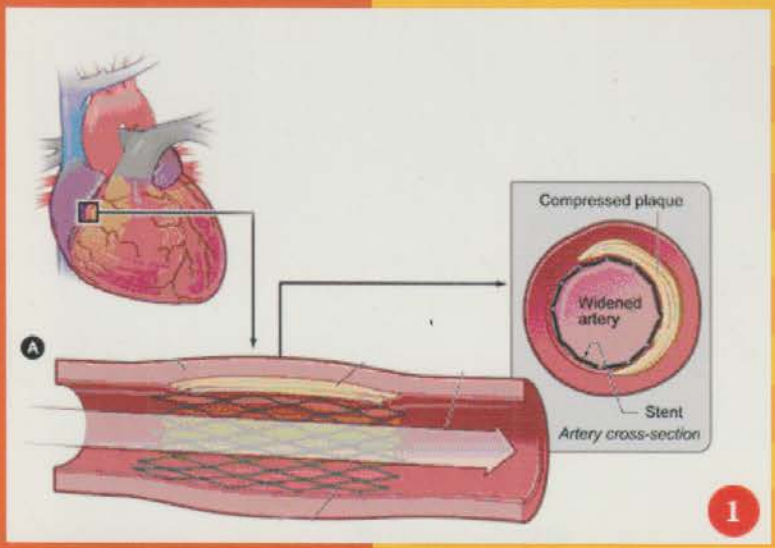
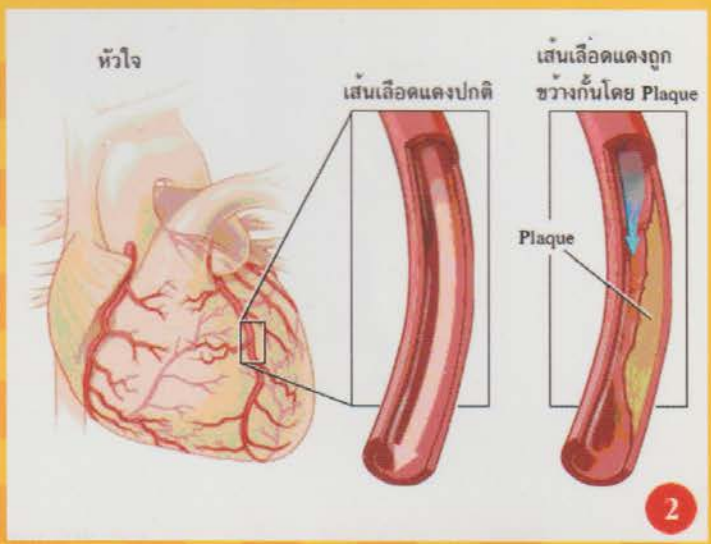
KKU SCIENCE JOURNAL

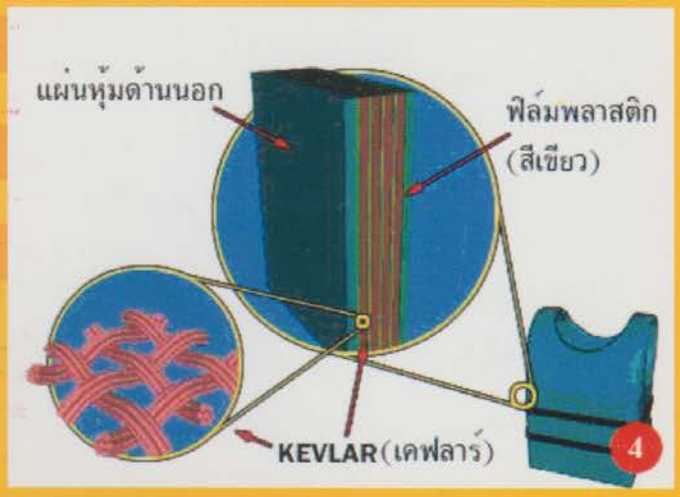
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 2553) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)

ISSN : 0125-2364







ที่มา : วัสดุฉลาดกับการประยุกต์

1. http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/stents/stents_risk.html)
2. http://myhealth.ucsd.edu/library/healthguide/en-us/support/topic.asp?hwid-zm2633)
3. Schwartz Mel, 2002
4. http://static.howstuffworks.com/gif/body-armor-layers.jpg)

KKU SCIENCE JOURNAL
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.
ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 53) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)
ISSN 0125 - 2364

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์ ตึก 6 มหาวิทยาลัยขอนแก่น
อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
โทรศัพท์ 0-4320-2372 โทรสาร 0-4320-2371

วัตถุประสงค์

1. เพื่อส่งเสริมและเผยแพร่วิทยาการในสาขาวิชาต่าง ๆ ทางด้านวิทยาศาสตร์
2. เพื่อเผยแพร่ผลงานทางด้านการวิจัย และการศึกษา ค้นคว้าของอาจารย์และนักศึกษา
3. เพื่อเป็นสื่อกลางการแลกเปลี่ยนความรู้ และแนวความคิดทางวิชาการระหว่างอาจารย์ นักศึกษา และผู้สนใจ ทั้งภายในและภายนอกสถาบัน

กำหนดออก ปีละ 4 ฉบับ

ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม
ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน
ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน
ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม

ที่ปรึกษา คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ (เกียรติ แสงอรุณ)

บรรณาธิการ สมปอง ธรรมศิริรักษ์

กองบรรณาธิการ
กิตติ เอกอำพน
ชุติมา หาญจวณิช
ศักดา ดาดวง
ศาสตรา วงศ์ธนวสุ
ศุภลักษณ์ ศรีจารนัย
สมเดช กนกเมธากุล
สุจิตรา ยังมี
สุพรรณี อึ้งปัญสัตวงศ์
อำนวย มณีศรีวงศ์กูล
กิตติกร นาคประสิทธิ์
งามนิจ อาจอินทร์
วิไลลักษณ์ ศิริพรอดุลศิลป์
อัจฉราภรณ์ ภักดี
กัลยา กองเงิน
เกียรติสุดา นาคประสิทธิ์
นงลักษณ์ มีทอง
พรพิมล เจียระนัยปรีเปรม
พลสัณห์ มหาขันธ์
รินา ภัทรมานนท์
วิจารณ์ สดศิริ
ศรีประจักร์ ครองสุข

ฝ่ายศิลป์และภาพ กิเลน ติณนรเศรษฐ์

ฝ่ายจัดการและเลขานุการ
สุภาพร พิมพ์วาปี
พิกุล ราชพลแสน
ศักดิ์สิทธิ์ สุวรรณ์
จิราภรณ์ พิมพ์ภูมี
จรูญลักษณ์ สุพร

"ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา"

บทความหรือข้อคิดเห็นใด ๆ ในวารสารนี้เป็นของผู้เขียน ไม่จำเป็นต้องสอดคล้องกับทัศนะของกองบรรณาธิการ

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.
ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 53) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)
ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 53) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)

ISSN 0125 - 2364

บทความ

งานวิจัย

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 53) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)

ISSN 0125 - 2364

29 JUN 2011

Stang Mongkolsuk Library
Faculty of Science, Mahidol University

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.
ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 53) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)
ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

สารบัญ Table of Contents

KKU SCIENCE JOURNAL

วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 53) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)

ISSN 0125 - 2364

งานวิจัย

KKU SCIENCE JOURNAL
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.
ปีที่ 38 ฉบับที่ 4 (ต.ค. - ธ.ค. 53) Vol. 38 No. 4 (Oct. - Dec. 2010)
ISSN 0125 - 2364

Advisory Committee Dean, Faculty of Science (Kiat Sangaroon)

Editor Sompong Thammasirirak

Editorial Board
Kitti Akamphon
Chutima Hanjavanit
Sakda Daduang
Sartra Wongthanavasu
Supalax Srijaranai
Somdej Kanokmedhakul
Sujittra Youngme
Supunnee Ungpansattawong
Amnuay Maneesriwongkul
Kittikorn Nakpasit
Ngamnit Art-In
Wilailak Siripornadulsil
Adcharaporn Pagdee
Kanlaya Kong-ngern
Keaitsuda Nakprasit
Nonglak Meethong
Pornpimol Jieranaipreeprem
Polson Mahakhan
Rina Pattaramanon
Wijarn Sodsiri
Sriprajak Krongsuk

Artists Kilen Tinnoraset

Managing Staff and Secretary
Suphaporn Phimwapi
Phikun Ratphonsan
Saksit Suwan
Jiraporn Pimphumee
Jaroonluk Suporn

Publisher

Faculty of Science, Khon Kaen University, Thailand.

