., 2010; Ullah et al., 2013) ที่เลี้ยงด้วยน้ำผสมสี ย้อมซึ่งผ่านการบำบัดด้วยวัสดุดังกล่าว และนำมาทำการตรวจวิเคราะห์ทางจุลพิษวิทยาเพื่อศึกษาลักษณะความผิดปกติของที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อ ซึ่งถ้าผลการทดสอบที่ได้ออกมาว่าเปลือกไขไม่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือมากกว่า ถ่านกัมมันต์ จะช่วยเพิ่มทางเลือกในการบำบัดที่มีต้นทุนต่ำ มีประโยชน์ในหลาย ๆ ด้านซึ่งสามารถทำการกำจัดตัว ดูดซับโดยการฝังกลบ

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมตัวดูดซับ

นำไขไก่มาล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด ต้มให้สุกในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นปอกเปลือกแล้วตากเปลือกไขให้แห้ง ชั่งน้ำหนักและนำเปลือกไขไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส แล้วนำเปลือกไขออกมาชั่งน้ำหนักตามระยะเวลาที่อบ คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 24 ชั่วโมง เพื่อหาค่า ร้อยละของความชื้นหรือความชื้นเปลือกไข จากนั้นนำมาปั่นให้เป็นผงด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าแล้วร่อนคัดขนาดด้วย ตะแกรงร่อนให้ได้ขนาดเล็กลงกว่า 1 มิลลิเมตร เก็บตัวดูดซับเปลือกไขที่ได้ในภาชนะที่ป้องกันความชื้น เพื่อใช้ในการ ทดลองต่อไป ในกรณีของถ่านกัมมันต์ให้นำมาปั่นให้เป็นผงแล้วร่อนคัดขนาดเช่นเดียวกับเปลือกไข

2. การเตรียมสีย้อมเมทิลินบลู

ใช้สีย้อมเมทิลินบลูที่เป็นเกรดวิเคราะห์ นำมาละลายในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้ว นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น 340 (Sequoia Turner, ใต้หวัน) ตั้งแต่ ความยาวคลื่น 400 -800 นาโนเมตร เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) จากนั้นเตรียมสีย้อม เมทิลินบลูโดยละลายในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 2, 4, 6, 8, และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาวัดค่าการ ดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) จาก ผลการทดลองข้อ 1 เพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน

3. การศึกษาการกำจัดสีย้อมเมทิลินบลูโดยการดูดซับด้วยเปลือกไขและถ่านกัมมันต์

ชั่งตัวดูดซับเปลือกไขน้ำหนัก 1, 5, และ 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ดูดสารละลายสีย้อมเมทิลินบลูที่ความ เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในแต่ละขวด นำไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เก็บ ตัวอย่างสารละลายสีย้อมเมทิลินบลูที่ผ่านการเขย่าเป็นเวลา 30, 60, 90, และ 120 นาที นำไปปั่นตกตะกอนเพื่อนำมา วัดค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละช่วงเวลาด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสีย้อม เมทิลินบลูที่เหลือโดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ในกรณีของถ่านกัมมันต์ให้ดำเนินการทดลองแบบเดียวกัน เพื่อเป็นการเปรียบเทียบประสิทธิภาพ ทำการทดลองนี้ซ้ำสามครั้ง

4. การศึกษาความเป็นพิษของเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการดูดซับแล้วโดยใช้ไรทะเล

ชั่งตัวดูดซับเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์อย่างละ 10 กรัม หลังจากนั้นดูดสารละลายสีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิกรัมใส่ลงไปในแต่ละขวด นำไปเขย่าที่ความเร็ว 140 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างสารละลายสีข้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการเขย่าเป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นตกตะกอนและนำมาทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ไรทะเลเป็นสัตว์ทดลอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 น้ำทะเล (3.5% NaCl) เป็นกลุ่มควบคุมลบ (negative control)

กลุ่มที่ 2 สีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นกลุ่มควบคุมบวก (positive control)

กลุ่มที่ 3 สีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านตัวดูดซับเปลือกไข่

กลุ่มที่ 4 สีข้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านถ่านกัมมันต์

หมายเหตุ : กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 จะต้องทำการปรับให้มีความเค็มอยู่ที่ระดับ 3.5%

นำสารละลายแต่ละกลุ่ม ปริมาตร 30 มิลลิกรัมใส่ในบีกเกอร์และคัดเลือกไรทะเลระยะโตเต็มวัยจำนวนเพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว (Meyer et al., 1982; Sahgal et al., 2010; Sasidharan, 2014) ใส่ลงไปในบีกเกอร์นี้ 5 ชุด วางบีกเกอร์ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกจำนวนการตายของไรทะเล จากนั้นเก็บไรทะเลในแต่ละกลุ่มการทดลองใส่ในน้ำยาสภาพเนื้อเยื่อ ตัวอย่างเนื้อเยื่อจะดำเนินการตามวิธีของ Presnell & Schreiber (1997) โดยนำเนื้อเยื่อมาแช่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นตั้งแต่ 70%, 80%, 95% และ 100% เพื่อกำจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อมาแช่ในไซลิน ต่อด้วยพาราฟินเหลว แล้วฝังเนื้อเยื่อในบล็อก ทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็งพอที่จะตัดออกเป็นชิ้นบาง ๆ (paraffin section) ขนาด 4-5 ไมครอน ย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีฮีมาท็อกซิดินและอีโอซิน นำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Olympus CX31 และถ่ายภาพด้วย Canon EOS 1100D digital camera

ผลการทดลอง

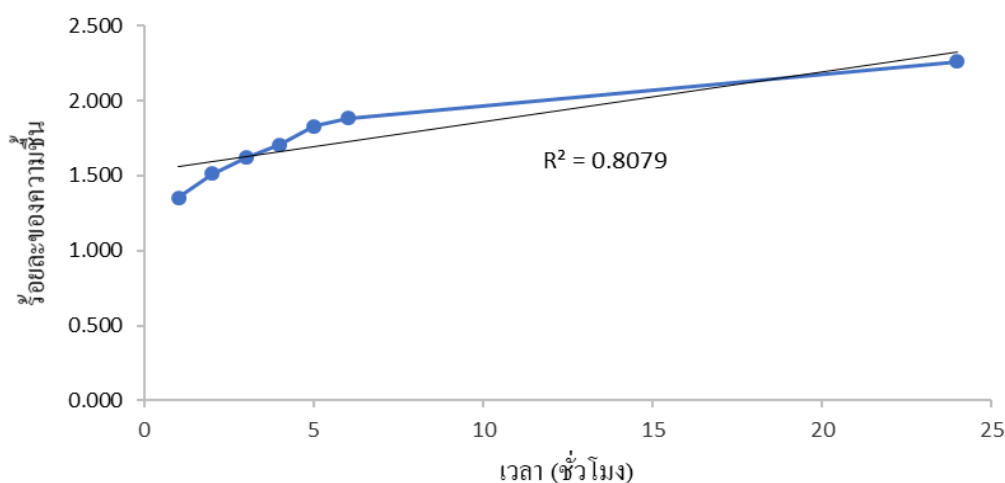
1. ผลการศึกษาคุณสมบัติของเปลือกไข่

หลังจากชั่งน้ำหนักและนำเปลือกไข่ไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส แล้วนำเปลือกไข่ออกมาชั่งน้ำหนักตามระยะเวลาคือ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 24 ชั่วโมง เพื่อหาค่าร้อยละของความชื้นเปลือกไข่ ได้ผลตามรูปที่ 1 คือ พบความชื้นหลังจากอบแห้ง 24 ชั่วโมงเฉลี่ยร้อยละ 2.26

2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสี (efficiency of dye removal)

จากการเก็บตัวอย่างสารละลายสีข้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการเขย่าเป็นเวลา 30, 60, 90, และ 120 นาที นำไปปั่นตกตะกอนเพื่อนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละช่วงเวลาด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสีข้อมเมทิลีนบลูที่ค่าความยาวคลื่น 667 นาโนเมตร ได้ผลดังตารางที่ 1 โดยพบว่าความเข้มข้นของสีข้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการดูดซับโดยเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์ มีค่าลดลงอย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟ

มาตรฐานความเข้มข้นของเมทิลีนบลูที่เวลา 30 นาที ซึ่งเป็นการวัดค่าเป็นเวลาแรก แต่เมื่อวัดค่าในเวลาหลังจากนั้นค่าที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงแบบไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสรุปได้ว่าใช้เวลาไม่เกิน 30 นาทีก็เพียงพอต่อการดูดซับสีของตัวดูดซับที่จะใช้ในการทดลองครั้งนี้ จากผลการศึกษาพบว่า ถ่านกัมมันต์มีประสิทธิภาพในการดูดซับสีของเมทิลีนบลูสูงกว่าเปลือกไข่ (ทุกช่วงเวลาและปริมาณตัวดูดซับที่เท่ากัน) อย่างไรก็ตามในการแยกถ่านกัมมันต์จากสารละลายสีของเมทิลีนบลูที่ใช้ในการศึกษาพบว่าทำได้ยากและไม่สามารถแยกออกได้ทั้งหมด ซึ่งแตกต่างจากการแยกเปลือกไข่ที่ผ่านการดูดซับออกจากสารละลายสีของเมทิลีนบลูอย่างชัดเจน



รูปที่ 1. ร้อยละของความเข้มข้นที่หายไปหลังจากอบแห้ง

ตารางที่ 1. ประสิทธิภาพการกำจัดสีเมทิลีนบลู (ร้อยละ) โดยการดูดซับด้วยเปลือกไข่และถ่านกัมมันต์

	เวลาที่เขย่า (นาที)							
	เปลือกไข่				ถ่านกัมมันต์			
น้ำหนัก (กรัม)	30	60	90	120	30	60	90	120
1	38.34	35.64	33.84	28.62	97.57	97.30	98.27	98.11
5	61.88	55.89	52.97	51.51	95.57	96.33	97.35	96.65
10	70.30	67.39	66.47	65.39	97.52	96.33	98.43	98.49

3. ผลการทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ไรทะเล (brine shrimp cytotoxicity bioassay)

จากการทดลองพบว่ากลุ่มที่ 1 มีการตายของไรทะเล 1 ตัวจาก 50 ตัว (2%) กลุ่มที่ 2 มีการตายของไรทะเล 3 ตัวจาก 50 ตัว (6%) กลุ่มที่ 3 มีการตายของไรทะเล 2 ตัวจาก 50 ตัว (4%) กลุ่มที่ 4 มีการตายของไรทะเล 2 ตัวจาก 50 ตัว (4%)

4. ผลการวิเคราะห์เนื้อเยื่อในพาราฟินบล็อก (paraffin block technique)

กลุ่มที่ 1 น้ำทะเล (3.5% NaCl) เป็นกลุ่มควบคุม พบว่าเซลล์เยื่อในในระบบทางเดินอาหาร (enterocyte) ส่วนใหญ่อยู่ในสภาพที่ปกติคือ columnar cell มีนิวเคลียสอยู่ฐานของเซลล์ ส่วนบนมี cilia ปกติ (รูปที่ 4A)

กลุ่มที่ 2 สีย้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นกลุ่มควบคุม พบว่าเซลล์ในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่มีความผิดปกติเกิดขึ้น ได้แก่ เซลล์มีการยื่นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร (protruding cell) มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อทางเดินอาหาร (hyperplasia) เยื่อเมือกมีการหนาตัวขึ้น (mucus hyper secretion) พบตะกอนสีและเซลล์ตาย (necrosis) (รูปที่ 4B)

กลุ่มที่ 3 สีย้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านตัวดูดซับเปลือกไข่ พบว่าเซลล์ในระบบทางเดินอาหารบางส่วนมีความผิดปกติเกิดขึ้นและยังสามารถพบตะกอนสีย้อมเมทิลีนบลูในระบบทางเดินอาหารได้ในระดับหนึ่ง ได้แก่ เกิดช่องว่างในเซลล์ เยื่อเมือกมีการหนาตัวขึ้นและเซลล์มีการยื่นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร (รูปที่ 4C)

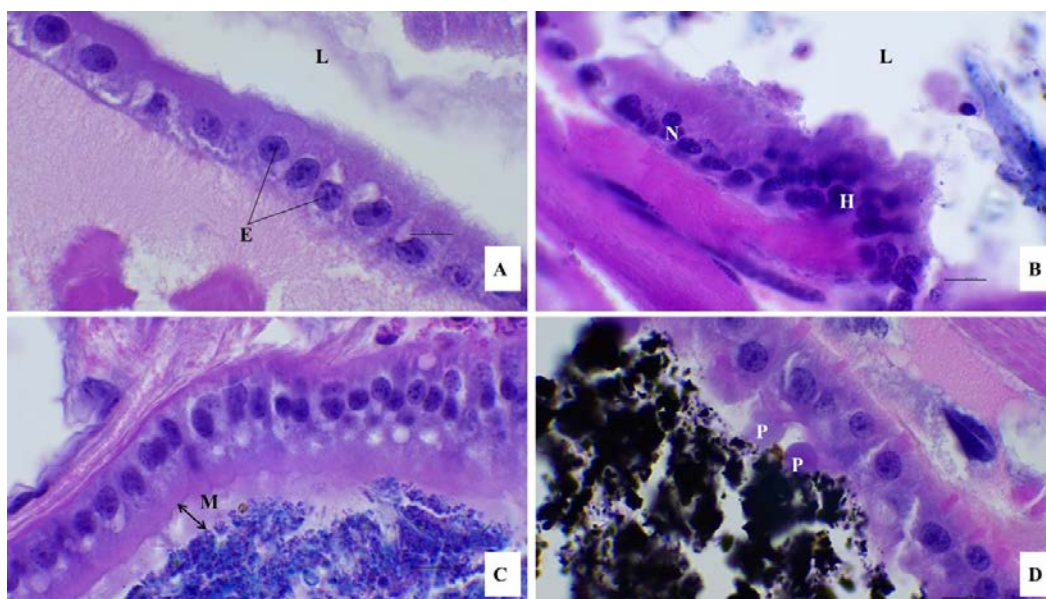
กลุ่มที่ 4 สีย้อมเมทิลีนบลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านถ่านกัมมันต์ พบว่าเซลล์ในระบบทางเดินอาหารบางส่วนมีความผิดปกติเกิดขึ้น ได้แก่ เซลล์มีการยื่นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อทางเดินอาหารและยังสามารถพบผงถ่านที่ดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูในระบบทางเดินอาหารจำนวนมาก (รูปที่ 4D)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสีย้อมเมทิลีนบลู คือ 667 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมา (Medidi et al., 2018) ส่วนค่าร้อยละของความขึ้นในเปลือกไข่โดยมีค่าเฉลี่ยคือ ร้อยละ 3.28 ซึ่ง Ajala et al. (2018) ได้รายงานว่าไข่ไก่มีความขึ้นไม่เกินร้อยละ 1.84 และ Al-Awwal & Lodo (2013) ได้ทำการทดลองที่ไนจีเรียรายงานว่าไข่ไก่มีความขึ้นไม่เกินร้อยละ 1.007 ดังนั้นความขึ้นในเปลือกไข่จึงมีความแปรผันได้ด้วยปัจจัยรอบข้าง เช่น สิ่งแวดล้อมหรือภูมิประเทศ จึงควรรอบแหย่งอย่างน้อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Ipeaiyeda et al 2014; Borhade & Kale, 2017)

นอกจากนี้ยังพบว่าตัวดูดซับสามารถใช้เวลาไม่เกิน 30 นาทีในการดูดซับสีย้อม ประสิทธิภาพการกำจัดสีเมทิลีนบลูที่มีการลดลงเมื่อทำการเพิ่มเวลาในการดูดซับทำให้เห็นว่าเปลือกไข่มีการคายซับซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ipeaiyeda et al. (2014) โดยสีของสีย้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการดูดซับโดยเปลือกไข่ จะยังคงมีสีฟ้า

มากกว่าสีย้อมเมทิลีนบลูที่ผ่านการดูดซับโดยถ่านกัมมันต์ซึ่งมีลักษณะใสไม่มีสี แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นพบว่าไม่สามารถปั่นตกตะกอนเพื่อกำจัดผงถ่านกัมมันต์ออกไปได้หมดเนื่องจากขนาดเล็กมากของผงถ่านกัมมันต์ จึงทำให้มีน้ำหนักเบาและไม่ตกตะกอนลงไปถึงแม้จะใช้การปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบที่ 8,000 รอบต่อนาทีก็ตาม และเนื่องจากขนาดเล็กมากซึ่งอาจเล็กกว่า 2.5 ไมครอน จึงอาจทำให้เป็นอันตรายกับผู้ใช้ได้ (Wang et al., 2016; Ma et al., 2017) แต่ด้วยการทดลองใช้เปลือกไข่ที่ปริมาณต่าง ๆ พบว่ายังทำการเพิ่มปริมาณเปลือกไข่ยังทำให้สีย้อมถูกดูดซับออกไปได้มากขึ้น ซึ่งเห็นได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงในระยะเวลาที่เท่ากัน ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเพิ่มปริมาณตัวดูดซับ เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซับ จึงทำให้ประสิทธิภาพการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูมีค่าสูงขึ้น (Sivashankar et al., 2014) แต่อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของเปลือกไข่ยังน้อยกว่าผงถ่านกัมมันต์เมื่อใช้ในปริมาณที่เท่ากัน จึงจำเป็นต้องใช้เปลือกไข่จำนวนมากว่าในการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมเมทิลีนบลู แต่เนื่องจากเปลือกไข่เป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีมาก หาได้ง่าย จึงทำให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าถ่านกัมมันต์ที่จำเป็นต้องมีการผลิตซึ่งก่อให้เกิดมลพิษกับสิ่งแวดล้อม (Hjaila et al., 2013; Kim et al., 2018)



รูปที่ 4. ภาพเนื้อเยื่อทางเดินอาหารของไทรทะเล (A) กลุ่มที่ 1 (B) กลุ่ม 2 (C) กลุ่ม 3 (D) กลุ่มที่ 4

หมายเหตุ: E = enterocyte, H = hyperplasia, L = lumen, M = mucus, N = necrosis, P = protruding cell

จากการทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ทดลองคือไทรทะเล พบว่าสีย้อมก่อให้เกิดการตายที่น้อย อาจเป็นผลมาจากเมทิลีนบลูเป็นสีย้อมที่มีความเป็นพิษค่อนข้างต่ำ (Oz et al., 2011) จึงทำให้เกิดการตายของสัตว์ทดลองที่น้อย เนื่องจากระยะเวลาในการเลี้ยงที่สั้น แต่อย่างไรก็ตามจากการนำเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลองมาส่องดูเซลล์ในระบบ

ทางเดินอาหาร พบว่าเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่แย่ลง จึงสามารถบอกได้ว่าสีของเมทิลีนบลูมีผลเสียต่อสุขภาพในระยะยาวเมื่อได้รับในปริมาณมาก ๆ จากการทดลองพบว่าเปลือกไข่สามารถนำมาช่วยในการลดปริมาณของสีของเมทิลีนบลูลงได้โดยที่มีการก่อให้เกิดพยาธิสภาพคือ เซลล์มีการขึ้นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหาร เมื่อเทียบกับถ่านกัมมันต์ที่มีการก่อให้เกิดพยาธิสภาพคือ เซลล์มีการขึ้นตัวเข้าสู่ช่องทางเดินอาหารเดียวกัน แต่มีความผิดปกติที่รุนแรงกว่าคือการเพิ่มจำนวนของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ทางเดินอาหาร และในท้ายที่สุดพบการตายของเซลล์ ฉะนั้นการใช้เปลือกไข่จึงมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้ถ่านกัมมันต์

สรุปผลการทดลอง

เปลือกไข่สามารถนำมาใช้เป็นตัวดูดซับสีของเมทิลีนบลูที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำได้เช่นเดียวกับถ่านกัมมันต์แต่จะต้องใช้ในปริมาณที่มากกว่า แต่อย่างไรก็ตามเปลือกไข่สามารถหาได้ง่ายและขบวนการผลิตไม่ได้ก่อให้เกิดผลกระทบหรือมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมเท่ากับการผลิตถ่านกัมมันต์ การใช้เปลือกไข่เป็นตัวดูดซับสีของเมทิลีนบลูไม่ได้ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าถ่านกัมมันต์ที่ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ทางเดินอาหาร ถ้าต้องการวัสดุที่จะนำมาใช้ในการบำบัดน้ำได้ โดยที่มีต้นทุนต่ำ หาได้ง่าย ใช้ในครัวเรือน เป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีมาก เปลือกไข่ นับเป็นอีกทางเลือกที่ดีอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งสามารถนำไปต่อยอดเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการดูดซับสำหรับใช้ในการบำบัดน้ำต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการพิษวิทยาสัตว์น้ำ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล รวมทั้งนายปิยะ โคสัย และ นายสมนึก กู่ทะ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำการทดลองจนงานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Adegoke, K. A. & Bello, O. S. (2015). Dye sequestration using agricultural wastes as adsorbents. *Water Resources and Industry*, 12, 8-24. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2015.09.002>
- Ajala, E. O., Eletta, O. A. A., Ajala, M. A. & Oyeniyi, S. (2018). Characterization and evaluation of chicken eggshell for use as a bio-resource. *Arid Zone Journal of Engineering, Technology and Environment*, 14(1), 26-40.
- Al-Awwal, N. & Lado, U. (2013). Proximate analyses of different samples of egg shells obtained from sokoto market in Nigeria. *International Journal of Science and Research*, 4, 564-566. doi: 10.21275/SUB152011

- Apu, A. S., Muhit, M. A., Tareq, S. M., Pathan, A. H., Jamaluddin, A. T. M. & Ahmed, M. (2010). Antimicrobial activity and brine shrimp lethality bioassay of the leaves extract of *Dillenia indica* Linn. *Journal of Young Pharmacists*, 2(1), 50-53. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.62213>
- Arzate-Vázquez, I., Méndez-Méndez, J. V., Flores-Johnson, E. A., Nicolás-Bermúdez, J., Chanona-Pérez, J. J. & Santiago-Cortés, E. (2019). Study of the porosity of calcified chicken eggshell using atomic force microscopy and image processing. *Micron*, 118, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2018.12.008>
- Azmier, M., Ahmad, N. & Bello, O. (2015). Modified durian seed as adsorbent for the removal of methyl red dye from aqueous solutions. *Applied Water Science*, 5, 407-423. <https://doi.org/10.1007/s13201-014-0208-4>
- Banerjee, S., Chattopadhyaya, M., Sharma, U. & Sharma, Y. C. (2014). Adsorption characteristics of modified wheat husk for the removal of a toxic dye, methylene blue, from aqueous solutions. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, 18, 56-63. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)HZ.2153-5515.0000191](https://doi.org/10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000191)
- Berber-Villamar, N. K., Netzahuatl-Muñoz, A. R., Morales-Barrera, L., Chávez-Camarillo, G. M., Flores-Ortiz, C. M. & Cristiani-Urbina, E. (2018). Corncob as an effective, eco-friendly, and economic biosorbent for removing the azo dye direct yellow 27 from aqueous solutions. *PLoS One*, 13(4), e0196428. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196428>
- Borhade, A. V. & Kale, A. S. (2017). Calcined eggshell as a cost effective material for removal of dyes from aqueous solution. *Applied Water Science*, 7(8), 4255-4268. doi: 10.1007/s13201-017-0558-9
- Chidumayo, E. N. & Gumbo, D. J. (2013). The environmental impacts of activated carbon production in tropical ecosystems of the world: A synthesis. *Energy for Sustainable Development*, 17(2), 86-94. doi: 10.1016/j.esd.2012.07.004
- Hartl, M. & Humpf, H. U. (2000). Toxicity assessment of fumonisins using the brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay. *Food and Chemical Toxicology*, 38(12), 1097-1102. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00112-5)
- Hassaan, M. & El Nemr, A. (2017). Health and environmental impacts of dyes: Mini review. *American Journal of Environmental Science and Engineering*, 1, 64-67. doi: 10.11648/j.ajese.20170103.11
- Hazra, A. G. & Chatterjee, P. (2008). A nontoxic antitumour compound from the leaves of *Bauhinia scandens* characterized as 1-O-alkyl glycerol by gas-liquid chromatography and evaluation of its antitumour property by brine shrimp bioassay. *Industrial Crops and Products*, 27(1), 39-43. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.07.005>

- Hjaila, K., Baccar, R., Sarrà, M., Gasol, C. M. & Blánquez, P. (2013). Environmental impact associated with activated carbon preparation from olive-waste cake via life cycle assessment. *Journal of Environmental Management*, 130, 242-247. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.08.061>
- Hlywka, J. J., Beck, M. M. & Bullerman, L. B. (1997). The use of the chicken embryo screening test and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassays to assess the toxicity of fumonisin B1 mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, 35(10), 991-999. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)87268-7](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)87268-7)
- Ipeaiyeda, A., Ebere, G. & Tesi, O. (2014). Sorption and desorption studies on toxic metals from brewery effluent using eggshell as adsorbent. *Advances in Natural Science*, 7, 15-24. doi:10.3968/5394
- Jibril, M., Noraini, J., Poh, L. S. & Evuti, A. M. (2013). Removal of colour from waste water using coconut shell activated carbon (CSAC) and commercial activated carbon (CAC). *Jurnal Teknologi*, 60, 15-19. <https://doi.org/10.11113/jt.v60.1435>
- Kim, M. H., Tae Jeong, I., Park, S. B. & Kim, J. W. (2018). Analysis of environmental impact of activated carbon production from wood waste. *Environmental Engineering Research*, 24(1), 117-126. <https://doi.org/10.4491/eer.2018.104>
- Li, S., Yang, W., Cao, C., Wang, Y. & Yang, S. (2013). Research progress of the physical and chemical treatment of dye wastewater. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 4, 2010-2012.
- Lu, P. J., Lin, H. C., Yu, W. T. & Chern, J. M. (2011). Chemical regeneration of activated carbon used for dye adsorption. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 42(2), 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.06.001>
- Ma, Q., Cai, S., Wang, S., Zhao, B., Martin, R., Brauer, M., et al. (2017). Impacts of coal burning on ambient PM_{2.5} pollution in China. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 17, 4477-4491. <https://doi.org/10.5194/acp-17-4477-2017>
- Medidi, S., Markapurapu, S., Kotupalli, M. R., Chinnam, R. K. R., Susarla, V. M., Gandham, H. B. & Sanasi, P. D. (2018). Visible light photocatalytic degradation of methylene blue and malachite green dyes with cuwo4-go nano composite. *Modern Research in Catalysis*, 7, 17-34. doi: 10.4236/mrc.2018.72002
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D., Nicols, L. & McLaughlin, J. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45, 31-34. doi: 10.1055/s-2007-971236
- Ngadi, N., Ee, C. C. & Yusoff, N. A. (2013). Removal of methylene blue dye by using eggshell powder. *Jurnal Teknologi*, 65, 63-71. <https://doi.org/10.11113/jt.v65.1648>

- Oz, M., Lorke, D. E., Hasan, M. & Petroianu, G. A. (2011). Cellular and molecular actions of methylene blue in the nervous system. *Medicinal Research Reviews*, 31(1), 93-117. doi: 10.1002/med.20177
- Presnell, J. K. & Schreibman, M. P. (1997). *Humason's Animal Tissue Techniques* (5th ed.). Maryland, United States: Johns Hopkins University Press.
- Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M. N., Ismail, S. & Mansor, S. M. (2010). Brine shrimp lethality and acute oral toxicity studies on *Swietenia mahagoni* (Linn.) Jacq. seed methanolic extract. *Pharmacognosy Research*, 2(4), 215-220. doi: 10.4103/0974-8490.69107
- Salama, R., Khashaba, M. & El Roubi, D. (2019). Histomorphometric evaluation of a nano-sized eggshell-containing supplement as a natural alloplast: An animal study. *Saudi Dental Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2019.03.011>
- Santos, A. F., Arim, A. L., Lopes, D. V., Gando-Ferreira, L. M. & Quina, M. J. (2019). Recovery of phosphate from aqueous solutions using calcined eggshell as an eco-friendly adsorbent. *Journal of Environmental Management*, 238, 451-459. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.015>
- Sasidharan, S. (2014). Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of methanol extract of mentha spicata l (lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13, 101-107. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v13i1.15>
- Sivashankar, R., Sathya, A. B., Vasantharaj, K. & Sivasubramanian, V. (2014). Magnetic composite an environmental super adsorbent for dye sequestration – A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 1-2, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2014.06.001>
- Ullah, M. O., Haque, M., Urmi, K. F., Md. Zulfiker, A. H., Anita, E. S., Begum, M. & Hamid, K. (2013). Anti-bacterial activity and brine shrimp lethality bioassay of methanolic extracts of fourteen different edible vegetables from Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60015-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60015-5)
- Wang, F. F., Geng, C. M., Hao, W. D., Zhao, Y. D., Li, Q., Wang, H. M. & Qian, Y. (2016). The cellular toxicity of pm2.5 emitted from coal combustion in human umbilical vein endothelial cells. *Biomedical and Environmental Sciences*, 29(2), 107-116. doi: 10.3967/bes2016.012

Research Article

การดูดซับสีเมทิลีนบลูด้วยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และ ซีโอไลต์มาตรฐาน 4A

Adsorption of methylene blue dye by synthetic zeolite Na-A and standard zeolite 4A

พลาริพ แซ่อู่ย์¹ ตรีการ กองแก้ว¹ ธันวา วงศ์สุข¹ ธนิตา วัชรมัย¹ และ ขวัญเนตร สมบัติสมภพ^{1*}

Palatip Sae-uei¹, Trakan Kongkaew¹, Thanwa Wongsuk¹, Thanita Watcharamai¹ and Kwannate Sombatsompop^{1*}

¹ภาควิชาเทคโนโลยีวิศวกรรมโยธาและสิ่งแวดล้อม วิทยาลัยเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

¹Department of Civil and Environmental Engineering Technology, College of Industrial Technology, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand

*E-mail: kwannate.s@cit.kmutnb.ac.th

Received: 17/06/2019; Revised: 01/10/2019; Accepted: 4/10/2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาความสามารถในการดูดซับสีเมทิลีนบลูโดยเปรียบเทียบระหว่างซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A ที่สังเคราะห์จากตะกอนเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำประปา และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับสีเมทิลีนบลู ได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในการดูดซับ ปริมาณวัสดุดูดซับ ความเข้มข้นของสีเมทิลีนบลู และค่า pH เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการดูดซับ โดยใช้สมการของแลงเมียร์และฟรุนดลิชในการศึกษาไอโซเทอมของการดูดซับ จากผลการทดลอง พบว่า ระยะเวลาและปริมาณวัสดุดูดซับที่เหมาะสมของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A เท่ากับ 60 min และ 1 g ตามลำดับ ซึ่งซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ให้ประสิทธิภาพในการดูดซับสีเมทิลีนบลูได้มากกว่า 90 และ 18% ตามลำดับ สำหรับความสามารถในการดูดซับของซีโอไลต์แต่ละชนิดในช่วงค่า pH 3-9 มีค่าใกล้เคียงกัน จากการศึกษาสมการไอโซเทอมยังพบว่าการดูดซับสีเมทิลีนบลูสอดคล้องกับสมการของแลงเมียร์มากกว่าฟรุนดลิช โดยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และ ซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีความสามารถในการดูดซับสีเมทิลีนบลูได้สูงสุดเท่ากับ 40.67 และ 7.85 mg/g ตามลำดับ ดังนั้นซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A ที่สังเคราะห์จากตะกอนประปาจึงสามารถใช้เป็นวัสดุดูดซับสีเมทิลีนบลูที่ดีได้

คำสำคัญ: ซีโอไลต์ สีมะทิลินบลู การดูดซับ ไอโซเทอม

Abstract

This study investigated the adsorption ability of methylene blue dye by the zeolite Na-A synthesized from water treatment sludge and the standard zeolite 4A. The effects of contact time, adsorbent dosage, initial methylene blue concentrations, solution pH and optimal experimental conditions were investigated. The adsorption isotherms were analyzed by using Langmuir and Freundlich equations. The experimental results recommended that the optimum contact time and adsorbent dosage of synthetic zeolite Na-A were 60 min and 1 g, respectively. At the optimum conditions, the adsorption percentages of synthetic zeolite Na-A and zeolite 4A were more than 90 and 18 percent, respectively. Adsorption capacities of each zeolite in range of pH 3-9 were similar. It was also found that the experimental data of isotherm followed the Langmuir isotherm model was better than the Freundlich model. The maximum adsorption capacities obtained from Langmuir isotherm of synthetic zeolite Na-A and standard zeolite 4A were 40.67 and 7.85 mg/g, respectively. Therefore, the synthetic zeolite Na-A synthesized from water treatment sludge could be a good adsorbent for methylene blue dye removal.

Keywords: zeolite, methylene blue dye, adsorption, isotherm

บทนำ

อุตสาหกรรมสิ่งทอฟอกย้อมที่เกิดขึ้นในปัจจุบันมีกระบวนการผลิตโดยใช้สารเคมีและสีย้อม ทำให้น้ำเสียที่ปล่อยจากกระบวนการซึ่งแล้วเสร็จนี้มีการปนเปื้อนของสารเคมีและสีย้อมในปริมาณมาก น้ำเสียที่ปล่อยมาจากอุตสาหกรรมสีย้อม ประกอบด้วย สารแขวนลอย (suspended solid) และสารอินทรีย์จากกระบวนการย้อมในปริมาณสูง ได้แก่ แป้ง สีย้อม กรดแอซิดิก และเส้นใยเส้นด้าย ที่ปนเปื้อนออกมาจากกระบวนการผลิต อีกทั้งยังมีสารอินทรีย์ประเภทโลหะหนักจากสีย้อมปนเปื้อนในน้ำทิ้ง เช่น ทองแดง (Cu) ตะกั่ว (Pb) โครเมียม (Cr) โคบอลต์ (Co) และสังกะสี (Zn) เป็นต้น สีย้อมส่วนใหญ่ย่อยสลายยากแต่ละลายน้ำได้ดี ทนทานต่อแสงและกรดด่าง จึงทำให้ยากต่อการบำบัด เมทิลินบลูเป็นสีย้อมประจุบวก (cationic dye) ที่มีการใช้งานได้หลากหลาย ทั้งใช้ในด้านเคมี ชีวภาพ วิทยาศาสตร์การแพทย์ และอุตสาหกรรมสีย้อม การสัมผัสสารนี้เป็นระยะเวลานาน อาจทำให้คลื่นไส้ อาเจียน และความดันสูง (Pathania et al., 2017) เมื่อปล่อยลงสู่แหล่งน้ำแล้วก็จะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศทำให้เสียทัศนียภาพในแหล่งน้ำนั้น ๆ ได้ ดังนั้น จึงได้มีการกำจัดสีที่ปะปนอยู่ในน้ำเสียอุตสาหกรรมสีย้อมเพื่อลดปัญหามลพิษทางน้ำ และสิ่งแวดล้อม ซึ่งกระบวนการบำบัดสีย้อมมีด้วยกันหลายวิธี ได้แก่ การใช้สารเคมีที่ทำให้เกิดการตกตะกอน การใช้จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายโมเลกุลสี การกรองด้วยเยื่อเลือกผ่าน และการดูดซับด้วยวัสดุดูดซับ เป็นต้น

ซึ่งแต่ละวิธีก็จะมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันออกไป สำหรับการกำจัดสีด้วยวิธีการดูดซับ เป็นวิธีที่มีความนิยมนกัน อย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำและมีประสิทธิภาพการดูดซับเทียบเท่ากับวิธีอื่น ๆ รวมทั้งยังไม่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ วัสดุดูดซับมีหลากหลายชนิดที่สามารถนำมาบำบัดสีย้อมได้ เช่น ถ่านกัมมันต์ ซิลิกา เถ้าลอย ซีโอไลต์ เป็นต้น (Pathania et al., 2017; Sapawe et al., 2013; Sun et al., 2010; EL-Mekkawi et al., 2016)

ซีโอไลต์ เป็นวัสดุดูดซับประเภทหนึ่งที่มีความนิยมนและนำไปใช้งานด้านต่าง ๆ เนื่องจากมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุและมีพื้นที่ผิวมาก ทำให้มีประสิทธิภาพสูง เหมาะสำหรับการเป็นตัวดูดซับที่ดี สำหรับไอออนของโลหะหนักในน้ำเสียและสีย้อมอินทรีย์ (EL-Mekkawi et al., 2016) ซีโอไลต์มีทั้งที่ได้จากธรรมชาติและสังเคราะห์ขึ้น ซึ่งซีโอไลต์สังเคราะห์มีความสำคัญอย่างมากในการนำมาประยุกต์ใช้งานได้หลากหลาย ซีโอไลต์สามารถสังเคราะห์ได้จากวัสดุธรรมชาติ ของเหลือทิ้งทางการเกษตร ถ่านหิน และดินขาว เป็นต้น มีการสังเคราะห์ซีโอไลต์ชนิด Na-A ด้วยกระบวนการใช้คลื่นไมโครเวฟ เพื่อใช้ในการดูดซับสีเมทิลีนบลู พบว่าสามารถดูดซับได้สูงสุดถึง 64.8 mg/g (Sapawe et al., 2013) นอกจากนี้มีการใช้ดินขาวจากแหล่งต่าง ๆ นำมาสังเคราะห์ซีโอไลต์ Na-Y พบว่าซีโอไลต์ที่มีขนาดอนุภาคเล็กและมีพื้นที่ผิวภายนอกสูงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้บำบัดสีเมทิลีนบลู

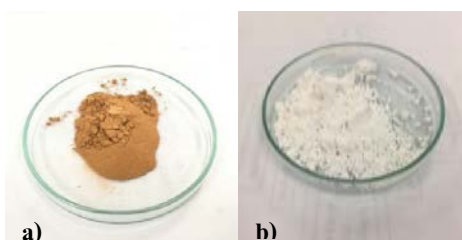
จากงานวิจัยที่ผ่านมา การกำจัดสีย้อมที่ปนเปื้อนในน้ำโดยวิธีการใช้ซีโอไลต์เป็นวัสดุดูดซับที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตาม ผลของการดูดซับของซีโอไลต์ที่ต่างกันของแหล่งที่มา กระบวนการผลิต ปริมาณของวัสดุดูดซับ อุณหภูมิ ระยะเวลาในการดูดซับ ความเข้มข้น ค่ากรดต่าง ปริมาณรูปของวัสดุดูดซับ มีผลต่อความสามารถในการดูดซับทั้งสิ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูในน้ำสีสังเคราะห์ด้วยวัสดุดูดซับซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A ที่สังเคราะห์ขึ้นจากตะกอนประปา แล้วเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับกับซีโอไลต์มาตรฐาน 4A โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับได้แก่ ระยะเวลาในการดูดซับ ปริมาณซีโอไลต์ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมเมทิลีนบลู และค่า pH ของสีย้อมเมทิลีนบลู เพื่อนำผลการศึกษาไปวิเคราะห์เปรียบเทียบหาความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลู และประสิทธิภาพในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูระหว่างซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A รวมทั้งศึกษาไอโซเทอมการดูดซับด้วยสมการ Langmuir และ Freundlich เพื่อเป็นแนวทางในการลดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อม

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัสดุดูดซับ

การศึกษาการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูในครั้งนี้ได้นำซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A ที่สังเคราะห์ขึ้นจากตะกอนประปาจากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาโดยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A มีลักษณะเป็นผงสีขาวตาลแดงมีสูตรทางเคมี $\text{Na}_{12}\text{Al}_2\text{Si}_{12}\text{O}_{48}\cdot 27\text{H}_2\text{O}$ เมื่อทดสอบพื้นที่ผิวด้วยเทคนิค BET พบว่ามีพื้นที่ผิวดูดซับเท่ากับ $52.2 \text{ m}^2/\text{g}$ มีขนาดรูพรุน

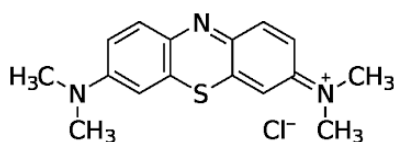
12.5 nm (125 Å) (Wongwichien et al., 2014) และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทไทย ซิลิเกตเคมีคอล จำกัด ลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวมีสูตรทางเคมี $\text{Na}_2\text{OAl}_2\text{O}_3\cdot 2\text{SiO}_2\cdot 4.5\text{H}_2\text{O}$ มีพื้นที่ผิวดูดซับเท่ากับ $34.5 \text{ m}^2/\text{g}$ มีขนาดรูพรุนอยู่ในช่วง 0.3-0.6 nm (3-6 Å) (Tantuan, 2013) (รูปที่ 1) การเตรียมซีโอไลต์ก่อนจะนำไปใช้ ทำการวิเคราะห์หาความสามารถและประสิทธิภาพในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลู โดยนำซีโอไลต์ทั้งสองชนิดไปอบ ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นระยะเวลา 60 min ด้วยตู้อบ (oven) เพื่อไล่ความชื้นออกจากซีโอไลต์ จากนั้นจึงนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) เพื่อเตรียมไว้สำหรับนำไปใช้ในการทดลอง



รูปที่ 1. a) ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และ b) ซีโอไลต์มาตรฐาน 4A

2. การเตรียมสารละลายเมทิลีนบลู

การทดลองนี้ใช้เมทิลีนบลู ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{ClS}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ของบริษัท UNILAB (C.I. 52015) ซึ่งเป็นสีย้อม cationic dye ที่มีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 2 มีลักษณะเป็นผลึกสีเขียวเข้ม เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายสีฟ้าเข้ม โมเลกุลมีขนาด $17.0 \times 7.6 \times 3.3 \text{ Å}$. (Arias et al., 1999) ในการทดลองจะเตรียมสารละลายเมทิลีนบลูโดยชั่งเมทิลีนบลู 2.225 g ผสมในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเท่ากับ 2 l จะได้ความเข้มข้นของสารละลายเมทิลีนบลูเท่ากับ 1,112 mg/l จากนั้นเจือจางสีย้อมเมทิลีนบลูที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 2 4 6 8 และ 10 mg/l สำหรับทำการหาพลาสมาของสีย้อมเมทิลีนบลู และเจือจางสีย้อมเมทิลีนบลูที่มีความเข้มข้น 25 50 75 100 และ 125 mg/l เพื่อใช้ในการศึกษาปัจจัยความเข้มข้นที่มีผลต่อการดูดซับของซีโอไลต์ทั้งสองชนิดต่อไป



รูปที่ 2. สูตรโครงสร้างทางเคมีของเมทิลีนบลู

3. ขั้นตอนการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูได้แก่ ระยะเวลาในการดูดซับเท่ากับ 5 10 15 20 30 40 60 80 และ 120 min ปริมาณซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A โดยแปรค่าเท่ากับ 0.25

0.50 0.75 1.00 1.25 และ 1.50 g ความเข้มข้นสีย้อมเมทิลีนบลูเท่ากับ 25 50 75 100 และ 125 mg/l และค่า pH เท่ากับ 3 5 7 และ 9 โดยเริ่มต้นจากการนำซีโอไลต์ที่เตรียมไว้ไปผสมกับสีย้อมเมทิลีนบลู แล้วจึงนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (shaking incubator) ที่ความเร็วรอบ 100 rpm ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 60 min หลังจากผ่านขั้นตอนของการดูดซับแล้ว จึงนำสารละลายเมทิลีนบลูที่ได้ไปเหวี่ยงแยกตะกอนของซีโอไลต์ออกจากสารละลายเมทิลีนบลูด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Hettich Zentrifugen รุ่น D-78532) ที่ความเร็วรอบ 3500 rpm เป็นเวลา 15 min แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer (รุ่น DR/4000U บริษัท HACH) ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 665 nm เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของเมทิลีนบลูที่เหลืออยู่ โดยในแต่ละการทดลองจะทำการทดลองซ้ำ 3 ค่า (n=3) นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

หลังจากทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับอื่น ๆ แล้ว จึงนำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณหาค่าประสิทธิภาพการดูดซับ และความสามารถในการดูดซับของสีย้อมเมทิลีนบลู ตามสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$$\text{Adsorption percentage (\%)} = \left(\frac{C_0 - C_1}{C_0} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

C_0 คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมเมทิลีนบลู (mg/l)

C_1 คือ ความเข้มข้นที่เหลืออยู่หลังการดูดซับของสีย้อมเมทิลีนบลู (mg/l)

$$q = \frac{C_0 - C_1}{W} \cdot V \quad (2)$$

q_e คือ ความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลู (mg/g)

V คือ ปริมาณของสีย้อมเมทิลีนบลู (l)

W คือ ปริมาณของวัสดุดูดซับ (g)

เมื่อได้ผลการทดลองจากการศึกษาจากปัจจัยความเข้มข้นแล้ว นำไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ของสมการไอโซเทอมของ Langmuir และ Freundlich ดังสมการที่ 3 และ 4 ตามลำดับ เพื่อนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการดูดซับได้สูงสุดของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m K_L} \cdot \frac{1}{C_1} + \frac{1}{q_m} \quad (3)$$

q_m คือ ปริมาณสูงสุดของสีย้อมเมทิลีนบลูที่สามารถดูดซับแบบชั้นเดียวต่อปริมาณซีโอไลต์ (mg/g)

K_L คือ ค่าคงที่ของสมการ Langmuir

$$\log q_e = \frac{1}{n} \log C + \log K_F \quad (4)$$

K_F คือ ค่าคงที่ของสมการ Freundlich

$\frac{1}{n}$ คือ ค่าที่บ่งบอกความสามารถในการดูดซับ

เมื่อเขียนกราฟความสัมพันธ์แบบสมการเส้นตรงระหว่างค่า $1/q_e$ และ $1/C$ จะได้ค่า q_m เป็นค่าที่จุดตัดแกนตั้ง และค่า K_L เป็นค่าความชันของกราฟเส้นตรงจากสมการเส้นตรงของไอโซเทอม Langmuir ยังสามารถอธิบายรูปร่างของไอโซเทอมว่ามีความสอดคล้องกับการดูดซับ โดยทำการพิจารณาได้จากค่า R_L ดังสมการที่ 5

$$R_L = \frac{1}{1+bC_0} \quad (5)$$

R_L คือ ค่าแสดงพฤติกรรมการดูดซับของซีโอไลต์

โดย $R_L > 1$ คือ การดูดซับไม่ดี

$R_L = 1$ คือ การดูดซับเป็นเส้นตรง

$R_L = 0$ คือ การดูดซับเกิดผันกลับได้

$0 < R_L < 1$ คือ การดูดซับดี

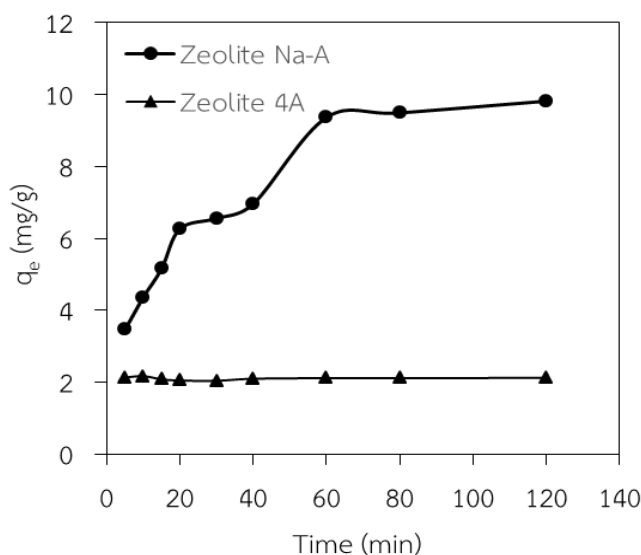
b คือ ค่าความชันจากสมการ Langmuir

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการดูดซับ

ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการดูดซับและความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูโดยแปรผันค่าระยะเวลาเท่ากับ 5 10 15 20 30 40 60 80 และ 120 min แสดงดังรูปที่ 3 จากการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาช่วงแรกตั้งแต่ 5 ถึง 60 min ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A (พื้นที่ผิว 52.2 m²/g) มีความสามารถในการดูดซับที่เพิ่มสูงขึ้นได้สูงสุดถึง 9.37 mg/g และเมื่อระยะเวลาผ่านไปหลังจาก 60 min ความสามารถในการดูดซับยังคงเกิดขึ้นแต่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนเข้าสู่สภาวะสมดุล ทั้งนี้เนื่องจากผลต่างของความเข้มข้นของสีย้อมเมทิลีนบลูกับพื้นที่ผิวของวัสดุดูดซับทำให้เกิดแรงขับเคลื่อน (driving force) เกิดขึ้น โดยช่วงแรกของการดูดซับนั้น มีความเข้มข้นของสีย้อม เมทิลีนบลูที่มากทำให้มวลของสีย้อมเมทิลีนบลูถูกแรงขับเคลื่อนที่มากพามวลของสีย้อมเมทิลีนบลูไปยึดเกาะบนพื้นที่ผิวของตัวดูดซับได้มาก จึงส่งผลให้ระยะเวลาในการดูดซับช่วงเริ่มต้นมีผลอย่างมากต่อความสามารถในการดูดซับสี

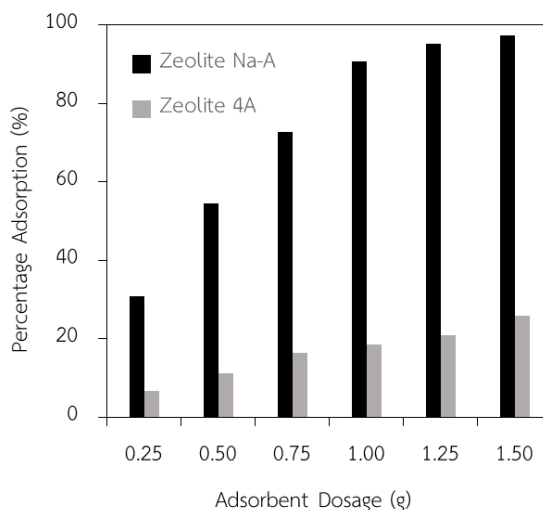
ซ็อมเมทิลีนบลู ทำให้สีซ็อมเมทิลีนบลูถูกดูดซับได้อย่างรวดเร็วในช่วงแรกก่อน 60 min อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับสีซ็อมเมทิลีนบลูของซีโอไลต์มาตรฐาน 4A พบว่า ระยะเวลาในการดูดซับไม่มีผลต่อความสามารถในการดูดซับที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากพื้นที่ผิวดูดซับของซีโอไลต์มาตรฐาน 4A (พื้นที่ผิว $34.5 \text{ m}^2/\text{g}$) มีพื้นที่น้อยและจำกัด ทำให้ในช่วงระยะเวลาเริ่มต้นเมทิลีนบลูถูกดูดซับไปยังพื้นที่ผิวของตัวดูดซับจนเต็มพื้นที่ผิวดังนั้นเมื่อระยะเวลาผ่านไปซีโอไลต์มาตรฐาน 4A จึงไม่สามารถดูดซับสีซ็อมเมทิลีนบลูเพิ่มได้อีก



รูปที่ 3. ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการดูดซับกับความสามารถในการดูดซับสีซ็อมเมทิลีนบลู

2. ผลของปริมาณซีโอไลต์

ผลการดูดซับสีซ็อมเมทิลีนบลูเมื่อแปรผันปริมาณซีโอไลต์ Na-A และ 4A เท่ากับ 0.25 0.50 0.75 1.00 1.25 และ 1.50 g โดยมีค่า pH ที่สภาวะปกติของสารละลายสีซ็อมเมทิลีนบลูเท่ากับ 5.47 รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณวัสดุดูดซับและประสิทธิภาพการดูดซับสีซ็อมเมทิลีนบลู จากการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการดูดซับสีซ็อมเมทิลีนบลูเพิ่มขึ้น ซึ่งอธิบายได้ว่าปริมาณซีโอไลต์ที่เพิ่มขึ้นมีสัดส่วนโดยตรงกับพื้นที่ผิวในการดูดซับที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นการเพิ่มปริมาณซีโอไลต์จึงมีผลทำให้ร้อยละการกำจัดสีซ็อมเมทิลีนบลูเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Jirekar et al., 2014) เมื่อพิจารณาซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ที่ปริมาณ 1 g จะพบว่าเป็นปริมาณซีโอไลต์ที่สามารถให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีซ็อมเมทิลีนบลูได้มากถึง 90 และ 18% ตามลำดับ

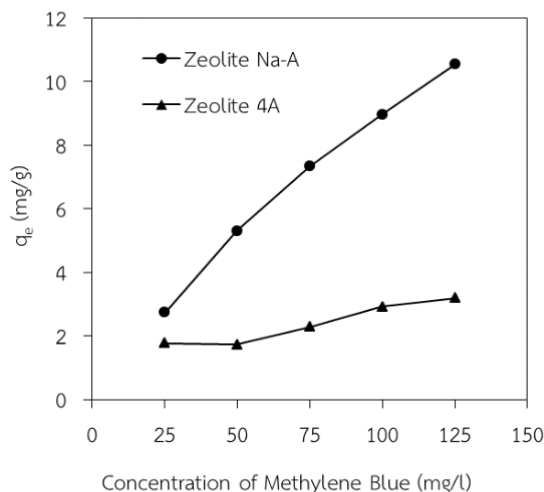


รูปที่ 4. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีโอไลต์กับประสิทธิภาพการดูดซับสีย้อมเมทิลินบลู

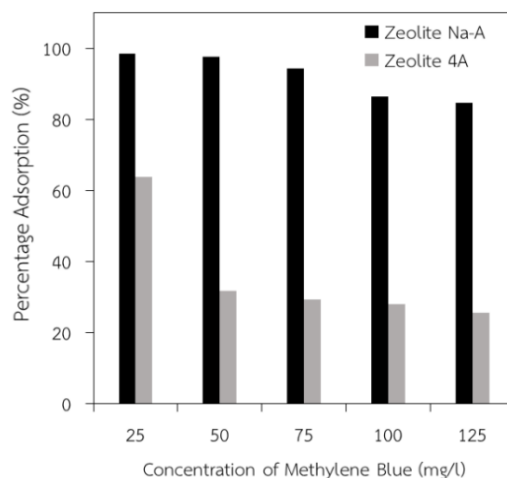
3. ผลความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมเมทิลินบลู

จากผลการดูดซับสีย้อมเมทิลินบลูด้วยซีโอไลต์ทั้งสองชนิดเมื่อทำการแปรผันค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมเมทิลินบลูเท่ากับ 25 50 75 100 และ 125 mg/l ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 5 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสีย้อมเมทิลินบลู ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีความสามารถในการดูดซับเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากผลต่างของความเข้มข้นที่มีค่าเพิ่มสูงขึ้นกับพื้นที่ผิวของการดูดซับ ทำให้เกิดแรงขับเคลื่อนในการดูดซับที่ผิวของซีโอไลต์ (AIOthman et al., 2014) อีกทั้งซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A นอกจากจะมีพื้นที่ผิวที่มากกว่าซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ยังมีขนาดรูพรุนที่ใหญ่กว่าโมเลกุลของสีย้อมเมทิลินบลู โดยขนาดรูพรุนของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และ ซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีขนาดรูพรุนเท่ากับ 12.5 nm และ 3-6 nm ตามลำดับ ซึ่งอาจส่งผลให้โมเลกุลของสีย้อมเมทิลินบลูเกิดการดูดซับภายในรูพรุนได้ โดยที่ความเข้มข้น 125 mg/l ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และ ซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีความสามารถในการดูดซับเท่ากับ 10.58 และ 3.18 mg/g ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการดูดซับสีย้อมเมทิลินบลูของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A (รูปที่ 6) พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมเมทิลินบลู 25 50 75 100 และ 125 mg/l ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A มีประสิทธิภาพการดูดซับสีย้อมเมทิลินบลูที่สูงกว่าซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ในทุกค่าของการทดลอง โดยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A มีค่าเท่ากับ 98.5 97.6 94.2 86.4 และ 84.7% ตามลำดับ สำหรับซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีค่าเท่ากับ 63.8 31.8 29.3 28.1 และ 25.6 % ตามลำดับ ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้น ประสิทธิภาพในการดูดซับของซีโอไลต์ทั้งสองชนิดมีค่าลดลง เนื่องจากปริมาณซีโอไลต์ที่ใช้ในการดูดซับมีปริมาณเท่าเดิม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นทำให้ซีโอไลต์ที่ใช้มีพื้นที่ผิวในการดูดซับไม่เพียงพอกับปริมาณความเข้มข้นของสีย้อมเมทิลินบลูที่เพิ่มขึ้น



รูปที่ 5. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเริ่มต้นกับความสมารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลู



รูปที่ 6. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและประสิทธิภาพการดูดซับเมทิลีนบลู

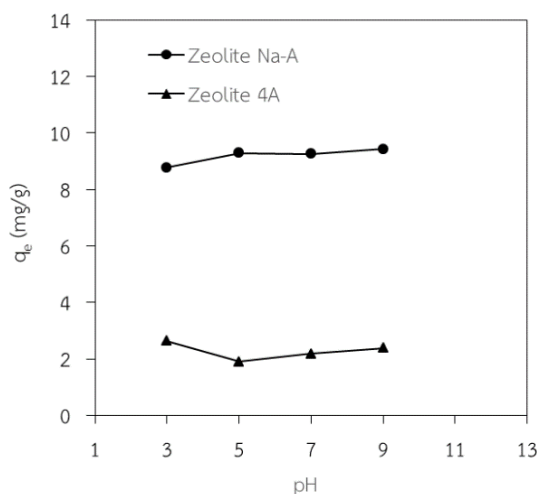
4. ผลของค่า pH ของสีย้อมเมทิลีนบลู

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH เท่ากับ 3 5 7 และ 9 กับความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลู ซึ่งความสามารถในการดูดซับสีย้อมบนวัสดุดูดซับขึ้นกับประจุที่ผิวของวัสดุดูดซับกับประจุของสีย้อมเมื่อละลายน้ำ โดยสีย้อมเมทิลีนบลูเป็น cationic dye เมื่อละลายน้ำจะมีประจุบวก จากการศึกษาพบว่าความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูที่ค่า pH ระหว่าง 3 ถึง 9 ของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A มีค่าความสามารถในการดูดซับระหว่าง 8.78 ถึง 9.42 mg/g และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีค่าความสามารถในการดูดซับอยู่ในช่วงระหว่าง 1.89 ถึง 2.62 mg/g (รูปที่ 7) ซึ่งเป็นช่วงค่า pH ที่เห็นความแตกต่างของความสามารถในการดูดซับน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะค่า pH ที่ต่ำ ตัววัสดุดูดซับจะมีประจุบวกจากไฮโดรเจนไอออน (H^+) ปริมาณมากมาเกาะบนผิว ซึ่งจะชอบดูดซับสารปนเปื้อนที่เป็นประจุลบ แต่ในการศึกษานี้สีย้อมเมทิลีนบลูมีสภาพที่เป็นสีย้อม cationic dye จึงทำให้ความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูใกล้เคียงกันในทุกช่วงค่า pH ที่ทำการศึกษา

5. ไอโซเทอมของการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลู

การศึกษาไอโซเทอมการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูด้วยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A เป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสีย้อมเมทิลีนบลูที่ถูกดูดซับต่อหน่วยน้ำหนักของซีโอไลต์และอธิบายลักษณะการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูของซีโอไลต์ที่มีความเข้มข้นของเมทิลีนบลูเริ่มต้นอยู่ในช่วง 25-125 mg/L พบว่าเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสมการถดถอยเชิงเส้น (linear regression correlation: R^2) การดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูสอดคล้องกับสมการของ Langmuir มากกว่า Freundlich (รูปที่ 8-11) โดยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูได้สูงสุด (q_m) เท่ากับ 40.67 และ 7.85 mg/g

ตามลำดับ ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A มีความสามารถในการดูดซับได้ดีกว่าซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ถึง 5 เท่า ทั้งนี้เป็นผลมาจากพื้นที่ผิวดูดซับของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A ที่มีพื้นที่ผิวและขนาดรูพรุนมากถึง $52.2 \text{ m}^2/\text{g}$ และ 12.5 nm ตามลำดับ (Wongwichien et al., 2014) ซึ่งมากกว่าซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ที่มีพื้นที่ผิวดูดซับและขนาดรูพรุนเพียง $34.5 \text{ m}^2/\text{g}$ และ $3-6 \text{ nm}$ ตามลำดับ (Tantuan, 2013)

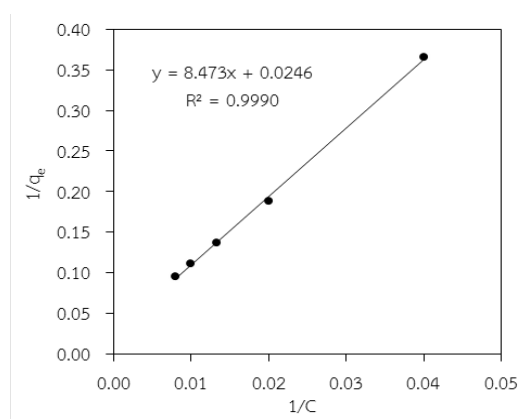


รูปที่ 7. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH กับความสามารถในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลู

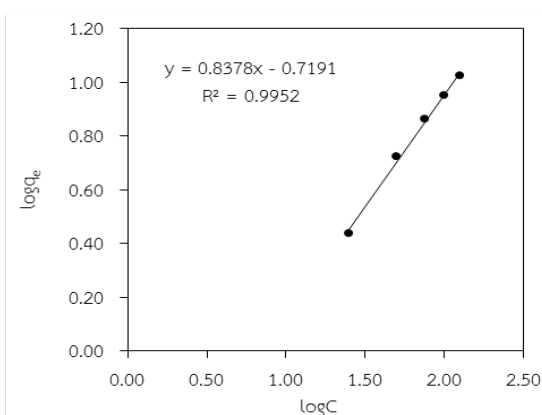
เมื่อพิจารณาค่า $1/n$ ของสมการ Freundlich พบว่า ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีค่า $1/n$ เท่ากับ 0.838 และ 0.692 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 อธิบายได้ว่าวัสดุดูดซับทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นวัสดุดูดซับที่มีพื้นที่ผิวดูดซับที่จำกัด ซึ่งมีความสอดคล้องกับกลไกการดูดซับแบบพื้นผิวชั้นเดียวของสมการ Langmuir ไม่มีการซ้อนทับกัน (monolayer adsorbed model) พื้นที่ว่างบนผิวของวัสดุดูดซับจับกับโมเลกุลสารได้เพียง 1 โมเลกุล ถ้าพิจารณาค่า n หรือค่าความแรงของการดูดซับ (adsorption intensity) จะพบว่าซีโอไลต์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีค่า n อยู่ในช่วง 1-10 นั้นแสดงถึงมีการดูดซับที่ดี นอกจากนี้สมการ Langmuir สามารถแสดงปัจจัยของการแยกหรือค่าตัวแปรที่สภาวะสมดุล (R_L) ของ ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A มีค่า R_L เท่ากับ 0.781 และ 0.641 ตามลำดับ โดยทฤษฎีค่า R_L ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 จัดได้ว่าเป็นซีโอไลต์มีความสามารถในการดูดซับที่ดีเช่นกัน

จากการศึกษาความสามารถการดูดซับของสีย้อมเมทิลีนบลูโดยทำการเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์ต่าง ๆ ของซีโอไลต์ที่ทำการศึกษากับวัสดุดูดซับชนิดอื่น ๆ (ตารางที่ 1) พบว่าความสามารถในการดูดซับขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุดูดซับซีโอไลต์สังเคราะห์จากวัสดุดูดซับจากธรรมชาติ และถ่านกัมมันต์ ซึ่งพบว่าซีโอไลต์สังเคราะห์จากวัสดุดูดซับธรรมชาติเป็นวัสดุดูดซับที่มีความสามารถในการดูดซับได้น้อยที่สุด สำหรับวัสดุดูดซับประเภทที่เป็นถ่านกัมมันต์จะมีความสามารถในการดูดซับได้ค่อนข้างสูง เนื่องจากการผ่านกระบวนการกระตุ้นด้วยสารเคมี

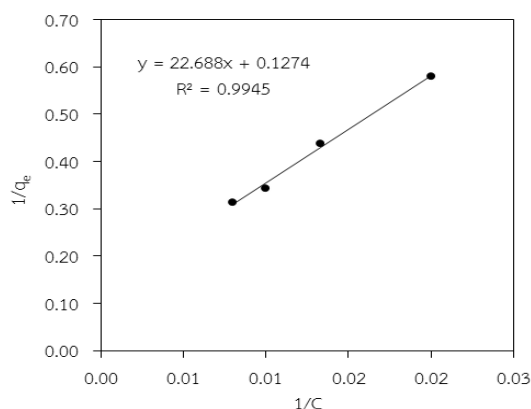
ทำให้มีพื้นที่ผิวในการดูดซับสูง อาจเนื่องจากระบวนการผลิตและเทคนิคที่ต่างกันรวมถึงสภาวะการกระตุ้นที่ต่างกัน และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A ซึ่งเป็นวัสดุดูดซับที่เหมือนกันแต่สังเคราะห์ขึ้นโดยผ่านกระบวนการใช้คลื่นไมโครเวฟทำให้วัสดุดูดซับชนิดนี้มีพื้นที่ผิวดูดซับสูงถึง $173 \text{ m}^2/\text{g}$ (Sapawe et al., 2013) ทั้งที่เป็นวัสดุดูดซับชนิดเดียวกัน จึงเห็นได้ว่าวัสดุดูดซับที่มีกลไกการดูดซับที่แตกต่างกัน รวมทั้งกระบวนการสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน ทำให้มีความสามารถในการดูดซับสูงสุด (q_m) ที่แตกต่างกันออกไปอย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้กล่าวได้ว่าซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A ที่สังเคราะห์จากตะกอนประปา มีประสิทธิภาพในการดูดซับสีย้อมเมทิลีนบลูได้ดีกว่าซีโอไลต์มาตรฐาน 4A พฤติกรรมการดูดซับเป็นรูปแบบเฉพาะของสีย้อมกับชนิดวัสดุดูดซับ ซึ่งได้จากการทดลองการดูดซับที่สภาวะเหมาะสมเท่านั้น โดยพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ของสมการถดถอยเชิงเส้น



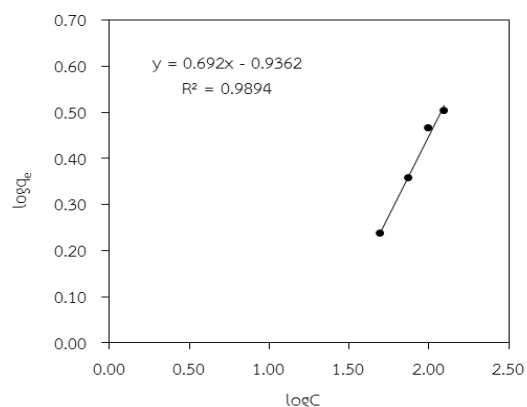
รูปที่ 8. ไอโซเทอมของ Langmuir ของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A



รูปที่ 9. ไอโซเทอมของ Freundlich ของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A



รูปที่ 10. ไอโซเทอม Langmuir ของซีโอไลต์มาตรฐาน 4A



รูปที่ 11. ไอโซเทอม Freundlich ของซีโอไลต์มาตรฐาน 4A

ตารางที่ 1. การเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับของไอโซเทอมของวัสดุดูดซับชนิดต่าง ๆ

Adsorbent dosage	Surface area	Langmuir isotherm			Freundlich isotherm			References	
	(m ² /g)	q _m (mg/g)	K _L	R ²	R _L	1/n	K _F		R ²
Na-A	52.2	40.67	0.003	0.9990	0.781	0.838	0.191	0.9952	This study
4A	34.5	7.85	0.006	0.9945	0.641	0.692	0.116	0.9894	This study
Microwave of Na-A	173	64.80	0.030	0.9990	0.219	0.450	6.550	0.9750	(Sapawe et al., 2013)
Activated carbon from <i>Ficus carica</i>	-	47.62	0.040	0.9970	0.050 - 0.350	0.398	5.690	0.9500	(Pathania et al., 2017)
Activated carbon from palm trees	-	128.89	966.4	0.990	-	0.300	36.150	0.9270	(AlOthman et al., 2014)

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความสามารถในการดูดซับสีข้อมเมทิลีนบลูด้วยซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับ ได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในการดูดซับ ปริมาณซีโอไลต์ ความเข้มข้นของสีข้อมเมทิลีนบลู และค่า pH พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการดูดซับเท่ากับ 60 min ปริมาณซีโอไลต์ 1 g ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ให้ประสิทธิภาพในการดูดซับ 90 และ 18% ตามลำดับความสามารถในการดูดซับที่ pH ในช่วงระหว่าง 3 ถึง 9 ของซีโอไลต์แต่ละชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน จากการศึกษาไอโซเทอมการดูดซับของซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A และซีโอไลต์มาตรฐาน 4A สอดคล้องกับไอโซเทอม Langmuir โดยมีความสามารถในการดูดซับสีข้อมเมทิลีนบลูได้สูงสุดเท่ากับ 40.67 และ 7.85 mg/g ตามลำดับ ซีโอไลต์สังเคราะห์ Na-A มีความสามารถในการดูดซับสีข้อมเมทิลีนบลูได้สูงกว่าซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ถึง 5 เท่า การเลือกวัสดุดูดซับที่เหมาะสม เป็นการช่วยลดปริมาณสีจากน้ำเสียของอุตสาหกรรมสิ่งทอและฟอกย้อมที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเครื่องมือและสารเคมี จากภาควิชาเทคโนโลยีวิศวกรรมโยธาและสิ่งแวดล้อม วิทยาลัยเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ และขอขอบคุณบริษัท ไทยซิลิเกตเคมีคอล จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์สารซีโอไลต์มาตรฐาน 4A ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- AlOthman, Z. A., Habila, M. A., Ali, R., Ghafar, A. A. & Hassouna, M. S. E. (2014). Valorization of two waste streams into activated carbon and studying its adsorption kinetics, equilibrium isotherms and thermodynamics for methylene blue removal. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1148-1158. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.05.007>
- Arias, M., López, E., Nuñez, A., Rubinos, D., Soto, B., Barral, M. T. et al. (1999). Adsorption of methylene blue by red mud, an oxide-rich byproduct of bauxite refining. In J. Berthelin, P. M. Huang, J.-M. Bollag & F. Andreux (Eds.), *Effect of Mineral-Organic-Microorganism Interactions on Soil and Freshwater Environments* pp. 361-365. Boston: Springer.
- EL-Mekkawi, D. M., Ibrahim, F. A. & Selim, M. M. (2016). Removal of methylene blue from water using zeolites prepared from Egyptain kaolin collected from different sources. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(2), 1417-1422. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.01.007>
- Jirekar, D. B., Pathan, A. A. & Farooqui, M. (2014). Adsorption studies of methylene blue dye from aqueous solution onto *Phaseolus aureus* biomaterials. *Oriental Journal of Chemistry*, 30(3), 1263-1269.
- Pathania, D., Sharma, S. & Singh, P. (2017). Removal of methylene blue by adsorption onto activated carbon developed from *Ficus carica* bast. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(1), S1445-S1451. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.021>
- Sapawe, N., Jalil, A. A., Triwahyono, S., Shah, M. I. A., Jusoh, R., Salleh, N. F. M. et al. (2013). Cost-effective microwave rapid synthesis of zeolite NaA for removal of methylene blue. *Chemical Engineering Journal*, 229, 388-398. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.06.005>
- Sun, D., Zhang, X., Wu, Y. & Liu, X. (2010). Adsorption of anionic dyes from aqueous solution on fly ash. *Journal of Hazardous Materials*, 181(1-3), 335-342. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.05.015>
- Tantuan, P. (2013). *Adsorption of carbon dioxide and nitrogen in the mixture of synthetic gas on standard zeolite 4A* (M.S. Thesis) Department of Environmental Science, Silpakorn University, Bangkok. (in Thai)
- Wongwichien, J., Asavapisit, S. & Sombatsompop, K. (2014). Synthesis and use of zeolite Na-A from waste sludge of water treatment plant ammonium removal. *Chiang Mai Journal of Science*, 41(5.2), 1262-1273.

Research Article

ผลของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองและสมุนไพรต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จาจอพื้นเมืองฮาลาล

Effect of native rice species and herbs on quality of local Jajo halal product

รอมลี เจดอเลาะ^{1*} และ ซูไฮมิน เจ๊ะมะลี²

Romlee Chedoloh ^{1*} and Suhaimin Chehmalee ²

¹สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อำเภอเมือง
จังหวัดยะลา 95000

²สาขาวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ฮาลาล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยฟาฏอนี อำเภอยะรัง จังหวัดปัตตานี 94160

¹Program in Food Science and Technology, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Mueang, Yala
95000, Thailand

²Program in Research and Development for Halal Products, Faculty of Science and Technology, Fatoni University, Yarang, Pattani
94160, Thailand

*E-mail: romalee.c@yru.ac.th

Received: 20/08/2019; Revised: 10/11/2019; Accepted: 12/11/2019

บทคัดย่อ

ปัจจุบันข้าวพื้นเมืองมีความสำคัญและมีคุณค่าทางโภชนาการสูงแต่ยังขาดการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่าง ๆ ในพื้นที่ 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จาจอพื้นเมือง ซึ่งมีความเป็นเอกลักษณ์ในการบริโภคในช่วงงานขึ้นบ้านใหม่ การเกี่ยวข้าวและยกบ้าน ดังนั้นการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดสายพันธุ์ข้าวพันธุ์มะจานูและพันธุ์ชันภูกันตัง อัตราส่วนแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังต่อการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส และศึกษาชนิดและปริมาณการแต่ง สี และกลิ่นด้วยสมุนไพรต่อสมบัติและการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส การศึกษาผลของสายพันธุ์ข้าว อัตราส่วนแป้ง ข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลัง ทำการผลิตผลิตภัณฑ์และทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์จาจอพื้นเมือง พบว่า ข้าวสายพันธุ์มะจานู และอัตราส่วนแป้งข้าวเจ้าต่อแป้งมันสำปะหลัง 4 : 1 โดยน้ำหนัก ผู้ทดสอบให้คะแนน ความชอบเฉลี่ยทุกด้านสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์ชันภูกันตัง ซึ่งได้รับคะแนนเฉลี่ยด้านความชอบโดยรวมมากที่สุด 7.45 (ชอบปานกลาง) โดย

ผลิตภัณฑ์จ๊ากอมีการใช้สมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ น้ำใบเตย น้ำอัญชัน และน้ำดอกเก๊กฮวย ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20 จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบเฉลี่ยสูงที่สุดของการเติมน้ำสมุนไพรใบเตยที่ร้อยละ 10 การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในถุงออลูมิเนียมฟอยล์ที่สภาวะอุณหภูมิห้องพบว่า สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยมีคุณภาพทางเชื้อจุลินทรีย์ไม่เกินตามที่มาตรฐานกำหนด 1×10^3 โคโลนีต่อกรัมอาหาร ดังนั้น การใช้แป้งจากข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองมะจานูในการผลิตเป็นจ๊ากอพื้นเมืองและใช้น้ำใบเตยในการปรับแต่งสีและกลิ่น เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส

คำสำคัญ: จ๊ากอพื้นเมือง, สมุนไพร, การทดสอบทางประสาทสัมผัส

Abstract

Currently, native rice is important and has a high nutritional value, but also the lack of development of products in various forms in the three southern border provinces. The native jajo products were unique in consumption during the housewarming, harvest and raise home. This research aimed to study Majanu and Seribugantan varieties of rice, the ratio of rice flour and tapioca starch to sensory acceptance, the type and quantity of colored and flavored with herbs on properties and sensory acceptance. Effects of rice varieties, the ratio of rice flour and tapioca starch were observed. Native Jajo products were tested for sensory quality. The results revealed that Majanu rice variety and the ratio of rice flour and tapioca starch was 4 : 1 (by weight) gave the highest preference score of 7.45 (like moderately) when compared with Sibuguntang rice variety. The Jajo product using three types of herbs, pandan leaves, butterfly pea and chrysanthemum at concentration of 10% and 20%. Sensory testing showed that 10% pandan leaves gave the highest average preference score. In addition, the estimation of shelf-life of product in aluminium foil exhibited that samples could be stored up to 1 month at room temperature, the detected bacteria were not excess the standards prescribed dose of 1×10^3 cfu/g. Therefore, the use of rice flour Majanu native variety to produce the native Jajo and pandan juice to customize the color and smell was recognized by a sensory panel.