Office

Faculty of Science, Building 6, Khon Kaen University. Khon Kaen Thailand, 40002
Tel. 0-4320-2372 Fax 0-4320-2371

Objectives

1. To promote dissemination of knowledge in all fields of science.
2. To publish research results of faculty, researchers and students.
3. To be a medium for the exchange of knowledge and ideas among faculty, researchers and students of Khon Kaen University and other institutions.

Publishing frequency

KKU Science Journal is a quarterly journal. Each volume consists of 4 numbers.

Number 1 January - March
Number 2 April - June
Number 3 July - September
Number 4 October - December

" With the Financial Support of the Commission on Higher Education "

The views and opinions expressed in this journal are those of the author(s), and do not necessarily reflect the views and opinions of the editorial board.

บรรณาธิการแถลง

เรียน **ท่านผู้อ่านที่เคารพรักทุกท่าน**

ในที่สุดก็ถึงเล่มสุดท้ายของปี 2553 เล่มที่ 38 แล้ว ซึ่งก็ขอขอบพระคุณท่านผู้อ่านและอาจารย์นักวิจัยทุกท่าน ที่ส่งบทความวิจัยมาตีพิมพ์กับวารสารเรา และต้องขอบอกอีกครั้งว่า เรายังคงคุณภาพของวารสารที่มี peer review ที่เข้มข้น และตีพิมพ์อย่างรวดเร็วตามเวลา ซึ่งค่า impact factor ของฐานข้อมูล Thai Citation Index (TCI) ของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยสำหรับปี 2552 พบว่า วารสารของเราก็ยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่มีค่า impact factor

อย่างไรก็ตามนะคะ มีพบก็ต้องมีจาก เนื่องจากภาระงานที่เยอะมาก ในฉบับต่อไปเล่มที่ 39 ก็ขอต้อนรับกองบรรณาธิการชุดใหม่ที่จะเข้ามาทำหน้าที่แทนตัวดิฉัน และขอโอกาสนี้อวยพรให้ทั้งท่านผู้อ่าน และกองบรรณาธิการชุดใหม่โชคดี มีความสุขต้อนรับปีใหม่ค่ะ

สมปอง ธรรมศิริรักษ์

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข. ขอกราบขอบพระคุณท่านผู้ทรงคุณวุฒิที่กรุณาให้เกียรติพิจารณาบทความวิจัยและบทความปริทัศน์ เพื่อลงวารสาร ฉบับปีที่ 38 (ปี พ.ศ. 2553) ดังรายนามต่อไปนี้ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะได้รับความกรุณาจากท่านตลอดไป

รศ.ดร. กนกอร อินทราพิเชฐ
รศ.ดร. จรัสศรี นวลศรี
รศ.ดร. ชุติมา หาญจวณิช
รศ.ดร. ฐปน ชื่นบาล
รศ.ดร. ณฐนนท์ ตราชู
รศ.ดร. ดวงแก้ว สวามิภักดิ์
รศ.ดร. ดวงรัตน์ อินทร
รศ.ดร. ธวัช ชิตตระการ
รศ.ดร. ปราณี ภิญโญชีพ
รศ.ดร. เพียงพบ มนต์นวลปรางค์
รศ.ดร. มาลินี ชัยศุภกิจสินธ์
รศ.ดร. ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา
รศ.ดร. รสริน ว่องวิไลรัตน์
รศ.ดร. รัตนา สนั่นเมือง
รศ.ดร. วสันณ์ เพชรรัตน์
รศ.ดร. วัชรพงษ์ โขวิฑูรกิจ
รศ.ดร. วารี เนื่องจำนงค์
รศ.ดร. ศุภลักษณ์ ศรีจารนัย
รศ.ดร. สมเกียรติ ปรัชญาวรากร
รศ.ดร. สันติ แม้นศิริ
รศ.ดร. สาธิต แซ่จึง
รศ.ดร. สืบสกุล อยู่ยืนยง
รศ.ดร. สุกัญญา วงศ์พรชัย
รศ.ดร. สุเทพ ธนียวัน
รศ.ดร. สุปาณี ลิ้มสุวรรณ
รศ.ดร. สุรศักดิ์ นิลนนท์
รศ.ดร. อดิศร กระแสชัย
รศ.ดร. อนงค์นาฏ ศรีวิหค
รศ.ดร. อำพา เหลืองภิรมย์
รศ.ดร. อิทธิพล แจ้งชัด
รศ.ดร.พญ. รัตนา บรรเจิดพงษ์ชัย
รศ. งามนิจ นนทโส
รศ. นิพนธ์ ไชยมงคล
รศ. พัชรินทร์ เหมโชติ
รศ. ลาวัลย์ ศรีพงษ์
รศ. สุพรรณี อึ้งปัญสัตวงศ์
รศ. อาชีซัน แกสมาน

ผศ.ดร. กรรณิการ์ สหกะโร
ผศ.ดร. กาญจนา รุ่งรัชกานนท์
ผศ.ดร. กานดา ปานทอง
ผศ.ดร. จารุวรรณ ศิริเทพทวี
ผศ.ดร. จิรดา แฮร์บส์ท
ผศ.ดร. ชนนิษฎ์ ชูพยัคฆ์
ผศ.ดร. ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์
ผศ.ดร. ชลลดา ฤตวิรุฬห์
ผศ.ดร. ดรุณี วัฒนศิริเวช
ผศ.ดร. นราธิป วิทยากร
ผศ.ดร. นิศานาถ ไตรผล
ผศ.ดร. บังอร กุมพล
ผศ.ดร. บุญศรี จงเสรีจิตต์
ผศ.ดร. บุษยรัตน์ ธรรมพัฒนกิจ
ผศ.ดร. ประสาร สวัสดิ์ชิตัง
ผศ.ดร. ประเสริฐ มีรัตน์
ผศ.ดร. ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ
ผศ.ดร. ปวีณา พงษ์ดนตรี
ผศ.ดร. ปาริชาติ พุ่มขจร
ผศ.ดร. พงษ์เทพ วิไลพันธ์
ผศ.ดร. พยุง มีสัจ
ผศ.ดร. พิชญอร ไหมสุทธิสกุล
ผศ.ดร. ไพรัช ทาบสีแพร
ผศ.ดร. มณฑล อนงค์พรยศกุล
ผศ.ดร. มัลลิกา ชมนาวัง
ผศ.ดร. ยอดธง ใบมาก
ผศ.ดร. รัตติกร ยิ้มหิรัญ
ผศ.ดร. วราภรณ์ บุญทรัพย์ทิพย์
ผศ.ดร. วิม เหนือเพ็ง
ผศ.ดร. ศุภลักษณ์ วิรัชพินทุ
ผศ.ดร. สมร หิรัญประดิษฐกุล
ผศ.ดร. สริน ศรีปรางค์
ผศ.ดร. สุนันท์ ชัยนะกุล
ผศ.ดร. อนุชิตา มุ่งงาม
ผศ.ดร. อภิรดี ปิลันธนภาคย์
ผศ.ดร. อรุณศรี ลีจีรจำเนียร
ผศ.ดร. อุดมพร แพ่งนคร

ผศ. ชัยศรี ธาราสวัสดิ์พิพัฒน์
ผศ. มลฑา เมืองทรัพย์
ผศ. เรณู ทวิชชาติวิทยากุล
ผศ. สายชล สินสมบูรณ์ทอง
ผศ. สุดสายชล หอมทอง
ผศ. สุนทรี ขุนทอง
ผศ. สุรชัย สมผดุง
ผศ. เสรี พุฒพัฒน์
ผศ. อนุรัตน์ ลิ่มสกุล
ดร. สุรีรัตน์ อารีรักษ์สกุล ก้องโลก
ดร. กฤษณา ศิริพล
ดร. กลศ พัฒนะรพีเลิศ
ดร. จงพันธ์ จงลักษมณี
ดร. จินตมัย สุวรรณประทีป
ดร. ช. วยากรณ์ เพ็ชญไพศิษฏ์
ดร. นพรัตน์ โพธิ์ชัย
ดร. พงษ์ธร แซ่อุย
ดร. พันธ์ทิพย์ กล่อมเจ๊ก
ดร. มนตรี ทองมูล
ดร. วรเทพ มุธุวรรณ
ดร. วรรณรัตน์ แซ่ชั่น
ดร. วรรณา อัมมวรรธน์
ดร. วิริยา พรมกอง
ดร. ศรัณยู คำเมือง
ดร. ศิริพร ลาภเกียรติถาวร
ดร. สงกรานต์ เชื้อครุฑ
ดร. สมพร เกษแก้ว
ดร. สาน วิไล
ดร. สุภาพร พงศ์ธรพฤกษ์
ดร. เสาวณิต สุขภารังษี
ดร. อรรถวุฒิ อิ่มพูลทรัพย์
ดร. อังคณา บุญยืด
ดร. อุษา กลิ่นหอม
อ. ธารีรัตน์ ธนัตถ์พาณิชย์
อ. ปริญญา วงษา
อ. พงษ์รัตน์ ดำรงโรจน์วัฒนา
อ. สุรศักดิ์ นุ่มมีศรี

บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ว.วิทย. มข. 38(4) 439-449 (2553) KKU Sci. J.38(4) 439-449 (2010)

การประยุกต์ใช้แบคทีเรียแลคติคในงานสิ่งแวดล้อม

Applications of Lactic Acid Bacteria for Environmental Approaches

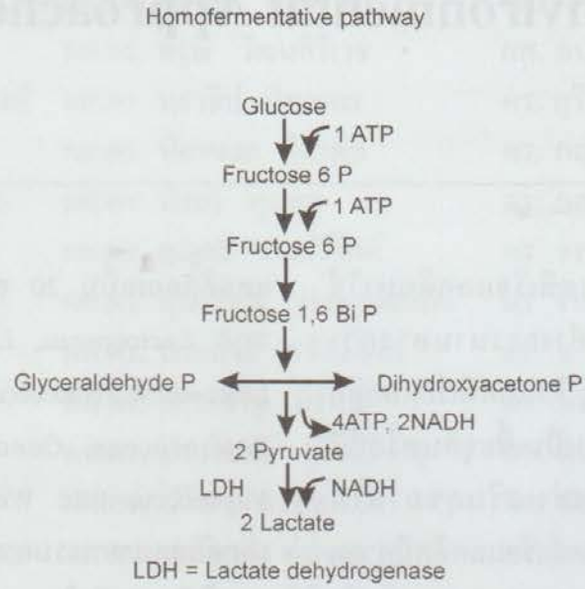
พิสิฐ ศรีสุริยจันทร์ [1]

มนุษย์ได้มีการนำแบคทีเรียแลคติคมาใช้ประโยชน์ในอาหารหมักมาอย่างยาวนานมากกว่า 4,000 ปีมาแล้ว ทำให้ในปัจจุบันแบคทีเรียแลคติกเป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางว่าเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและช่วยส่งเสริมสุขภาพให้ผู้บริโภคแข็งแรง เนื่องจากแบคทีเรียแลคติคมีความปลอดภัยสูง (Generally Recognized as Safe; GRAS) จึงได้มีการใช้แบคทีเรียกลุ่มนี้มาเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติค เพื่อป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเจริญแล้วเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคในระบบทางเดินอาหาร รักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น เป็นที่ทราบกันดีว่า แบคทีเรียแลคติคมีความต้องการสารอาหารที่ค่อนข้างสมบูรณ์ครบถ้วน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโนและสารส่งเสริมการเจริญ (growth factors) เพื่อใช้ในการเจริญ ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติค จึงจำเป็นที่จะต้องเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อให้ตรงตามความต้องการของแบคทีเรียแลคติคในแต่ละชนิดเพื่อการใช้ประโยชน์ในการผลิตเซลล์ กรดแลคติค การผลิตสารแบคเทอริโอซิน (Bacteriocins) เป็นต้น ได้มีการจัดจำแนกแบคทีเรียแลคติคออกเป็น 20 สกุล แต่มีแบคทีเรียแลคติคในสกุล *Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Aerococcus, Carnobacterium, Enterococcus, Oenococcus, Tetragenococcus, Vagococcus* และ *Weisella* ที่มีบทบาทสำคัญอย่างมากต่ออุตสาหกรรมอาหาร (Axelsson, 2004) โดยมีแบคทีเรียแลคติคในสกุล Lactobacillus มีจำนวนสปีชีส์มากที่สุดถึง 70 สปีชีส์ (Seppo and von Wright, 1993; Axelsson, 2004) แบคทีเรียแลคติคเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างคะตาเลส (Catalase) เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างตั้งแต่ 5 - 45 องศาเซลเซียส สามารถเจริญและอยู่รอดได้ในอาหารที่เป็นกรดโดยมีช่วงการเจริญสูงที่สุดในช่วงพีเอชระหว่าง 5.5 - 6.5 บางทีอาจจะพบแบคทีเรียแลคติคบางชนิดที่สามารถอยู่รอดได้ในอาหารที่มีพีเอชต่ำถึง 3 ไม่ต้องการอากาศในการเจริญและในกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) สามารถเปลี่ยนน้ำตาลหรือสารคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นให้เป็นกรดแลคติคได้ แบคทีเรียแลคติคยังสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักที่แบคทีเรียแลคติคผลิต

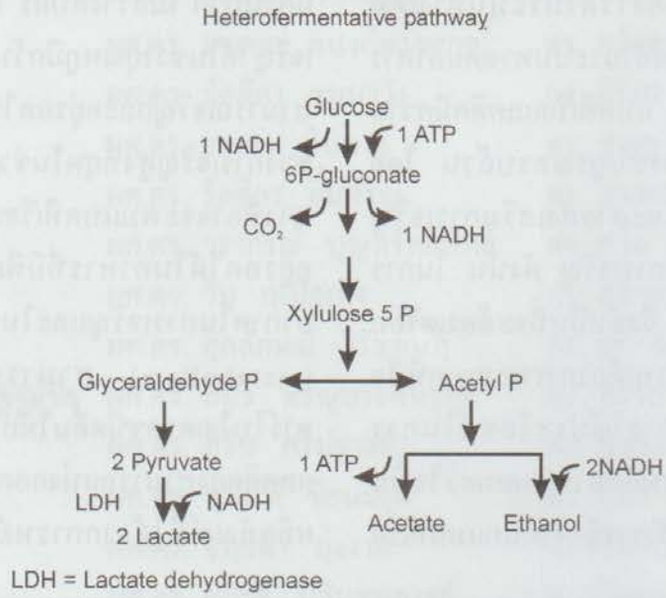
[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

E-mail: phisit.s@chiangmai.ac.th, phisit.seesuriyachan@gmail.com

ขึ้นในระหว่างการเจริญ คือ โฮโมเฟอร์เมนท์เททีฟ (Homofermentative) เป็นแบคทีเรียแลคติคที่มีการผลิตกรดแลคติคจากกลูโคสสูงถึงร้อยละ 85 โดยวิถีเอ็มเดนเมเยอร์ฮอฟ (Embden-Meyerhof pathway) ดังรูปที่ 1 และเฮเทอร์โรเฟอร์เมนท์เททีฟ (Heterofermentative) เป็นแบคทีเรียแลคติคที่ผลิตกรดแลคติคต่ำเพียงร้อยละ 50 ส่วนที่เหลือจะเป็นเอธานอลและแก๊สคาร์บอนไดออกซ์ไซด์ผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลส (Phosphoketolase pathway) ดังรูปที่ 2 สัดส่วนของสารเคมีดังกล่าวที่แบคทีเรียแลคติคกลุ่มนี้ผลิตขึ้นจะแปรผันตามสภาวะแวดล้อมในการเจริญ (Seppo and von Wright, 1993; Salminen and von Wright, 1998; Axelsson, 2004)