Keywords: local jajo, herb, sensory testing

บทนำ

ประเทศไทยมีการผลิตข้าวเป็นรายใหญ่ที่สุดในโลก มีผลผลิตสูง และการส่งออกข้าวในรูปแบบเป็นข้าวสารที่มีได้ผ่านกระบวนการแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ รวมทั้งการแข่งขันของตลาดโลกมีการกีดกันทาง

การค้า มีการออกกฎ ระเบียบในการนำเข้าข้าวไทยมีการควบคุมสารบางชนิด โดยเฉพาะการส่งออกไปในสหภาพยุโรป มีการกำหนดสารป้องกันศัตรูพืชที่เป็นสารขัดขวางการทำงานของต่อมไร้ท่อ (Cobelli & Wangsomboondee, 2019) ดังนั้นจึงต้องมีการปรับการบริหารและจัดการปริมาณข้าวในไทยให้เกิดประสิทธิภาพและยั่งยืน โดยการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากข้าว ทำการแปรรูปให้อยู่ในรูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ช่วยเสริมและเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวของไทยได้อีกทางหนึ่งด้วย

ในพื้นที่ 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์จากข้าวได้หลายชนิดและมีความเป็นเฉพาะในพื้นที่เท่านั้นและมีวัฒนธรรมการบริโภคอาหารฮาลาลใกล้เคียงกับประเทศมุสลิมในอาเซียน ได้แก่ ประเทศมาเลเซีย บรูไน และอินโดนีเซีย (Wattanayon, 2013) โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จากอาหารพื้นเมือง ซึ่งจากพื้นที่เมืองนั้นมีส่วนประกอบหลักคือ แป้งข้าวเจ้าและมีส่วนผสมอื่น ๆ ตามความเหมาะสม มีการแต่งกลิ่นโดยใช้ความหอมจากใบเตยและกลิ่นของน้ำปูนใส ส่วนน้ำกะทิต้องคั้นจากเนื้อมะพร้าวสด และใช้น้ำน้อยในการคั้นได้หัวกะทิที่สด มัน และหอม ส่วนน้ำตาลสามารถใช้น้ำตาลมะพร้าวหรือน้ำตาลปีบในการให้รสชาติหวาน การทำขนมจากพื้นที่เมืองนั้นมีปัจจัยจากตัวแป้งต้องผ่านกวนให้สุกและเวลากดเป็นเส้นตัวแป้งต้องร้อนอย่าทิ้งให้แป้งเย็น น้ำกะทิให้ใช้มีอะลายน้ำตาลให้เข้ากัน และไม่ต้องตั้งไฟ (Kamolwanich, 1992)

ปัจจุบันกระบวนการผลิตจากพื้นที่เมืองของกลุ่มแม่บ้านมีการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะและใช้บรรจุภัณฑ์ไม่เหมาะสมเท่าที่ควร จึงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่สามารถเก็บรักษาได้นาน เนื่องจากสาเหตุอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำและค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (water activity; a_w) และความชื้นสูง รวมทั้งการมีปัจจัยที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อเช่น แหล่งของอาหาร สภาวะที่มีออกซิเจน และสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Jay et al., 2005; Ray, 2005) จึงเป็นเหตุให้มีการผลิตในการจำหน่ายวันต่อวัน กระบวนการผลิตจากพื้นที่เมืองนั้นต้องเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีความเหมาะสมเนื่องจากแป้งข้าวมีปริมาณของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน ซึ่งปริมาณแอมิโลสสูงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ร่วนและแข็ง (Pupaka, 2016) จึงจำเป็นต้องมีการผสมกับแป้งบางชนิดที่ช่วยในการทำให้ผลิตภัณฑ์เหนียวขึ้นโดยใช้แป้งมันสำปะหลัง ซึ่งมีส่วนช่วยให้จากพื้นที่เมืองมีเนื้อสัมผัสที่ดีขึ้นและสามารถยืดหยุ่นของรูปทรงได้ดีกว่าเดิม การเลือกชนิดของข้าวให้มีความเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีคุณสมบัติเป็นไปตามความต้องการของผู้ผลิตและมีความยอมรับของผู้บริโภคด้วย

ข้าวมะจานูและชีอริบูกัตัง เป็นข้าวพื้นเมืองใน 3 จังหวัดชายแดนใต้ เป็นสายพันธุ์ข้าวที่มีอยู่ในพื้นที่ มีความเป็นอัตลักษณ์ ควรได้รับการอนุรักษ์ และมีการส่งเสริมการปลูก หากนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากข้าว สร้างความโดดเด่นของผลิตภัณฑ์ได้ อย่างไรก็ตามต้องคำนึงถึงองค์ประกอบของข้าว อัตราส่วนของแป้งและคุณลักษณะของผู้บริโภคต้องการผลิตภัณฑ์แบบใด โดยปกติข้าวมีขนาดของโมเลกุลของเม็ดแป้ง (starch) แตกต่างกันไปตั้งแต่ 2,000-500,000 กรัมต่อโมล โดยทั่วไปแอมิโลสไม่ละลายน้ำ มีอยู่ประมาณ ร้อยละ 20-25 ของแป้งทั้งหมด (Rattanapanone, 2002) ดังนั้น ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่แตกต่างส่งผลให้สมบัติทางกายภาพและเคมีต่างกัน (Srirod & Piyachomkwan, 2003) ฉะนั้น

การผลิตจากต้องคำนึงถึงความสำคัญของสมบัติดังกล่าวด้วย รวมถึงเมื่อผลิตเสร็จมีการเก็บรักษาที่สภาวะอุณหภูมิห้อง บรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม โดยเลือกบรรจุภัณฑ์ไม่ทำปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์ในสภาวะการเก็บรักษา ไม่ปนเปื้อน ได้แก่ ถุงพลาสติกชนิดพอลิโพรไพลีน (polypropylene; PP) และ ถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ซึ่งมีการป้องกันการซึมผ่านของความชื้น ก๊าซและกลิ่นได้ดี (Poovarodom, 2007; Chedoloh & Asae, 2017)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากอาหารพื้นเมืองให้อยู่ในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่สำเร็จรูปเพื่อง่ายต่อการบริโภค ต้องมีคุณสมบัติของการละลาย รสชาติและเนื้อสัมผัสที่ได้ไม่แตกต่างจากเดิม รวมถึงคุณสมบัติของการพองตัว การละลาย การดูดน้ำและการเกิดเจลลิตในเซชัน เมื่อต้องการบริโภคสามารถนำตัวเนื้อจากอาหารพื้นเมืองผ่านกระบวนการทำแห้งโดยการละลายน้ำร้อนแล้วผสมกับน้ำกะทิ ดังนั้นการศึกษานี้เป็นการศึกษาสายพันธุ์ข้าวและอัตราส่วนต่อสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์จากอาหารพื้นเมือง ศึกษาชนิดและปริมาณการแต่งสีและกลิ่นด้วยสมุนไพรต่อสมบัติและการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส ให้มีการพัฒนาในกระบวนการผลิตที่ถูกต้องถูกสุขลักษณะและยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพสู่อาเซียนต่อไป

วิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ สารเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์

นำตัวอย่างวัตถุดิบสายพันธุ์ข้าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์มะจานู จากอำเภอหนองจิก จังหวัดปัตตานี และข้าวพันธุ์ชัยกันตัง อำเภอดากใบ จังหวัดนราธิวาส ที่มีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 3 เดือน ส่วนสารเคมีและเครื่องมือในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่ การวิเคราะห์ความชื้นด้วยเครื่องอบลมร้อน (hot air oven) (รุ่น UF260 ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมัน) วิเคราะห์ปริมาณไขมันใช้สารเคมีปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม เกรดวิเคราะห์จากบริษัท บริษัทเมอร์ค เคจีเอ ประเทศเยอรมัน

2. การเตรียมวัตถุดิบ

นำข้าวไปแช่น้ำ 1 คืน จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องโม่หินโบราณด้วยมือทำแบบไม่เปียก และกดทับด้วยของหนัก 1 คืน เพื่อคั้นน้ำเอาออกจากแป้ง แล้วนำไปตากแดดให้แห้ง 2 แดด บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด แล้วผ่านการร่อนแป้งด้วยตะแกรง 80 mesh นำแป้งที่ได้เก็บรักษาในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ เก็บที่แห้ง ที่อุณหภูมิห้อง ปราศจากความชื้นและแสง ส่วนสมุนไพรที่ใช้คือ ใบเตย อัญชัน และดอกเก็กฮวย จากพื้นที่หมู่ที่ 2 ตำบลยี่งอ อำเภอ ยี่งอ จังหวัดนราธิวาส โดยนำสมุนไพรสดมาเตรียมน้ำสมุนไพรความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20 ด้วยน้ำปูนใส ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นยี่ห้อ SHARP รุ่น EM-11.P ประมาณ 5 นาที แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น เก็บรักษาไว้ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตจากอาหารพื้นเมืองดังกล่าวนี้ มาจากพื้นที่เกษตรกรที่ทำเกษตรแบบผสมผสาน ปลอดภัย และไม่มีสิ่งต้องห้าม (สารเคมี) เจือปน ส่วนกระบวนการผลิตจากอาหารพื้นเมืองมีขั้นตอนการล้างวัตถุดิบ

ด้วยน้ำผ่านและสะอาดน้ำซึ่งเป็นไปตามหลักการอิสลามว่าด้วยเรื่องความสะอาด และใช้อุปกรณ์การผลิตที่สะอาด ถูกหลักอนามัย

3. สายพันธุ์ข้าว อัตราส่วนแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังต่อการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำแป้งข้าวเจ้าแต่ละสายพันธุ์ผสมกับแป้งมันสำปะหลังตามอัตราส่วน ได้ทั้งหมด 8 ชุดทดลอง ปีจจัยที่ 1 สายพันธุ์ข้าว โดยเตรียมแป้งข้าวเจ้า 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวพันธุ์ชัยนาท (A₁) และข้าวพันธุ์มะจานู (A₂) ปีจจัยที่ 2 อัตราส่วน คือ อัตราส่วน 90 กรัม (B₁) และอัตราส่วน 80 กรัม (B₂) ปีจจัยที่ 3 ปริมาณของแป้งมันสำปะหลัง แบ่งเป็น 2 อัตราส่วน คือ อัตราส่วน 10 กรัม (C₁) และ อัตราส่วน 20 กรัม (C₂) พร้อมกับเติมน้ำปริมาณร้อยละ 75 ของน้ำหนักทั้งหมด ในระหว่างการเติมน้ำ เติมน้ำทีละน้อยเพื่อให้เกิดการจับตัวกัน นวดแป้งด้วยเครื่องนวดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำแป้งผสมกวดเข้าแม่พิมพ์อลูมิเนียมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.7 เซนติเมตรขนาดทรงกระบอก กว้างxยาว 15x16 เซนติเมตร ขนาดความจุ 1 ลิตร โดยมีขนาดของรูประมาณ 0.5 เซนติเมตร ลงในน้ำเดือดพร้อมคนไม่ให้แป้งติดกันประมาณ 2 นาที หรือให้แป้งจอลอย แล้วตักจากจอลงในน้ำเย็นทันที นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากแป้งขึ้นเครื่อง โดยใช้เครื่องเคี้ยวด้วยน้ำกะทิผสมน้ำตาลแว่น (โดยใช้กะทิสดต่อน้ำตาลแว่น 3: 1 เติมเกลือร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก พร้อมกับให้ความร้อน นาน 5 นาที) แล้วตักใส่จากจอลงต่อน้ำกะทิ 1 ต่อ 1 ในถ้วยพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อความยอมรับของผู้บริโภคจากนักศึกษาที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝน (untrained panel) มหาวิทยาลัยฟาฏอนี จำนวน 50 คน โดยวิธี 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard et al. (1999) นำข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี รูปร่างและขนาด กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความเหนียว และความชอบโดยรวม คัดเลือกชุดการทดลองที่มีคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ดีและเหมาะสมที่สุดในการศึกษาในลำดับต่อไป

4. ชนิดและปริมาณการแต่งสีและกลิ่นด้วยสมุนไพรต่อสมบัติและการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ศึกษาการผลิตจากแป้งขึ้นเครื่องโดยเลือกสูตรที่เหมาะสมที่สุดจากข้อที่ 3 มาศึกษาชนิดและปริมาณการแต่งสีและกลิ่นด้วยสมุนไพร โดยปีจจัยที่ 1 ชนิดของสมุนไพร 3 ชนิด คือ ใบเตย (D₁) อัญชัน (D₂) และดอกเก๊กฮวย (D₃) ปีจจัยที่ 2 ความเข้มข้นน้ำสมุนไพรร้อยละ 10 (E₁) และ 20 (E₂) ของน้ำที่ใช้ในการนวดแป้ง เตรียมโดยการนำสมุนไพรแต่ละชนิดในความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20 ตามลำดับ มาต้มกับน้ำให้เดือดประมาณ 10 นาที ได้ทั้งหมด 6 ชุดทดลอง แล้วนวดแป้งพร้อมกับเติมน้ำสมุนไพรแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ทีละน้อยเพื่อให้เกิดการจับตัวกัน จากนั้นนำแป้งผสมกวดเข้าแม่พิมพ์ลงในน้ำเดือดพร้อมคนไม่ให้แป้งติดกัน แล้วตักจากจอลงในน้ำเย็น และทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยชิมร่วมกับน้ำกะทิผสมน้ำตาลแว่น (โดยใช้กะทิสดต่อน้ำตาลแว่น 3: 1 เติมเกลือร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก พร้อมกับให้ความร้อนนาน 5 นาที) นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อการยอมรับของผู้บริโภคจากนักศึกษาที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝน มหาวิทยาลัยฟาฏอนี จำนวน 50 คน โดยวิธี 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard et al. (1999) นำข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี รูปร่างและขนาด กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความเหนียว และความชอบโดยรวม และวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

และเคมีเบื้องต้น ได้แก่ สีและเนื้อสัมผัส วิเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ ความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า คาร์โบไฮเดรต pH และปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2000)

5. บรรจุภัณฑ์และอายุการเก็บรักษาต่อสมบัติและการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำชุดการทดลองที่ได้จากข้อ 4 ทำการผลิตจากรสชาติแล้วนำมาแช่เย็นน้ำก่อนนำมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง แล้วทำการศึกษานิคมบรรจุภัณฑ์และอายุการเก็บรักษาโดยมีปัจจัยชนิดของถุง 2 ชนิด ได้แก่ ถุง PP และอลูมิเนียมฟอยล์ ปิดผนึกด้วยความร้อนในสภาพสุญญากาศ และปัจจัยระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 1 2 และ 3 เดือนเมื่อครบเวลาตามที่กำหนด ทำการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น, pH, ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อยีสต์และรา (AOAC, 2000)

6. การทดสอบผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย

ผลิตผลิตภัณฑ์จากรสชาติและนำผลิตภัณฑ์จากรสชาติที่ผ่านการเก็บรักษาที่เหมาะสมจากข้อที่ 5 ทำการทดสอบความยอมรับของผู้บริโภคกับกลุ่มเป้าหมายนักศึกษาที่ผ่านการฝึกฝน (trained panel) มหาวิทยาลัยฟาฏอนี จำนวน 15 คน โดยใช้วิธี 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard et al. (1999) ได้แก่ สี รูปร่างและขนาด กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความเหนียว และความชอบโดยรวม

7. การวิเคราะห์สถิติ

วางแผนการทดลองโดยปัจจัยร่วมกันเป็นแผนแบบแฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มโดยตลอด (factorial in CRD) สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี ส่วนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design: RCBD) สำหรับการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของชุดการทดลองโดยใช้ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS version 0.7.5 แล้วคัดเลือกชุดการทดลองที่มีคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ดีและเหมาะสมที่สุดในการศึกษาในลำดับต่อไป

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาสายพันธุ์ข้าว อัตราส่วนแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังต่อการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การศึกษาผลของสายพันธุ์ข้าว อัตราส่วนแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลัง โดยการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากแป้งเมือง มีคะแนนความชอบเฉลี่ยในด้านคุณลักษณะสี รูปร่างและขนาด กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความเหนียว และความชอบโดยรวม ซึ่งถูกประเมินโดยผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน แสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่า จาทั้ง 8 สูตร ได้รับคะแนนเฉลี่ยความชอบในแต่ละคุณลักษณะแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยสูตรที่ 8 (ข้าวพันธุ์มะจานู และอัตราส่วนแป้งข้าวเจ้าต่อ แป้งมันสำปะหลัง 80 : 20 (4 : 1) โดยน้ำหนัก) ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดในด้าน สี รูปร่างและขนาด เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความเหนียว และความชอบ

โดยรวม ซึ่งได้รับคะแนนเฉลี่ย 6.85 6.20 7.00 6.97 6.48 6.40 และ 7.45 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาคะแนนกลิ่น พบว่า สูตรที่ 4 (ข้าวพันธุ์ชินุกันตังและอัตราส่วนแป้งข้าวเจ้าต่อแป้งมันสำปะหลัง 80 : 20 (4 : 1) โดยน้ำหนัก) ได้คะแนนกลิ่นสูงที่สุด 7.97 แต่ไม่แตกต่างกับสูตรที่ 8 และพบว่าจากสูตรที่ 8 ได้รับคะแนนเฉลี่ยด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส รูปร่างและขนาด และความชอบโดยรวมมากที่สุดแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) และได้รับคะแนนเฉลี่ยของความชอบโดยรวมอยู่ที่เกณฑ์ปานกลาง (7.45) งานทดลองส่วนนี้จึงคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวมะจานูและอัตราส่วนของแป้งข้าวเจ้าต่อแป้งมันสำปะหลังที่ระดับ 80 : 20 (4 : 1) โดยน้ำหนัก มีความเหมาะสมในการจับตัวและเกิดเจลที่ดี มีความแข็งที่เหมาะสมจากอัตราส่วนของแอมิโลส และแอมิโลเพกทิน ได้ดีกว่าข้าวชินุกันตัง ซึ่งความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าว ปริมาณของแอมิโลส แอมิโลเพกทินและอุณหภูมิการเกิดเจล ส่งผลต่อคุณลักษณะของเจลได้

ตารางที่ 1. คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากสายพันธุ์ข้าวชินุกันตังและมะจานู

สายพันธุ์ข้าว	แป้งชินุกันตัง : แป้งมันสำปะหลัง				แป้งมะจานู : แป้งมันสำปะหลัง			
	90:10	90:20	80:10	80:20	90:10	90:20	80:10	80:20
สี	4.14±1.86 ^d	5.94±1.55 ^{bc}	5.51±1.59 ^c	6.28±1.54 ^a	5.62±1.49 ^{bc}	6.06±1.5 ^{bc}	4.48±2.13 ^d	6.85±1.4 ^a
รูปร่างและขนาด	4.57±1.66 ^{bc}	4.65±1.45 ^{bc}	4.91±1.44 ^{bc}	5.08±1.40 ^b	4.43±1.35 ^c	4.74±1.6 ^{bc}	5.02±1.62 ^b	6.20±1.5 ^a
กลิ่น	5.60±1.59 ^b	6.25±1.55 ^{ab}	6.57±1.39 ^{ab}	7.97±1.21 ^a	5.48±1.73 ^b	5.62±1.4 ^b	4.71±1.77 ^b	6.77±1.3 ^{ab}
เนื้อสัมผัส	4.88±1.64 ^{cd}	5.91±1.85 ^b	5.68±1.71 ^b	6.00±1.87 ^b	5.25±1.94 ^{bc}	5.37±1.4 ^{bc}	4.57±1.65 ^d	7.00±1.1 ^a
รสชาติ	4.65±1.34 ^c	5.85±1.75 ^{bc}	5.88±1.43 ^{bc}	6.00±1.69 ^b	5.28±1.56 ^{cd}	5.43±1.3 ^{cd}	4.83±1.42 ^{dc}	6.97±1.1 ^a
ความนุ่ม	4.37±1.61 ^b	6.00±1.86 ^a	5.85±1.72 ^a	5.88±1.87 ^a	5.06±1.95 ^b	5.94±1.4 ^a	4.85±1.50 ^b	6.48±1.8 ^a
ความเหนียว	4.60±1.68 ^c	5.88±1.66 ^{ab}	5.97±1.82 ^{ab}	6.11±1.95 ^a	5.26±1.89 ^{bc}	6.17±1.2 ^a	5.00±1.51 ^c	6.40±1.6 ^a
ความชอบโดยรวม	5.20±1.73 ^{cd}	6.00±1.53 ^{bc}	5.88±1.82 ^{bcd}	6.17±1.72 ^b	5.37±1.89 ^{cd}	6.03±1.6 ^{bc}	5.06±1.92 ^c	7.45±0.9 ^a

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±SD ที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจำนวนการทดสอบทางประสาทสัมผัส 50 คน

2. ศึกษาชนิดและปริมาณการแต่งสีและกลิ่นด้วยสมุนไพรต่อสมบัติและการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากพืชเมืองทั้ง 6 ชุดการทดลอง โดยใช้วิธี 9-point hedonic scale แสดงค่าเฉลี่ยของคะแนนได้ดังตารางที่ 2 คุณภาพทางประสาทสัมผัสประกอบด้วยคุณลักษณะด้าน สี รูปร่างและขนาด กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความเหนียว และความชอบโดยรวม ซึ่งถูกประเมินโดยผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน พบว่า ผลิตภัณฑ์จากพืชเมืองทั้ง 6 สูตร (ชุดการทดลอง) ได้รับคะแนนเฉลี่ยความชอบในแต่ละคุณลักษณะที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) ซึ่งพบว่าสูตรที่ 1 (น้ำสมุนไพรใบเตยที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก) ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดในด้านรูปร่างและขนาด กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความ

เหนียว และความชอบโดยรวม ซึ่งได้รับคะแนนเฉลี่ย 6.18 6.13 6.16 7.21 6.00 6.05 และ 7.53 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อเทียบกับสมุนไพรชนิดอื่น ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสชอบที่มีส่วนผสมจากใบเตย เนื่องจากน้ำใบเตยให้จากรสชาติเขียวของคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี (รูปที่ 1) และกลิ่นหอมจากสาร 2AP, nonanal และ hexanal (Wakte et al., 2012) การใช้ข้าวพันธุ์มะจานูร่วมกับน้ำใบเตยส่งผลให้ผลิตภัณฑ์จากรสชาติที่อ่อนนุ่มมีสีเขียวและกลิ่นหอม ซึ่งทำให้ผู้บริโภคคุ้นเคยกับคุณสมบัติที่ดี สูตรนี้จึงได้รับคะแนนความชอบสูงสุด ขณะที่น้ำอัญชันให้จากรสชาติเป็นสีน้ำเงิน (รูปที่ 1) จากสารแอนโทไซยานิน ternatins หรือ delphinidin (Kazuma, 2003) แต่ไม่มีกลิ่นที่เด่นชัด เช่นเดียวกับจากรสชาติที่ส่วนผสมของน้ำเก็กฮวยส่งผลต่อการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์เล็กน้อยมาก (รูปที่ 1) เนื่องจากสารสีเหลืองจากสารพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) (Sun et al., 2010) ในตัวเก็กฮวยไม่มีความเข้มข้นมากพอที่จะทำให้เกิดสีให้เห็นได้ชัด

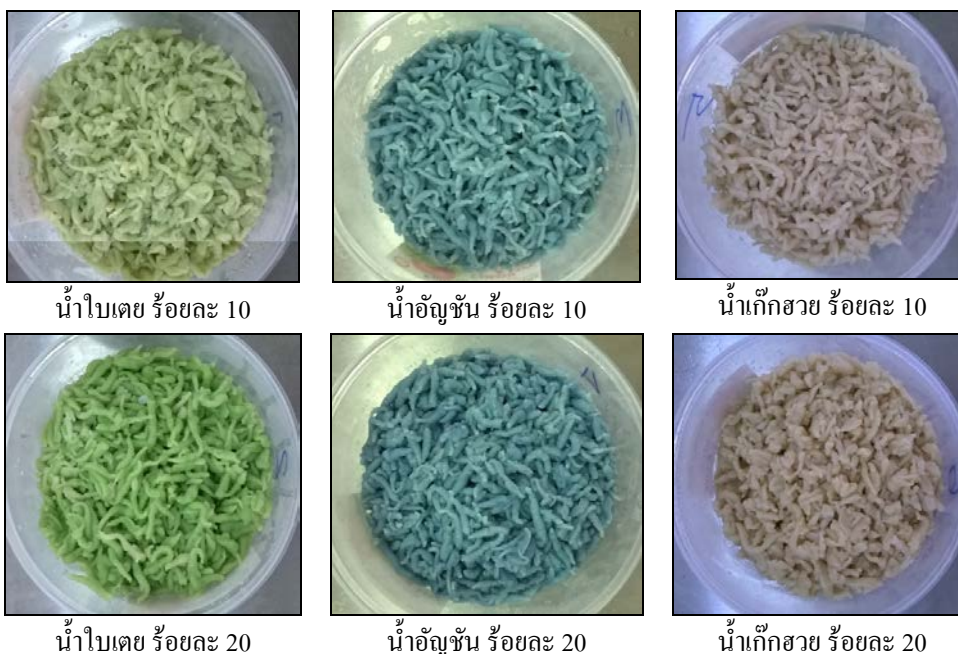
ตารางที่ 2. คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากรสชาติสมุนไพรที่ระดับต่าง ๆ

ชนิดของน้ำสมุนไพร	ใบเตย		ดอกอัญชัน		ดอกเก็กฮวย	
ความเข้มข้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	10	20	10	20	10	20
สี	6.11±1.94 ^b	6.89±1.68 ^a	6.45±1.75 ^{ab}	5.95±1.91 ^b	5.11±1.79 ^c	5.13±1.81 ^c
รูปร่างและขนาด	6.18±1.39 ^a	6.13±1.64 ^a	5.97±1.88 ^a	5.13±1.84 ^b	4.82±1.57 ^{bc}	4.45±1.88 ^c
กลิ่น	6.13±1.49 ^a	6.11±1.59 ^a	5.97±1.79 ^{ab}	5.82±1.43 ^{abc}	5.29±2.05 ^c	5.34±2.29 ^{bc}
เนื้อสัมผัส	6.16±1.68 ^a	5.45±1.87 ^b	5.55±2.02 ^b	5.16±1.66 ^{bc}	5.13±1.86 ^{bc}	4.71±1.95 ^c
รสชาติ	7.21±1.33 ^a	6.53±1.67 ^b	6.50±1.75 ^b	6.11±1.82 ^{bc}	6.05±1.69 ^{bc}	5.63±1.85 ^c
ความนุ่ม	6.00±1.84 ^a	4.68±1.67 ^c	5.34±1.93 ^b	4.50±1.84 ^c	4.21±2.00 ^c	4.42±1.89 ^c
ความเหนียว	6.05±1.59 ^a	4.71±1.69 ^c	5.39±1.70 ^b	4.50±1.63 ^c	4.47±1.78 ^c	4.45±1.72 ^c
ความชอบโดยรวม	7.53±0.79 ^a	6.89±1.03 ^b	6.87±1.47 ^b	6.47±1.15 ^b	5.97±1.55 ^c	5.79±1.90 ^c

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±SD ที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำ

จากการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์จากรสชาติสมุนไพร 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20 พบว่า ชนิดสมุนไพรและความเข้มข้นที่ต่างกันในส่วนผสมของจากรสชาติ ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3) โดยจากรสชาติที่มีส่วนผสมของดอกอัญชันให้ความเป็นกรดมากที่สุด เนื่องจากมีสารกลุ่มที่ออกฤทธิ์ของความเป็นกรด ได้แก่ กรดคูมาริก (coumaric acid) กรดเฟอร์รูริก (ferulic acid) และกรดคาร์แฟอิก (caffeic acid) (Chaovanalikit, 2011) รองลงมาคือ ใบเตยและดอกเก็กฮวยตามลำดับ และการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำสมุนไพรส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีความเป็นกรดสูงขึ้นเช่นเดียวกัน เมื่อ

พิจารณาความชื้น พบว่า จาจอที่มีส่วนผสมของใบเตยให้ปริมาณความชื้นมากที่สุด รองลงมาคือ ดอกอัญชันและ ดอกเก็กฮวย ตามลำดับ ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์จาจอสูงที่ร้อยละ 56.13-69.33 เมื่อทำให้แห้งยอมทำให้มีการ หดตัวของเนื้อแป้งอย่างเห็นได้ชัด การเพิ่มความเข้มข้นน้ำสมุนไพรส่งผลให้ความชื้นลดลงเนื่องจากมีส่วนผสมของ น้ำลดลงตั้งแต่ต้น ในขณะที่ปริมาณของแข็งทั้งหมดพบมากที่สุดในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของดอกอัญชัน เมื่อ พิจารณาคคุณค่าทางอาหาร พบว่า จาจอที่ผสมน้ำดอกเก็กฮวยให้ร้อยละโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุด ในขณะที่ จาจอที่ผสมน้ำดอกอัญชันให้ร้อยละไขมันและเถ้าสูงที่สุด โดยการศึกษานี้ได้คัดเลือกชุดการทดลองข้าวมะจานู ร่วมกับน้ำใบเตย เนื่องจากมีคุณสมบัติของปริมาณไขมันต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น รวมทั้งใช้ปริมาณของใบเตยเพียง ร้อยละ 10 มีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าใช้อัญชันและดอกเก็กฮวย



รูปที่ 1. ลักษณะสีของจาจอที่แตกต่างกันตามชนิดและความเข้มข้นของน้ำสมุนไพรที่เป็นส่วนผสม

3. ศึกษาบรรจุภัณฑ์และอายุการเก็บรักษาต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์จาจอพื้นเมืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง แล้วบรรจุ ถุง 2 ชนิด ได้แก่ ถุง PP และอลูมิเนียมฟอยล์ ปิดผนึกด้วยความร้อนในสภาพสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เฉลี่ย 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 1 2 และ 3 เดือน (รูปที่ 2) พบว่า แต่ละการบรรจุภัณฑ์ มีผลต่อค่า pH และ ความชื้นที่ต่างกัน ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4) โดยผลิตภัณฑ์จาจอที่บรรจุถุงชนิด PP ให้ค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH

ในช่วง 4.83- 6.78 ในขณะที่จากรูที่บรรจุถุงชนิดออลูมิเนียมฟอยล์ให้ค่าการเปลี่ยนแปลง pH ในช่วง 5.75 -6.71 ซึ่งน้อยกว่าจากรูที่บรรจุถุงชนิด PP เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-3 เดือน และพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4) ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์มีการผลิตกรดเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษานานขึ้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์จากรู พบว่า ระยะเวลา การเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลจากรูมีร้อยละความชื้นเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4) โดยจากรูที่บรรจุถุงชนิดออลูมิเนียมฟอยล์ให้ค่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 6.74-7.10 ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ในขณะที่จากรูที่บรรจุถุงชนิด PP ให้ค่าการเปลี่ยนแปลงความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 6.71-8.92 แตกต่างกัน ($p<0.05$) ในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 1-3 เดือน จะเห็นได้ว่าการบรรจุถุงชนิดออลูมิเนียมฟอยล์สามารถคงสภาพของผลิตภัณฑ์ และลดการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และความชื้นได้ดีกว่า เนื่องจากถุงชนิด PP ไม่สามารถป้องกันแสงได้ และมีความกระด้าง ไม่ยืดหยุ่น ความชื้นของจากรูที่เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บในถุงชนิด PP เปรียบเทียบกับออลูมิเนียมฟอยล์ ส่งผลให้เกิดการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีเร็วขึ้น ในขณะที่ถุงออลูมิเนียมฟอยล์ไม่ฉีกขาดง่ายเพราะมีการเคลือบด้วยฟิล์มลามิเนตหลายชั้น นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันอากาศและแสงแดดจากภายนอกที่จะเข้าไปในถุงได้ดี มีการปรับสมดุลของระบบอาหาร จึงช่วยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น (Pieamcla, 2004)

ตารางที่ 3. ชนิดของน้ำสมุนไพรและความเข้มข้นที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์จากรูพื้นเมือง

ชนิดของน้ำสมุนไพร	ใบเตย		อัญชัน		ดอกเก๊กฮวย	
ความเข้มข้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	10	20	10	20	10	20
pH	6.81 ± 0.01 ^b	6.64 ± 0.01 ^d	6.54 ± 0.01 ^c	6.42 ± 0.01 ^f	6.85 ± 0.01 ^a	6.76 ± 0.01 ^c
ความชื้น	69.33 ± 1.81 ^a	60.43 ± 2.83 ^{ab}	61.67 ± 1.70 ^{ab}	56.18 ± 9.19 ^b	58.99 ± 3.13 ^b	56.13 ± 6.08 ^b
ปริมาณของแข็งทั้งหมด	69.66 ± 3.08 ^{ab}	67.40 ± 5.28 ^{ab}	80.91 ± 6.66 ^a	77.29 ± 7.51 ^{ab}	63.10 ± 9.84 ^b	73.13 ± 1.21 ^{ab}
โปรตีน	0.87 ± 0.04 ^c	1.25 ± 0.11 ^b	1.18 ± 0.09 ^b	1.47 ± 0.12 ^b	1.38 ± 0.01 ^b	2.11 ± 0.33 ^a
ไขมัน	0.40 ± 0.01 ^b	0.69 ± 0.01 ^b	0.56 ± 0.01 ^b	1.47 ± 0.01 ^a	0.44 ± 0.01 ^b	1.22 ± 0.57 ^a
เถ้า	0.07 ± 0.01 ^c	0.10 ± 0.01 ^b	0.11 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.01 ^a	0.11 ± 1.69 ^b	0.11 ± 1.85 ^b
คาร์โบไฮเดรต	29.31 ± 1.77 ^b	37.53 ± 2.76 ^{ab}	36.48 ± 1.79 ^{ab}	40.75 ± 9.14 ^a	39.08 ± 3.14 ^a	40.42 ± 6.75 ^a

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± SD ที่มีอักษรกำกับต่างกัน ในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำ

ผลิตภัณฑ์จากรูพื้นเมืองที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น ส่งผลให้มีการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 5) จากการทดลองพบว่า จากรูที่เก็บรักษาในถุง PP ที่อุณหภูมิห้อง มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เร็วกว่าจากรูที่เก็บรักษาในถุงออลูมิเนียมฟอยล์ โดยสามารถเก็บรักษาได้เพียง 1 เดือน ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์รวมเฉลี่ย 3.06×10^3 โคโลนีต่อกรัม เกินกว่าเกณฑ์มาตรฐานกำหนด เช่นเดียวกับเดือนที่ 2 พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน

มาตรฐาน กำหนดไว้คือ 1×10^3 โคโลนีต่อกรัม ในขณะที่จากรูที่เก็บรักษาในถุงอูมิเนียมฟอยล์ สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ถึง 1 เดือน โดยมีปริมาณจุลินทรีย์รวมเฉลี่ย 1.6×10^2 โคโลนีต่อกรัม ไม่เกินมาตรฐานกำหนด ส่วนจำนวนยีสต์และราเฉลี่ยที่เกินมาตรฐาน คือ 10.84 โคโลนีต่อกรัม ซึ่งกำหนดราไม่เกิน 10 โคโลนีต่อกรัม (Thai Industrial Standards Institute, 2003) พบในจากรูที่บรรจุถุง PP เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน ในขณะที่จากรูซึ่งบรรจุถุงอูมิเนียมฟอยล์ พบปริมาณยีสต์และราน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อกรัม ตลอดอายุการเก็บรักษา 3 เดือน



รูปที่ 2. ผลิตภัณฑ์จากรูพื้นเมืองบรรจุถุง PP (ซ้าย) และถุงอูมิเนียมฟอยล์ (ขวา) แบบสุญญากาศ

ตารางที่ 4. ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่มีผลต่อสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์จากรูพื้นเมืองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 เดือน

ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์	pH เฉลี่ย $\pm$ SD	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) $\pm$ SD
0	PP	6.78 ± 0.09^a	6.71 ± 0.76^c
	อูมิเนียมฟอยล์	6.71 ± 0.14^a	6.74 ± 0.02^c
1	PP	6.28 ± 0.09^b	7.53 ± 0.26^{bc}
	อูมิเนียมฟอยล์	6.56 ± 0.05^a	6.81 ± 0.54^c
2	PP	5.35 ± 0.14^d	8.54 ± 0.96^a
	อูมิเนียมฟอยล์	6.28 ± 0.09^b	7.02 ± 0.50^c
3	PP	4.83 ± 0.10^c	8.92 ± 0.70^a
	อูมิเนียมฟอยล์	5.75 ± 0.26^c	7.10 ± 0.26^c

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD ที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำ

จากรูพื้นเมืองสด มีปริมาณความชื้นมากกว่าร้อยละ 50 หลังจากผ่านการอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณความชื้นลดลงเหลือประมาณร้อยละ 6 ลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงคือ มีเนื้อสัมผัสที่แข็ง สีเข้ม

ขึ้น และความนุ่มลดลง การลดความชื้นลงและบรรจุถุง PP หรือถุงอลูมิเนียมฟอยล์ แบบสุญญากาศ ทำให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากอิ่งสำเร็จรูปจนสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นเดือน เมื่อเปรียบเทียบชนิดของถุงบรรจุภัณฑ์ พบว่า ถุงอลูมิเนียมฟอยล์สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าถุงชนิด PP โดยลดการเปลี่ยนสีของจากอิ่งได้ การบรรจุผลิตภัณฑ์ในสภาพสุญญากาศช่วยชะลอหรือป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารนั้นก่อนเวลาอันควร หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเคมีในอาหาร ชะลอหรือป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียคุณภาพอาหาร ชะลออัตราการหายใจของพืช ชะลอหรือป้องกันการเจริญและการฟักไข่ของหนอน แมลงต่าง ๆ ที่อาจติดอยู่ในอาหาร รักษาสีแดงของเนื้อ และป้องกันการเสีรูปร่างของผลิตภัณฑ์ (Poovarodom, 2007)