รูปที่ 1 การได้พลังงานของแบคทีเรียแลคติคพวกโฮโมเฟอร์เมนท์เททีฟผ่านทางวิถีเอ็มเดนเมเยอร์ฮอฟ (ที่มา: ดัดแปลงจาก Salminen and von Wright, 1998)



รูปที่ 2 การได้พลังงานของแบคทีเรียแลคติคพวกเฮเทอร์โรเฟอร์เมนท์เททีฟผ่านทางวิถีฟอสโฟคีโตเลส (ที่มา: ดัดแปลงจาก Salminen and von Wright, 1998)

การใช้แบคทีเรียแลคติคเพื่อการเพิ่มมูลค่าจากของเหลือทิ้งทางการเกษตร

สภาวการณ์ในปัจจุบันของเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นปัญหาในการจัดการอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคเหนือและในภาคตะวันออกเฉียงเหนือบางส่วนของประเทศไทย เนื่องจากเกษตรกรนิยมที่จะเลือกเผาทำลาย วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้จึงมีผลทำให้เกิดเขม่าควันฟุ้งกระจายปกคลุมพื้นที่ในช่วงฤดูร้อนที่ผ่านมา และปัญหานี้ดูเหมือนจะยิ่งทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นในทุกๆ ปีและยังไม่สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้ ส่งผลให้สุขภาพของประชาชนแย่ลงเป็นโรคภูมิแพ้และโรคในระบบทางเดินหายใจเพิ่มมากขึ้น ทางหนึ่งที่อาจจะช่วยให้ปัญหานี้ลดลงได้คือ การเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งทางการเกษตรให้สูงขึ้นเพื่อจูงใจให้เกษตรกรนำของเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้มาจำหน่ายให้กับโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งอาจจะช่วยลดการเผาทำลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของเกษตรกรลง และจากการรวบรวมวรรณกรรมเกี่ยวกับการเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยแบคทีเรียแลคติคในการผลิตกรดแลคติค พบว่าได้มีการใช้สารที่ได้จากการย่อยวัสดุทางการเกษตรด้วยกรด เช่น ฟางข้าว ลำต้นข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง เศษไม้ เศษหญ้า เศษหนังสือพิมพ์เก่า เป็นต้น หรืออาจจะใช้แป้งคุณภาพต่ำของแป้งมันฝรั่ง แป้งมันสำปะหลัง ใช้โมลาส เวย์ หางนม น้ำแช่ข้าวโพด ในการนำมาเป็นแหล่งอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติค โดยผลผลิตจะได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของแหล่งไนโตรเจน ชนิดของกระบวนการหมักที่เลือกใช้ สายพันธุ์แบคทีเรียแลคติค ธาตุอาหารเสริม และปัจจัยทางกายภาพ เป็นต้น (Bofvendahl and Hahn-Hägerdal, 2000; Reddy et al., 2008; Wee and Ryu, 2009) นอกจากนี้ยังมีการใช้แบคทีเรียแลคติคผลิตสารเคมีมูลค่าสูง เช่น แมนนิทอล (Wisselink et al., 2002) แบคเทอริโอซิน (Salminen and von Wright, 1998) เอ็กซ์โซพอลีแซกคาไรด์ (Exopolysaccharide) (Seesuriyachan et al., 2010)

ศักยภาพในการย่อยสารย่อยยากและสารฟีนอลิก (Phenolic compounds) ด้วยแบคทีเรียแลคติค

สารฟีนอลิกเป็นสารเคมีที่สามารถพบได้ทั่วไปในพืชและเป็นสารที่มีวงแหวนเบนซิน (benzene ring) เป็นองค์ประกอบทางเคมีจึงทำให้สารชนิดนี้จัดเป็นสารย่อยยากชนิดหนึ่ง โรงงานอุตสาหกรรมผักและผลไม้โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรงงานมะกอกมีปัญหาในการจัดการน้ำเสียและของเสียจากกระบวนการผลิตเป็นอย่างมาก เนื่องจากเมื่อน้ำเสียที่มีปริมาณสารฟีนอลิกปนเปื้อนอยู่สูง เมื่อไหลลงสู่ระบบบำบัดน้ำเสียขั้นที่สองจะทำให้ระบบบำบัดมีปัญหา เพราะสารฟีนอลิกจะยับยั้งกิจกรรมและการเจริญของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบบำบัด โรงงานจึงแก้ปัญหาด้วยวิธีการลดปริมาณสารฟีนอลิกในน้ำเสียก่อนปล่อยให้น้ำเสียนั้นไหลลงสู่ระบบบำบัด จากการศึกษาศักยภาพการย่อยสารย่อยยากและสารฟีนอลิกของแบคทีเรียแลคติคสรุปโดย Rodriguez et al. (2009) พบว่า *Lactobacillus plantarum* สามารถย่อยสลายสารย่อยยากต่างๆ ได้มากมายหลายชนิด เช่น เบนซิลแอลกอฮอล์ (Benzyl alcohol) กรดคาฟ์เฟอิก (Caffeic acid) ซินนามิลแอลกอฮอล์ (Cinnamyl alcohol) กรดคูมาริก (Coumaric acid) กรดเฟอร์รูลิก (Ferulic acid) กรดกัลลิก (Gallic acid) กรดโพโตเคทชูอิก (Protocatechuic acid) กรดคิวนิก (Quinic acid) กรดแทนนิก (Tannic acid) เป็นต้น โดยอาศัยเอนไซม์แทนเนส (Tannase) เอนไซม์ฟีนอลิกแอสิดดีคาร์บอกซิเลส (Phenolic acid decarboxylase) เอนไซม์เบนซิลแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Benzyl alcohol dehydrogenase) เป็นต้น (Rodríguez et al., 2009) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาศักยภาพในการย่อยสารย่อยยากพวกฟีนอลิกของแบคทีเรียแลคติคชนิดอื่น เช่น *Lactobacillus hilgardii* (Alberto et al., 2004) *Lactobacillus brevis* (De las Rivas et al., 2009; Curiel et al., 2010) *Pediococcus pentosaceus* (De las Rivas et al., 2009) และ *Oenococcus oeni* (Boido et al., 2002) เป็นต้น ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนา

ใช้แบคทีเรียแลคติคในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานมะกอกดองด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* (Lamia and Moktar, 2003; Kachouri and Hamdi, 2004) โดยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* จะมีการย่อยสลายสารฟีนอลิกให้มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลง สีของน้ำเสียจางลง ร้อยละ 58 ทำให้ลดค่าซีโอดี (COD; Chemical Oxygen Demand) ของน้ำเสียได้ร้อยละ 55 และสามารถกำจัดสารฟีนอลิกรวมลดลง ร้อยละ 46 ส่วนการใช้ *Lactobacillus paracasei* และมีการเติมน้ำเวย์ในขั้นตอนการบำบัด พบว่าสามารถกำจัดสีในน้ำเสียได้ร้อยละ 47 และกำจัดสารฟีนอลิกรวมลดลงร้อยละ 22.7 หากมีการใช้ปูนขาวร่วมด้วยจะทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียเพิ่มขึ้นสามารถกำจัดสีได้สูงขึ้นเป็นร้อยละ 93 และกำจัดสารฟีนอลิกรวมได้เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 50 (Aouidi et al., 2009) และได้มีการเติมกลูโคสกับสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ในการใช้เชื้อ *Oenococcus oeni* เพื่อการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานมะกอก พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดให้สูงขึ้นได้ (Ben Othman et al., 2008) นอกจากนี้ได้มีการใช้ *Lactobacillus plantarum* No. PV71-1861 ย่อยสารสีเมลานอยดิน (Melanoidin pigment; MP) ในน้ำทิ้งโมลาส ปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์นี้สามารถย่อยสารสีเมลานอยดินได้ร้อยละ 68.12 เมื่อมีการเติมกลูโคสร้อยละ 2 สารสกัดจากยีสต์ร้อยละ 0.4 KH_2PO_4 0.1%, $MgSO_4 \bullet 7H_2O$ 0.05% และมีการปรับพีเอชเป็น 6 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยไม่เขย่าในขณะบ่มเชื้อในเวลา 7 วัน (Tondee and Sirianuntapiboon, 2008)