ตารางที่ 5. ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์จากอิ่งพื้นเมืองหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 เดือน (จากจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำ)

ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)	จำนวนจุลินทรีย์รวมเฉลี่ย (โคโลนีต่อกรัม)		จำนวนยีสต์และราเฉลี่ย (โคโลนีต่อกรัม)	
	PP	อลูมิเนียมฟอยล์	PP	อลูมิเนียมฟอยล์
0	<30	<30	1.02	0.22
1	3.06×10^3	1.6×10^2	2.44	0.47
2	6.16×10^4	3.69×10^3	5.66	2.55
3	1.76×10^5	4.23×10^4	10.84	8.77

4. การทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้าย

หลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากอิ่งพื้นเมืองกึ่งสำเร็จรูปในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ที่สภาวะสุญญากาศ ซึ่งเหมาะสมที่สุด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน (รูปที่ 3) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน จากนั้นเตรียมผลิตภัณฑ์เพื่อทดสอบชิมโดยนำจากอิ่งกึ่งสำเร็จรูปไปแช่น้ำแล้วอุ่นในไมโครเวฟกำลังวัตต์ 800 วัตต์ เป็นระยะเวลา 1 นาที และทดสอบชิมร่วมกับน้ำกะทิผสมน้ำตาลแว่น ให้คะแนนการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยกลุ่มเป้าหมายนักศึกษามหาวิทยาลัยฟาฏอนีที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 15 คน และประเมินคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ด้านสี รูปร่างและขนาด กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม ความเหนียว และความชอบโดยรวม เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากอิ่งที่ไม่ผ่านการอบแห้ง จากการทดสอบพบว่า ผู้ประเมินให้คะแนนความยอมรับด้านสี รูปร่างและขนาด กลิ่น และความเหนียว ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่ลักษณะด้านเนื้อสัมผัส รสชาติ ความนุ่ม และความชอบโดยรวม ได้รับคะแนนความยอมรับในผลิตภัณฑ์จากอิ่งกึ่งสำเร็จรูปน้อยกว่าจากอิ่งสดแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq 0.05$) (ตารางที่ 6) อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์จากอิ่งทั้ง 2 ชนิด ได้รับคะแนน

ความชอบโดยรวมจากผู้บริโภคอยู่ในเกณฑ์ปานกลาง และความเป็นไปได้ที่ทำให้จากรูปร่างมีคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสต่ำกว่าจากรสชาติเนื่องจากการอบแห้งส่งผลให้โครงสร้างของจากรูปร่างเกิดรูพรุน เมื่อมีการเติมน้ำ โมเลกุลของแป้งจะดูดน้ำคืนสภาพเดิมแต่การจับตัวไม่ดีเท่าจากรสชาติ ซึ่งมีผลต่อเนื้อสัมผัสและรสชาติ โดยผู้บริโภคมีความชอบลดลงแม้ว่ามีการเตรียมผลิตภัณฑ์โดยการอุ่นด้วยไมโครเวฟก่อนทดสอบชิมแล้วก็ตาม



รูปที่ 3. ลักษณะจากรูปร่างที่ผ่านการบรรจุถุง PP (ซ้าย) มีสีเขียวซีดเล็กน้อยในขณะที่จากรูปร่างที่ผ่านการบรรจุถุงอลูมิเนียมฟอยล์ (ขวา) ยังคงสภาพสีเขียวเช่นเดิม หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือน

ตารางที่ 6. ชนิดของผลิตภัณฑ์จากรูปร่างที่มีผลต่อคะแนนเฉลี่ยการยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	จากรสชาติ	จากรูปร่างสำเร็จรูป
สี	7.88 ± 1.15^a	8.00 ± 1.00^a
รูปร่างและขนาด	7.11 ± 1.33^a	7.07 ± 1.29^a
กลิ่น	8.11 ± 1.12^a	7.70 ± 1.48^a
เนื้อสัมผัส	6.63 ± 1.14^a	5.37 ± 1.69^b
รสชาติ	8.22 ± 0.89^a	7.66 ± 1.33^b
ความนุ่ม	5.92 ± 1.52^a	4.96 ± 1.45^b
ความเหนียว	6.07 ± 1.75^a	5.88 ± 1.76^a
ความชอบโดยรวม	7.88 ± 1.05^a	7.25 ± 0.98^b

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD ที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำ

จําจ้อเป็นอาหารพื้นเมืองภาคใต้ โดยเฉพาะในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ การพัฒนาผลิตภัณฑ์และยกระดับอาหารพื้นเมืองดังกล่าวให้สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานและมีกระบวนการผลิตที่ปลอดภัย จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์สู่ตลาดที่กว้างขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากงานวิจัยเตรียมจากวัตถุดิบที่ปลอดภัย (เป็นที่ยอมรับตามหลักการอิสลาม) มีส่วนผสมของสมุนไพรที่ให้คุณค่าทางอาหาร และมีกระบวนการผลิตที่สะอาด ถูกหลักอนามัย โดยใช้สถานที่และอุปกรณ์ที่ไม่มีการปนเปื้อนสิ่งต้องห้าม (ฮาลาล) ดังนั้น ผลิตภัณฑ์จําจ้อที่ได้จึงปลอดภัยและมีประโยชน์

สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จําจ้อพื้นเมือง 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้จากข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง โดยใช้ส่วนผสมของข้าวพันธุ์มะจานูและแป้งมันสำปะหลัง อัตราส่วน 4 : 1 โดยน้ำหนัก ผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบเฉลี่ยทุกด้านสูงที่สุด เมื่อพัฒนาต่อโดยใช้สมุนไพรในการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและสารให้สีในผลิตภัณฑ์ โดยใช้ น้ำใบเตยร้อยละ 10 ให้คะแนนความชอบเฉลี่ยสูงที่สุด แล้วนำผลิตภัณฑ์จําจ้อรูปแบบกึ่งสำเร็จรูปที่ได้สามารถขึ้นรูปด้วยน้ำร้อนด้วยไมโครเวฟกำลังวัตต์ 800 วัตต์ เวลา 1 นาที มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส แต่มีคุณสมบัติบางประการที่ต้องพัฒนาของเนื้อสัมผัสเมื่อเทียบกับจําจ้อสด อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีตามมาตรฐาน มพช.ลดช่องแห้ง ผลิตภัณฑ์จําจ้อมีอายุการเก็บรักษา 1 เดือนในอุณหภูมิเย็นพอใช้ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาจึงสามารถยกระดับผลิตภัณฑ์ในท้องถิ่นสู่มาตรฐานและกระจายสินค้าในอนาคได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณแหล่งทุนวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2559

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis of the AOAC* (15th ed.). Arlington: AOAC International.
- Chaovanalikit, A. (2011). Extraction and analysis of anthocyanin. *Journal of Science and Technology*, 3(6), 26-36. (in Thai).
- Chedoloh, R. & Asae, S. (2017). Packaging and shelf-life of local halal ready to eat mataba. *Burapha Science Journal*, 22(1), 78-91. (in Thai)
- Cobelli, P. & Wangsomboondee, T. (2019). Endocrine disruptor pesticides: impact on Thai rice exporters. *Thai Rice Research Journal*, 10(1), 108-119. (in Thai)

- Jay, J. M., Loessner, M. J. & Golden, D. A. (2005). *Modern Food Microbiology* (7th ed.). New York: Springer Science and Business Media, Inc.
- Kazuma, K., Noda, N. & Suzuki, M. (2003). Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*, 64(6), 1133-1139. doi: 10.1016/S0031-9422(03)00504-1
- Komolwanich, S. (1992). *Snack Recipes and Thai Desserts* (1st ed.). Bangkok, Thailand: Amarin Printing group. (in Thai)
- Meilgaard, M., Civille, G. V. & Carr, B. T. (1999). *Sensory Evaluation Techniques* (3rd ed.). New York: CRC Press.
- Pieamcla, N. (2004). *Study of appropriate conditions for frozen ripe durian frying in vacuum fryer* (B.Eng.Thesis) Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Poovarodom, N. (2007). *Food Packaging* (1st ed.). Bangkok, Thailand: S. P. M. Publishing. (in Thai)
- Pupaka, D. (2016). Rice landraces diversity for developing products of food supplements and functional foods in Chachoengsao province. *KKU Science Journal*, 44(3), 566-578.
- Rattanapanone, N. (2002). *Food Chemistry* (1st ed.). Bangkok, Thailand: Odean Store. (in Thai)
- Ray, B. (2005). *Fundamental Food Microbiology* (3th ed.). New York: CRC Press.
- Srirod, K. & Piyachomkwan, K. (2003). *Starch Technology* (3th ed.). Bangkok, Thailand: Kasetsart University. (in Thai)
- Sun, Q. L., Hua, S., Ye, J. H., Zheng, X. Q. & Liang, Y. R. (2010). Flavonoids and volatiles in *Chrysanthemum morifolium* Ramat flower from Tongxiang County in China. *African Journal of Biotechnology*, 9(25), 3817-3821. doi: 10.5897/AJB10.140
- Thai Industrial Standards Institute. (2003). *Thai Community Products Standards 138/2546: Semi-cooked Lotchong Thred*. Bangkok, Thailand: TISI, Ministry of Industry. (in Thai)
- Wakte, K. V., Zanan, R. L., Thengane, R. J., Jawali, N. & Nadaf, A. B. (2012). Identification of elite population of pandanus amaryllifolius roxb. for higher 2-Acetyl-1-pyrroline and other volatile contents by HS-SPME/GC-FID from Peninsular India. *Food Analytical Methods*, 5(6), 1276-1288. doi: 10.1007/s12161-012-9373-y
- Wattanayon, S. (2013). Six local foods local eating to Asean. *Princess of Naradhiwas University Journal of Humanities and Social Sciences*, 1(1), 34-44. (in Thai)

Research Article

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ และอายุที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยว

Antioxidant capacity in different cultivars of sunflower sprouts and their harvesting indices

มยุรา ทองช่วง^{1*}, จัตรกมล คุณสมบัติ², รุ่งนภา โต๊ะทอง², วรณิ นาคนาวา², กิตติศาสตร์ กระบวน²,
วชิราภรณ์ อาชาวาคม¹ และ นุชนาถ วุฒิประดิษฐ์³

Mayura Thongchuang^{1*}, Chatkamol Kunsombat², Rungnapa Taothong², Wannee Naknawa²,
Kitisart Kraboun², Vachiraporn Ajavakom¹ and Nuchanat Wutipraditkul³

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ 10240

²สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการความปลอดภัยของอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120

³ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Ramkhamhaeng University, Bang Kapi, Bangkok 10240, Thailand

²Division of Food Safety Management and Technology, Department of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep, Sathon, Bangkok 10120, Thailand

³Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand

*E-mail: mayura.t@ru.ac.th

Received: 21/07/2019; Revised: 29/10/2019; Accepted: 14/11/2019

บทคัดย่อ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจในการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น การบริโภคต้นอ่อนพืชจึงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเนื่องจากต้นอ่อนพืชให้คุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าเมล็ดพืช ต้นอ่อนทานตะวันนับเป็นต้นอ่อนพืชที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการและสารพฤกษเคมี เช่น สารในกลุ่มฟีนอลิก วิตามิน และสารสีต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการดูแลสุขภาพและการป้องกันโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ต้นอ่อนทานตะวันและอายุของต้นอ่อนทานตะวันที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ผู้บริโภคได้รับสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยคัดเลือกจากต้น

อ่อนทานตะวัน 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานในท้องตลาดประเทศไทย โดยระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวต้นอ่อน คือ ขณะที่ต้นอ่อนอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ผู้วิจัยได้ศึกษาการเจริญของต้นอ่อน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณแคโรทีนอยด์ พบว่า ในระยะเวลา 14 วัน สายพันธุ์แปซิฟิกมีอัตราการเจริญสูงที่สุด รองลงมาคือสายพันธุ์จัมโบ้ และอาตุเอล (0.20 0.18 และ 0.16 กรัม/น้ำหนักสดต่อวัน ตามลำดับ) จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า สายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 14.38 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัม/น้ำหนักสด และมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 73.09 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม/น้ำหนักสด ในการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 14 วันมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 0.37 0.12 0.57 และ 7.4 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ดังนั้น เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากต้นอ่อนทานตะวันมากที่สุด สายพันธุ์และอายุของต้นอ่อนทานตะวันที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวคือ สายพันธุ์แปซิฟิก อายุ 5 วัน จะเห็นได้ว่าเงื่อนไขของเมล็ดทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน และสารที่น่าจะเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging คือ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

คำสำคัญ: ต้นอ่อนทานตะวัน, ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ, สารฟีนอลิก, คลอโรฟิลล์, แคโรทีนอยด์

Abstract

Nowadays, consumers pay more attention to healthy food consumption. Consumption of crop sprout has been increasing in popularity. The crop sprouts provide higher nutritional value than seeds. Sunflower sprout is considered a favored sprout due to its rich nutrition and phytochemicals such as phenolic compounds, vitamins and various pigments, especially antioxidant activity substances, the important roles in human health care and disease prevention. This research aimed to investigate three sunflower cultivars to select the proper cultivar and its age period for harvesting to receive the highest antioxidant capacity. Three different sunflower cultivars (*Helianthus annuus* L. cvs. Jumbo, Pacific and Artuel), that consumers prefer in Thai market, were elucidated by four harvesting time: 5, 7, 9 and 14 days. The studies of growth, the amount of important substances in relation to antioxidants including total phenolic compound, chlorophyll, carotenoid and antioxidant capacity were carried out. The results revealed that within 14 days of cultivation, cv. Pacific sprout showed the highest growth rate,

followed by cvs. Jumbo and Artuel (0.20, 0.18 and 0.16 g fresh weight per day, respectively). An antioxidant capacity by DPPH free radical scavenging assay and total phenolic content analysis also indicated that 5-day-old cv. Pacific sprout had the highest antioxidant capacity (14.38 milligrams equivalent of ascorbic acid per 100 grams of fresh weight) with high total phenolic content to 73.09 mg equivalent of gallic acid per 100 grams of fresh weight. In the analysis of chlorophyll content and carotenoid content, cv. Pacific sunflower sprout for 14 days showed the highest of chlorophyll a, total chlorophyll and carotenoid contents at 0.37, 0.12, 0.57 and 7.4 mg per gram of fresh weight, respectively. To obtain the most antioxidants from sunflower sprout, cv. Pacific sunflower sprout of 5 days was suitable for harvesting. This study confirmed that genotype of sunflower seed affected an antioxidant capacity of sunflower sprout. Probably, the dominant substances in antioxidant capacity by DPPH free radical scavenging assay are total phenolic compounds.

Keywords: sunflower sprout, antioxidant capacity, phenolic compound, chlorophyll, carotenoid

บทนำ

ในปัจจุบันการบริโภคผักสดของเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ ได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้บริโภคที่ใส่ใจดูแลสุขภาพซึ่งนิยมรับประทานผักและผลไม้สดมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการปรุงสุกหรือแปรรูป และจากการตรวจสอบสารเคมีตกค้างในผักและผลไม้สดในท้องตลาด ยิ่งส่งผลให้ผู้บริโภคส่วนหนึ่งเกิดความกังวลในสุขภาพจึงเลือกที่จะบริโภคหรือเพาะต้นอ่อนจากเมล็ดพืช เช่น เมล็ดทานตะวัน เมล็ดข้าวกล้อง เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดข้าวสาลี หรือเมล็ดถั่วลิสง (โด้วเหมียว) เพื่อบริโภคเอง ซึ่งการเพาะต้นอ่อนมีกรรมวิธีที่ง่ายไม่ซับซ้อนทำให้ผู้บริโภคสามารถรับประทานผักสดที่สะอาด ปลอดภัย ราคาถูก และสามารถกำหนดระยะเวลาที่ต้องการเก็บเกี่ยวผลผลิตได้

การเพาะต้นอ่อนหรือการเกิดต้นอ่อนในระยะแรกของการงอกจากเมล็ดพืช เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของสารเมแทบอลิต์ (metabolites) ต่าง ๆ ในเมล็ดพืชโดยการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการแคทาบอลิซึมและการย่อยของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ที่สะสมอยู่ในเมล็ดพืช ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของน้ำตาล กรดแอมิโนอิสระ กรดไขมันบางชนิด เช่น กรดไลโนเลอิก กรดอินทรี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ในขณะที่มีการลดลงของปริมาณสารต้านคุณค่าทางโภชนาการ (antinutritional factor) เช่น สารยับยั้งโปรตีเอส (protease inhibitor) แทนนิน (tannin) และ เลคติน (lectin) เป็นต้น (Kranmer & Colville, 2011; Aguilera et al., 2013; Erbaş et al., 2016; Benincasa et al., 2019) นอกจากการเพาะต้นอ่อนจะเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดให้สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ยังไม่งอกแล้ว (Villaluenga et al., 2010; Pajak et al., 2014) ต้นอ่อนยังมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเมล็ดอีกด้วย (Pas'ko et al., 2009)

ต้นอ่อนทานตะวันนับเป็นชนิดของต้นอ่อนที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากต้นอ่อนทานตะวันมีสารที่มีคุณสมบัติทางด้านพฤกษเคมี (phytochemicals) หลายชนิด เช่น สารในกลุ่มฟีนอลิก (phenolic compounds) (เช่น caffeic acid, chlorogenic acid, caffeoylquinic acid, cynarine, gallic acid) ฟลาโวนอยด์ (เช่น heliannone, quercetin, luteolin, kaempferol) สารสี (เช่น chlorophyll, carotene, xanthophyll) วิตามิน (เช่น วิตามิน A, วิตามิน B, วิตามิน C, วิตามิน E, niacin) และธาตุ (เช่น calcium, iron, magnesium, phosphorus) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการดูแลสุขภาพและการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยมักใช้ในการแพทย์พื้นบ้าน (traditional medicine) เนื่องจากสารพฤกษเคมีเหล่านี้มีคุณสมบัติที่น่าสนใจเกี่ยวกับการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) การต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) การบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน (antidiabetic) การบรรเทาอาการของโรคความดันโลหิตสูง (antihypertensive) การต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และ การสมานบาดแผล (wound healing) (Jiraungkoorskul, 2016; Guo et al., 2017) โดยสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดและต้นอ่อนทานตะวัน ได้แก่ วิตามิน E วิตามิน C แคโรทีนอยด์ และเอนไซม์ คือ catalase, glutathione dehydrogenase, guaiacol peroxidase, glutathione reductase (Guo et al., 2017) จากประโยชน์ทางโภชนาการและทางการแพทย์ดังกล่าวข้างต้น ต้นอ่อนทานตะวันจึงจัดเป็นอาหารฟังก์ชัน (functional foods) (Guo et al., 2017) และโภชนเภสัช (nutraceuticals) (Jiraungkoorskul, 2016) ที่กำลังได้รับความนิยม

ในประเทศไทย สายพันธุ์ของเมล็ดทานตะวันที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดมีหลายชนิด มีทั้งพันธุ์ผสมเปิด พันธุ์สังเคราะห์ และพันธุ์ลูกผสม ผู้วิจัยพบว่าสายพันธุ์เมล็ดทานตะวันที่มีการนำมาปลูกเป็นต้นอ่อนทานตะวันในท้องตลาดของประเทศไทย ได้แก่ สายพันธุ์อาตุเอล (cv. Artuel) สายพันธุ์แปซิฟิก (cv. Pacific) สายพันธุ์จัมโบ้ (cv. Jumbo) สายพันธุ์สุรนารี (cv. Suranaree) สายพันธุ์เชียงใหม่ (cv. Chiangmai) และ สายพันธุ์อะควารา (cv. Aquara) เป็นต้น โดยสายพันธุ์เมล็ดทานตะวันที่ได้รับความนิยมอย่างสูงในการนำมาเพาะเป็นต้นอ่อนทานตะวัน คือ จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล จากการศึกษาวิจัยต้นอ่อนทานตะวันในประเทศไทย พบว่า มีงานวิจัยที่รายงานการศึกษาปริมาณวิตามิน C คลอโรฟิลล์ เส้นใยอาหาร สารฟีนอลิก การต้านอนุมูลอิสระในสายพันธุ์อาตุเอล ซึ่งสรุปว่า ต้นอ่อนทานตะวันอายุ 5 วัน มีความเหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเพื่อบริโภคมากที่สุด (Pagamas & Krongkaomasan, 2013; Paseephol et al., 2015) นอกจากนั้นยังมีงานวิจัยที่ศึกษาความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Puwapthut, 2016) และการยืดอายุการเก็บรักษาด้านอ่อนทานตะวันพร้อมบริโภค (Boonrod & Suthiluk, 2015) โดยไม่ได้ระบุว่าเป็นการศึกษาในต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์ใด เนื่องจากไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก หรืออาตุเอล สายพันธุ์ใดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) บางชนิดจากสายพันธุ์ทั้ง 3 นี้ในขณะที่อายุของต้นอ่อนแตกต่างกัน เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจของผู้ประกอบการและผู้บริโภคในการเลือกสายพันธุ์และระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวผลผลิต ทั้งนี้ เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุด

ดังนั้น ผู้วิจัยมีความสนใจศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล ซึ่งเป็นทานตะวันสายพันธุ์ลูกผสมที่ผู้บริโภคนิยมรับประทาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกว่าสายพันธุ์ใดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging มากที่สุด รวมทั้งศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวต้นอ่อนทานตะวันต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระนั้น โดยระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวต้นอ่อน คือ ขณะต้นอ่อนมีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน จากนั้นศึกษาการเจริญของต้นอ่อนโดยการหาน้ำหนักสด (fresh weight) และน้ำหนักแห้ง (dry weight) วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และปริมาณแคโรทีนอยด์ (carotenoid)

วิธีการทดลอง

1. วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่

1.1 เมล็ดทานตะวัน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์จัมโบ้และอาตุเอล จากบริษัท ชินเจนทา ซีดส์ จำกัด สายพันธุ์แปซิฟิก จากศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดนครราชสีมา

เมล็ดทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอายุหลังการเก็บเกี่ยวใกล้เคียงกัน และมีการคัดเลือกขนาดของเมล็ดพันธุ์ให้ใกล้เคียงกัน หลังจากได้รับเมล็ดพันธุ์จากแหล่งเมล็ดพันธุ์มีการเก็บรักษามล็ดพันธุ์ไว้ในตู้เย็นเพื่อรักษาอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียสตลอดเวลา โดยเมล็ดทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีอัตราการงอกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีอัตราการงอกมากกว่าร้อยละ 95

1.2 ดินสิดา จากห้างหุ้นส่วนจำกัด ส.สมานท่าทราย

2. วิธีดำเนินการทดลอง

การเพาะต้นอ่อนทานตะวัน

นำเมล็ดต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล แช่น้ำสะอาดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาให้เทน้ำออก จากนั้นห่อเมล็ดด้วยผ้าสะอาดที่ชุ่มน้ำหมาด ๆ และนำมาวางในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดทานตะวันมีรากงอก

ถาดหลุมเพาะต้นกล้าที่ใช้มีขนาด 170 x 245 ตารางมิลลิเมตร ใน 1 ถาด ประกอบด้วยหลุมจำนวน 20 หลุม โดยใช้ถาดหลุม 2 ถาดต่อ 1 สายพันธุ์ เมื่อเตรียมดินเรียบร้อยแล้ว วางเมล็ดทานตะวันทั้งที่งอกลงบนดินในแต่ละหลุมจำนวน 10-12 เมล็ดต่อหลุม ให้เมล็ดกระจายทั่วหลุม วางถาดหลุมลงในกระบะที่มีน้ำหล่ออยู่ด้านล่างซึ่งมีระดับน้ำสูงสามในสี่ส่วนของถาดหลุม จากนั้นนำมาวางในห้องสำหรับเพาะเพื่อควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มของแสง (light intensity) ที่ $70-100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน หมั่นเติมน้ำในกระบะเพื่อรักษาระดับน้ำ เก็บเกี่ยวต้นอ่อนทานตะวันเมื่อต้นอ่อนมีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ตามลำดับ

ในการทดลองได้ทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยเมื่อระยะเวลาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ทำการเก็บตัวอย่างสายพันธุ์ละ 5 หลุม อย่างสุ่ม ถือเป็นหลุมละ 1 ซ้ำ โดยในการเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สารสำคัญต่าง ๆ ใน 1 ซ้ำ นั้น ทำได้โดยการตัดต้นอ่อนทานตะวันจาก 1 หลุม ตั้งแต่ส่วนที่โผล่จากผิวดินแล้วทำให้ต้นอ่อนทานตะวันมีขนาดเล็กลง โดยให้มีความยาวไม่เกิน 1 เซนติเมตร แขนงในโตรเจนเหลว จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างที่ลดขนาดแล้วโดยการห่อด้วยกระดาษฟอยล์ ขนาดของกระดาษฟอยล์หลังห่อเสร็จเรียบร้อยแล้วมีขนาดไม่เกิน 10x10 ตารางเซนติเมตร เก็บตัวอย่างที่ถูกห่อด้วยกระดาษฟอยล์ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ เมื่อต้องการวิเคราะห์สารสำคัญจึงนำตัวอย่างมาซึ่งให้มีปริมาณตามต้องการในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ จำนวน 3 หลอดต่อ 1 ซ้ำ จากนั้นจึงนำมาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว แล้วจึงทำการสกัดสารสำคัญต่อไป

การศึกษาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวัน

การหาน้ำหนักสด เมื่อระยะเวลาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีอายุ 5 7 9 และ 14 วัน ทำการเก็บต้นอ่อนทานตะวันที่มีสมบูรณ์ (ไม่รวมราก) สายพันธุ์ละ 5 หลุมอย่างสุ่ม ถือเป็นหลุมละ 1 ซ้ำ มาชั่งน้ำหนัก

การหาน้ำหนักแห้ง โดยนำต้นอ่อนทานตะวันที่ทำน้ำหนักสดแล้วมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนต้นอ่อนทานตะวันมีน้ำหนักคงที่ นำออกมาเก็บในโถสุญญากาศ และชั่งน้ำหนัก

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging

นำต้นอ่อนทานตะวันปริมาณ 0.05 กรัมในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร มาบดให้ละเอียดในไนโตรเจนเหลว สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นแยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อได้สารสกัดแล้วนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging ของ Brand-Williams et al. (1995) โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และแสดงผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ชั่งน้ำหนักต้นอ่อนทานตะวันปริมาณ 0.05 กรัมในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำมาบดในไนโตรเจนเหลว สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แยกส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อได้สารสกัดนำมาทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นวิธีการที่ดัดแปลงจาก Chan et al. (2009) หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้

โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) และแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

วิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์ โดยนำต้นอ่อนทานตะวันปริมาณ 0.05 กรัมมาบดในไนโตรเจนเหลว จากนั้นนำมาสกัดด้วย *N,N*-dimethylformamide (DMF) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนใสออกจากตะกอนที่ความเร็วรอบ 10,000g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 461 647 และ 664 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และ แคโรทีนอยด์ตามทฤษฎีของ Arnon (1949) ดังสมการด้านล่างนี้ แสดงปริมาณของสารสีชนิดต่าง ๆ ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = 12.70(A_{664}) - 2.79(A_{647})$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = 20.70(A_{647}) - 4.62(A_{664})$$

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = 17.90(A_{647}) + 8.08(A_{664})$$

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = A_{461} \times 200$$

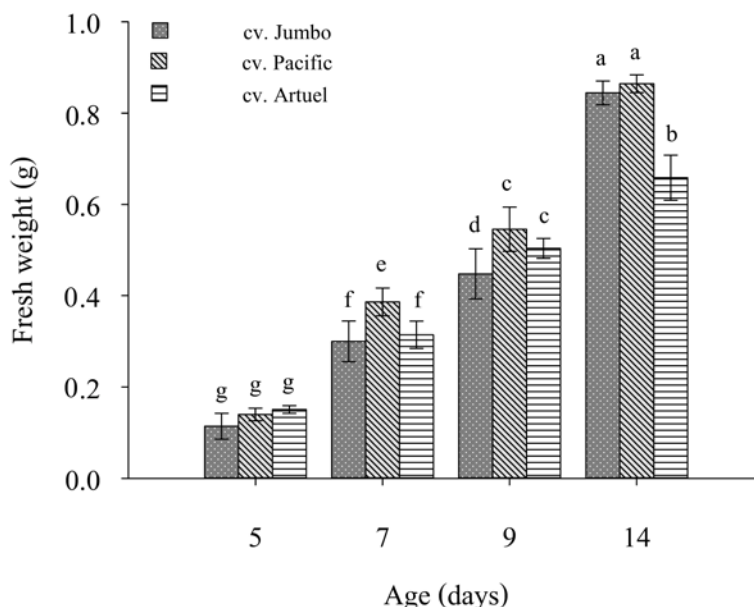
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองตามแผนการทดสอบแบบ Completely Randomized Design และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

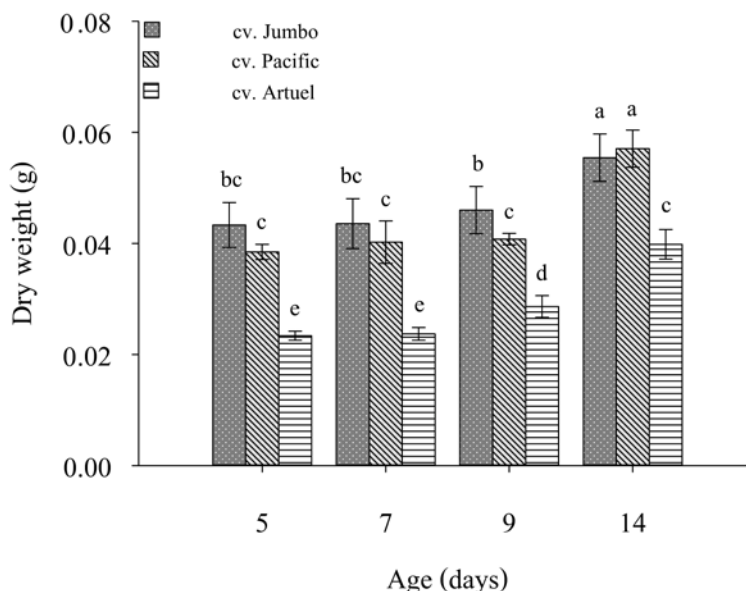
1. การเจริญของต้นอ่อนทานตะวัน

จากการศึกษาการเจริญของต้นอ่อนทานตะวัน 3 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล ณ อายุ 5 7 9 และ 14 วัน โดยการชั่งน้ำหนักสด พบว่า น้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตามอายุที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 1) ในระยะเวลาการเจริญ 14 วัน สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล มีอัตราการเจริญ เท่ากับ 0.18 0.20 และ 0.16 กรัม น้ำหนักสดต่อวัน สายพันธุ์แปซิฟิกจึงมีอัตราการเจริญ สูงที่สุด น้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกและจัมโบ้ อายุ 14 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยสายพันธุ์แปซิฟิกและจัมโบ้ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อต้น เท่ากับ 0.86 และ 0.85 กรัม ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์อาตุเอลอายุ 14 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 0.66 กรัมเท่านั้น และน้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันที่มีอายุ 5 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



รูปที่ 1. น้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาร์ตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันแต่ละสายพันธุ์ ณ วันที่ 14 กับวันที่ 5 พบว่าสายพันธุ์อาร์ตูเอลมีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสดน้อยที่สุด (0.51 กรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 สายพันธุ์ (0.72-0.73 กรัม) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Paseephol et al. (2015) ที่รายงานว่าน้ำหนักสดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์อาร์ตูเอลเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยหลังจากวันที่ 5 เป็นต้นไป ซึ่งอาจเกิดจากสารอาหารที่เก็บสะสมไว้ในเมล็ดมีปริมาณลดลงเมื่อนำต้นอ่อนทานตะวันทั้งสามสายพันธุ์ที่มีอายุต่าง ๆ ไปอบแห้งจนมีน้ำหนักคงที่ได้ผลน้ำหนักแห้งแสดงดังรูปที่ 2 จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์อาร์ตูเอลเมื่ออายุเพิ่มขึ้นน้ำหนักแห้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกับน้ำหนักสด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำหนักสดของสายพันธุ์จัมโบ้และแปซิฟิกที่อายุ 9 วันในรูปที่ 1 และน้ำหนักแห้งของสายพันธุ์จัมโบ้และแปซิฟิกที่อายุ 9 วันในรูปที่ 2 พบว่าสายพันธุ์จัมโบ้ อายุ 9 วัน มีน้ำหนักแห้ง (0.046 กรัมต่อต้น) มากกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก (0.041 กรัมต่อต้น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่สายพันธุ์จัมโบ้มีน้ำหนักสดน้อยกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก อาจเป็นไปได้ว่าสายพันธุ์จัมโบ้ อายุ 9 วัน มีน้ำหรือสารที่ระเหยได้เป็นองค์ประกอบน้อยกว่าสายพันธุ์แปซิฟิกที่อายุเท่ากัน ทั้งนี้เมื่อสังเกตจากลักษณะภายนอกของต้นอ่อนจะพบว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้มีลำต้นและใบที่อวบโตและแข็งแรงมากกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก อาจกล่าวได้ว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้มีส่วนที่เป็นวัตถุแห้ง (dry matter) สูงกว่าสายพันธุ์แปซิฟิก แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของการเจริญและพัฒนาการของพืชเกิดจากปัจจัยภายในต้นพืช เช่น พันธุกรรม (genetic) เป็นต้น (Techapinyawat, 2005)

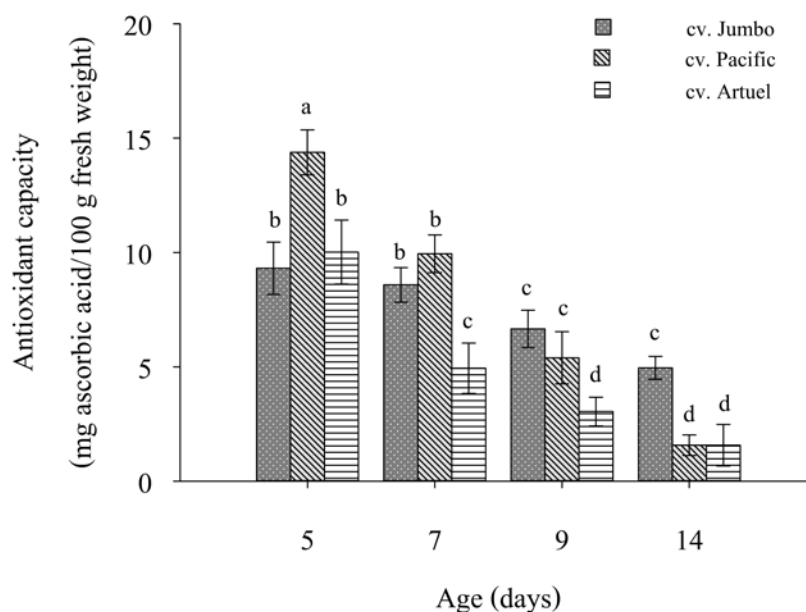


รูปที่ 2. น้ำหนักแห้งของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาร์เทล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

2. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

จากการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อายุต่าง ๆ โดยใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน ได้ผลแสดงดังรูปที่ 3 พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีแนวโน้มลดลงหลังจากมีอายุ 5 วัน โดยต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 14.38 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับสายพันธุ์จัมโบ้และอาร์เทลซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 9.31 และ 10.02 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ แต่เมื่อต้นอ่อนมีอายุ 7 และ 9 วัน พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกกับจัมโบ้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเพาะต้นอ่อนทานตะวันเพิ่มขึ้น เห็นได้ว่าสายพันธุ์แปซิฟิกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงอย่างชัดเจน ในขณะที่สายพันธุ์จัมโบ้และสายพันธุ์อาร์เทลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงแบบค่อยเป็นค่อยไป และจากการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ได้ผลดังรูปที่ 4 พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์เมื่อมีอายุ 5 วัน มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์

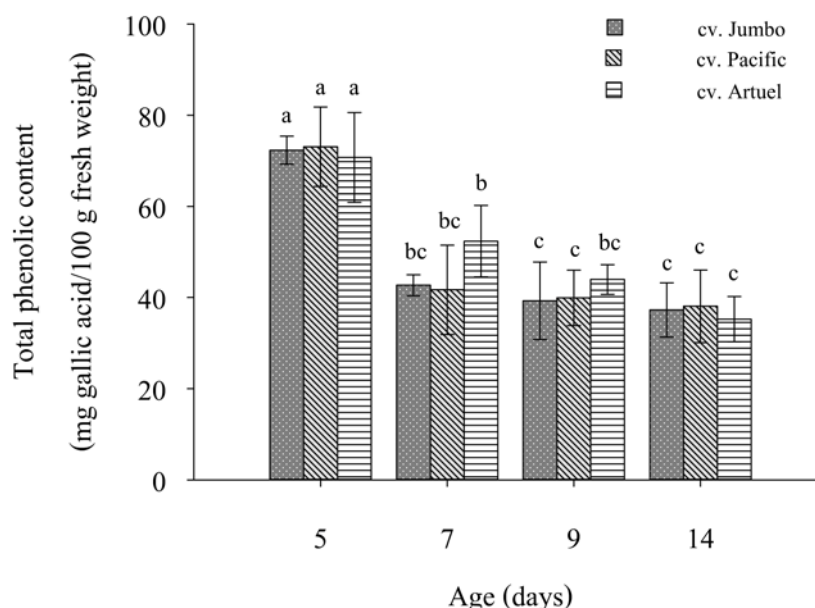
จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 72.31 73.09 และ 70.75 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ แต่จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (รูปที่ 3) ที่พบว่าต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอีก 2 สายพันธุ์ ถึงแม้จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียงกันกับอีก 2 สายพันธุ์ก็ตาม ทั้งนี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนต่าง ๆ นอกจากจะเกิดจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารฟีนอลิกทั้งหมด เช่น โทโคฟีรอล ฟลาโวนอยด์และกรดฟีนอลิกแล้ว ยังเกิดจากฤทธิ์ของเพปไทด์บางชนิด คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์ เช่น catalase, glutathione oxidase และ guaiacol peroxidase ได้อีกด้วย (Guo et al., 2017)