การย่อยสีอะโซ (Azo dye) ด้วยแบคทีเรียแลคติค

สีอะโซมีใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมย้อมผ้า อาหาร เครื่องสำอาง สิ่งพิมพ์ เป็นต้น เนื่องจากราคาถูก สีสดใส คงทนและง่ายต่อการใช้ ประมาณกันว่าทั่วโลกมีการใช้สีในกลุ่มนี้มากกว่า 1 ล้านตันต่อปี และร้อยละ 20 ของสีที่ใช้นี้ได้มีการปล่อยลงสู่ธรรมชาติโดยไม่ได้รับการบำบัด (Stolz, 2001) น้ำทิ้งจากโรงงานย้อมผ้าจะมีสีอะโซอยู่ในช่วง 10 - 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Levine, 1991) การปล่อยน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีอะโซออกมาสู่สิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดปัญหาภาวะมลพิษและทัศนียภาพทางสิ่งแวดล้อมตามมา นอกจากนี้สีอะโซแทบทุกชนิดมีส่วนประกอบที่เป็นพิษ ย่อยสลายตามธรรมชาติได้ยาก บางชนิดมีโครงสร้างทางเคมีที่มีคุณลักษณะเป็นสารก่อมะเร็ง และสีที่ปนเปื้อนลงไปในแหล่งน้ำมีผลบดบังการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนและพืชน้ำ ทำให้ห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศน์ขาดความสมดุล น้ำทิ้งที่ระบายจากโรงงานสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติจึงควรได้รับการบำบัดให้ได้มาตรฐานเสียก่อน โดยทั่วไปการกำจัดสีของน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมจะใช้วิธีการทางกายภาพและเคมี เช่น การใช้โอโซน (ozone treatment) การแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange) การกรองด้วยแผ่นเยื่อ (membrane filtration) และการตกตะกอนด้วยสารเคมี (chemical coagulation) แต่วิธีการบำบัดดังกล่าวมีข้อเสียคือมีสลัดจ์เคมี (chemical sludge) และเกิดสารที่มีความเป็นพิษเหลืออยู่ในปริมาณมาก อีกทั้งค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง ดังนั้นการใช้วิธีบำบัดทางชีวภาพจึงเหมาะสมและประหยัดค่าใช้จ่าย มีรายงานว่าสีอะโซและสารอินเตอร์มีเดียต (intermediate) ที่เกิดขึ้นภายหลังการย่อยสลายมีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งและสารก่อการกลายพันธุ์ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในน้ำทิ้งและระบบบำบัดจากโรงงานอุตสาหกรรม (Robinson et al., 2001) หากน้ำทิ้งเหล่านี้ถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติจะก่อให้เกิดการตายของสัตว์และพืชใต้น้ำ เนื่องจากแสงไม่สามารถส่องลงสู่ใต้พื้นน้ำและจะมีปัญหาการขาดออกซิเจนที่ละลายในน้ำตามมา ดังนั้นการบำบัดสีที่ปนเปื้อนกับน้ำทิ้งจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง การใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการบำบัดน้ำทิ้งที่มีการปนเปื้อนสีอะโซนั้นมีข้อดีกว่าวิธีการทางเคมี คือ ราคาถูก ไม่มีค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมี ไม่มีปัญหาในการกำจัดตะกอนเคมีที่เกิดขึ้น ไม่เกิดสารเคมีที่เป็นพิษภายหลังจากการบำบัด อีกทั้งมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

จึงไม่น่าแปลกใจว่าทำไมจึงมีความพยายามในการค้นหาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสีอะโซได้ในช่วงกว้างและมีประสิทธิภาพ จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้มีการวิจัยการใช้ชีววิธีเพื่อการบำบัดสีอะโซ ได้มีการรวบรวมงานวิจัยการย่อยสีอะโซโดยเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และรา (Pearce et al., 2003) กลไกการย่อยสีอะโซสามารถเกิดขึ้นได้ 3 สภาวะ คือ

1. สภาวะไร้อากาศ (anaerobic) โดยมากจะเป็นจุลินทรีย์พวกเมธาโนเจน (methanogen) ซึ่งจะต้องมีการให้สารอินทรีย์ที่จำเป็นเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานต่อการเจริญและการย่อยสี การย่อยสีในสภาวะไร้อากาศเช่นนี้ไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อโครงสร้างทางเคมีของสี จุลินทรีย์สามารถย่อยสีโดยมีอัตราเร็วในการย่อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสี และความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เติมเข้าไป (Mendez-Paz et al., 2005)

2. สภาวะแอนอกซิก (anoxic) จุลินทรีย์ที่มีส่วนในการย่อยสีมี 2 พวก คือ จุลินทรีย์ผสมระหว่างพวกที่ใช้ออกซิเจน (aerobic) และพวกที่สามารถใช้และไม่ใช้ออกซิเจนที่อยู่ในรูปไนเตรท (nitrate) และซัลเฟต (sulfate) ในการเจริญ (facultative anaerobic) ได้มีการศึกษาแยกเชื้อบริสุทธิ์ *Pseudomonas luteola* (Chang et al., 2001) *Aeromonas hydrophila* (Chen et al., 2003) *Bacillus subtilis* (Zissi and Lyberatos, 1996) *Proteus mirabilis* (Chen et al., 1999) เป็นต้นที่สามารถย่อยสลายสีอะโซในสภาวะเช่นนี้

3. สภาวะใช้อากาศ (aerobic) ได้มีการศึกษาการย่อยสลายสีอะโซใน *Pseudomonas aeroginosa* (Manal et al., 2005) *Xenophilus azovorans* (Blumel et al., 2002) *Pigmentiphaga kullae* (Blumel and Stolz, 2003) *Hydrogenophaga intermedia* (Blumel et al., 1998) *Sphingomonas* sp. (Blumel et al., 2002) โดยมีการเติมแหล่งคาร์บอนและอาหารเสริมที่จำเป็นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสี

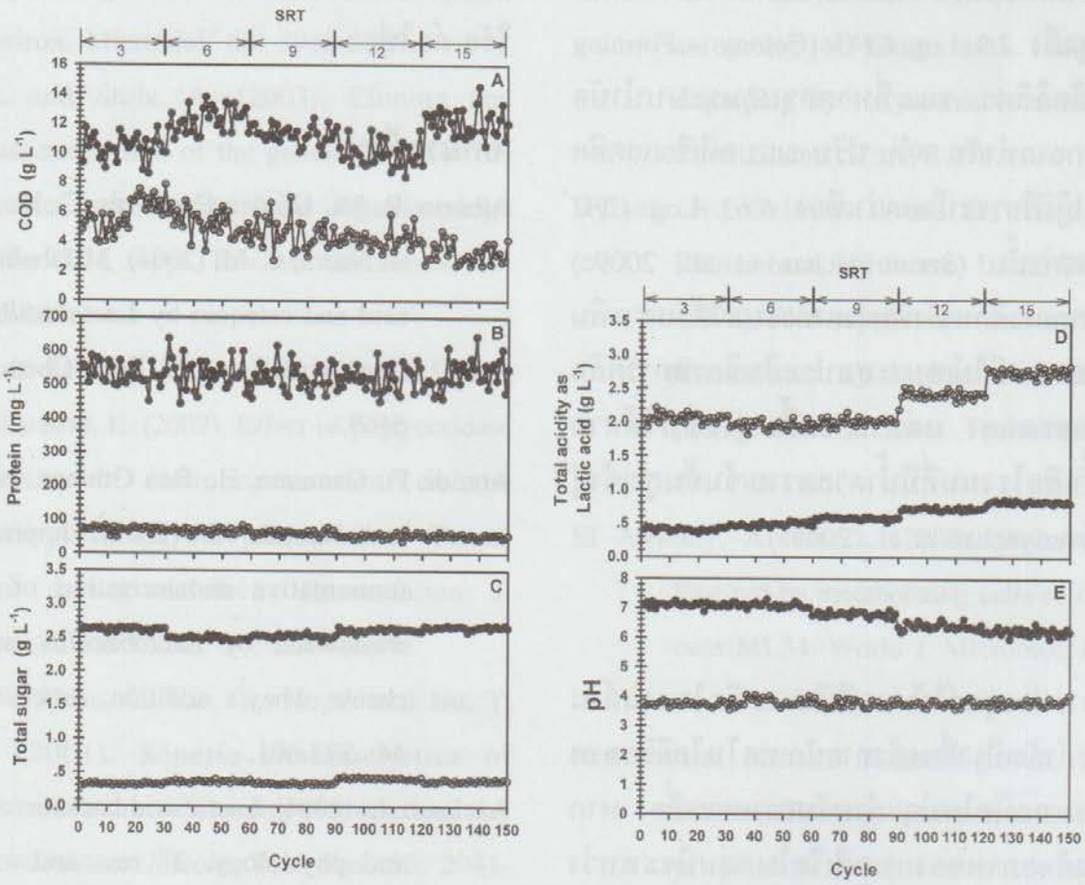
การย่อยสลายสีอะโซโดยเชื้อจุลินทรีย์หากใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมที่ไม่รู้ชนิดและสัดส่วนของจุลินทรีย์มักจะมีปัญหา คือ ประสิทธิภาพการบำบัดไม่คงที่และยากต่อการควบคุมเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงชนิดและสัดส่วนจุลินทรีย์ต่างไปจากเดิม จึงทำให้มีการศึกษาศักยภาพการย่อยสลายสีในเชื้อบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้น แต่การประยุกต์นำเชื้อบริสุทธิ์มาใช้ในการบำบัดได้จริงจำเป็นต้องมีการออกแบบระบบบำบัดให้เอื้อต่อการเจริญและการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ชนิดนั้นๆ มีรายงานผลการศึกษาการใช้เชื้อ *Oenococcus oeni* ML 34 ในการย่อยสลายสียอมผ้าที่อยู่ในกลุ่มอะโซ คือ ฟาสต์-เรด (Fast red), ฟาสต์-ออเรนจ์ (Fast orange) และเมทานิล (Metanil) ผลปรากฏว่าเชื้อสามารถย่อยฟาสต์-เรดได้ดีที่สุดถึงร้อยละ 68 ในขณะที่ฟาสต์-ออเรนจ์และเมทานิลถูกย่อยได้เพียงร้อยละ 30 เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคส 5 กรัมต่อลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยจากร้อยละ 66 เป็นร้อยละ 93 และเพิ่มอัตราการย่อยสีจำเพาะจาก 13 ไมโครกรัมต่อไมโครกรัมเซลล์ เป็น 18 ไมโครกรัมต่อไมโครกรัมเซลล์ (El Ahwany, 2008) ได้มีการศึกษาการย่อยสีทาร์ทราซีน (Tartrazine) ที่ใช้เติมสีแดงกวาดองของ *Lactobacillus casei* LA1133 และ *Lactobacillus paracasei* LA0471 ปรากฏว่าเชื้อ *Lactobacillus casei* LA1133 มีค่าเจริญจำเพาะ 0.052 ต่อชั่วโมงในน้ำเกลือ มีการย่อยสีมากกว่าร้อยละ 35 ภายใน 17 วัน ส่วน *Lactobacillus paracasei* LA0471 มีค่าเจริญจำเพาะ 0.032 ต่อชั่วโมง ในน้ำเกลือและมีการย่อยสีมากกว่าร้อยละ 80 ภายใน 13 วัน พีเอชเป็นปัจจัยสำคัญในการย่อยสลายสีโดยอัตราการย่อยสลายจะลดลงเมื่อเชื้อเจริญในพีเอชที่เป็นกรด (Pérez-Díaz et al., 2007) ส่วนเชื้อแบคทีเรียแลคติค *Lactobacillus casei* TISTR 1500 ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสีอะโซสามารถย่อยเมทธิล-เรด (Methyl red) และ เมทธิล-ออเรนจ์ (Methyl orange) ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ร้อยละ 100 ภายใน 2.5 ชั่วโมง โดยใช้เซลล์แขวนลอยอิสระ (resting cells) ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 20 มิลิโมลาร์ เพื่อให้เชื้อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน

และพลังงาน แบคทีเรียแลคติคสายพันธุ์นี้สามารถย่อยสีอะโซได้หลากหลาย โดยสามารถย่อยโทรพีลิน-โอ (Tropaeoline O), โครเซนออเรนจ์-จี (Crocein orange G), ออเรนจ์-II (Orange II), แอซิด เรด-151 (Acid red 151), แอซิดออเรนจ์-8 (Acid orange 8), ปองโซ-3-อาร์ (Ponceau 3 R), เมทธิล-เรด และ คองโก-เรด (Congo red) ด้วยอัตราการย่อยที่แตกต่างกันตามจำนวนพันธะอะโซและโครงสร้างทางเคมี การศึกษานี้ยังเป็นการศึกษาการย่อยสีอะโซชิ้นแรกในกลุ่มแบคทีเรียแลคติค และได้พิสูจน์ว่ามีเอนไซม์อะโซรีดักเตส (azoreductase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากศักยภาพดังกล่าวจึงมีผู้วิจัยที่มีแนวคิดทำการศึกษาการย่อยสีที่มีการควบคุมพีเอชให้เป็นกลางเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยในอนาคต เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสภาพเป็นกรดภายหลังจากสีได้มีการย่อยเสร็จสิ้น (Seesuriyachan et al., 2007; Seesuriyachan et al., 2009b) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาการย่อยสีอะโซที่ละลายได้ในน้ำและละลายในน้ำมันเช่น เมทธิล-เรด, ปองโซ- บีเอส (Ponceau BS), ออเรนจ์-จี (Orange G), แอมาแรนธ์ (Amaranth), ออเรนจ์-II (Orange II), ไดเร็คท์-บลู (Direct blue), ซูดาน-I (Sudan I), ซูดาน-II (Sudan II), ซูดาน-III (Sudan III), ซูดาน-IV (Sudan IV) เป็นต้น ด้วยเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus fermentum* ในสภาพไม่ใช้อากาศ (Chen et al., 2009) ได้มีการนำ *Lactococcus lactis* และ *Lactobacillus casei* มาบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมผ้าอะโซชนิดรีแอคทีฟแบล็ค-5 (Reactive Black 5; RB5) ในประเทศไต้หวัน โดยใช้ระบบ Anaerobic sequencing batch reactor (Anaerobic SBR) ร่วมกับ Aerobic membrane bioreactor (Aerobic MBR) ปรากฏว่าระบบสามารถกำจัดสีได้ร้อยละ 74.6 และร้อยละ 9.1 และสามารถบำบัดซีโอดีได้ร้อยละ 92.3 และร้อยละ 5.2 (You and Teng, 2009)

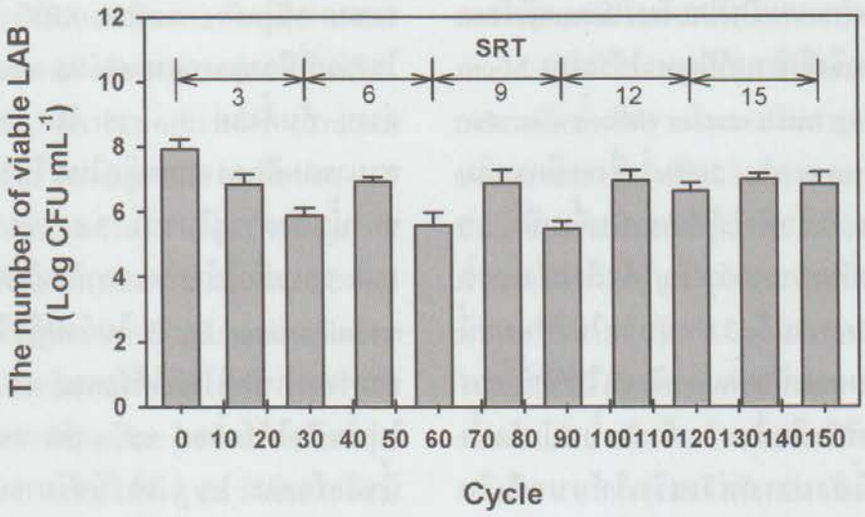
การใช้แบคทีเรียแลคติคในการบำบัดน้ำเสียโรงนม

ได้มีการประยุกต์ใช้แบคทีเรียแลคติคในการบำบัดน้ำเสียจากโรงนมในการบำบัดขั้นต้น (Pre - treatment) น้ำเสียจากโรงนมเป็นน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนสารอินทรีย์สูงมาก เนื่องจากมีโปรตีนและน้ำตาลแลกโตสและซูโครสปนเปื้อนอยู่มาก เป็นที่ทราบเป็นการทั่วไปว่า เคซีน (Casein) เป็นโปรตีนในน้ำนมที่มีสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 80 ดังนั้นจึงเป็นที่แน่นอนว่าน้ำเสียจากโรงนมจะมีเคซีนปนเปื้อนอยู่สูงเช่นกัน จากความจริงดังกล่าวจึงได้มีการใช้เทคนิคเมมเบรน (Membrane) ทางเคมี (Chemical) ทางกายภาพและเคมี (Physico - chemical) เพื่อแยกเคซีนออกจากน้ำเสีย ซึ่งจะช่วยให้น้ำเสียที่แยกออกมานั้นมีสารอินทรีย์ปนเปื้อนลดลง แต่การใช้เทคนิคเหล่านี้มีค่าใช้จ่ายในการลงทุนในเครื่องจักรและค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูงจะเป็นปัญหาอย่างมากหากน้ำเสียจากโรงนมมีปริมาณมาก ดังนั้นการใช้เทคนิคการบำบัดทางชีวภาพจึงอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการบำบัดขั้นต้นเพื่อแยกเคซีนออกจากน้ำเสียโรงนม เนื่องจากคุ้มค่าและมีความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ ได้มีงานวิจัยและแนวคิดที่ใช้ทั้งกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ในการปรับพีเอชของน้ำเสียโรงนมให้ต่ำถึงจุดไอโซอิเลคตริก (isoelectric) ของเคซีนที่ 4.5 เพื่อให้เคซีนนั้นตกตะกอน ส่วน Dyrest et al. (1998) ได้ใช้แบคทีเรียแลคติคหมักน้ำเสียโรงนมโดยแบคทีเรียแลคติคจะเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำเสียให้เป็นกรดแลคติค เพื่อให้พีเอชลดต่ำลงจนถึงจุดไอโซอิเลคตริกจึงจะสามารถแยกเคซีนออกจากน้ำเสียโดยใช้ระบบการหมักแบบต่อเนื่อง (continuous fermentation) ด้วยถังหมักชนิดกวนอย่างสมบูรณ์ไร้อากาศ (anaerobic complete mix bioreactor) (Dyrset et al., 1998) แต่เมื่อได้นำแนวทางของ Dyrest et al. (1998) มาทดลองใช้ในประเทศไทยกลับพบว่าการใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องทั้งแบบเซลล์แขวนลอยและเซลล์ตรึงกลับไม่สามารถผลิตกรดแลคติคในระบบเปิดได้อย่างยั่งยืน ระบบบำบัดมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดอื่น

จนกระทั่งระบบล้มเหลวภายใน 30 วัน (Seesuriyachan et al., 2001) ดังนั้นจึงมีการแก้ปัญหาใช้ระบบ Micro - aerobic sequencing batch reactor (Micro - aerobic SBR) (Seesuriyachan et al., 2009c) ซึ่งจะมีการเติมน้ำเสียลงในระบบ แล้วทำให้พีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 5 ทำให้แบคทีเรียแลคติคสามารถเจริญได้แล้วสร้างกรดแลคติคทำให้พีเอชลดลงจนถึง 3.8 หมุนวนในลักษณะนี้อย่างต่อเนื่อง ในขั้นตอนนี้กรดแลคติคจะไปยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ด้วยระบบบำบัดน้ำเสียโรงนมชนิดนี้สามารถส่งเสริมให้แบคทีเรียแลคติคเจริญแล้วผลิตกรดแลคติคเพื่อตกตะกอนโปรตีนในน้ำเสียโรงนมในขั้นต้น ซึ่งน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจะมีปริมาณสารอินทรีย์ปนเปื้อนต่ำ จึงเหมาะสมที่จะปล่อยให้น้ำเสียนี้ไหลเข้าสู่ระบบบำบัดขั้นที่สองต่อไป จากรูปที่ 3 แสดงประสิทธิภาพของระบบ Micro - aerobic SBR ในการบำบัดน้ำเสียโรงนมที่มีอายุตะกอน (Solid retention time; SRT) ต่างๆ กันตั้งแต่ 3 - 15 วัน จะเห็นว่าระบบบำบัดสามารถผลิตกรดแลคติคในปริมาณสูงจึงทำให้พีเอชของน้ำเสียต่ำอยู่ในช่วง 3.8 - 4.2 ได้อย่างยั่งยืนถึง 150 รอบเมื่อใช้ระยะเวลากักเก็บน้ำเสีย (Hydraulic retention time; HRT) ในถังปฏิกิริยาเท่ากับ 1.25 วัน สามารถบำบัดซีโอดีได้ร้อยละ 44 - 74 กำจัดน้ำตาลในน้ำเสียได้ร้อยละ 85 - 88 ตกตะกอนโปรตีนในน้ำเสียร้อยละ 85 - 91 มีปริมาณกรดเท่ากับ 1.82 - 2.84 กรัมต่อลิตร ด้วยการควบคุมระบบให้มีอายุตะกอนมากถึง 15 วัน จะช่วยให้แบคทีเรียแลคติคสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนแข่งกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 3 ประสิทธิภาพของระบบ Micro - aerobic SBR ในการบำบัดซีโอดี A) โปรตีน B) น้ำตาล C) ผลิตกรด D) และพีเอช E) ที่มีการควบคุมระบบให้มีอายุตะกอน 3 - 15 วัน: (●) น้ำเสียเข้า และ (○) น้ำเสียที่ผ่านการบำบัด (ที่มา: Seesuriyachan et al., 2009b)



รูปที่ 4 ปริมาณแบคทีเรียแลคติคที่มีชีวิตในระบบ Micro - aerobic SBR ที่มีการควบคุมระบบให้มีอายุตะกอน 3 - 15 วัน (ที่มา: Seesuriyachan et al., 2009b)

ดังแสดงในรูปที่ 4 พบว่า เมื่อควบคุมระบบให้มีอายุตะกอนเท่ากับ 15 วัน ปริมาณแบคทีเรียแลคติคจะสูงถึง 7.9 Log CFU (Colony - Forming Unit) ต่อมิลลิลิตร ขณะที่หากควบคุมระบบบำบัดให้มีอายุตะกอนเท่ากับ 3 วัน ปริมาณแบคทีเรียแลคติคที่อยู่ในถังปฏิกิริยาจะน้อยกว่าเพียง 6.63 Log CFU ต่อมิลลิลิตรเท่านั้น (Seesuriyachan et al., 2009c) นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่าหากระบบได้รับสารพิษหรืออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติคจะลดลง แต่สามารถฟื้นฟูระบบได้หากมีการเติมน้ำเสียโรงนมที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูงเข้าสู่ระบบ (Seesuriyachan et al., 2009a)

บทสรุป

การประยุกต์ใช้แบคทีเรียแลคติคในงานด้านสิ่งแวดล้อมกำลังเป็นเรื่องท้าทายนักเทคโนโลยีชีวภาพในการค้นหาเทคนิคใหม่ๆ สำหรับการเพาะเลี้ยง หากพิจารณาถึงศักยภาพของแบคทีเรียในกลุ่มนี้จะพบว่ามีความน่าสนใจที่จะศึกษาในแง่มุมทางสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมากนอกเหนือจากการนำแบคทีเรียในกลุ่มนี้มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากมีความปลอดภัยสูงจึงนับเป็นเรื่องท้าท้ายนักวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม นักจุลชีววิทยา นักเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรสิ่งแวดล้อมอย่างมากที่จะศึกษา ค้นคว้าวิจัย ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Alberto, R. M., Gómez-Cordovés, C. M. and Manca de Nadra, C. M. (2004). Metabolism of gallic acid and catequin by *Lactobacillus hilgardii* from wine. J. Agric. Food Chem. 52: 6465-6469.