รูปที่ 3. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีอายุเพิ่มขึ้น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่รายงานว่า การเจริญของต้นอ่อนหรือการงอกจากเมล็ดที่รับประทานได้ เช่น บรอกโคลี ทานตะวัน ข้าวสาลี ถั่วเลนทิล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเมื่อคำนวณในฐานน้ำหนักสดเมื่อต้นอ่อนมีอายุเพิ่มขึ้น เนื่องจากการดูดน้ำของเมล็ด (imbibition) การเจริญของต้นอ่อน และการดูดซึมน้ำ (water absorption) ที่เพิ่มขึ้น มีผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดถูกเจือจางลง (Randhir et al., 2004; Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010; Pérez-Balibrea et al., 2011) เช่นเดียวกับผลการทดลองของผู้วิจัยที่พบว่า เมื่อต้นอ่อนทานตะวันมีอายุมากขึ้น

ปริมาณน้ำหรือสารที่ระเหยได้ที่เป็นองค์ประกอบของต้นอ่อนมีปริมาณเพิ่มขึ้น (เปรียบเทียบจากรูปที่ 1 และรูปที่ 2 ตามลำดับ) ปริมาณน้ำที่เพิ่มขึ้นในต้นอ่อนตามระยะเวลาของการเจริญส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเจือจางลง ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในฐานน้ำหนักแห้งจะเป็นการกำจัดอิทธิพลของความชื้นหรือน้ำออกไป นอกจากนี้ อาจอธิบายได้ว่าการลดลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเกิดจากการพัฒนาและการเจริญของพืชที่มีการนำสารฟีนอลิก เช่น ferulic acid และ *p*-coumaric acids ไปรวมตัวกับสารอินทรีย์ชนิดอื่น เช่น คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน เพื่อสร้างเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช เช่น ลิกนิน หรือเซลลูโลส (Hung et al., 2012) จากผลการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ลดลง เช่นเดียวกับผลงานวิจัยของ Pérez-Balibrea et al. (2011) ที่รายงานว่าเมื่อระยะเวลาในการเพาะต้นอ่อนเพิ่มขึ้น สารฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของบรอกโคลีสายพันธุ์ที่แตกต่างกันมีแนวโน้มลดลงเช่นกัน



รูปที่ 4. ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาร์ตูเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

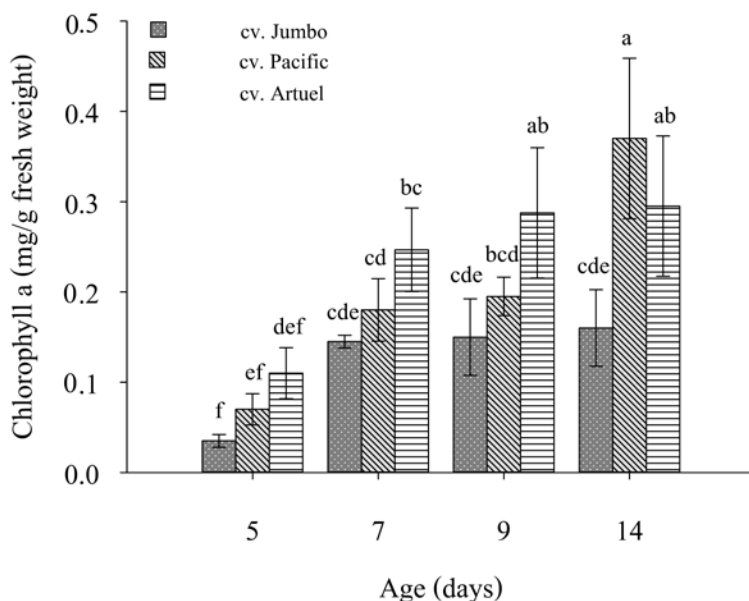
งานวิจัยของ Cho et al. (2008) ได้สรุปว่าในระยะที่เป็นต้นอ่อนทานตะวัน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ของทานตะวันจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ด เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เมลาโทนิ และไอโซฟลาโวนทั้งหมด ดังนั้นในงานวิจัยนี้สารที่น่าจะเป็น

สารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging คือ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากแอลกอฮอล์โดยเฉพาะเอทานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบพวกพอลิฟีนอล (Siriamornpun, 2014) ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้เอทานอลในการสกัดสารในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และยังคงคล้องกับที่มีรายงานว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระประเภทสารประกอบพอลิฟีนอล (Siriamornpun, 2014)

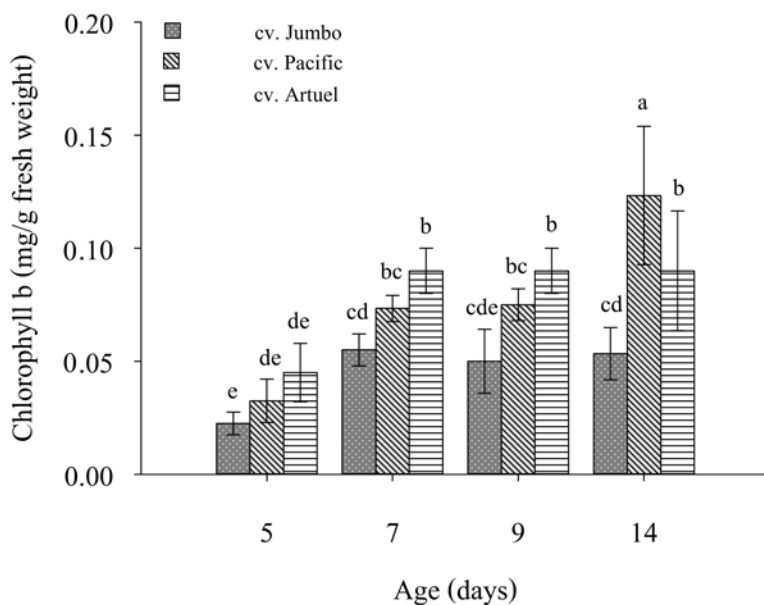
3. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

ผลการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อายุต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 5-8 ตามลำดับ พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่มีอายุ 5-9 วันเท่ากัน มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่าปริมาณสารสีเหล่านี้ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเจริญ โดยสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 14 วัน มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 0.37 0.12 0.57 และ 7.40 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับที่มีรายงานวิจัยว่า ในช่วงอายุแรกของการเจริญของพืช ปริมาณของธาตุหลัก ธาตุรอง และสารสีในการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น (Pinto et al., 2014) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Pagamas & Krongkaomasan (2013) ที่พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันช่วงอายุ 1-5 วัน มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นตามช่วงอายุที่มากขึ้น จากรูปที่ 5-8 จะเห็นได้ว่าเมื่ออายุของต้นอ่อนทานตะวันเพิ่มขึ้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นโดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้เนื่องจากอัตราส่วนของคลอโรฟิลล์ต่อแคโรทีนอยด์เป็นปัจจัยจำเป็นในการรักษากระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชให้เกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ หรืออาจกล่าวได้ว่า สมดุลระหว่างปริมาณของคลอโรฟิลล์ต่อแคโรทีนอยด์เป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อกระบวนการรักษาสมดุลของพืช (homeostasis) นั่นเอง (Hannoufa & Hossain, 2012) คลอโรฟิลล์ นับเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง แล้วยังถือได้ว่าเป็นแหล่งของธาตุที่สำคัญคือแมกนีเซียมอีกด้วย ส่วนแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคโรทีน (carotene) และ แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์ ในการเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น (Alda et al., 2011)

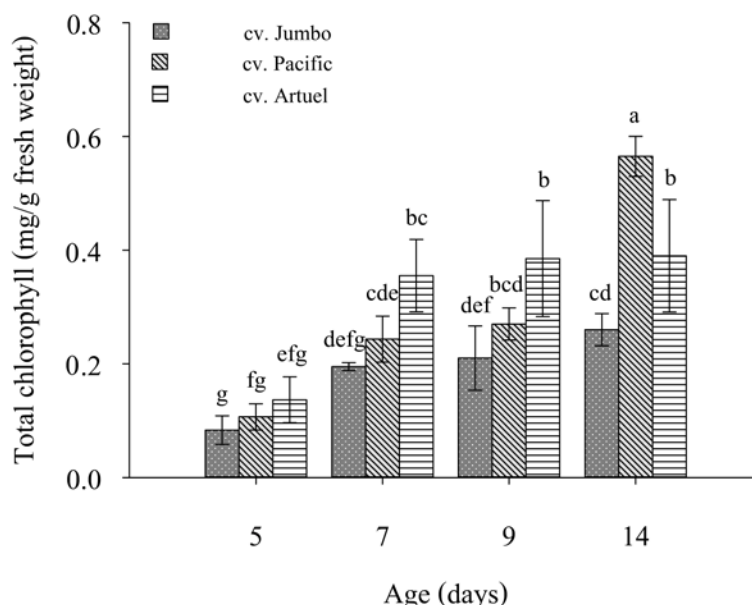
อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (รูปที่ 3) กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (รูปที่ 4) และปริมาณสารสีต่าง ๆ (รูปที่ 5-8) ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อายุต่าง ๆ อาจกล่าวได้ว่า คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์อาจจะไม่ได้มีบทบาทหลักในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์เหล่านี้ เนื่องจากปริมาณสารสีเหล่านี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อต้นอ่อนมีอายุเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนกลับลดลง



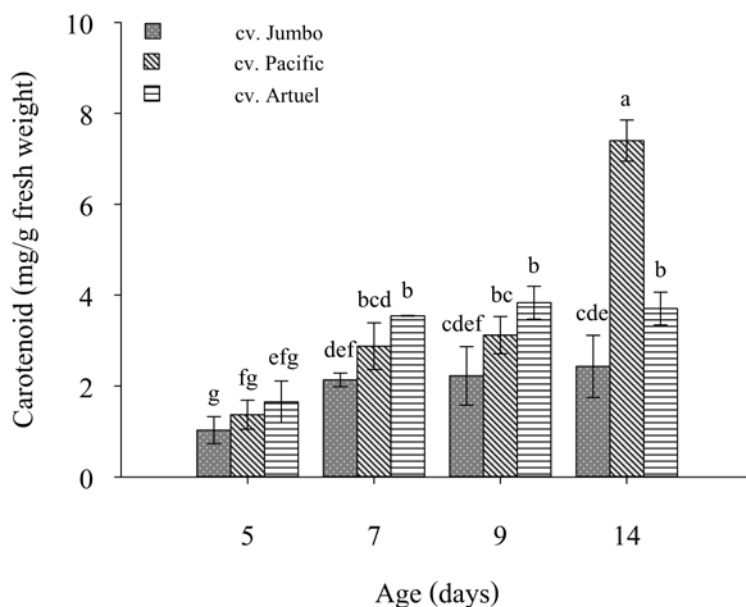
รูปที่ 5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)



รูปที่ 6. ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)



รูปที่ 7. ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)



รูปที่ 8. ปริมาณแคโรทีนอยด์ของต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล อายุ 5 7 9 และ 14 วัน (ตัวอักษรเหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

จากผลการทดลอง ผู้วิจัยพบว่าต้นอ่อนทานตะวันอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging ได้ดีที่สุด โดยระยะการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันที่วางจำหน่ายในท้องตลาดและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเป็นระยะที่ต้นอ่อนมีอายุ 4-7 วัน (Srisaad & Samrongyen, 2016) หรือ 6-9 วัน (Jiraungkoorskul, 2016) ซึ่งอยู่ในระยะที่ต้นอ่อนมีใบเลี้ยง 2 ใบ โดยหากปล่อยให้ต้นอ่อนเจริญต่อไปมากกว่านี้หรือจนกระทั่งอยู่ในระยะที่มีใบที่ 3 จะทำให้ต้นอ่อนแก่เกินไป ทำให้เหี่ยว มีรสขม และไม่อร่อย (Srisaad & Samrongyen, 2016; Jiraungkoorskul, 2016) ดังนั้น คุณภาพการรับประทานสด (สลัด) หรือปรุงสุกของต้นอ่อนทานตะวันอายุ 5 วัน จึงน่าจะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

สรุปผลการทดลอง

การศึกษากการเจริญของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์จัมโบ้ แปซิฟิก และอาตุเอล เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่า ต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกมีอัตราการเจริญสูงที่สุด รองลงมาคือ สายพันธุ์จัมโบ้ และอาตุเอล ตามลำดับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์มีแนวโน้มลดลงเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น ต้นอ่อนทานตะวันสายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงด้วยเช่นกัน ดังนั้นสารที่น่าจะเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging คือ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด การศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ของต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า เมื่ออายุเพิ่มขึ้นต้นอ่อนทานตะวันทั้ง 3 สายพันธุ์ มีปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากต้นอ่อนทานตะวันมากที่สุด สายพันธุ์และอายุของต้นอ่อนทานตะวันที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวคือ สายพันธุ์แปซิฟิกอายุ 5 วัน รองลงมาคือ สายพันธุ์จัมโบ้ อายุ 5 วัน และสายพันธุ์อาตุเอลอายุ 5 วัน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าลักษณะทางพันธุกรรมหรือจีโนไทป์ (genotype) ของเมล็ดทานตะวันสายพันธุ์ต่าง ๆ มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนทานตะวัน

เอกสารอ้างอิง

- Aguilera, Y., Díaz, M. F., Jiménez, T., Jiménez, T., Benítez, V. & Herrera, T. et al. (2013). Changes in nonnutritional factors and antioxidant activity during germination of nonconventional legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(34), 8120-8125. doi: 10.1021/jf4022652
- Alda, S., Camelia, M., Diana, D., Liana, A. & Nita, L. (2011). The dynamic of pigments level in sunflower sprouts after zinc compounds supplementing in growth. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 15(2), 212-216.

- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1-15. doi: 10.1104/pp.24.1.1
- Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F. & Galieni, A. (2019). Sprouted grains: a comprehensive review. *Nutrients*, 11(2), 29 pp. doi:10.3390/nu11020421
- Boonrod, K. & Suthiluk, P. (2015). Effect of electrolyzed bubble water combined with packaging on quality monitoring and shelf life extension of ready-to-eat sunflower (*Helianthus annuus*) sprouts. *Agricultural Science Journal*, 46(3) (Suppl.), 677-680. (in Thai)
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi: 10.1016/s0023-6438(95)80008-5
- Cevallos-Casals, B. A. & Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119(4), 1485-1490. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.030
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, S. K., Lim, K. K., Tan, S. P. & Lianto, F. S. et al. (2009). Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, 113(1), 166-172. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.090
- Cho, M. H., No, H. K. & Prinyawiwatkul, W. (2008). Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. *Journal of Food Science*, 73(1), S70-S77. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00607.x
- Erbaş, S., Tonguç, M. & Şanlı, A. (2016). Mobilization of seed reserves during germination and early seedling growth of two sunflower cultivars. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89, 217-222. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2016.089.028>
- Guo, S., Ge, Y. & Jom, K. M. (2017). A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common sunflower seed and sprouts (*Helianthus annuus* L.) *Chemistry Central Journal*, 11(95), 10 pp. doi: 10.1186/s13065-017-0328-7
- Hannoufa, A. & Hossain, Z. (2012). Regulation of carotenoid accumulation in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1(3), 198-202. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.023
- Hung, P. V., Hatcher, D. W. & Barker, W. (2011) Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 126(4), 1896-901. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.015

- Jiraungkoorskul, W. (2016). Review of nutraceutical uses of an antioxidant sunflower sprout, *Helianthus annuus*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(6), 21-23. doi: 10.22159/ajpcr.2016.v9i6.12874
- Kranner, I. & Colville, L. (2011). Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 72(1), 93-105. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.05.005
- Pagamas, P. & Krongkaomasan, T. (2013). Vitamin C, chlorophyll and fiber contents of sunflower sprouts at different stages. *Agricultural Science Journal*, 44(3) (Suppl.), 142-145. (in Thai)
- Pajak, P., Socha, R., Galkowska, D., Roznowski, J. & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food chemistry*, 143, 300-306 doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.064
- Paseephol, T., Jaifuai, P. & Nasoomfun, N. (2015). Changes in physical characteristics, total phenolics and antioxidant activity during growth of sunflower sprouts. *Agricultural Science Journal*, 46(3/1) (Suppl.), 44-47. (in Thai)
- Pas'ko, P., Barton', H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M. & Zachwieja, Z. (2009) Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115(3), 994-998. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.01.037
- Pérez-Balibrea, S., Moreno, D. A. & García-Viguera, C. (2011). Genotypic effects on the phytochemical quality of seeds and sprouts from commercial broccoli cultivars. *Food Chemistry*, 125(2), 348-354. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.09.004
- Pinto, E., Almeida, A. A., Aguiar, A. A. R. M. & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2014). Changes in macrominerals, macrominerals, trace elements and pigments content during lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth: influence of soil composition. *Food Chemistry*, 152, 603-611. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.023
- Puwaphut, R., Yusuh, M. & Mekarat, S. (2015). Suitable period of young sunflower (*Helianthus annuus* L.) for the ability of bioactive compounds production. *Princess of Naradhiwas University Journal*, 8(1), 90-100. (in Thai)
- Randhir, R., Lin, Y. T. & Shetty, K. (2004). Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry*, 39(5), 637-646. doi: 10.1016/s0032-9592(03)00197-3
- Siriamornpun, S. (2014). *Antioxidants in Food* (1st ed.). Bangkok, Thailand: Odeon Store Co., Ltd. (in Thai)

- Srisaad, A. & Samrongyen, P. (2016). *Assorted Germinating Seeds of Metropolitan Vol. 2* (1st ed.). Samut Sakhon, Thailand: Naka Inter Media Co., Ltd. (in Thai)
- Techapinyawat, S. (2005). *Plant Biology* (1st ed.). Bangkok, Thailand: Kasetsart University Press. (in Thai)
- Villaluenga, C. M., Penas, E., Ciska, E., Piskula, M. K., Kozłowska, H. & Valverde, C. V. et al. (2010). Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. *Food Chemistry*, 120(3), 710-716. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.10.067

Research Article

การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดน้ำมันและบีตา-แคโรทีน จากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

Determination of optimum extraction condition for edible oil and β -carotene from carrot peel (*Daucus carota* L.) using supercritical carbon dioxide

สุธิดา อัครชนียากร^{1*}, ธนสิทธิ์ ตั้งไพบูลย์พงศา¹, มินตรา เชื้อคำ¹, ขวัญชนก ดาศิริ¹, ปัทมา ภาสุธาน¹ และ
นกรินทร์ มัททวิวงศ์²

Suthida Akkarachaneeyakorn^{1*}, Tanasith Tangpaiboonpongsa¹, Mintra Chuakam¹, Kwanchanok Dasiri¹,
Pattama Phasuthan¹ and Nakarin Mattaweewong²

¹ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร อาหาร และสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
พระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

²กองพัฒนายาแผนไทยและสมุนไพร กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข อำเภอลองหลวง
จังหวัดปทุมธานี 12120

¹Department of Agro-Industrial, Food, and Environmental Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of
Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand

²Herb and Thai Traditional Medicine Development Division, Department for Development of Thai Traditional and Alternative
Medicine, Ministry of Public Health, Khlong Luang, Pathum Thani 12120, Thailand

*E-mail: suthida.a@sci.kmutnb.ac.th

Received: 26/02/2019; Revised: 12/11/2019; Accepted: 26/11/2019

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทโดยใช้วิธี
คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด และหาสมการคณิตศาสตร์เพื่อทำนายปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมัน ประสิทธิภาพ
ในการสกัดน้ำมัน และปริมาณบีตา-แคโรทีน วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลคอมโพสิต สำหรับ 2 ปัจจัย คือ
อุณหภูมิ (32 39 56 73 และ 80 องศาเซลเซียส) และความดัน (14.2 16.5 22.1 27.7 และ 30.0 เมกะปาสกาล) เพื่อ

หาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมัน โดยพิจารณาจากปริมาณผลผลิตน้ำมัน ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงที่สุด พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และความดัน 14.2 เมกะปาสกาล และเมื่อเปรียบเทียบผลผลิตน้ำมัน ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน ที่ได้จากการทดลองที่สภาวะที่เหมาะสมกับค่าที่ได้จากการทำนายด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ พบว่ามีค่าความคลาดเคลื่อน (%D) น้อยกว่าร้อยละ 10 แสดงว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้สามารถทำนายปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมัน ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนได้เป็นอย่างดี และพบว่าน้ำมันจากเปลือกแครอทที่ได้จากการทดลองมีสีส้ม ค่า L^* a^* b^* C^* และ h^* เท่ากับ 33.35 26.08 42.28 48.53 และ 57.99° ตามลำดับ ปริมาณบีตา-แคโรทีน ค่าไอโอดีน และค่าความเป็นกรดของน้ำมัน เท่ากับ 0.27 mg/100mg db 116.75 mg iodine/100 g oil และ 2.43 mg KOH/g oil ตามลำดับ และสมบัติด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric-reducing antioxidant power) มีค่าเท่ากับ 529.08 $\mu\text{MFe}^{2+}/\text{g}$

คำสำคัญ: ค่าความเป็นกรด, คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด, น้ำมันบริโภค, บีตา-แคโรทีน, เปลือกแครอท

Abstract

The objectives of this research were to study the optimum condition for extracting oil from carrot peels using supercritical carbon dioxide and find mathematical equations to predict the percentage of oil yield, oil extraction efficiency, and beta-carotene content. Central composite design was performed for 2 factors, temperature (32, 39, 56, 73, and 80 °C) and pressure (14.2, 16.5, 22.1, 27.7, and 30.0 MPa), to determine the optimum oil extraction condition based on the highest value of oil yield, extraction efficiency, and beta-carotene content. It was found that the optimum condition was at 80 °C and 14.2 MPa and when comparing the oil yield, oil extraction efficiency, and beta-carotene content obtained from the experiment at the optimum condition to the values obtained from the prediction with the mathematical model, it was revealed that the deviation value (%D) was less than 10 percent, indicating that the obtained mathematical models could predict the percentage of oil yield, extraction efficiency, and beta-carotene content well. In addition, it was found that the oil from the carrot peels obtained from the experiment was orange with L^* a^* b^* C^* and h^* at 33.35 26.08 42.28 48.53 and 57.99° , respectively, beta-carotene content iodine value and oil acidity value were 0.27 mg/100mg db, 116.75 mg iodine/100 g oil, and 2.43 mg KOH/g oil, respectively and antioxidant properties based on the ferric-reducing antioxidant power assay was 529.08 $\mu\text{MFe}^{2+}/\text{g}$.

Keywords: acid value, supercritical carbon dioxide, edible oil, β -carotene, carrot peel

บทนำ

โดยทั่วไปวิธีการสกัดน้ำมันจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตสูง แต่อาจมีตัวทำละลายอินทรีย์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ และใช้เวลาในการสกัดนาน (Zhao & Zhang, 2013a) เพื่อลดระยะเวลาในการสกัดจึงพัฒนาการสกัดโดยใช้วิธีตัวทำละลายร่วมกับความดัน แต่ได้ปริมาณผลผลิตต่ำ ส่วนการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด มีข้อดี คือ คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารที่ไม่มีขั้ว สามารถใช้ร่วมกับตัวทำละลายร่วม (co-solvent) ชนิดอื่นได้ เช่น แอลกอฮอล์ อีเทอร์ แอลดีไฮด์ และคีโตน เป็นต้น และมีอุณหภูมิวิกฤตและความดันวิกฤตที่ต่ำ ($T_c = 31.3$ องศาเซลเซียส และ $P_c = 73$ atm) จึงสามารถกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากสารสกัดได้ง่าย โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (Cheah et al., 2006) และข้อดีของวิธีใช้ของไหลวิกฤตยิ่งยวด คือ มีค่าความหนืดต่ำ และสัมประสิทธิ์การแพร่สูง ทำให้สามารถซึมเข้าสู่ตัวถูกละลายได้ดี ทำให้อัตราการถ่ายเทมวลดี ค่าความหนืด และสัมประสิทธิ์การแพร่ของของไหลวิกฤตยิ่งยวดจะมีความสัมพันธ์กับหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความดัน และอัตราการไหลของตัวทำละลาย ทำให้ต้องมีการปรับสภาวะให้เหมาะสมเพื่อจะทำให้สามารถสกัดสารที่ต้องการได้มากที่สุด

Tai & Kim (2014) สกัดน้ำมันจากเห็ดหุ้มเมล็ดผักข่า (*Momordica cochinchinensis* Spreng) ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด แปรผัน ความดัน 200 300 และ 400 บาร์ อุณหภูมิ 40 50 60 และ 70 องศาเซลเซียส และอัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 0.83 1.17 และ 1.50 ลิตรต่อนาที พบว่า อุณหภูมิ และความดัน มีผลต่อผลผลิตที่ได้มากกว่าอัตราการไหลของตัวทำละลาย งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาผลของสภาวะการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิ และความดัน ที่มีผลต่อปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบิตา-แคโรทีน

เปลือกแครอทจัดเป็นขยะอินทรีย์ ซึ่งในปี 2561 มีปริมาณขยะอินทรีย์ ประมาณ 17 ล้านตัน ทั้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร หรือแหล่งการค้าต่าง ๆ มีการใช้งบประมาณในการจัดการขยะอินทรีย์ประมาณ 460 ล้านบาท (Pollution Control Department, 2019) นอกจากนี้เปลือกแครอทอุดมไปด้วยสารบิตา-แคโรทีน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ และสามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอปริมาณสูงได้ (Sharma et al., 2012) เพื่อเป็นการลดปัญหาการกำจัดขยะ และเพิ่มมูลค่าให้กับของเสียเหลือทิ้งได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเปลือกแครอทมาทำการสกัดน้ำมันและบิตา-แคโรทีน ซึ่งสามารถผลิตเป็นสารให้สีธรรมชาติในอุตสาหกรรมอาหารได้ หรืออาจนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันและบิตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยพิจารณาจากปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และบิตา-แคโรทีนที่มีค่าสูงสุด แล้วหาสมการทำนายร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบิตา-แคโรทีนที่เป็นฟังก์ชันกับอุณหภูมิ และความดัน และศึกษาสมบัติด้านเคมีกายภาพ และฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดจากเปลือกแครอทจากสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุด โดยประโยชน์จากงานวิจัยนี้ คือ ทำให้

ทราบสถานะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันและบีตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เพื่อสามารถนำไปปรับใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้อย่างเหมาะสม

วิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ

เปลือกแครอทได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ฟู้ดแพชชั่น จำกัด ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยควบคุมอุณหภูมิระหว่างการขนส่งที่ 4 องศาเซลเซียส และเก็บเปลือกแครอทในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และคัดเลือกเปลือกแครอทที่มีลักษณะเป็นสีส้ม ไม่มีเมือก ไม่มีจุดสีดำ เพื่อใช้ทดลอง

2. การเตรียมผงเปลือกแครอทอบแห้ง

หั่นเปลือกแครอทเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสให้มีความยาวด้านละ 2 เซนติเมตร จากนั้นนำไปลวกที่อุณหภูมิ 90 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที เพื่อยับยั้งเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส เป็นการป้องกันการสูญเสียบีตา-แคโรทีนระหว่างอบแห้ง (Gonçalves et al., 2010) และช่วยลดเวลาที่ใช้ในการทำแห้งด้วยลมร้อนลง (Chantaro et al., 2008) หลังจากนั้นทำให้เย็นโดยจุ่มน้ำผสมน้ำแข็ง เป็นเวลา 2 นาที ทำให้สะเก็ดน้ำ เรียงเปลือกแครอทลงในถาด อบในตู้อบลมร้อนแบบถาด (UF 260 ยี่ห้อ Memmert, ประเทศเยอรมนี) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (Chantaro et al., 2008) จนมีความชื้นสุดท้ายน้อยกว่าร้อยละ 10 โดยการทำแห้งจะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมัน ข้อดีของตู้อบลมร้อน คือ สามารถใช้อบได้ครั้งละปริมาณมาก สามารถกระจายความร้อนได้สม่ำเสมอ และต้นทุนต่ำ จากนั้นบดเปลือกแครอทอบแห้งด้วยเครื่องบด (รุ่น WF-04, ประเทศไต้หวัน) เป็นเวลา 2 นาที ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh (297 ไมครอน) (Cheah et al., 2006) เก็บในขวดแก้ว ห่อด้วยฟอยล์เพื่อป้องกันแสงและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากนั้นนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

3. การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

นำผงเปลือกแครอทอบแห้ง ปริมาณ 520 กรัม ใส่ลงในถังสกัดคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤต (รุ่น 24L-SFE, ประเทศจีน) ปรับความดัน และอุณหภูมิ ตามสถานะที่กำหนดในตารางที่ 1 อัตราการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์คงที่เท่ากับ 0.5 กิโลกรัมต่อนาที สกัดเป็นเวลา 5 ชั่วโมง เก็บน้ำมันที่สกัดได้ในขวดแก้ว ห่อฟอยล์ ปิดฝาให้สนิท และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันแสงและปฏิกิริยาออกซิเดชัน คำนวณผลผลิตที่ได้ ประสิทธิภาพการสกัด และวัดปริมาณบีตา-แคโรทีน ดังแสดงรายละเอียดด้านล่างข้อที่ 3.1-3.3 พิจารณาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยพิจารณาจากค่าปริมาณร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงสุด

3.1 ปริมาณร้อยละผลผลิต

คำนวณร้อยละผลผลิต ดังสมการที่ (1)

$$\text{ผลผลิต (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมันที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด}}{\text{น้ำหนักผงเปลือกแครอทอบแห้ง}} \times 100 \quad (1)$$

3.2 ประสิทธิภาพการสกัด

ประสิทธิภาพการสกัด คือ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักน้ำมันที่สกัดได้ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดลบด้วยความชื้นต่อน้ำหนักน้ำมันที่สกัดได้จากวิธีชอกเลต โดยการวัดความชื้นของน้ำมันที่ได้ ใช้ตามวิธี AOCS (1997) โดยใช้ตัวอย่างน้ำมัน 5 ± 0.05 กรัม ใส่ลงในจานวัดความชื้น นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำจานออกมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก อบจนกระทั่งน้ำหนักต่างกันไม่เกินร้อยละ 0.05 หลังจากนั้นนำมาคำนวณหาความชื้น วัดปริมาณน้ำมันทั้งหมดจากเปลือกแครอทด้วยวิธีชอกเลต โดยใช้เครื่องสกัดไขมัน (BUCHI B-811, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์) โดยใช้ตัวอย่างประมาณ 3 กรัม ในถ้วยกระดาษ (cellulose thimble) และวางในเครื่องสกัด เดิมเฮกเซน และต่อเข้าไปในชุดสกัด อุณหภูมิที่ใช้สกัด 145 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 120 นาที เวลาในการชะไขมันที่เหลืออยู่ 20 นาที และการทำแห้งภาชนะอุณหภูมิที่บรรจุน้ำมันจากการสกัด 20 นาที ตัวอย่างจะถูกทำแห้งในเครื่องอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ ซึ่งน้ำหนักน้ำมันที่ได้ คำนวณประสิทธิภาพการสกัดดังสมการที่ (2)

$$\text{ประสิทธิภาพการสกัด} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมันที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด} - \text{ความชื้น}}{\text{น้ำหนักน้ำมันที่สกัดได้จากวิธีชอกเลต}} \times 100 \quad (2)$$

3.3 ปริมาณบิตา-แคโรทีน

วัดปริมาณบิตา-แคโรทีนตามงานวิจัย Nagata & Yamashita (1992) โดยเติมตัวทำละลายผสมระหว่าง acetone:hexane อัตราส่วน 4:6 (v/v) ในตัวอย่างน้ำมันปริมาณ 0.1 กรัม และนำไป vortex 1 นาที หลังจากนั้นนำมาเจือจาง 10 เท่า และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV- visible spectrophotometer (Genesys 20, ประเทศเยอรมนี) ที่ความยาวคลื่น 663 645 505 และ 453 นาโนเมตร โดยใช้ acetone:hexane อัตราส่วนเท่ากับ 4:6 (v/v) เป็นแบลนด์ แล้วนำไปคำนวณปริมาณบิตา-แคโรทีนดังสมการที่ (3)

$$\text{บิตา-แคโรทีน (มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม db)} = 0.216A_{663} - 1.22A_{645} - 0.304A_{505} + 0.452A_{453} \quad (3)$$

4. การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำมันจากเปลือกแครอทที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสม

ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพของน้ำมันจากเปลือกแครอทที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมดังต่อไปนี้

4.1 ปริมาณร้อยละผลผลิต คำนวณปริมาณผลผลิตที่ได้ดังแสดงในสมการที่ (1)

4.2 ประสิทธิภาพการสกัด คำนวณประสิทธิภาพการสกัดดังแสดงในสมการที่ (2)

4.3 การวัดสี โดยใช้ hunter lab (colorquest 450, Color global) โดยใช้ระบบ CIE lab รายงานค่าเป็น $L^* a^* b^* C^*$ และ h^* เตรียมตัวอย่างน้ำมันจากเปลือกแครอทปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ตัวอย่างในถ้วยวัดสี ทำการวัด 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย $\pm$ SD

4.4 การวิเคราะห์หีตา-แคโรทีน ตามวิธีของ Nagata & Yamashita (1992) กำหนดปริมาณหีตา-แคโรทีนดังแสดงในสมการที่ (3)

4.5 การวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Iodine value) ตามวิธี AOCS (1997) โดยนำตัวอย่างน้ำมันจากเปลือกแครอท 0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ 500 มิลลิลิตร เติม cyclohexane:acetic acid อัตราส่วนเท่ากับ 1:1 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน เติมสารละลาย Wijs 25 มิลลิลิตร (เตรียมสารละลาย Wijs โดยชั่ง Iodine monochloride 16.5 กรัมใส่ในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วย glacial acetic acid เก็บสารละลายที่ได้ในขวดสีชา และในที่เย็น) ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย KI ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรไทเทรตด้วยสารละลาย Sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.1 นอร์มอล จนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมสารละลายน้ำแป้ง ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายสีน้ำเงิน ไทเทรตต่อจนสารละลายสีไม่มีสี การคำนวณค่าไอโอดีน ดังสมการที่ (4)

$$\text{ค่าไอโอดีน (\%)} = (B - S) \times N_s \times 12.69 \quad (4)$$

โดยที่ B = ปริมาตรของ Sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไทเทรตแบล็ก (มิลลิลิตร)

S = ปริมาตรของ Sodium thiosulfate ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N_s = ความเข้มข้นของ Sodium thiosulfate (นอร์มอล)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

4.6 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดของน้ำมัน (acid value) ทำตามวิธี AOCS (1997) โดยชั่งตัวอย่างน้ำมัน 0.1 กรัม ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร เติม isopropyl:toluene อัตราส่วนเท่ากับ 1:1 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติม phenolphthalein 1 มิลลิลิตร ค่อย ๆ หยด KOH 0.001 นอร์มอล จนเกิดสีชมพู เขย่าสารละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน ไทเทรตด้วยสารละลาย KOH 0.001 นอร์มอล จนเกิดสารละลายสีชมพู กำหนดค่ากรดไขมันดังสมการที่ (5)

$$\text{Acid value (mg KOH/g of sample)} = A \times N_p \times 56.1 \quad (5)$$

โดยที่ A = ปริมาตรของ Potassium hydroxide (KOH) ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N_p = ความเข้มข้นของ Potassium hydroxide (นอร์มอล)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

4.7 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) การเตรียมตัวอย่างสารละลาย FRAP โดยใช้ acetate buffer (pH 3.6), TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl เข้มข้น

40 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย Ferric chloride เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 (ร้อยละโดยปริมาตร) ตามลำดับ สารละลาย FRAP จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้งานและนำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาใช้ นำสารสกัดปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย FRAP 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร โดยทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Ferrous sulfate ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 50-1,200 ไมโครโมลาร์ โดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำและหาค่าเฉลี่ย และรายงานออกมาเป็นค่า FRAP value (ไมโครโมลาร์เฟอรัสไอออนต่อกรัม)

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทด้วยวิธีการสกัดคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด วางแผนการทดลองแบบพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) ด้วยวิธีเซ็นทรัลคอมโพสิต ที่มี 2 ปัจจัย แต่ละปัจจัยมี 3 ระดับ และมีการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 3 ครั้ง จึงมีการทดลองทั้งหมด 11 การทดลอง ดังตารางที่ 1 โดยมีค่าตอบสนอง (Y) ได้แก่ ปริมาณร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณสารบีตา-แคโรทีน วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Minitab เวอร์ชัน 16.2.2.0 (Minitab, Inc., Pennsylvania, USA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เปลือกแครอทมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 88.19 ± 1.12 (โดยน้ำหนักเปียก) เมื่อนำไปอบแห้งและบดเป็นผง พบว่ามีปริมาณผลผลิตและความชื้นเท่ากับร้อยละ 8.13 ± 0.28 6.73 ± 0.07 (โดยน้ำหนักเปียก) ตามลำดับ โดยความชื้นที่เหมาะสมในการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ควรจะต่ำกว่าร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักแห้ง) เพื่อสกัดน้ำมันให้ง่ายขึ้น (Cheah et al., 2006) อีกทั้งยังอยู่ในช่วงตามประกาศ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง ผักและผลไม้แห้ง ฉบับที่ 136 พ.ศ. 2558 ที่กำหนดค่าความชื้นต้องไม่เกินร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก (Thai Industrial Standards Institute, 2015)

1. ผลของการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

จากการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ซึ่งวางแผนการทดลองแบบเซ็นทรัลคอมโพสิต สำหรับ 2 ปัจจัย ใช้พื้นที่ผิวตอบสนอง เพื่อหาความดัน และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้ได้ปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมัน ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนที่มีค่ามากที่สุด จากผลการทดลอง พบว่าผลผลิตน้ำมันที่สกัดได้จากผงเปลือกแครอทด้วยวิธีชอกเลต เท่ากับร้อยละ 1.57 ซึ่งมีค่ามากกว่าการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.05-1.07 (ตารางที่ 1) โดยการสกัดด้วยวิธีชอกเลต เป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อาจมีสารเคมีตกค้างในน้ำมันที่สกัดได้ และพบว่าผลผลิตน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดจากงานวิจัยนี้มีค่าน้อยกว่างานวิจัยของ Sun & Temelli (2002) ซึ่งได้สกัดน้ำมันด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดจากเนื้อแครอทที่

ความดัน 27.6-55.1 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณผลผลิตเท่ากับร้อยละ 1.83-2.69 เนื่องจากในเปลือกแครอทมีส่วนประกอบของเพอริเดิร์ม (periderm) ทำหน้าที่ปกป้องบริเวณภายในของแครอท (Ahmad et al., 2019) จึงขัดขวางการละลายออกมาของน้ำมัน ทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตที่สกัดจากเปลือกแครอทต่ำกว่าเนื้อแครอท และมีค่าที่น้อยกว่างานวิจัยของ Ghafoor et al. (2010) ซึ่งได้สกัดน้ำมันจากเปลือกองุ่นด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ที่ความดัน 13.73-16.67 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 37-46 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณผลผลิตเท่ากับร้อยละ 6.78-13.22 ปริมาณผลผลิตน้ำมันที่สกัดจากเปลือกแครอทต่ำกว่าที่สกัดจากเปลือกองุ่น เนื่องจากธรรมชาติของวัตถุดิบ และปริมาณองค์ประกอบ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ที่มีอยู่ในวัตถุดิบไม่เท่ากัน โดยเปลือกองุ่นจะสกัดน้ำมันออกมาได้ง่ายและมีปริมาณน้ำมันที่สูงกว่าเปลือกแครอท ส่วนประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอท มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.66-13.07 (ตารางที่ 1) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Moura et al. (2012) ที่สกัดน้ำมันจากใบฝรั่งด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ความดัน 10-30 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 35-55 องศาเซลเซียส ได้ประสิทธิภาพการสกัดเท่ากับร้อยละ 7.14-13.76 และพบว่าปริมาณบีตา-แคโรทีนในน้ำมันจากเปลือกแครอท มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.013-0.313 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 1) ซึ่งมีค่าแตกต่างจากงานวิจัยของ Sun & Temelli (2002) ที่ได้สกัดน้ำมันด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดจากเนื้อแครอทที่ความดัน 27.6-55.1 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณบีตา-แคโรทีนเท่ากับ 0.3337-0.9000 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากในเปลือกแครอทมีส่วนประกอบของเพอริเดิร์ม ทำหน้าที่ปกป้องบริเวณภายในของแครอท (Ahmad et al., 2019) จึงไปขัดขวางการละลายออกมาของบีตา-แคโรทีน ทำให้ในน้ำมันจากเปลือกแครอทมีปริมาณบีตา-แคโรทีนต่ำกว่าในเนื้อแครอท และมีค่าที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Hiranvarachet et al. (2013) ที่ได้สกัดน้ำมันจากเนื้อแครอทด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 58 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณบีตา-แคโรทีนเท่ากับ 0.0292 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง

2. สมการทำนายร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน ที่เป็นฟังก์ชันกับอุณหภูมิและความดัน สำหรับกระบวนการสกัดน้ำมัน และบีตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

2.1 สมการทำนายร้อยละผลผลิตจากเปลือกแครอทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

การหาสมการทำนายปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันจากเปลือกแครอทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด (Y_1) ดังตารางที่ 2 จะต้องพิจารณาความเหมาะสมของสมการถดถอย โดยพิจารณาจาก (1) ค่า P-value ของสมการถดถอย (regression equation) มีค่าน้อยกว่า 0.05 ($P < 0.05$) แสดงว่าปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0) ที่ว่าไม่มีตัวแปรอิสระใด ๆ ที่สามารถอธิบายความเป็นไปได้ของค่าผลตอบสนองได้ (2) ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) จากผลการวิเคราะห์สมการถดถอยของปริมาณร้อยละผลผลิต มีค่าเท่ากับร้อยละ 98.32 ซึ่งมีค่ามากกว่าร้อยละ 80 หมายความว่า ตัวแปรอิสระ คือ ความดัน และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด สามารถอธิบายความ

ตารางที่ 1. ปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนของน้ำมันจากเปลือกแครอท โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดสกัดที่ความดัน และอุณหภูมิต่าง ๆ

การทดลอง	ความดัน ค่าจริง (MPa) (ค่า code)	อุณหภูมิ ค่าจริง (°C) (ค่า code)	ความหนาแน่นของ คาร์บอนไดออกไซด์ วิกฤตยิ่งยวด ^a (g/cm ³)	ปริมาณผลผลิต (%)	ประสิทธิภาพ การสกัด (%)	ปริมาณบีตา-แคโรทีน (mg/100mg db)
1	16.5 (-1)	73 (1)	0.541	1.07	13.07	0.151±0.008
2	14.2 (-1.4142)	56 (0)	0.615	0.37	4.51	0.053±0.003
3	22.1 (0)	56 (0)	0.776	0.38	4.58	0.109±0.005
4	22.1 (0)	56 (0)	0.776	0.36	4.40	0.144±0.020
5	27.7 (1)	73 (1)	0.753	0.47	5.74	0.258±0.012
6	22.1 (0)	56 (0)	0.776	0.32	3.86	0.103±0.008
7	30.0 (1.4142)	56 (0)	0.846	0.17	2.07	0.256±0.004
8	22.1 (0)	80 (1.4142)	0.639	0.99	12.06	0.313±0.030
9	27.7 (1)	39 (-1)	0.901	0.15	1.81	0.259±0.020
10	22.1 (0)	32 (-1.4142)	0.896	0.24	2.94	0.025±0.000
11	16.5 (-1)	39 (-1)	0.808	0.05	0.66	0.013±0.016

ที่มา : ^a Span & Wagner (1996)

แปรผัน หรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตาม คือ ปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันได้ และ (3) การขาดความเหมาะสมของสมการ (lack of fit) โดยพิจารณาค่า P-value ของ lack of fit มีค่าเท่ากับ 0.156 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 ซึ่งไม่มีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) จึงสามารถสรุปได้ว่า สมการถดถอยสามารถทำนายค่าปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม รูปที่ 1a แสดงกราฟพื้นผิวตอบสนองสามมิติ แสดงปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันที่สกัดจากเปลือกแคโรท ที่แปรผันตามความดันและอุณหภูมิ ที่ระดับต่าง ๆ จากรูปที่ 1a และจากตารางที่ 1 การทดลองที่ 1 กับ 11 หรือการทดลองที่ 5 กับ 9 พบว่าเมื่อความดันคงที่ การเพิ่มอุณหภูมิทำให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันมากขึ้น ซึ่งการเพิ่มอุณหภูมิเป็นการใช้ความร้อนเข้าไปแทรกซึมในเนื้อของตัวอย่างได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำ จึงทำให้สกัดน้ำมันออกมาได้ปริมาณมากขึ้น (Zhao & Zhang, 2013a) และการเพิ่มความดันเป็นการเพิ่มความหนาแน่นของตัวทำละลาย ซึ่งส่งผลให้เพิ่มการละลายของน้ำมันได้ จากงานวิจัยนี้พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิตมากกว่าความดัน (ไม่ได้แสดงข้อมูล) นอกจากนี้การเพิ่มอุณหภูมิ ทำให้ความหนาแน่นของตัวทำละลายลดลง ดังตารางที่ 1 ทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตลดลง ดังนั้นการควบคุมความดันและอุณหภูมิให้เหมาะสม จะส่งผลให้ได้ปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมันสูงสุด (Sun & Tamelli, 2002)

2.2 สมการทำนายประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันจากเปลือกแคโรทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

สมการทำนายประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันจากเปลือกแคโรทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยนำค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย (coefficient of regression equation) ของประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันจากเปลือกแคโรทที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด มาเขียนให้อยู่ในรูปของสมการดังตารางที่ 2 และจากรูปที่ 1b แสดงกราฟพื้นผิวตอบสนองสามมิติของประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันจากเปลือกแคโรท ที่แปรผันตามความดันและอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ พบว่าที่ความดัน 14.2 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะทำให้ประสิทธิภาพการสกัดน้ำมันมีค่าสูงที่สุด เท่ากับร้อยละ 17.52 โดยประสิทธิภาพการสกัดจากเปลือกแคโรทมาจากการนำร้อยละของผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดเปรียบเทียบกับร้อยละของผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งเป็นวิธีที่สกัดแล้วทำให้ได้ร้อยละผลผลิตน้ำมันสูงที่สุด (Zaghdoudi et al., 2016) จากผลการทดลองผลผลิตที่ได้จากการสกัดด้วยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ มีค่าเท่ากับร้อยละ 1.57

2.3 สมการทำนายปริมาณบีตา-แคโรทีนจากเปลือกแคโรทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

การหาสมการทำนายปริมาณบีตา-แคโรทีนในน้ำมันจากเปลือกแคโรทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ดังตารางที่ 2 จะต้องพิจารณาความเหมาะสมของสมการถดถอย โดยพิจารณาจากค่า P-value ของสมการถดถอย (regression equation) มีค่าเท่ากับ 0.015 ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 90.11 และค่า P-value ของ lack of fit มีค่าเท่ากับ 0.133 แสดงว่า สมการถดถอยสามารถทำนายปริมาณบีตา-แคโรทีนได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม รูปที่ 1c แสดงกราฟพื้นผิวตอบสนองสามมิติแสดงปริมาณบีตา-แคโรทีนที่สกัดจากเปลือกแคโรท ที่แปรผันตามความดันและอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ การเพิ่มความดันและอุณหภูมิส่งผลให้

ตารางที่ 2. สมการคณิตศาสตร์ R^2 ค่าความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการทดลองและแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (%D) ของปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบิตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ความดัน 14.20 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ค่า Y	แบบจำลอง	ค่าที่ได้จากการทำนาย	ค่าที่ได้จากการทดลอง	%D
ปริมาณผลผลิต (%)	$Y_1 = -0.00134663(X_1)^2 + 0.000451723(X_2)^2 + 0.143983(X_1) + 0.00730070(X_2) - 0.00182309(X_1)(X_2) - 1.74349$ $R^2 = 98.32$	1.43	1.32±0.02	8.7
ประสิทธิภาพการสกัด (%)	$Y_2 = -0.0164606(X_1)^2 + 0.00552166(X_2)^2 + 1.75998(X_1) + 0.0892405(X_2) - 0.0222846(X_1)(X_2) - 21.3116$ $R^2 = 98.32$	17.52	16.13±0.17	8.7
ปริมาณบิตา-แคโรทีน (mg/100mg db)	$Y_3 = 0.000645271(X_1)^2 + 0.0000953685(X_2)^2 + 0.00631346(X_1) + 0.00141061(X_2) - 0.000366775(X_1)(X_2) - 0.261081$ $R^2 = 90.11$	0.266	0.265±0.003	0.4

หมายเหตุ : ค่าที่ได้จากการทดลอง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ

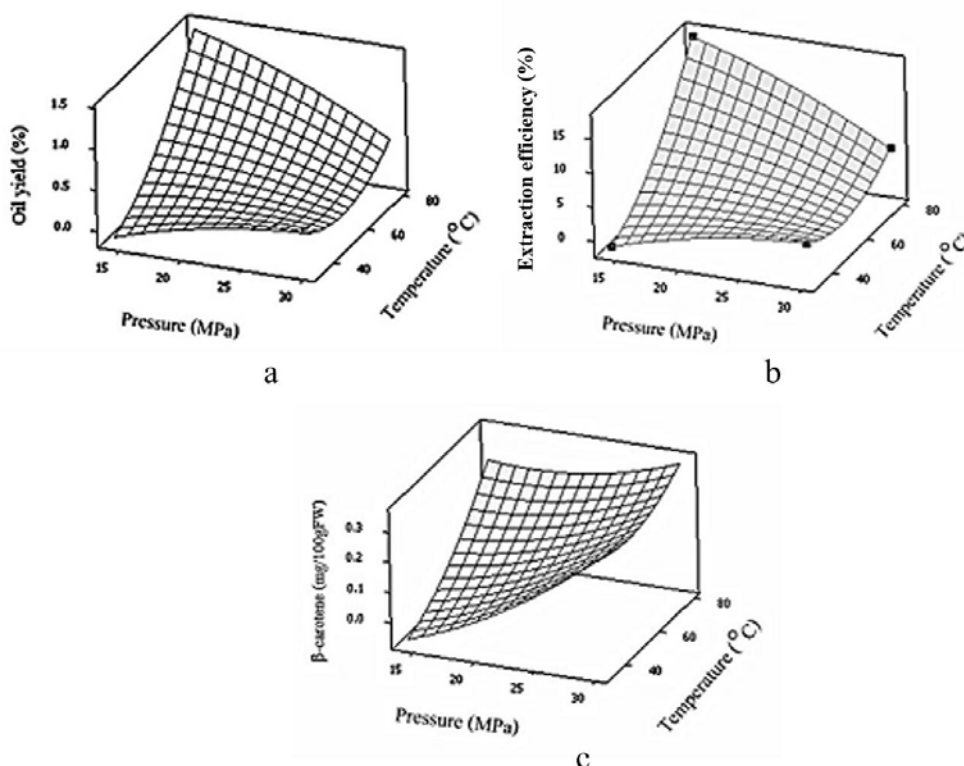
โดยที่ X_1 หมายถึง ความดัน มีค่า 14.2-30 เมกะปาสกาล

X_2 หมายถึง อุณหภูมิ มีค่า 32-80 องศาเซลเซียส

%D = [abs (ค่าที่ได้จากการทำนาย – ค่าที่ได้จากการทดลอง) / ค่าที่ได้จากการทดลอง] × 100

ปริมาณบิตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการเพิ่มความดันจะเป็นการเพิ่มความหนาแน่นของตัวทำละลาย ส่งผลให้สกัดบิตา-แคโรทีนได้มากขึ้น ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saldaña et al. (2006) ที่พบว่าเมื่อเพิ่มความดันของคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดเพื่อสกัดบิตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทจาก 120 บาร์ เป็น 200 บาร์ ทำให้สกัดบิตา-แคโรทีนได้ปริมาณมากขึ้น และการเพิ่มอุณหภูมิส่งผลให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าไปในวัตถุดิบและสกัดน้ำมันได้มากขึ้น ส่งผลให้สกัดบิตา-แคโรทีนออกมาได้มากขึ้น (Pourmortazavi & Hajimirsadeghi, 2007) อีกทั้งการเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเร่งการสกัดของน้ำมัน (Zhao & Zhang, 2013b) แต่การเพิ่มความดันและอุณหภูมิร่วมกัน กลับไม่ส่งผลให้ปริมาณบิตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Sun & Temelli,

2002) อาจเนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิเป็นการลดความหนาแน่นของตัวทำละลาย ทำให้เข้าไปสกัดบีตา-แคโรทีนได้น้อยลง ดังนั้นจึงควรควบคุมความดันและอุณหภูมิการสกัดให้เหมาะสม

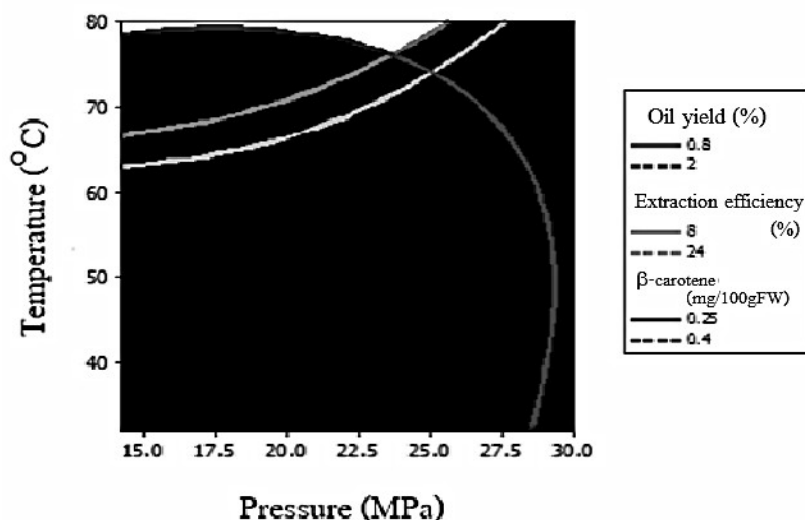


รูปที่ 1. กราฟพื้นผิวตอบสนองสามมิติแสดง a) ปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมัน b) ประสิทธิภาพการสกัดน้ำมัน c) ปริมาณบีตา-แคโรทีน ที่สกัดจากเปลือกแครอทที่แปรผันตามความดัน (X_1) และอุณหภูมิ (X_2) ที่ระดับต่าง ๆ

3. ผลของการวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

การหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตน้ำมัน ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงสุด โดยใช้โปรแกรม Minitab ฟังก์ชัน Overlaid Contour Plot ทำการกำหนดค่าที่ต้องการ คือ ร้อยละผลผลิตระหว่าง 0.80-2.00 ประสิทธิภาพการสกัดมีค่าระหว่างร้อยละ 8.00-24.00 และปริมาณบีตา-แคโรทีนระหว่าง 0.25-0.40 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากรูปที่ 2 พื้นที่สีขาวเป็นความดันและอุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะส่งผลให้ได้ค่าปริมาณร้อยละผลผลิตน้ำมัน ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน มีค่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสมดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ซึ่งมีหลายค่า ดังนั้นการหาความดัน และอุณหภูมิที่

เหมาะสมจึงใช้ฟังก์ชัน Response Optimizer เพื่อหาความดันและอุณหภูมิที่ทำให้ได้ค่าปริมาณผลผลิตน้ำมันประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงที่สุด นั่นคือที่ความดัน 14.2 เมกะปาสกาล อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 2. กราฟสองมิติแสดงสถานะที่เหมาะสม (ที่อยู่ในช่วงค่าตอบสนองที่กำหนด) ในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

Optimal D 0.85132	High Cur Low	pressure 30.0 [14.20] 14.20	temperat 80.0 [80.0] 32.0
Composite Desirability 0.85132			
Oil yield (%) Maximum y = 1.4336 d = 1.0000			
Extraction efficiency(%) y = 17.5236 d = 1.0000			
β-carotene Maximum y = 0.2660 d = 0.61698			

รูปที่ 3. ผลการหาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดโดยใช้ค่าจริง

4. ผลของการตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของวิธีการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

การตรวจสอบความถูกต้องของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายประสิทธิภาพการสกัด ปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพในการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ดังตารางที่ 2 ที่สภาวะการสกัด ความดัน 14.20 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ค่าที่ได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ได้แก่ ปริมาณผลผลิต ร้อยละ 1.43 ประสิทธิภาพในการสกัดร้อยละ 17.52 และปริมาณบีตา-แคโรทีน 0.27 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง โดยใช้โปรแกรม Minitab ฟังก์ชัน Response Optimizer ดังรูปที่ 3 โดยมีการเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองที่สภาวะการสกัดเดียวกัน คือ ความดัน 14.20 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และเมื่อเปรียบเทียบค่าคลาดเคลื่อนที่ได้จากการทดลองและแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (%D) พบว่าค่า %D ของปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน มีค่าต่ำกว่าร้อยละ 10 แสดงว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สามารถทำนายปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด ปริมาณบีตา-แคโรทีน ได้อย่างถูกต้อง

5. การศึกษาสมบัติของน้ำมันที่สกัดจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ณ สภาวะการสกัดที่เหมาะสม

ทำการสกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่สภาวะที่เหมาะสม คือ ที่ความดัน 14.2 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำน้ำมันไปตรวจสอบสมบัติต่าง ๆ เพื่อใช้พิจารณานำไปใช้งานในด้านต่าง ๆ ต่อไป

5.1 สมบัติทางกายภาพ

จากผลการทดลองวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ พบว่ามีปริมาณผลผลิตร้อยละ 1.32 ± 0.01 ซึ่งสกัดที่ความดัน 14.2 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากงานวิจัยของ Sun & Temelli (2002) ซึ่งได้สกัดน้ำมันจากแครอทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่ความดัน 27.6 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ได้ร้อยละผลผลิตน้ำมันเท่ากับร้อยละ 2.5 ซึ่งมากกว่าน้ำมันที่สกัดจากเปลือกแครอท เนื่องจากในเปลือกแครอทจะมีส่วนประกอบของเพอริเดิร์ม ทำหน้าที่ปกป้องบริเวณภายในของแครอท (Ahmad et al., 2019) ขัดขวางการสกัดของน้ำมัน จากงานวิจัยของ Carvalho et al. (2005) ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากโรสแมรี่ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่ความดัน 30 เมกะปาสกาล และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ได้ร้อยละผลผลิตน้ำมันเท่ากับร้อยละ 5 ซึ่งมากกว่าน้ำมันที่สกัดจากเปลือกแครอท เนื่องจากธรรมชาติและปริมาณองค์ประกอบ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ในโรสแมรี่และเปลือกแครอทแตกต่างกัน ในเปลือกแครอทมีเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ปริมาณสูงกว่าโรสแมรี่ ซึ่งโครงสร้างของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมีความ

แข็งแรง (rigid structure) จึงทำให้สกัดน้ำมันออกมาได้น้อยกว่า (Lima et al., 2018) และจากปริมาณร้อยละผลผลิตจะคำนวณออกมาเป็นประสิทธิภาพการสกัดได้ร้อยละ 16.13 ± 0.17

จากผลการทดลอง ค่าสีจากเปลือกแครอทสดมีค่า L^* a^* b^* C^* และ h^* เท่ากับ 43.80 ± 3.04 33.84 ± 1.53 39.91 ± 1.15 52.60 ± 1.68 และ $49.71 \pm 1.37^\circ$ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสีของผงเปลือกแครอท พบว่ามีค่า L^* a^* b^* C^* และ h^* เท่ากับ 36.53 ± 1.40 18.58 ± 1.68 28.19 ± 1.58 35.66 ± 2.21 และ $56.65 \pm 0.97^\circ$ ตามลำดับ จากการพิจารณาค่าสีของผงเปลือกแครอท พบว่ามีเม็ดสีน้ำตาลเข้มกว่าค่าสีของเปลือกแครอทสด เนื่องจากผงเปลือกแครอทผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิสูงเป็นเวลานาน จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล และจากการวัดค่าสีจากน้ำมันที่สกัดจากผงเปลือกแครอทด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดพบว่ามีค่า L^* a^* b^* C^* และ h^* เท่ากับ 33.35 ± 1.67 26.08 ± 1.86 42.28 ± 5.13 48.53 ± 0.99 และ $57.99 \pm 2.47^\circ$ ตามลำดับ จะพบว่าในน้ำมันมีค่า b^* มากกว่าเปลือกแครอทสดและผงจากเปลือกแครอท เนื่องจากการสกัดเป็นการแยกให้สารบีตา-แคโรทีนมีความเข้มข้นสูงขึ้น จึงทำให้มีค่า b^* ที่ได้เพิ่มขึ้น และในน้ำมันมีค่า L^* ต่ำกว่า เนื่องจากการสกัดใช้อุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่งผลให้มีค่า L^* ลดลง

5.2 สมบัติทางเคมี

ปริมาณบีตา-แคโรทีนในเปลือกแครอทมีปริมาณ 0.27 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง จากงานวิจัยของ Barth et al. (1995) ซึ่งได้สกัดน้ำมันจากแครอทด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดที่ความดัน 30.40 เมกะปาสกาล อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และใช้อีทานอลเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นตัวทำละลายร่วม ได้ปริมาณบีตา-แคโรทีนเท่ากับ 0.485 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง และ Hiranvarachath & Devahastin (2014) สกัดน้ำมันจากเปลือกแครอทด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้ไมโครเวฟในการช่วยสกัด ที่กำลังไฟไมโครเวฟเท่ากับ 300 วัตต์ ตัวทำละลายปริมาตร 150 มิลลิลิตร และอัตราส่วนช่วงเวลาเปิดไมโครเวฟต่อช่วงเวลาปิดไมโครเวฟ (intermittency ratio) เท่ากับ 1:4 ได้ปริมาณบีตา-แคโรทีนเท่ากับ 0.136 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง ปริมาณบีตา-แคโรทีนที่สกัดได้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของวัตถุดิบ วิธีการสกัด และสภาวะการสกัด เช่น การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม จะส่งผลให้สกัดบีตา-แคโรทีนออกมาได้ปริมาณมากขึ้น นอกจากนี้การใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดจะได้ปริมาณบีตา-แคโรทีนที่สูงกว่าการใช้ตัวทำละลาย เนื่องจากมีสมบัติในการเลือกสกัดมากกว่าวิธีใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (Cheah et al., 2006; Ranalli et al., 2004)

ค่าของไอโอดีน (Iodine value) คือ ค่าที่บ่งชี้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ถ้าค่าไอโอดีนสูง แสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ซึ่งค่าของไอโอดีนของน้ำมันจากเปลือกแครอทวัดได้เท่ากับ 116.75 ± 8.32 มิลลิกรัมไอโอดีน ต่อ 100 กรัมไขมัน ในงานวิจัยของ Dutta et al. (2005) พบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมากในเนื้อเยื่อแครอท ประกอบด้วย กรดลิโนเลอิก กรดปาล์มมิก กรดสเตียริก และกรดโอเลอิก (Ranalli et al., 2004)

ค่าความเป็นกรด (acid value) ของน้ำมันจากเปลือกแครอทวัดได้เท่ากับ 2.43 ± 0.16 มิลลิกรัม โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ต่อ 100 กรัม น้ำมัน ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 205 พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำมันและไขมัน ที่ได้กำหนดค่าความเป็นกรดของน้ำมันที่ทำโดยวิธีธรรมชาติและใช้เป็นอาหาร จะต้องไม่เกิน 4.00 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ต่อ น้ำมัน 1 กรัม (Bureau of food, 2000)

ค่าของเพอร์ออกไซด์ (Peroxide value) คือ ค่าที่ใช้วัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (Lipid oxidation) ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 205 พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำมันและไขมัน ได้กำหนดค่าเพอร์ออกไซด์ของน้ำมันที่ทำโดยวิธีธรรมชาติและใช้เป็นอาหารจะต้องมีค่าไม่เกิน 10 มิลลิกรัมสมมูล ต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม (Bureau of food, 2000) ซึ่งค่าของเพอร์ออกไซด์ในน้ำมันจากเปลือกแครอทมีปริมาณที่ไม่สามารถตรวจพบได้ เนื่องจากในน้ำมันเปลือกแครอทมีวิตามินอี และบีตา-แคโรทีนที่จะยับยั้งการเกิดของสารประกอบเพอร์ออกไซด์และป้องกันความหืนของน้ำมัน (Goulson & Warthesen, 1999) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Ranalli et al. (2004) พบว่า น้ำมันจากแครอทที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมีปริมาณวิตามินอี 160.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 14.6 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายโมเลกุลร้อยละ 65

ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันจากเปลือกแครอท พบว่าค่า FRAP เท่ากับ 529.08 ± 2.89 ไมโครโมลาร์เฟอรูลิโนอิกต่อกรัม

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันและบีตา-แคโรทีนจากเปลือกแครอทด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด คือ ความดันและอุณหภูมิเท่ากับ 14.2 เมกะปาสกาล และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากสมการคณิตศาสตร์ ทำนายปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน เท่ากับ ร้อยละ 1.43 17.52 และ 0.27 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง และเมื่อนำเปลือกแครอทไปสกัดที่สภาวะดังกล่าวทำให้ได้ปริมาณร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน เท่ากับ ร้อยละ 1.32 ± 0.02 16.13 ± 0.17 และ 0.27 ± 0.00 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม โดยน้ำหนักแห้ง ค่าไอโอดีน 116.75 ± 8.32 มิลลิกรัมไอโอดีน ต่อ 100 กรัม น้ำมัน ค่าของกรด 2.43 ± 0.16 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ต่อ 100 กรัม น้ำมัน และสมบัติด้านฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) มีค่าเท่ากับ 529.08 ± 2.89 ไมโครโมลาร์เฟอรูลิโนอิกต่อกรัม ค่าสีของน้ำมันจากเปลือกแครอทที่สกัดได้ มีค่า L^* เท่ากับ 33.35 ± 1.67 a^* เท่ากับ 26.08 ± 1.86 b^* เท่ากับ 42.28 ± 5.13 C^* เท่ากับ 48.53 ± 0.99 และค่า h^* เท่ากับ $57.99 \pm 2.47^\circ$ และพบว่า %D ของปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน ที่ได้จากการทำนายและการทดลอง น้อยกว่าร้อยละ 10 แสดงว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์มีความถูกต้องและเหมาะสมที่จะใช้ทำนายปริมาณผลผลิต ประสิทธิภาพการสกัด และปริมาณบีตา-แคโรทีน ได้เป็นอย่างดี

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ประจำปี 2561 เลขที่สัญญารับทุน 6144102 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณแหล่งทุนวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณบริษัท ฟู้ดแพชชั่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เปลือกแครอทสดเพื่อใช้สำหรับทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad, T., Cawood, M., Iqbal, Q., Ariño, A., Batool, A., Tariq, R. M. S., et al. (2019). Phytochemicals in *Daucus carota* and their health benefits-Review article. *Foods*, 8, 424, 21 pp. doi: 10.3390/foods8090424
- American Oil Chemists' Society (AOCS) (1997) *Official Methods and Recommended Practices of the AOCS*. Champaign: AOCS Press.
- Barth, M. M., Zhou, C., Kute, K. M. & Rosenthal, G. A. (1995). Determination of optimum conditions for supercritical fluid extraction of carotenoids from carrot (*Daucus carota* L.) tissue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11): 2876-2878. doi: 10.1021/jf00059a019
- Bureau of food. (2000). *Notification of the Ministry of Public Health (No. 205): Oil and Fat B.E. 2543*. Food and Drug Administration, Ministry of Public Health. (in Thai).
- Carvalho, R. N., Moura, L. S., Rosa, P. T. & Meireles, M. A. A. (2005). Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 35(3): 197-204. doi: 10.1016/j.supflu.2005.01.009
- Chantaro, P., Devahastin, S. & Chiewchan, N. (2008). Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT-Food Science and Technology*. 41(10): 1987-1994. doi: 10.1016/j.lwt.2007.11.013
- Cheah, E. L. C., Chan, L. W. & Heng, P. W. S. (2006). Supercritical carbon dioxide and its application in the extraction of active principles from plant materials. *Asian Journal of Pharmaceutical*. 1: 59-71.
- Dutta, D., Raychaudhuri, U. & Chakraborty, R. (2005). Retention of beta-carotene in frozen carrots under varying conditions of temperature and time of storage. *African Journal of Biotechnology*. 4(1): 102-108.
- Ghafoor, K., Park, J. & Choi, Y. H. (2010). Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 11(3): 485-490. doi: 10.1016/j.ifset.2010.01.013
- Gonçalves, E. M., Pinheiro, J., Breu, M., Brandão, T. R. S. & Silva, C. L. M. (2010). Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. *Journal of Food Engineering*. 97(4): 574-581. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.12.005

- Goulson, M. J. & Warthesen, J. J. (1999). Stability and antioxidant activity of beta-carotene in conventional and high oleic canola oil. *Journal of Food Science*. 64(6): 996-999. doi: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb12267.x
- Hiranvarachat, B. & Devahastin, S. (2014). Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: extraction of carotenoids from carrot peels. *Journal of Food Engineering*. 126: 17-26. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.10.024
- Hiranvarachat, B., Devahastin, S., Chiewchan, N. & Raghavan, G. S .V. (2013). Structural modification by different pretreatment methods to enhance microwave-assisted extraction of beta-carotene from carrots. *Journal of Food Engineering*. 115: 190-197. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.10.012
- Lima, M. A., Charalampopoulos, D. & Chatzifragkou, A. (2018). Optimisation and modelling of supercritical CO₂ extraction process of carotenoids from carrot peels. *The Journal of Supercritical Fluids*. 133: 94-102. doi: 10.1016/j.supflu.2017.09.028
- Moura, P. M., Prado, G. H. C., Meireles, M. A. A. & Pereira, C. G. (2012). Supercritical fluid extraction from Guava (*Psidium guajava*) leaves: global yield, composition and kinetic data. *The Journal of Supercritical Fluids*. 62: 116-122. doi: 10.1016/j.supflu.2011.11.014
- Nagata, M. & Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *The Japanese Society for Food Science and Technology*. 39: 925-926.
- Pollution Control Department. (2019). *Booklet on Thailand State of pollution 2018*. Ministry of Natural Resources and Environment, Bangkok, Thailand: S.Mongkon Press Limited Partnership (in Thai)
- Pourmortazavi, S. M. & Hajimirsadeghi, S. S. (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography*. 1163(1): 2-24. doi: 10.1016/j.chroma.2007.06.021
- Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Pavone, G., Di Giacomo, G., Aloisio, L., et al. (2004). Characterization of carrot root oil arising from supercritical fluid carbon dioxide extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(15): 4795-801. doi: 10.1021/jf049713h
- Saldaña, M. D. A., Sun, L., Guigard, S. E. & Temelli, F. (2006). Comparison of the solubility of β -carotene in supercritical CO₂ based on a binary and a multicomponent complex system. *The Journal of Supercritical Fluids*. 37: 342-349. doi: 10.1016/j.jct.2012.06.016
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. & Pessarakil, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany, Article ID 217037*, 26 pp. doi:10.1155/2012/217037

- Span, R. & Wagner, W. (1996). A new equation of state for carbon dioxide covering the fluid region from the triple-point temperature to 1100K at pressures up to 800 MPa, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 25(6): 1509-1596. doi: 10.1063/1.555991
- Sun, M. & Temelli, F. (2002). Supercritical CO₂ extraction of carotenoids from carrots and evaluation of products. *Journal of Supercritical Fluids*, 37(3): 397-408.
- Tai, H. P. & Kim, K. P. T. (2014). Supercritical carbon dioxide extraction of gac oil. *The Journal of Supercritical Fluids*, 95: 567-571. doi: 10.1016/j.supflu.2014.09.005
- Thai Industrial Standards Institute. (2015). *Thai Community Products Standard: Dried Fruits and Vegetables (TCPS. 136/2015)*. Bangkok, Thailand: Thai Industrial Standards Institute, Ministry of Industry. (in Thai)
- Zaghdoudi, K., Framboisier, X., Frochot, C., Vanderesse, R., Barth, D., Kalthoum-Cherif, J., et al. (2016). Response surface methodology applied to supercritical fluid extraction (SFE) of carotenoids from Persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry*, 208: 209-219. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.104
- Zhao, S. & Zhang, D. (2013a). Supercritical fluid extraction and characterization of *Moringa oleifera* leaves oil. *Separation and Purification Technology*, 118: 497-502. doi: 10.1016/j.seppur.2013.07.046
- Zhao, S. & Zhang, D. (2013b). A parametric study of supercritical carbon dioxide extraction of oil from *Moringa oleifera* seeds using a response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 113: 9-17. doi: 10.1016/j.seppur.2013.03.041

Academic Article

สมบัติวิทยากระแสของการทดสอบการไหลยืดดึง

Rheology properties of elongational flow experiments

ชาญยุทธ โกลิตะวงษ์

Chanyut Kolitawong

ศูนย์วิจัยพอลิเมอร์ ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลและการบิน-อวกาศ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
พระนครเหนือ บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800

Polymer Research Center, Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's
University of Technology North Bangkok, Bangsue, Bangkok 10800, Thailand

E-mail: chanyut.k@eng.kmutnb.ac.th

Received: 18/11/2018; Revised: 26/08/2019; Accepted: 12/09/2019

บทคัดย่อ

บทความนี้จะอธิบายถึงการทดสอบการไหลยืดดึง (extension flow experiments) ที่มีการทดสอบกันอยู่หลัก ๆ 3 รูปแบบคือ การดึงยืดทิศทางเดียว (uniaxial elongational flow) การดึงยืดสองทิศทาง (biaxial stretching flow) และการดึงยืดในระนาบ (planar elongational flow) โดยการทดสอบยืดดึงมาตรฐานทั้ง 3 แบบจะมีวิธีการทดสอบหลัก ๆ อยู่ 2 วิธีคือ การกำหนดอัตรายืดดึงคงตัว $\dot{\epsilon}_0$ เรียกว่าการทดสอบยืดดึงคงตัว (steady extension flow) และการกำหนดอัตรายืดดึงไม่คงตัว $\dot{\epsilon}(t)$ เช่น การทดสอบยืดหดเป็นรอบ (oscillatory extension) การเพิ่มความเค้นยืดดึง (elongational stress growth) การคลายตัวของความเค้นยืดดึงหรือการดึงยืดเป็นขั้น (elongation relaxation or step elongational strain) และการดึงคืบ (elongational creep) เป็นต้น เพื่อให้ให้นักวิจัยที่ทำงานทางด้านวิทยากระแสของทางสมาคมได้ใช้ตัวแปรและสมบัติวิทยากระแสที่ได้จากการทดสอบเหล่านี้ด้วยตัวแปรเดียวกัน ทางสมาคมวิทยากระแสแห่งสหรัฐอเมริกา (society of rheology, USA) ได้ออกประกาศการกำหนดสัญลักษณ์ของตัวแปรและสมบัติวิทยากระแสที่ได้จากการทดสอบเหล่านี้มาอย่างต่อเนื่อง

คำสำคัญ: สมบัติวิทยากระแส การทดสอบยืดหดเป็นรอบ การดึงคืบ การทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง การทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึง

Abstract

The objective of this article is to discuss on rheology properties used in 3 types of conventional extension flow experiments; uniaxial, biaxial and planar elongational flows. These standard flow experiments can be tested in either steady extensional rate $\dot{\epsilon}_0$ which is called steady elongational flow, and unsteady extensional rate $\dot{\epsilon}(t)$ such as extensional oscillatory, stress growth, stress relaxation (or some time called step elongational strain) and creep experiments. To synchronize these standard test properties and symbol notations, the society of rheology (SOR), United State of America, has declared those properties and symbol notations for its rheologist members from time to time.

Keywords: rheology of elongational flows, oscillatory elongation, elongational stress growth, elongational creep, elongation relaxation.

บทนำ

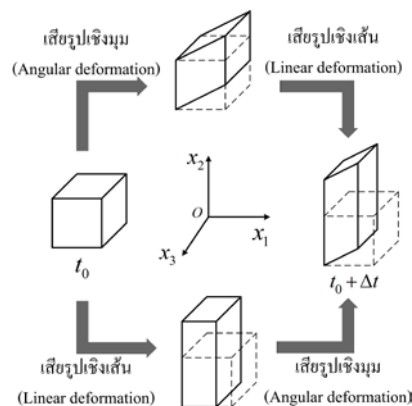
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแรงและการเสียรูปของวัตถุในช่วงเวลาที่สนใจ โดยที่แรงนั้นจะทำให้วัตถุเกิดการเสียรูปอย่างถาวรและเกิดเป็นการไหลของสสารเป็นศาสตร์ที่ทางราชบัณฑิตยสถานเรียกว่าวิทยากระแส (rheology) หรือบางท่านเรียกทับศัพท์ว่ารีโอโลยี ซึ่งเป็นศาสตร์ที่เกิดขึ้นในช่วงราวกลางคริสต์ศตวรรษที่ 20 (Tanner, 2002; Kolitawong, 2003; Kolitawong & Giacomini, 2009) การไหลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก ๆ คือ การไหลแบบเฉือน (shear flow) และการไหลที่ไม่มีการเฉือน (shear free flow) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าการไหลยืดดึง (elongational flow) การไหลแบบเฉือนเป็นการไหลของของไหลในช่องแคบหรือไหลในท่อ ซึ่งกระบวนการผลิตพลาสติกแทบทั้งหมด เช่น การอัดรีด (extrusion) การฉีดเข้าแม่พิมพ์ (injection molding) และการกดอัดเข้าแม่พิมพ์ (compression molding) จะเกี่ยวกับการไหลแบบเฉือนนี้ ส่วนการไหลแบบที่ไม่มีการเฉือนจะเกิดจากการยืดดึงเป็นหลัก เช่น การยืดดึงในกระบวนการหลอมปั่นเส้นใย (fiber melt spinning) กระบวนการเป่าถุง (film blowing) และการเป่าเข้าแม่พิมพ์ (blow molding) เป็นต้น ในขณะที่การไหลในช่องแคบหรือไหลในท่อนั้นบางครั้งของไหลอาจจะถูกยืดดึง (elongation) ไปพร้อม ๆ กันกับการไหลแบบเฉือนซึ่งเป็นธรรมชาติของการไหล เช่น การไหลผ่านช่องแคบหรือท่อลดขนาด เป็นต้น

เมื่อมีแรงกระทำจากภายนอกทำให้รูปทรงของก้อนของไหลเสียรูปไป (ตามความเร็วในการเปลี่ยนรูปทรง) ซึ่งทำให้เกิดความเค้นภายในก้อนของไหลดังแสดงในรูปที่ 1 โดยทั่วไปความเค้น (τ_{ij}) จะแปรผันกับอัตราการเสียรูปของก้อนของไหล ($\dot{\gamma}_{ij}$) ดังสมการที่ (1) (Pritchard, 2011; Cengel & Cimbala, 2014)

$$\tau_{ij} \propto \dot{\gamma}_{ij} \quad (1)$$

เมื่อ i และ j เป็นตำแหน่งบนเทนเซอร์ความเค้นและความเครียดซึ่งมีค่าเท่ากับ 1, 2, 3 และเป็นหมายเลขกำกับทิศทางของระบบแกน โดยแกน x_1, x_2, x_3 บางครั้งเรียกว่าแกน x, y, z ในระบบแกนพิกัดฉากตามลำดับ ซึ่งสมการที่ (1) สามารถเขียนอยู่ในรูปของเทนเซอร์ความเค้น $\underline{\tau}$ และเทนเซอร์อัตราเครียด $\underline{\dot{\gamma}}$ ได้คือ

$$\begin{pmatrix} \tau_{11} & \tau_{12} & \tau_{13} \\ \tau_{21} & \tau_{22} & \tau_{23} \\ \tau_{31} & \tau_{32} & \tau_{33} \end{pmatrix} \propto \begin{pmatrix} \dot{\gamma}_{11} & \dot{\gamma}_{12} & \dot{\gamma}_{13} \\ \dot{\gamma}_{21} & \dot{\gamma}_{22} & \dot{\gamma}_{23} \\ \dot{\gamma}_{31} & \dot{\gamma}_{32} & \dot{\gamma}_{33} \end{pmatrix} \quad (2)$$

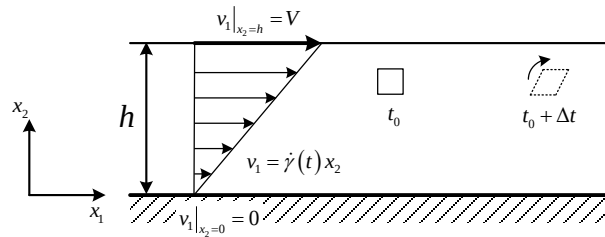


รูปที่ 1. แสดงก่อนอนุภาคของไหลที่มีการเคลื่อนที่ทำให้ก่อนอนุภาคมีการเสีรูปร่างเชิงเส้น เช่น การยืดดึง และการเสีรูปร่างเชิงมุม เช่น การบิดเบี้ยวไปพร้อม ๆ กัน โดยก่อนอนุภาคที่เวลา t_0 ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ในขณะที่ก่อนอนุภาคเดิมที่เวลา $t_0 + \Delta t$ เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปแล้ว

พจน์ของอัตราเครียดนิยามโดย

$$\dot{\gamma}_{ij} = \frac{\partial v_j}{\partial x_i} + \frac{\partial v_i}{\partial x_j} \quad (3)$$

เมื่อ v_i และ v_j เป็นความเร็วของก้อนของไหล (fluid element) ในแนวแกน i และ j และ x_i และ x_j เป็นตำแหน่งของก้อนของไหลในแนวแกน i และ j ตามลำดับ เมื่อ $i, j = 1, 2, 3$ อัตราเครียดของวัสดุในสมการที่ (3) เกิดจากอัตราการเสีรูปร่างของวัสดุเชิงเส้น (linear deformation) เมื่อ $i = j$ ซึ่งอยู่ในตำแหน่งแนวทแยง (diagonal positions) ของเทนเซอร์อัตราเครียด และเกิดอัตราการเสีรูปร่างเชิงมุม (angular deformation) เมื่อ $i \neq j$ ซึ่งจะอยู่นอกตำแหน่งทแยงมุม (off-diagonal position) ของเทนเซอร์อัตราเครียด ทำให้สามารถแจกแจงประเภทของการไหลออกเป็น 2 กลุ่มคือการไหลแบบเฉือนและการไหลที่ไม่มีการเฉือน (pure shear and shear free flows) โดยในทางทฤษฎี การไหลแบบเฉือนจะเป็นการไหลที่มีค่าอัตราเครียดที่อยู่ในตำแหน่งทแยงมุมเป็นศูนย์ทั้งหมด และในทางกลับกัน การไหลที่ไม่มีการเฉือนจะเป็นการไหลที่มีค่าอัตราเครียดที่อยู่นอกตำแหน่งทแยงมุมเป็นศูนย์ทั้งหมด



รูปที่ 2. แสดงการไหลแบบเฉือนอย่างง่าย (simple shear flow) ในทิศทาง x_1 ด้วยความเร็ว V ระหว่างช่องแคบที่มีความสูง h

ยกตัวอย่างเช่นในการไหลที่ไม่สามารถอัดได้ (incompressible) และมีอุณหภูมิคงที่ (isothermal) ของไหลแบบนิวโทเนียนที่ถูกเฉือนระหว่างช่องแคบในทิศทาง x_1 ทำให้มีผลต่างความเร็ว V ที่ความสูง h ดังแสดงในรูปที่ 2 จะมีความเค้นเฉือน τ_{21} แปรผันตรงกับอัตราความเครียดเฉือน $\dot{\gamma}_{21}$ นั่นคือ (White, 2003; Munson et al., 2002)

$$\tau_{21} = -\mu \dot{\gamma}_{21} \quad (4)$$

เมื่อ μ คือความหนืดนิวโทเนียนซึ่งเป็นค่าคงที่ ในทำนองเดียวกันสำหรับของไหลแบบนอนนิวโทเนียน ความเค้นเฉือน τ_{21} ยังคงแปรผันกับอัตราความเครียดเฉือน $\dot{\gamma}_{21}$ แต่ค่าความหนืดนอนนิวโทเนียน η จะเป็นฟังก์ชันสเกลาร์คงตัวของอัตราเครียด $\dot{\gamma}$ (scalar invariants of strain rate) ดังแสดงในสมการที่ (5)

$$\tau_{21} = -\eta(\dot{\gamma}) \dot{\gamma}_{21} \quad (5)$$

โดยในที่นี้อัตราความเครียดเฉือน $\dot{\gamma}_{21}$ คือ

$$\dot{\gamma}_{21} = \frac{V}{h} \quad (6)$$

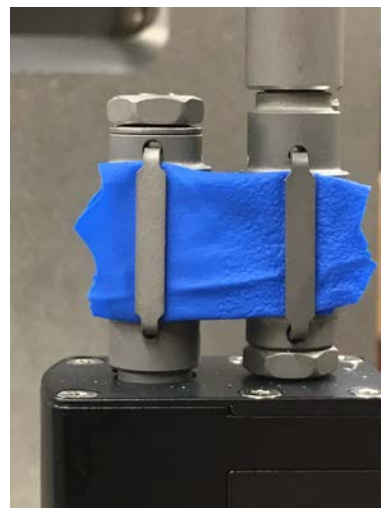
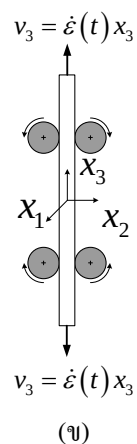
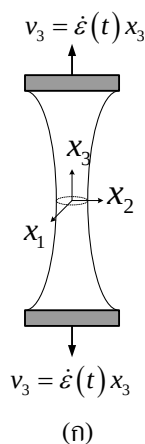
และฟังก์ชันสเกลาร์คงตัวของอัตราเครียด $\dot{\gamma}$ (scalar invariants of strain rate) คือ

$$\dot{\gamma} = \sqrt{\frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \dot{\gamma}_{ij} \dot{\gamma}_{ji}} \quad (7)$$

สำหรับการวิเคราะห์ทางกลของสมบัติวิหยากระแสดและตัวแปรในการไหลแบบเฉือนสามารถอ่านเพิ่มเติมได้จาก Kolutawong (2018) เราเรียกสมการที่ (5) ว่าเป็นพฤติกรรมการไหลคล้ายนิวโทเนียน (generalized Newtonian fluid) และเราเรียกสมการแสดงพฤติกรรมของของไหลเมื่อมีแรงมากระทำทำให้ของไหลเปลี่ยนจากสถานะเดิมในสมการที่ (4) และ (5) ว่าสมการแสดงพฤติกรรม (constitutive equation) (Bird et al., 2015)

ถึงแม้ว่าการทดสอบยึดดึงในของไหลจะยากกว่าการทดสอบแบบเฉือน เนื่องจากการจับยึดของไหลเพื่อยึดนั้นทำได้ยากกว่า (Barroso et al., 2003) แต่อย่างที่กล่าวไว้ข้างต้นว่าธรรมชาติของการไหลจะต้องมีทั้งการไหลแบบเฉือนและการไหลยึดดึงควบคู่กันไป วัตถุประสงค์ของบทความนี้ต้องการอธิบายถึงวิหยากระแสดในการทดสอบ

ยืดดึง (rheology of elongational flow experiments) แบบต่าง ๆ ที่นิยมใช้ เช่น สมบัติวิทยากระแสของวัสดุและพฤติกรรมการไหลยืดดึงทิศทางเดียว สองทิศทางและในระนาบที่ได้จากการทดสอบนั้น บทความนี้จะกล่าวถึงสมบัติวิทยากระแสจากการทดสอบการไหลที่ไม่ขึ้นกับเวลาซึ่งมีแค่เพียงการทดสอบยืดดึงคงตัว ในขณะที่การทดสอบการไหลอื่น ๆ เป็นแบบที่ขึ้นอยู่กับเวลา (unsteady flow) เช่น การทดสอบยืดหดเป็นรอบ การทดสอบการเพิ่มความเค้น การทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึง และการคืบ ซึ่งเป็นการทดสอบมาตรฐานที่ทางสมาคมวิทยากระแสแห่งสหรัฐอเมริกา (society of rheology, USA) กำหนดให้นักวิจัยใช้ทดสอบในห้องปฏิบัติการทั่วไป



รูปที่ 3. ตัวอย่างการดึงในทิศทางเดียวของ (ก) เส้นใย (Anna & McKinley, 2001) และ (ข) แผ่นฟิล์ม (ค) ชิ้นงานยาง
ทรงรูปบนเครื่องทดสอบความเค้นแรงดึงตามมาตรฐาน ASTM (D 412 – 98a) (ASTM International, 2003); และ (ง)
ชิ้นงานยางทรงรูปบนเครื่องทดสอบการยืดดึงแบบหัวหมุนคู่ (dual windup extensional rheometer) (Sentmanat, 2003;
2004)

การไหลยืดดึง

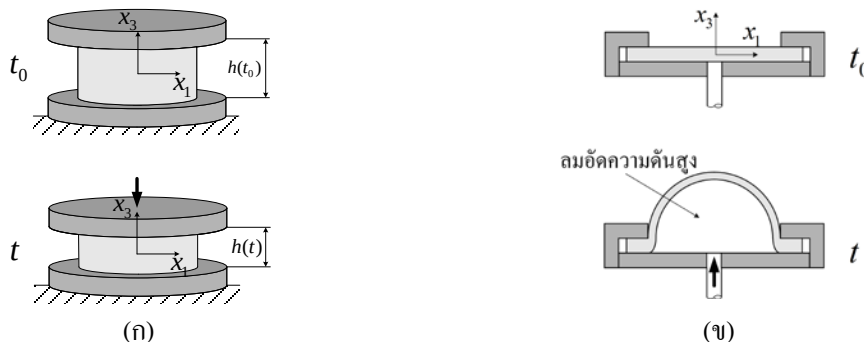
การไหลแบบยืดดึง (elongational or stretching flow) เป็นการไหลที่ไม่มีการเฉือน (shear free flow) จะเป็นการไหลที่มีค่าอัตราเครียดที่อยู่นอกตำแหน่งทแยงมุมเป็นศูนย์ทั้งหมดทำให้เหลืออัตราเครียดในตำแหน่งแนวทแยงมุม (แกนหลัก) 3 ตัวในสมการที่ (3)

$$\dot{\gamma}_{11} = 2 \frac{\partial v_1}{\partial x_1}, \dot{\gamma}_{22} = 2 \frac{\partial v_2}{\partial x_2}, \dot{\gamma}_{33} = 2 \frac{\partial v_3}{\partial x_3} \quad (8), (9), (10)$$

นอกจากนี้การไหลสำหรับวัสดุที่อัดตัวไม่ได้ยังถูกควบคุมด้วยกฎอนุรักษ์มวลกล่าวคือ (Róžańska, 2017)

$$\dot{\gamma}_{11} + \dot{\gamma}_{22} + \dot{\gamma}_{33} = 0 \quad (11)$$

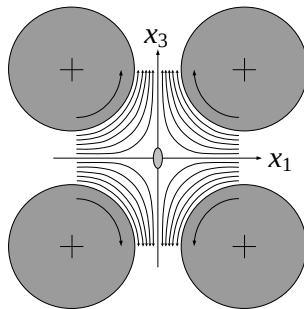
ดังนั้นการทำการทดลองที่ง่ายที่สุดในการไหลที่ไม่มีการเฉือนจะเป็นการควบคุมความเร็วในทิศทางเดียวด้วยการดึงวัสดุทดสอบซึ่งเราเรียกว่าการยืดดึงทิศทางเดียว (uniaxial elongational flow) เหมาะกับวัสดุทดสอบที่เป็นเส้นใย (filament stretching) (Torres et al., 2014; McKinley & Sridhar, 2002) หรือขึ้นทดสอบมาตรฐานตาม ASTM (D 412 – 98a) (ดูรูปที่ 3) ส่วนวัสดุทดสอบที่เป็นแผ่นจะเหมาะกับการทดสอบการยืดดึงสองทิศทาง (biaxial stretching flow) (Wangchai, 2005; Wangchai et al., 2008; 2011) ดังแสดงในรูปที่ 4 และสุดท้ายจะกล่าวถึงการยืดดึงในระนาบ (planar elongational flow) จะเป็นการทดสอบการยืดดึงที่ไม่มีการหมุน (irrotational flow) ในเนื้อวัสดุ (ดูรูปที่ 5)



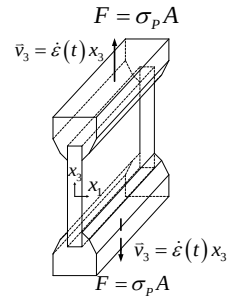
รูปที่ 4. ตัวอย่างการทดสอบการยืดดึงสองทิศทาง (biaxial stretching flow) ด้วย (ก) วิธีกดอัด (lubricated squeezing flow) (Song et al., 2007) และ (ข) วิธีเป่าแผ่นฟิล์มให้พองลม (bubble inflation method)

ตารางที่ 1. ค่าอัตรายืดดึง (elongational rate) $\dot{\epsilon}(t)$ และตัวแปล b ที่ขึ้นอยู่กับรูปแบบการยืดดึง

รูปแบบการยืดดึง	อัตรายืดดึง $\dot{\epsilon}(t)$	b
การดึงยืดทิศทางเดียว (uniaxial elongational flow)	$\dot{\epsilon}(t) > 0$	$b = 0$
การดึงยืดสองทิศทาง (biaxial stretching flow)	$\dot{\epsilon}(t) < 0$	$b = 0$
การดึงยืดในระนาบ (planar elongational flow)	$\dot{\epsilon}(t) > 0$	$b = 1$



(ก)



(ข)

รูปที่ 5. ตัวอย่างการยืดดึงในระนาบด้วย (ก) วิธียืดดึงด้วยลูกกลิ้งสี่ตัวของเทอร์เลอร์ (Taylor's four-roller apparatus) หมุนปั่นของเหลวเพื่อยืดดึงหดยดสารละลายเหลวที่อยู่ตรงกลาง (Taylor, 1934; Sharma et al., 2014; Brimmo & Qasaimeh, 2017) และ (ข) วิธีดึงแผ่นชิ้นงานด้วยเครื่องทดสอบการยืดดึง (tensile test machine)

สมบัติกระแสวิทยาที่ได้จากการทดสอบยืดดึงเหล่านี้แทบจะไม่มีคามหมายเลยหากไม่สามารถนำไปใช้ในสมการแสดงพฤติกรรม (constitutive equations) (Petrie, 2006; Khan & Larson, 1987; 1990) เพื่อนำไปใช้ในการทำนายผลการไหลของวัสดุในสถานการณ์ต่าง ๆ เช่นการขึ้นรูปพลาสติก กระบวนการแปรรูปอาหาร การไหลของเลือดผ่านช่องแคบได้อย่างแม่นยำ โดยสมการความเร็วในการยืดดึงทั้ง 3 จะเขียนได้ดังสมการที่ (12)

$$\bar{\mathbf{v}} = \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{pmatrix}_{123} = \begin{pmatrix} -\frac{\dot{\epsilon}(t)}{2}(1+b)x_1 \\ -\frac{\dot{\epsilon}(t)}{2}(1-b)x_2 \\ \dot{\epsilon}(t)x_3 \end{pmatrix}_{123} \quad (12)$$

เมื่อ $\dot{\epsilon}(t)$ คืออัตรายืดดึง (elongational rate) และ b มีค่าเป็น 0 หรือ 1 จะถูกกำหนดจากรูปแบบการยืดดึงและถูกสรุปไว้ในตารางที่ 1 ซึ่งจะกล่าวถึงโดยละเอียดต่อไป โดยความเครียดยืดดึงมีความสัมพันธ์กับอัตรายืดดึงคือ

$$\epsilon(t_{ref}, t) \equiv \int_{t_{ref}}^t \dot{\epsilon}(t') dt' \quad (13)$$

โดย t_{ref} เป็นเวลาเริ่มต้นซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นศูนย์ (0) และ t' คือตัวแปรดัมมี่ของการอินทิเกรต (dummy of integration) ซึ่งจะหายไปหลังจากการแทนค่าเวลาดังแต่ $t' = t_{ref}$ ถึง $t' = t$ ใด ๆ แล้ว การทดสอบยืดดึงสามารถกระทำได้ 2 แบบคือควบคุมความเค้นแล้ววัดความเครียด หรือควบคุมความเครียดแล้ววัดความเค้น [ดูหัวข้อ 5.3.2 ของ Menard (2008)] สำหรับของไหลแบบอัดตัวไม่ได้ค่าความเค้นยืดดึงที่ต้องการวัดมีเพียง 2 ค่าคือ $\tau_{33} - \tau_{11}$ และ $\tau_{22} - \tau_{11}$ เนื่องจากความเร็วในเนื้อวัสดุค่อนข้างไม่เป็นเชิงเส้นและกระจายตัวไม่เท่ากันในแต่ละจุดของตำแหน่งวัสดุทำให้ความเค้นยืดดึงที่เกิดขึ้นในเนื้อวัสดุไม่เท่ากันเช่นเดียวกัน (เนื่องจากความเค้นยืดดึงเป็นฟังก์ชันของความเร็วในเนื้อวัสดุ) ดังนั้นการวัดความเค้นยืดดึงในเนื้อวัสดุที่เกิดจากการดึง จะใช้เทคนิคการวัดที่หลากหลายเช่น

ใช้การวัดการเคลื่อนที่ของวัสดุจากดัชนีหักเหของแสงในเนื้อวัสดุ (flow birefringence) ในแต่ละช่วงเวลา หรือใช้วิธีติดตารางบนพื้นผิววัสดุและบันทึกวิดีโอ (video tapping) เพื่อการเคลื่อนที่ของวัสดุในขณะทดสอบ (Nguyen et al., 2015) เป็นต้น การเคลื่อนที่ของวัสดุจะก่อให้เกิดความเครียดยืดดึงของวัสดุและสัมพันธ์กับอัตราเครียดยืดดึงตามสมการที่ (13) รายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับเครื่องมือวัดและทดสอบแบบยืดดึงโดยละเอียดสามารถหาอ่านเพิ่มเติมได้ในบทที่ 7 ของ Macosko (1994)

ตารางที่ 2. แสดงการควบคุมข้อมูลเข้า-ออก (Input and Output) ในการทดลองยืดดึงทิศทางเดียว (Uniaxial elongation) แบบควบคุมอัตรายืดดึงคงตัว $\dot{\epsilon}_0$ ที่ช่วงเวลาที่ต้องการ

(ก) ยืดดึงคงตัว (steady elongation)	(ข) ยืดหดเป็นรอบ (oscillatory elongation)	(ค) การเพิ่มความเค้นยืดดึง (elongational stress growth)	(ง) การคลายตัวของความเค้นยืดดึง (elongational stress relaxation)

ตัวแปรและสมบัติวิทยากระแสในการไหลยืดดึงในบทความนี้อ้างอิงสมาคมวิทยากระแสแห่งสหรัฐอเมริกา (society of rheology, USA) ที่ได้แต่งตั้งคณะกรรมการทำความตกลงร่วมกันในการใช้สมบัติวิทยากระแสและตัวแปรที่ได้จากการทดสอบมาตรฐานเหล่านี้ (Dealy, 1984; 1995; Ad Hoc Committee on Official Nomenclature and Symbols, 2013) และได้ประกาศให้กับนักวิจัยที่ทำงานทางด้านวิทยากระแสได้ใช้ตัวแปรและสมบัติวิทยากระแสที่ได้จากการทดสอบในทิศทางเดียวกัน ถึงแม้ว่าในบทความนี้จะรวบรวมสมบัติวิทยากระแสของการทดสอบการไหลยืดดึงที่ใช้กันมากไว้แล้ว แต่ยังมีสมบัติวิทยากระแสบางตัวที่ไม่ได้กล่าวถึงในที่นี้

ตารางที่ 3. สรุปลักษณะของวัสดุและฟังก์ชันของวัสดุที่เกิดจาก $\tau_{33} - \tau_{11}$ และ $\tau_{22} - \tau_{11}$ ในการทดสอบยืดดึงคงตัว (steady elongational flow) แบบต่าง ๆ

การทดสอบ	ความเร็วของวัสดุ	$-\frac{\tau_{33} - \tau_{11}}{\dot{\epsilon}_0}$	$-\frac{\tau_{22} - \tau_{11}}{\dot{\epsilon}_0}$
(ก) ยืดดึงทิศทางเดียวคงตัว (steady uniaxial elongational flow) [$b = 0$ และ $\dot{\epsilon}_0 > 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_1 \\ -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_2 \\ \dot{\epsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_E}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_E(\dot{\epsilon}_0)$	0
(ข) ยืดดึงสองทิศทางคงตัว (steady biaxial elongational flow) [$b = 0$ และ $\dot{\epsilon}_0 < 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_1 \\ -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_2 \\ \dot{\epsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_B}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_B(\dot{\epsilon}_0)$	0
(ค) ยืดดึงในระนาบคงตัว (steady planar elongational flow) [$b = 1$ และ $\dot{\epsilon}_0 > 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\dot{\epsilon}_0 x_1 \\ 0 \\ \dot{\epsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_{P_1}}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_{P_1}(\dot{\epsilon}_0)$	$-\frac{\sigma_{P_2}}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_{P_2}(\dot{\epsilon}_0)$

หมายเหตุ $\eta_E(\dot{\epsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงทิศทางเดียว, $\eta_B(\dot{\epsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงสองทิศทาง และ $\eta_{P_1}(\dot{\epsilon}_0)$ และ $\eta_{P_2}(\dot{\epsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงในระนาบลำดับที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

การทดสอบยืดดึงคงตัว

ในการทดสอบยืดดึงคงตัวทิศทางเดียว (steady uniaxial elongational flow) ซึ่งทดสอบจะถูกยืดดึงในทิศทาง x_3 ดังแสดงในรูปที่ 6 โดยจะควบคุมอัตราเครียดยืดดึงให้คงที่นั่นคือ

$$\dot{\epsilon}(t) = \dot{\epsilon}_0 \quad (14)$$

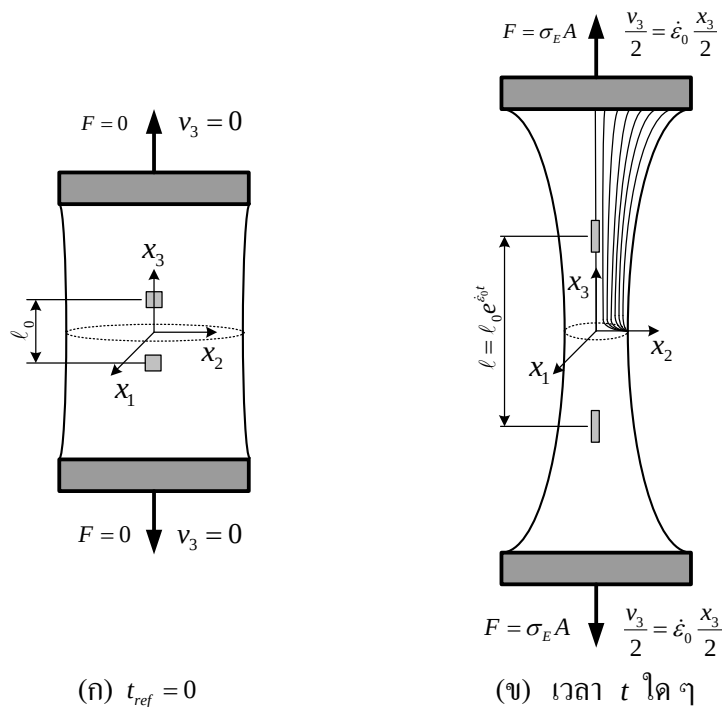
แล้วทำการวัดการตอบสนองของความเครียดยืดดึงและความเค้นยืดดึงดังแสดงในตารางที่ 2 (ก) เมื่อก่อนอนุภาคในชั้นทดสอบการดึงทิศทางเดียวถูกดึงด้วยอัตรายืดดึงคงที่ $\dot{\epsilon}_0$ ในทิศทาง x_3 ดังนั้นความเร็วในทิศทาง x_3 ซึ่งนิยามในสมการที่ (12) คือ

$$v_3 = \frac{dx_3}{dt} = \dot{\epsilon}_0 x_3 \quad (15)$$

อินทรีเกรตตั้งแต่เวลาเริ่มต้น $t_{ref} = 0$ ซึ่งก้อนของไหลอยู่ที่ตำแหน่ง $x_3 = \ell_0/2$ ถึงเวลา t ใด ๆ ก้อนของไหลอยู่ที่ตำแหน่ง $x_3 = \ell/2$ ใด ๆ ดังนั้น

$$\varepsilon = \int_{\ell_0/2}^{\ell/2} \frac{dx_3}{x_3} = \int_{t_{ref}=0}^t \dot{\varepsilon}_0 dt' \quad (16)$$

เมื่อความเครียดยืดดึง ε แสดงในสมการที่ (13) ดังนั้นระยะ ℓ ระหว่างก้อนของไหลที่อยู่ระหว่างการดึงแบบคงตัว จะมีความสัมพันธ์กับความเครียดแบบเฮนคีส (Hencky strain) (ดูรูปที่ 6)



รูปที่ 6. แสดงระยะทางระหว่างก้อนอนุภาคในการดึงทิศทางเดียวที่ถูกดึงด้วยอัตรายืดดึงคงที่ $\dot{\varepsilon}_0$ (ก) ก้อนของไหลที่เวลาเริ่มต้น $t_{ref} = 0$ และ (ข) ก้อนของไหลที่เวลา t ใด ๆ เส้นที่มูบบนขวาแสดงเส้นทางการไหล (streamlines) ในเนื้อวัสดุ

$$\varepsilon = \dot{\varepsilon}_0 t = \ln \frac{\ell}{\ell_0} \quad (17)$$

และมีความเร็วของวัสดุและฟังก์ชันของวัสดุที่เกิดจาก $\tau_{33} - \tau_{11}$ และ $\tau_{22} - \tau_{11}$ ในการทดสอบยืดดึงคงตัว (steady elongational flow) แบบต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยทั่วไปแล้วความหนืดยืดดึงทิศทางเดียว η_E ที่อัตราเฉือนต่ำ ๆ จะมีค่าเป็น 3 เท่าของความหนืดที่อัตราเฉือนเป็นศูนย์ η_0 (zero-shear-rate viscosity) ที่ได้จากการทดสอบแบบเฉือน

$$\lim_{\dot{\varepsilon}_0 \rightarrow 0} \eta_E = 3\eta_0 \quad (18)$$

และความหนืดยืดดึงทิศทางเดียว η_E สำหรับของไหลนิวโทเนียนบางครั้งจะถูกเรียกว่าความหนืดทอร์ชัน η_T เพื่อเป็นเกียรติแก่ผู้ค้นพบความสัมพันธ์นี้ (Trouton, 1906) ในขณะที่ความหนืดยืดดึงสองทิศทางที่อัตราเฉือนต่ำ ๆ ความหนืดยืดดึงสองทิศทาง η_B จะมีค่าเป็น 6 เท่าของความหนืดที่อัตราเฉือนเป็นศูนย์ η_0 (Bird et al., 1977; 1987)

$$\lim_{\dot{\epsilon}_0 \rightarrow 0} \eta_B(\dot{\epsilon}_0) = 6\eta_0 \quad (19)$$

การทดสอบยืดหดเป็นรอบ

การทดสอบยืดหดเป็นรอบ (oscillatory elongation) สามารถกระทำได้หลายรูปแบบ (Menard, 2008) แต่รูปแบบที่ง่ายที่สุดคือการบีบ (หรือดึง) ขึ้นทดสอบที่อยู่ระหว่างหัวจับขึ้นทดสอบขึ้น-ลงไป-มา (ดูบทที่ 3 ของ Haddad, 1995) เช่น การทดสอบยืดหดเป็นรอบ (oscillatory elongation) ที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์เชิงกลพลวัต (dynamic mechanical analyzer, DMA) ในวัสดุที่มีสมบัติแข็งและเหนียว (hard and tough materials) นอกจากจะเป็นการทดสอบการล้าตัว (fatigue) ของวัสดุ บางครั้งจะศึกษาเกี่ยวกับการเกิดรอยแตกร้าว (crack) เนื่องจากการล้าตัวของวัสดุด้วย (Jearanaaisilawong et al., 2016) แต่ในที่นี้เราจะศึกษาวัสดุที่มีสมบัติหยุ่นหนืด (viscoelastic) ที่ไม่เกิดการล้าตัวเนื่องจากโครงสร้างของวัสดุไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปตามความเครียดหรือการเสื่อมคุณภาพของสมบัติวัสดุไปตามเวลา (aging)

สำหรับพอลิเมอร์ที่มีสมบัติเป็นของแข็ง (solid polymer) การทดสอบยืดหดเป็นรอบนิยมทดสอบด้วยการควบคุมความเค้นยืดดึงและวัดความเครียดยืดดึงซึ่งสามารถดูเพิ่มเติมได้จากหัวข้อ 5.1 ของ Menard (2008) แต่เนื่องจากการศึกษาการดึงยืดของสารละลายพอลิเมอร์และพอลิเมอร์หลอมเหลวโดยมากจะทดสอบโดยควบคุมอัตราเครียดยืดดึงและวัดความเค้นยืดดึงดังแสดงในตารางที่ 2 (ข) โดยการกำหนดให้อัตราเครียดยืดดึงของวัสดุคือ

$$\dot{\epsilon}(t) = \dot{\epsilon}_0 \cos \omega t \quad (20)$$

โดย $\dot{\epsilon}_0$ เป็นขนาดเป็นขนาดของอัตราเครียดยืดดึง (elongational strain rate amplitude) ซึ่งมีความเครียดยืดดึงเป็นไปตามสมการที่ (13)

$$\epsilon(0, t) = \int_0^t \dot{\epsilon}_0 \cos \omega t' dt' = \epsilon_0 \sin \omega t \quad (21)$$

เมื่อ ϵ_0 เป็นขนาดของความเครียดยืดดึง (elongational strain amplitude) มีค่าเป็นบวก (+) เสมอ และมีความสัมพันธ์กับขนาดของอัตราเครียดยืดดึงคือ

$$\dot{\epsilon}_0 = \omega \epsilon_0 \quad (22)$$

โดยมากการทดสอบชนิดนี้มักจะนิยมทดสอบในรูปแบบยืดหดเป็นรอบทิศทางเดียว (oscillatory uniaxial elongation) (Kee & Fong, 1995) และยืดหดเป็นรอบสองทิศทาง (oscillatory biaxial stretching) แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบยืดหดเป็นรอบในระนาบ (oscillatory planar elongation) ก็มีการทดสอบเพื่อใช้หากลไกการแยกตัวของหยดสารละลายพอลิเมอร์ (breaking of polymer solution droplet) (Li & Sarkar, 2005) แต่การคิดคำนวณจะแตกต่าง

จากการทดสอบยืดหดเป็นรอบทิศทางเดียวและสองทิศทางและไม่ได้กล่าวถึงในที่นี้ นอกจากนี้ถ้าขนาดของอัตราเครียดยืดหดเป็นรอบต่ำ (small amplitude oscillatory elongational flow, SAOE) สมการความเค้นยืดดึงจะมีความหยุ่นหนืดเชิงเส้นกับอัตราเครียดยืดดึง (linear viscoelastic behavior) แต่ถ้าขนาดของอัตราเครียดยืดหดเป็นรอบสูง (large amplitude oscillatory elongational flow, LAOE) สมการความเค้นยืดดึงจะไม่มี ความหยุ่นหนืดเชิงเส้นกับอัตราเครียดยืดดึง (nonlinear viscoelastic behavior) และสมบัติวิทยากระแสที่หาได้จากการทดสอบด้วยการควบคุมความเค้นยืดดึงแล้ววัดความเครียดยืดดึงจะแตกต่างจากการทดสอบโดยควบคุมอัตราเครียดยืดดึงแล้ววัดความเค้นยืดดึง ในที่นี้ขอกล่าวถึงแค่การทดสอบที่มีขนาดของอัตราเครียดยืดหดเป็นรอบต่ำ (SAOE) เท่านั้น สำหรับการทดสอบมีขนาดของอัตราเครียดยืดหดเป็นรอบสูง (LAOE) สามารถหาอ่านเพิ่มเติมได้จาก Bejenariu et al. (2010) และ Dessi et al. (2017)

สำหรับการทดสอบยืดหดเป็นรอบทิศทางเดียว (oscillatory uniaxial elongation) เวกเตอร์ความเร็วในการทดสอบยืดหดเป็นรอบทิศทางเดียว จะเป็นไปตามสมการที่ (12) ดังนั้นเทนเซอร์อัตราการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (rate of deformation tensor) ในการทดสอบยืดหดเป็นรอบทิศทางเดียวคือ

$$\dot{\underline{\gamma}}(t) = \begin{pmatrix} -\dot{\epsilon}_0 \cos \omega t & 0 & 0 \\ 0 & -\dot{\epsilon}_0 \cos \omega t & 0 \\ 0 & 0 & 2\dot{\epsilon}_0 \cos \omega t \end{pmatrix}_{123} \quad (23)$$

และค่าเทนเซอร์ความเค้นยืดดึงจะมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ (24) นั่นคือ

$$\underline{\tau} = \begin{pmatrix} \sigma & 0 & 0 \\ 0 & \sigma & 0 \\ 0 & 0 & -2\sigma \end{pmatrix}_{123} \quad (24)$$

โดยความเค้นยืดดึงตอบสนอง (stress response) จะมีความถี่เท่ากับความถี่ของอัตราเครียดยืดดึงแต่มีระยะเฟสที่แตกต่างกัน (phase difference) กล่าวคือ

$$\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (25)$$

โดย δ เป็นระยะเฟสที่แตกต่างกัน (phase difference) ระหว่างความเค้นยืดดึงและอัตราเครียดยืดดึง และ σ_0 เป็นขนาดของความเค้นยืดดึงตอบสนอง (elongational stress response amplitude) ซึ่งควรจะเป็นค่าคงที่ ดังนั้นเราสามารถหาค่า $\tau_{33} - \tau_{11}$ ได้จาก

$$\tau_{33} - \tau_{11} = -2\sigma - \sigma = -3\sigma \quad (26)$$

คูณตลอดสมการที่ (26) ด้วย -1 และแทนค่าสมการที่ (25) จะได้

$$-(\tau_{33} - \tau_{11}) = 3\sigma_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (27)$$

ใช้เอกลักษณ์ตรีโกณจะได้

$$-(\tau_{33} - \tau_{11}) = 3\sigma_0 (\sin \omega t \cos \delta + \cos \omega t \sin \delta) \quad (28)$$

เมื่อนิยามมอดุลัสยืดหยุ่นของยังส์ (Young's elastic modulus) คือ

$$E = -\frac{\tau_{33} - \tau_{11}}{\varepsilon(t)} \quad (29)$$

โดยความเครียดยืดดึง $\varepsilon(t)$ หาได้จากสมการที่ (13) เมื่อแทนค่าสมการที่ (28) ลงในสมการที่ (29) จะได้

$$-\frac{(\tau_{33} - \tau_{11})}{\varepsilon_0} = E' \sin \omega t + E'' \cos \omega t \quad (30)$$

โดยมีมอดุลัสสะสมยืดดึง (elongational storage modulus)

$$E'(\omega) = \frac{3\sigma_0}{\varepsilon_0} \cos \delta \quad (31)$$

และมอดุลัสสูญเสียยืดดึง (elongational loss modulus)

$$E''(\omega) = \frac{3\sigma_0}{\varepsilon_0} \sin \delta \quad (32)$$

โดยมอดุลัสสะสมยืดดึงเป็นความสามารถของวัสดุในการดูดซับพลังงานระหว่างการรับโหลดและมอดุลัสสูญเสียยืดดึงเป็นการสูญเสีย (ปลดปล่อย) พลังงานจากการรับโหลดดังแสดงให้เห็นด้วยการเปรียบเทียบกับภาระคอนของลูกเทนนิสในรูปที่ 7 และมอดุลัสสะสมยืดดึงและมอดุลัสสูญเสียยืดดึงสัมพันธ์กับมอดุลัสสะสมและมอดุลัสสูญเสียในการทดสอบเฉือนเป็นรอบ (oscillatory shear) คือ

$$E' = 3G' \quad (33)$$

$$E'' = 3G'' \quad (34)$$

เมื่อ

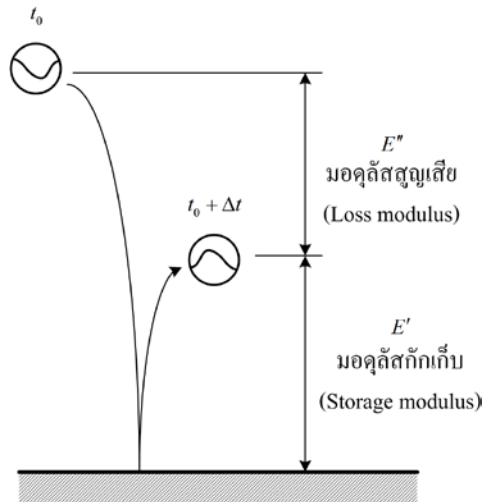
$$G'(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad (35)$$

$$G''(\omega) = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad (36)$$

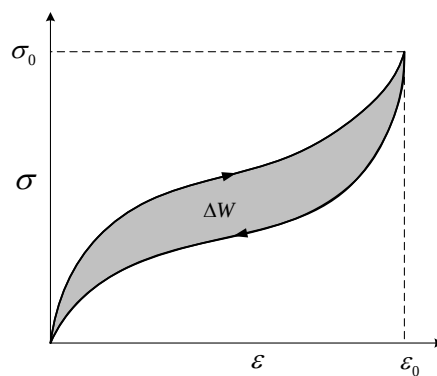
โดย G' คือมอดุลัสสะสม (storage modulus) และ G'' คือมอดุลัสสูญเสีย (loss modulus) จะเห็นได้ว่าการทดสอบเฉือนเป็นรอบ สามารถวัดได้ทั้งพฤติกรรมความยืดหยุ่นและพฤติกรรมของเหลวออกมาได้พร้อม ๆ กัน โดย γ_0 เป็นขนาดความเครียด และ τ_0 เป็นขนาดของความเค้นตอบสนอง (stress response amplitude) ซึ่งเป็นค่าคงที่ ในขณะที่การพล็อตระหว่างความเค้นยืดดึงและความเครียดยืดดึงในการทดสอบยืดหดเป็นรอบจะเกิดวงรอบฮิสเทอรีซิส (hysteresis loop) ดังแสดงในรูปที่ 8 ซึ่งเป็นงานที่สูญเสียต่อหน่วยพื้นที่ถ้าวัสดุมีสมบัติวิสโคอีลาสติก (viscoelastic property) นั่นคือ

$$\Delta W = \oint \sigma d\varepsilon \quad (37)$$

สมการที่ (37) แสดงให้เห็นว่าวัสดุที่ยืดหยุ่นสมบูรณ์ (purely elastic) เท่านั้นที่จะไม่เกิดวงรอบฮิสเทอรีซิส (hysteresis loop) นั่นคือจะต้องใช้แรงดึงและปล่อยกลับที่เท่ากันที่ระยะยืดเดียวกัน การทดสอบยืดหดเป็นรอบมีการใช้ฟังก์ชันเชิงซ้อนเพื่อช่วยในการคำนวณเหมือนในการทดสอบเฉือนเป็นรอบเช่นกันแต่จะไม่กล่าวถึงในที่นี้



รูปที่ 7. แสดงการสะสม (storage) และการสูญเสีย (loss) พลังงานของลูกเทนนิสที่ถูกปล่อยให้ตกสู่พื้น



รูปที่ 8. แสดงวงรอบฮิสเทอรีซิส (hysteresis loop) ในการทดสอบยืดหดเป็นรอบเป็นงานที่สูญเสียต่อหน่วยพื้นที่ เนื่องจากวัสดุมีสมบัติวิสโคอีลาสติก (viscoelastic property)

การทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง

การทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง (elongational stress growth) ทำได้โดยการกำหนดอัตราเครียดดึงยืดแบบคงตัว $\dot{\epsilon}_0$ อย่างทันทีทันใดดังแสดงในตารางที่ 2 (ค) นั่นคือ

$$\dot{\epsilon}(t) = \begin{cases} 0 & t < 0 \\ \dot{\epsilon}_0 & t \geq 0 \end{cases} \quad (37)$$

และมีความเร็วของวัสดุและฟังก์ชันของวัสดุที่เกิดจาก $\tau_{33} - \tau_{11}$ และ $\tau_{22} - \tau_{11}$ ในการทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง (elongational stress growth) แบบต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4 (Orr & Sridhar, 1999; Wang et al., 2011; Bhattacharjee et al., 2016)

ตารางที่ 4. สรุปลักษณะของวัสดุและฟังก์ชันของวัสดุที่เกิดจาก $\tau_{33} - \tau_{11}$ และ $\tau_{22} - \tau_{11}$ ในการทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง (elongational stress growth) แบบต่าง ๆ

การทดสอบ	ความเร็วของวัสดุ ที่เวลา $t \geq 0$	$-\frac{\tau_{33} - \tau_{11}}{\dot{\epsilon}_0}$	$-\frac{\tau_{22} - \tau_{11}}{\dot{\epsilon}_0}$
(ก) การเพิ่มความเค้นยืดดึง ทิศทางเดียว (uniaxial elongational startup) [$b = 0$ และ $\dot{\epsilon}_0 > 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_1 \\ -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_2 \\ \dot{\epsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_E}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_E^+(t, \dot{\epsilon}_0)$	0
(ข) การเพิ่มความเค้นยืดดึง สองทิศทาง (biaxial elongational startup) [$b = 0$ และ $\dot{\epsilon}_0 < 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_1 \\ -\frac{\dot{\epsilon}_0}{2} x_2 \\ \dot{\epsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_B}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_B^+(t, \dot{\epsilon}_0)$	0
(ค) การเพิ่มความเค้นยืดดึงใน ระนาบ (planar elongational startup) [$b = 1$ และ $\dot{\epsilon}_0 > 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\dot{\epsilon}_0 x_1 \\ 0 \\ \dot{\epsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_{P_1}}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_{P_1}^+(t, \dot{\epsilon}_0)$	$-\frac{\sigma_{P_2}}{\dot{\epsilon}_0} = \eta_{P_2}^+(t, \dot{\epsilon}_0)$

หมายเหตุ $\eta_E^+(t, \dot{\epsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงทิศทางเดียว, $\eta_B^+(t, \dot{\epsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงสองทิศทาง และ $\eta_{P_1}^+(t, \dot{\epsilon}_0)$ และ $\eta_{P_2}^+(t, \dot{\epsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงในระนาบลำดับที่ 1 และ 2 ในการทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง

การทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง (elongational stress growth) เป็นการทดสอบที่เหมือนการทดสอบการเพิ่มความเค้นเฉือน (shear stress growth) กล่าวคือการทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง สามารถทำได้โดยการตั้งค่าอัตรายืดดึงคงตัว $\dot{\varepsilon}_0$ อย่างทันทีทันใดเพื่อกระชากขึ้นทดสอบและเฝ้าดูการตอบสนองของความเค้นในเนื้อวัสดุจากอุปกรณ์วัดแรงที่ติดไว้ อีกด้านหนึ่งของขึ้นทดสอบ ในขณะที่การทดสอบการลดลงของความเค้นยืดดึง (elongational stress decay) ไม่สามารถทำได้จริงในทางปฏิบัติ เนื่องจากไม่สามารถควบคุมให้เกิดการลดลงของอัตราเครียดดึงยืดแบบคงตัว $\dot{\varepsilon}_0$ ในการทดสอบการลดลงของความเค้นยืดดึงได้ ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นในการให้นิยามการทดสอบการลดลงของความเค้นยืดดึงแต่อย่างใด (Morrison, 2001)

การทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึง

การทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงหรือการดึงยืดเป็นขั้น (elongation stress relaxation or step elongational strain) จะทำโดยการตั้งค่าอัตราเครียดยืดดึงคงตัว $\dot{\varepsilon}_0$ ในช่วงเวลาสั้น ๆ t_0 ลงบนขึ้นทดสอบ (กระชากขึ้นทดสอบด้วยอัตราเครียดยืดดึงคงตัว $\dot{\varepsilon}_0$ 1 ครั้งในช่วงเวลาสั้น ๆ t_0) ดังแสดงในตารางที่ 2 (ง) ทำให้ขึ้นทดสอบมีความเครียดยืดดึงอย่างถาวร ε_0

$$\varepsilon(t) = \lim_{t_0 \rightarrow 0} \begin{cases} 0 & t < 0 \\ \dot{\varepsilon}_0 t & 0 \leq t < t_0 \\ \varepsilon_0 = \dot{\varepsilon}_0 t_0 & t \geq t_0 \end{cases} \quad (38)$$

แล้วทำการวัดความเค้นยืดดึง σ ที่ค่อย ๆ คลายตัวลงเรื่อย ๆ โดยมีอัตราเครียดยืดดึงคือ

$$\dot{\varepsilon}(t) = \lim_{t_0 \rightarrow 0} \begin{cases} 0 & t < 0 \\ \dot{\varepsilon}_0 & 0 \leq t < t_0 \\ 0 & t \geq t_0 \end{cases} \quad (39)$$

ในช่วงต้นความเค้นยืดดึง $\sigma(t)$ อาจเกิดการกระชาก (overshoot) เนื่องจากแรงกระชากให้เกิดอัตราเครียดยืดดึงคงตัว $\dot{\varepsilon}_0$ ในช่วงเวลา t_0 สั้น ๆ นั้น หลังจากเกิดความเครียดยืดดึงอย่างถาวร ε_0 ความเค้นยืดดึง $\sigma(t)$ จะค่อย ๆ คลายตัวลง (stress relaxation) (Wang et al., 2011) ฟังก์ชันของวัสดุที่เกิดจาก $\tau_{33} - \tau_{11}$ และ $\tau_{22} - \tau_{11}$ ในการทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงแสดงในตารางที่ 5

การทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงสามารถทดสอบด้วยการดึงเส้นใยทิศทางเดียว (filament stretching) ดังแสดงในรูปที่ 3 (ก) (Orr & Sridhar, 1996; 1999; Bhattacharjee et al., 2016) หรือการทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงสามารถทดสอบโดยวิธีกดอัด (lubricated squeezing) ซึ่งเป็นการทดสอบแบบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงสองทิศทางดังแสดงในรูปที่ 4 (ก) ได้ด้วย (Soskey & Winter, 1984; 1985) แต่อย่างไรก็ตาม การทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงนิยมนิยามทดสอบเพื่อหาค่ามอดุลัสผ่อนคลาย (relaxation modulus) ในช่วงที่วัสดุมีความเครียดยืดดึง ε_0 คงที่

โดยทั่วไปแล้วมอดุลัสพ่อนคลายยืดดึงทิศทางเดียว (uniaxial extensional relaxation modulus) $E_E(t, \varepsilon_0)$ จะมีค่าเป็น 3 เท่าของมอดุลัสพ่อนคลายของวัสดุวิสโคอิลาสติกเชิงเส้น (relaxation modulus of linear viscoelastic) $G(t)$ ที่ได้จากการทดสอบการคลายตัวของความเค้นเฉือน (Barroso et al., 2003) กล่าวคือ

$$E_E(t, \varepsilon_0) \equiv \frac{\tau_{33} - \tau_{11}}{\varepsilon_0} = 3G(t) \quad (40)$$

และมอดุลัสพ่อนคลายยืดดึงสองทิศทาง (biaxial extensional relaxation modulus) $E_B(t, \varepsilon_0)$ ที่ความเครียดน้อย ๆ จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับมอดุลัสพ่อนคลายของวัสดุวิสโคอิลาสติกเชิงเส้น (relaxation modulus of linear viscoelastic) $G(t)$ เช่นกัน (Soskey & Winter, 1985)

$$\lim_{\varepsilon_0 \rightarrow 0} E_B(t, \varepsilon_0) \equiv \frac{\tau_{33} - \tau_{11}}{\varepsilon_0} = 6G(t) \quad (41)$$

เมื่อมอดุลัสพ่อนคลายของวัสดุวิสโคอิลาสติกเชิงเส้นสามารถเขียนอยู่ในรูปของสเปกตรัมของเวลาพ่อนคลาย (spectrum of relaxation times, λ_i) และมอดุลัสพ่อนคลาย (relaxation moduli, g_i)

$$G(t) = \sum_{i=1}^N g_i \exp(-t / \lambda_i) \quad (42)$$

ความสัมพันธ์นี้สามารถใช้ในการตรวจสอบผลการทดลองในการทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงได้เป็นอย่างดีเนื่องจากปกติแล้ววัสดุที่มีสมบัติเป็นของไหลจะทำการทดสอบการไหลแบบเฉือนได้ง่ายกว่าการทดสอบการไหลแบบยืดดึง ในขณะที่การคลายตัวของความเค้นยืดดึงจะนานและการทดสอบการคลายตัวของความเค้นเฉือนจะให้ค่ามอดุลัสพ่อนคลายเดียวกัน (Khan & Larson, 1991)

การทดสอบการดึงคืบ

ต่างจากการทดสอบยืดดึงแบบอื่น ๆ การทดสอบการดึงคืบ (elongational creep) เป็นการทดสอบที่ให้ความเค้นยืดดึงคงตัว σ_0 เพื่อให้วัสดุเกิดความเครียดดึงคืบ $\varepsilon(0, t)$ ซ้ำ ๆ อย่างถาวร ทำได้อย่างง่าย ๆ โดยใช้ตุ้มน้ำหนัก (dead weight) แขนงถ่วงขึ้นทดสอบ (sample) ดังแสดงใน

รูปที่ 9 นั่นคือ

$$\tau_{33} - \tau_{11} \equiv \sigma = \begin{cases} 0 & t < 0 \\ \sigma_0 & t \geq 0 \end{cases} \quad (43)$$

โดย σ_0 คือค่าความเค้นยืดดึงคงตัว (steady elongational stress) และวัดความยาวที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาดังแสดงใน

ตารางที่ 6 (ก) เมื่อกำหนดให้ความหย่อนคืบยืดดึง (elongational creep compliance) คือ

$$D(t, \sigma_0) \equiv -\frac{\varepsilon(0, t)}{\sigma_0} \quad (44)$$

เมื่อความเครียดขึ้นกับ $\varepsilon(0, t)$ นิยามในสมการที่ (13) ซึ่งหาได้จากความยาวที่เปลี่ยนแปลงไปตามช่วงเวลาที่ได้จากการวัด

ตารางที่ 5. สรุปความเร็วของวัสดุและฟังก์ชันของวัสดุที่เกิดจาก $\tau_{33} - \tau_{11}$ และ $\tau_{22} - \tau_{11}$ ในการทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึง (elongational stress relaxation) แบบต่าง ๆ

การทดสอบ	ความเร็วของวัสดุ ที่เวลา $0 < t \leq t_0$	$-\frac{\tau_{33} - \tau_{11}}{\dot{\varepsilon}_0}$	$-\frac{\tau_{22} - \tau_{11}}{\dot{\varepsilon}_0}$
(ก) การคลายตัวของความเค้น ยืดดึงทิศทางเดียว (uniaxial elongational relaxation) [$b = 0$ และ $\dot{\varepsilon}_0 > 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\frac{\dot{\varepsilon}_0}{2} x_1 \\ -\frac{\dot{\varepsilon}_0}{2} x_2 \\ \dot{\varepsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_E}{\dot{\varepsilon}_0} = \eta_E(t, \dot{\varepsilon}_0)$	0
(ข) การคลายตัวของความเค้น ยืดดึงสองทิศทาง (biaxial elongational relaxation) [$b = 0$ และ $\dot{\varepsilon}_0 < 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\frac{\dot{\varepsilon}_0}{2} x_1 \\ -\frac{\dot{\varepsilon}_0}{2} x_2 \\ \dot{\varepsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_B}{\dot{\varepsilon}_0} = \eta_B(t, \dot{\varepsilon}_0)$	0
(ค) การคลายตัวของความเค้น ยืดดึงระนาบ (planar elongational relaxation) [$b = 1$ และ $\dot{\varepsilon}_0 > 0$]	$\vec{v} = \begin{pmatrix} -\dot{\varepsilon}_0 x_1 \\ 0 \\ \dot{\varepsilon}_0 x_3 \end{pmatrix}_{123}$	$-\frac{\sigma_{P_1}}{\dot{\varepsilon}_0} = \eta_{P_1}(t, \dot{\varepsilon}_0)$	$-\frac{\sigma_{P_2}}{\dot{\varepsilon}_0} = \eta_{P_2}(t, \dot{\varepsilon}_0)$

หมายเหตุ $\eta_E(t, \dot{\varepsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงทิศทางเดียว, $\eta_B(t, \dot{\varepsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงสองทิศทาง และ $\eta_{P_1}(t, \dot{\varepsilon}_0)$ และ $\eta_{P_2}(t, \dot{\varepsilon}_0)$ คือความหนืดยืดดึงในระนาบลำดับที่ 1 และ 2 ในการทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึง

การทดสอบการคลายตัวจากการดึงคืบ

การทดสอบการคลายตัวจากการดึงคืบ (elongational creep recovery test) เกิดจากการหยุดความเค้นยืดคืบคงตัว σ_0 อย่างทันทีทันใดด้วยการเอาตุ้มน้ำหนักออกแล้วเฝ้าดูการตอบสนองของความเครียด $\varepsilon_r(t)$ จากการวัดขนาดของชั้นทดสอบดังแสดงใน

ตารางที่ 6 (ข) โดยมีกำหนดความเค้นยืดคืบดังนี้

$$\tau_{33} - \tau_{11} \equiv \sigma = \begin{cases} \sigma_0 & t < 0 \\ 0 & t \geq 0 \end{cases} \quad (45)$$

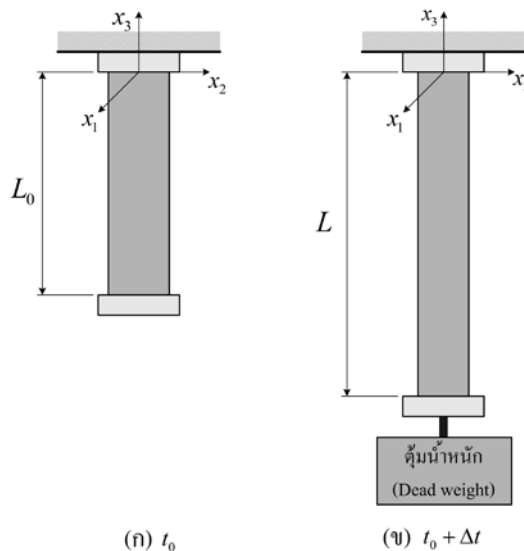
สมบัติทางวิทยากระแสของการทดสอบจะเป็นฟังก์ชันของเวลา t และความเค้นยืดคืบคงตัว σ_0 ที่ใช้ โดยมีค่าการคลายตัวของความหยุ่นคืบยืดคืบ (elongational creep recovery compliance) คือ

$$D_r(t, \sigma_0) \equiv -\frac{\varepsilon_r(t)}{\sigma_0} \quad (46)$$

เมื่อค่าความเครียดคืบผ่อนคลาย $\varepsilon_r(t)$ นิยามในสมการที่ (13) หาได้จาก

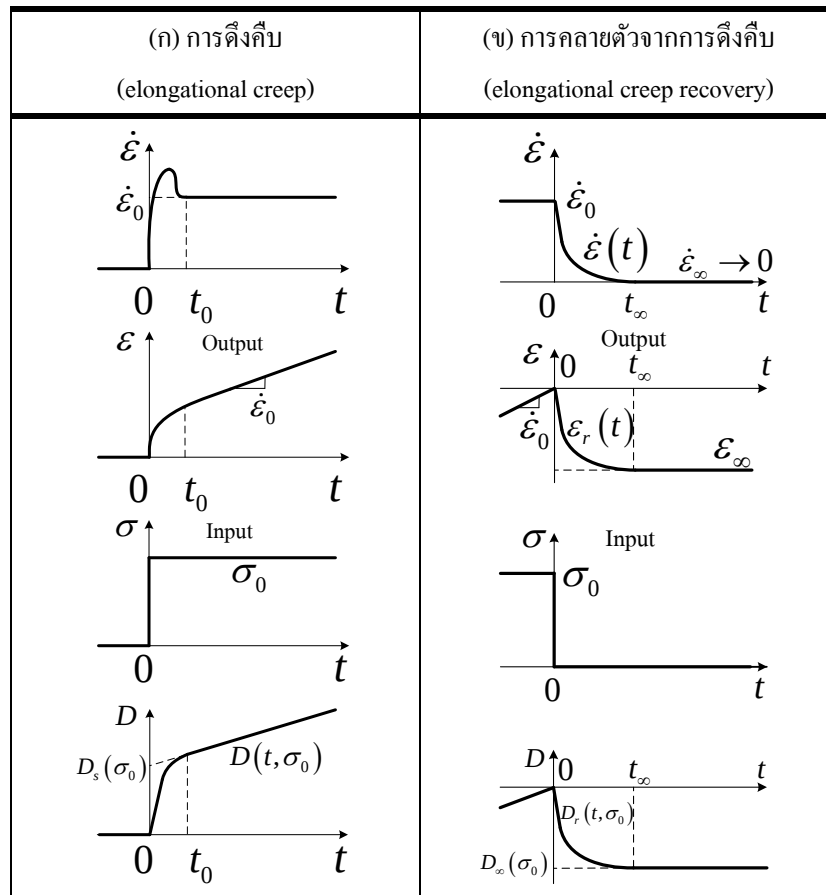
$$\varepsilon_r(t) = \int_0^t \dot{\varepsilon}_r(t') dt' \quad (47)$$

เมื่อ t' คือตัวแปรดัมมี่ของการอินทิเกรต (dummy of integration) ซึ่งจะหายไปหลังจากการแทนค่าเวลาดังแต่ $t' = 0$ ถึง $t' = t$ ใด ๆ แล้ว และมีการทดสอบการดึงคืบตามด้วยการดึงคืบผ่อนคลายที่จะทดสอบเหมือนกับการทดสอบการคืบเลื่อนตามด้วยการคืบเลื่อนผ่อนคลาย



รูปที่ 9. การทดสอบการดึงคืบด้วยแรงคงที่จากตุ้มน้ำหนัก (dead weight) (ก) ที่เวลา t_0 ความยาวของชั้นทดสอบก่อนใส่ตุ้มน้ำหนัก L_0 และ (ข) ที่เวลา $t_0 + \Delta t$ ใด ๆ มีความยาวของชั้นทดสอบ L

ตารางที่ 6. แสดงการควบคุมข้อมูลเข้า-ออก (Input and Output) ในการทดลองการคืบและการคลายตัวจากการคืบ
คืบแบบควบคุมความเค้นยืดดึงคงตัว σ_0 ที่ช่วงเวลาที่ต้องการ



สรุป

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแรงและการเสียรูปของวัตถุที่ทำให้วัตถุเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างถาวรและเกิดเป็นการไหลของสสารในช่วงเวลาที่สนใจเป็นศาสตร์ที่เราเรียกว่าวิทยากระแส (rheology) การทดสอบสมบัติวิทยากระแสยืดดึง (elongational flow experiments) มี 3 รูปแบบคือการทดสอบยืดทิศทางเดียว (uniaxial elongational flow) การทดสอบดึงยืดสองทิศทาง (biaxial stretching flow) และการทดสอบดึงยืดในระนาบ (planar elongational flow) โดยการทดสอบทั้ง 3 แบบจะมีวิธีการทดสอบหลัก ๆ คือ การทดสอบยืดดึงคงตัว (steady elongational flow) การทดสอบยืดหดเป็นรอบ (oscillatory elongation) การทดสอบการเพิ่มความเค้นยืดดึง (elongational stress growth) การคืบ (elongational creep) และการทดสอบการคลายตัวของความเค้นยืดดึงหรือ

การดึงยืดเป็นขั้น (elongation relaxation or step elongational strain) ซึ่งการทดสอบมาตรฐานเหล่านี้ทางสมาคมวิทยากระแสแห่งสหรัฐอเมริกา (society of rheology, USA) ได้ตั้งคณะกรรมการทำข้อตกลงร่วมกันในการกำหนดสมบัติวิทยากระแสและตัวแปรที่ได้จากการทดสอบและได้ประกาศให้กับนักวิจัยที่ทำงานทางด้านวิทยากระแสได้ใช้ตัวแปรและสมบัติวิทยากระแสที่ได้จากการทดสอบเหล่านี้ให้เหมือนกัน

การทดสอบยืดหดเป็นรอบ (oscillatory elongation) เป็นวิธีการทดสอบที่น่าสนใจในการหาสมบัติพลวัตของวิทยากระแส โดยมากจะใช้ทดสอบการล้าตัว (fatigue) ของวัสดุและการเกิดรอยแตกร้าว (crack) ในเนื้อวัสดุจากเครื่องวิเคราะห์เชิงกลพลวัต (dynamic mechanical analyzer, DMA) อีกรูปแบบหนึ่งที่น่าสนใจคือการทดสอบการดึงคืบ (elongational creep) เนื่องจากการทดสอบที่ง่ายด้วยการใช้ตุ้มน้ำหนัก (dead weight) แขนงถ่วงขึ้นทดสอบ (sample) แล้ววัดระยะยืดของชิ้นทดสอบเทียบกับเวลาเท่านั้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ นายพงศ์เทพ พ่วงทอง นักศึกษาระดับปริญญาเอก ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกลและการบิน-อวกาศ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ที่ช่วยอ่านตรวจทานต้นฉบับชุดนี้

เอกสารอ้างอิง

- Ad Hoc Committee on Official Nomenclature and Symbols. (2013). Official symbols and nomenclature of the society of rheology. *Journal of Rheology*, 57(4), 1047-1055. doi: 10.1122/1.4811184
- Anna, S. L. & McKinley G. H. (2001). Elasto-capillary thinning and breakup of model elastic liquids. *Journal of Rheology*, 45(1), 115-138. doi: 10.1122/1.1332389
- ASTM International. (2003). *D 412 – 98a: Standard Test Methods for Vulcanized Rubber and Thermoplastic Elastomers-Tension*. West Conshohocken, PA, USA: American Society for Testing and Materials. doi: 10.1520/D0412-98A
- Bejenariu, A. G., Rasmussen, H. K., Skov, A. L., Hassager, O. & Frankaer, S. M. (2010). Large amplitude oscillatory extension of soft polymeric networks. *Rheologica Acta*, 49(8), 807-814. doi: 10.1007/s00397-010-0464-7
- Bhattacharjee, P. K., Nguyen, D. A., Masubuchi, Y. & Sridhar, T. (2016). Extensional step strain rate experiments on an entangled polymer solution. *Macromolecules*, 50(1), 386-395. doi:10.1021/acs.macromol.6b00823
- Bird, R. B., Armstrong, R. C. & Hassager, O. (1977). *Dynamics of Polymeric Liquids: Volume 1 Fluid Mechanics* (1st ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.

- Bird, R. B., Armstrong, R. C. & Hassager, O. (1987). *Dynamics of Polymeric Liquids: Volume 1 Fluid Mechanics* (2nd ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.
- Bird, R. B., Stewart, W. E., Lightfoot, E. N. & Klingenberg, D. J. (2015). *Introductory Transport Phenomena*. New York, USA: John Wiley and Sons.
- Barroso, V. C., Ribeiro, S. P. & Maia, J. M. (2003). Stress relaxation after a step strain in uniaxial extension of polyisobutylene and polyethylene. *Rheologica Acta*, 42(4), 345-354. doi:10.1007/s00397-002-0284-5
- Brimmo, A. T., & Qasaimeh, M. A. (2017). Stagnation point flows in analytical chemistry and life sciences. *Royal Society of Chemistry Advances*, 7(81): 51206-51232. doi: 10.1039/c7ra11155j
- Cengel, Y. A. & Cimbala, J. M. (2014). *Fluid Mechanics, Fundamentals and Applications* (3rd ed.). New York, USA: McGraw Hill.
- Dealy, J. M. (1984). Official nomenclature for material functions describing the response of a viscoelastic fluid to various shearing and extensional deformations. *Journal of Rheology*, 28(3), 181-195. doi: 10.1122/1.549739
- Dealy, J. M. (1995). Official nomenclature for material functions describing the response of a viscoelastic fluid to various shearing and extensional deformations. *Journal of Rheology*, 39(1), 253-265. doi: 10.1122/1.4765670
- Dessi, C., Vlassopoulos, D., Giacomini, A. J. & Saengow, C. (2017). Elastomers in large-amplitude oscillatory uniaxial extension. *Rheologica Acta*, 56(12), 955-970. doi: 10.1007/s00397-017-1046-8
- Haddad, Y. M. (1995). *Viscoelasticity of Engineering Materials*. New York, USA: Chapman & Hall.
- Jearanaisilawong, P., Nilbuaklee, S. & Kolutawong, C. (2016). *Effects of size, shape and orientation on propagation of sidewall crack in a truck tire*. p. 57. (Abstract: AMR_02_K) The 1st International Conference on Engineering Innovation (ICEI 2016), 6-7 June 2016, Sukosol Hotel, Bangkok.
- Kee, D. D. & Fong, C. M. (1995). Elongational, hysteresis, and oscillatory flows of complex fluids. *Polymer Engineering and Science*, 35(12), 1031-1036. doi: 10.1002/pen.760351211
- Khan, S. A. & Larson, R. G. (1987). Comparison of simple constitutive equations for polymer melts in shear, and biaxial and uniaxial extensions. *Journal of Rheology*, 31(3), 207-234. doi: 10.1122/1.549922
- Khan, S. A. & Larson, R. G. (1990). Erratum: Comparison of simple constitutive equations for polymer melts in shear, and biaxial and uniaxial extensions [*J. Rheol.* 31, 207 (1987)]. *Journal of Rheology*, 34(1), 137-138. doi: 10.1122/1.550119
- Khan, S. A. & Larson, R. G. (1991). Step planar extension of polymer melts using a lubricated channel. *Rheologica Acta*, 30(1), 1-6. doi: 10.1007/bf00366788

- Kolitawong, C. (2003). *A sliding plate rheometer for large deformation viscoelastic measurements*. pp. 841-844. In The 17th Conference of Mechanical Engineering Network of Thailand, 15-17 October 2003, Prachinburi, Thailand.
- Kolitawong, C. & Giacomini, A. J. (2009). Sliding plate rheometer and its applications. *The Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok*, 19(1), 109-115.
- Kolitawong, C. (2018). Rheology property testing of shear flow. *Journal of Science Ladkrabang*, 27(2), 44-64. (in Thai)
- Li, X. & Sarkar, K. (2005). Drop dynamics in oscillating extensional flow at finite Reynolds numbers. *Physics of Fluids*, 17, 027103. doi: 10.1063/1.1844471
- Macosko, C. W. (1994). *Rheology: Principles, Measurements and Applications*. New York, USA: Wiley-VCH.
- McKinley, G. H. & Sridhar, T. (2002). Filament-stretching rheometry of complex fluids. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 34(1), 375-415. doi: 10.1146/annurev.fluid.34.083001.125207
- Menard, H. P. (2008). *Dynamic Mechanical Analysis: A Practical Introduction* (2nd ed.). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Morrison, F. A. (2001). *Understanding Rheology*. New York, USA: Oxford University Press.
- Munson, B. R., Young, D. F. & Okiishi, T. H. (2002). *Fundamentals of Fluid Mechanics* (4th ed.). New York, USA: John Wiley and Sons.
- Nguyen, D. A., Bhattacharjee, P. K. & Sridhar, T. (2015). Response of an entangled polymer solution to uniaxial and planar deformation. *Journal of Rheology*, 59(3), 821-833. doi: 10.1122/1.4917544
- Orr, N. V. & Sridhar, T. (1996). Stress relaxation in uniaxial extension. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 67, 77-103. doi: 10.1016/s0377-0257(96)01487-5
- Orr, N. V. & Sridhar, T. (1999). Probing the dynamics of polymer solutions in extensional flow using step strain rate experiments. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 82(2-3), 203-232. doi: 10.1016/s0377-0257(98)00163-3
- Petrie, C. J. S. (2006). Extensional viscosity: A critical discussion. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 137(1-3), 15-23. doi: 10.1016/j.jnnfm.2006.01.011
- Pritchard, P. J. (2011). *Fox and McDonald's Introduction to Fluid Mechanics* (8th ed.). New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.

- Róžańska, S. (2017). Extensional Rheology in Food Processing. In J. Ahmed, P. Ptaszek & S. Basu (Eds), *Advances in Food Rheology and Its Applications* pp. 125-157. Cambridge, UK: Woodhead Publishing. doi: 10.1016/B978-0-08-100431-9.00006-1
- Sentmanat, M. L. (2003). *Dual Windup Extensional Rheometer, U.S. Patent No. 6,578,413 B2*, Washington DC., USA: U.S. Patent and Trademark Office.
- Sentmanat, M.L. (2004). Miniature universal testing platform for extensional melt rheometer to solid-state deformation behavior. *Rheologica Acta*, 43, 657-669. doi: 10.1007/s00397-004-0405-4
- Sharma, R. K., Furusawa, K., Fukui, A. & Sasaki, N. (2014). Effects of a flow field on amyloid fibrillogenesis in a β -lactoglobulin solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 490-497. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.06.034
- Song, Y., Zheng, Q. & Wang, Z. (2007). Equibiaxial extensional flow of wheat gluten plasticized with glycerol. *Food Hydrocolloids*, 21(8), 1290-1295. doi: 10.1016/j.foodhyd.2006.10.007
- Soskey, P. R. & Winter, H. H. (1984). Large step shear strain experiments with parallel-disk rotational rheometers. *Journal of Rheology*, 28(5), 625-645. doi:10.1122/1.549770
- Soskey, P. R. & Winter, H. H. (1985). Equibiaxial extension of two polymer melts: Polystyrene and low density polyethylene. *Journal of Rheology*, 29(5), 493-517. doi:10.1122/1.549799
- Tanner, R. I. (2002). *Engineering Rheology* (2nd ed.). Oxford: Oxford University Press.
- Taylor, G. I. (1934). The Formation of Emulsions in Definable Fields of Flow. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A*, 146(858), 501-523.
- Torres, M. D., Hallmark, B. & Wilson, D. I. (2014). Effect of concentration on shear and extensional rheology of guar gum solutions. *Food Hydrocolloids*, 40: 85-95.
- Trouton, F. T. (1906). On the coefficient of viscous traction and its relation to that of viscosity. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 77(519), 426-440. doi: 10.1098/rspa.1906.0038
- Wang, Y., Cheng, S. & Wang, S.-Q. (2011). Basic characteristics of uniaxial extension rheology: Comparing monodisperse and bidisperse polymer melts. *Journal of Rheology*, 55(6): 1247-1270.
- Wangchai, S. (2005). *Finite element analysis of heat generation in particle filled natural rubber vulcanizates during cyclic deformation*. (Master Thesis) Department of Mechanical Engineering, King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok, Thailand. (in Thai)

- Wangchai, S., Kolutawong, C. & Chaikittiratna, A. (2008). Finite element simulation for heat built-up in vulcanized natural rubber subjected to dynamic load. *Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok*, 18(3), 49-61. (in Thai)
- Wangchai, S., Kolutawong, C. & Chaikittiratna, A. (2011). Finite element analysis of heat generation in particle filled natural rubber vulcanizates during cyclic deformation. *Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok*, 21(1), 754-762. (in Thai)
- White, F. M. (2003). *Fluid Mechanics* (4th ed.). New York, USA: McGraw Hill.