Aouidi, F., Gannoun, H., Ben Othman, N., Ayed, L. and Hamdi, M. (2009). Improvement of fermentative decolorization of olive mill wastewater by *Lactobacillus paracasei* by cheese whey's addition. Process Biochem. 44: 597-601.

Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. 3rd rev. and exp. ed. In: Salminen S, von Wright A, Ouwehand A (Eds.), Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. New York: Marcel Dekker, Inc. pp. 1-66.

Ben Othman, N., Ayed, L., Kachouri, F., Hammami, M. and Hamdi, M. (2008). Ecological removal of recalcitrant phenolic compounds of treated olive mill wastewater by *Pediococcus pentosaceus*. Bioresour. Technol: 2996-3001.

Blumel, S., Contzen, M., Lutz, M., Stolz, M. and Knackmuss, H. J. (1998). Isolation of a bacterial strain with the ability to utilize the sulfonated azo compound 4-carboxy-40-sulfoazobenzene as sole source of carbon and energy. Appl. Environ. Microbiol. 64: 2315-2317.

Blumel, S., Knackmuss, H. J. and Stolz, A. (2002). Molecular cloning and characterization of the gene coding for the aerobic azoreductase from *Xenophilus azovorans* KF44F. Appl. Environ. Microbiol. 68: 3948-3955.

Blumel, S. and Stolz, A. (2003). Cloning and characterizatiion of the gene coding for the aerobic azoreductase from *Pigmentiphaga kullae* K24. Appl. Environ. Microbiol. 62: 186-190.

Boido, E., Lloret, A., Medina, K., Carrau, F. and Dellacassa, E. (2002). Effect of β-glycosidase activity of *Oenococcus oeni* on the glycosylated flavour precursors of Tannat wine during malolactic fermentation. J. Agric. Food Chem. 50: 2344-2349.

Chang, J. S., Chou, C., Lin, Y., Ho, J. and Hu, T. L. (2001). Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola*. Wat. Res. 35: 2041-2850.

Chen, H., Xu, H., Heinze, T. M. and Cerniglia, C. E. (2009). Decolorization of water and oil-soluble azo dyes by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus fermentum*. J. Ind. Microbiol. Biot. 36: 1459-1466.

Chen, K. C., Huang, W. T., Wu, J. Y. and Houng, J. Y. (1999). Microbial decolorization of azo dyes by *Proteus mirabilis*. J. Ind. Microbiol. Biot. 23: 686-690.

Chen, K. C., Wu, J. Y., Liou, D. J. and Hwang, S. C. J. (2003). Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. J. Biotechnol. 101: 57-68.

Curiel, J. A., Rodríguez, H., Landete, J. M., de las Rivas, B. and Munoz, R. (2010). Ability of Lactobacillus brevis strains to degrade food phenolic acids. Food Chem. 120: 225-229.

De las Rivas, B., Rodríguez, H., Curiel, A. J., Landete, M. J. and Munoz, R. (2009). Molecular screening of wine lactic acid bacteria degrading hydroxycinnamic acids. J. Agric. Food Chem. 57: 490-494.

Dyrset, N., Selmer-Olsen, E., Havrevoll, O., Ratnaweera, H., Storro, I. and Birkeland, S. (1998). Feed supplement recovered from dairy wastewater by biological and chemical pretreatment. J. Chem. Technol. Biotechnol. 73: 175-182.

El Ahwany, A. M. D. (2008). Decolorization of Fast red by metabolizing cells of *Oenococcus oeni* ML34. World J. Microbiol. Biotechnol. 24: 1521-1527.

Hofvendahl, K. and Hahn-Hägerdal, B. (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources1. Enzyme Microb. Technol. 26: 87-107.

Kachouri, F. and Hamdi, M. (2004). Enhancement of polyphenols in olive oil by contact with fermented olive mill wastewater by

Lactobacillus plantarum. Process Biochem. 39: 841-845.

Lamia, A. and Moktar, H. (2003). Fermentative decolorization of olive mill wastewater by *Lactobacillus plantarum*. Process Biochem. 39: 59-65.

Levine, W. G. (1991). Metabolism of azo dyes: implication for detoxification and activation. Drug Metab. Rev. 23: 253-309.

Manal, M. A., El-Naggar, S., El-Aasar, A. and Barakat Khlood, I. (2005). Bioremediation of crystal violet using air bubble bioreactor packed with *Pseudomonas aeruginosa*. Wat. Res. 39: 5045-5054.

Mendez-Paz, D., Omil, F. and Lema, J. M. (2005). Anaerobic treatment of azo dye acid Orange 7 under fed-batch and continuous conditions Water Res. 39: 771-778.

Pearce, C. I., Lloyd, J. R. and Guthrie, J. T. (2003). The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. Dyes Pigments. 58: 179-196.

Pírez-Díaz, I. M., Kelling, R. E., Hale, S., Breidt, F. and McFeeters, R. F. (2007). Lactobacilli and tartrazine as causative agents of red-color spoilage in cucumber pickle products. J. Food Sci. 72: 240-245.

Reddy, G., Altaf, M., Naveena, B. J., Venkateshwar, M. and Kumar, E. V. (2008). Amylolytic bacterial lactic acid fermentation - A review. Biotechnol. Adv. 26: 22-34.

Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. and Nigam, P. (2001). Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. Bioresour. Technol. 77: 247-255.

Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., de las Rivas, B., de Felipe, F. L., Gómez-Cordovés, C., Mancheno, J. M. and Munoz, R. (2009). Food phenolics and lactic acid bacteria. Int. J. Food Microbiol. 132: 79-90.

Salminen, S. and von Wright, A. (1998). Lactic acid bacteria: microbiology and function aspects. (2 eds) New York: Marcel Dekker, Inc.

Seesuriyachan, P., Techapun, C., Kuntiya, A., Wongroung, S. and Wungkobkiat, A., (2001). Coagulation as pretreatment of dairy wastewater by lactic acid bacteria. Proceedings of IWA Asia Environmental Technology. 2001, 30 Oct.- 2 Nov., Singapore, pp. 391-396.

Seesuriyachan, P., Takenaka, S., Kuntiya, A., Klayraung, S., Murakami, S. and Aoki, K. (2007). Metabolism of azo dyes by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 and effects of various factors on decolorization. Water Res. 41: 985-92.

Seesuriyachan, P., Chaiyaso, T., Sasaki, K. and Techapun, C. (2009a). Influence of food colorant and initial COD concentration on the efficiencies of micro-aerobic sequencing batch reactor (micro-aerobic SBR) for casein recovery under non-sterile condition by *Lactobacillus casei* TISTR 1500. Bioresour. Technology. 100: 4097-4103.

Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Sasaki, K. and Techapun, C. (2009b). Comparative study on methyl orange removal by growing cells and washed cell suspensions of *Lactobacillus casei* TISTR 1500 World. J. Microbiol. Biotechnol. 25: 973-979.

Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Sasaki, K. and Techapun, C. (2009c). Biocoagulation of dairy wastewater by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 for protein recovery using micro-aerobic sequencing batch reactor (micro-aerobic SBR). Process Biochem. 44: 406-411.

Seesuriyachan, P., Techapun, C., Shinkawa, H. and Sasaki, K. (2010). Solid state fermentation for extracellular polysaccharide production by *Lactobacillus confusus* with coconut water and sugar cane juice as renewable wastes. Biosci. Biotechnol. Biochem. 74: 423-426.

Seppo, S. and von Wright, A. (1993). Lactic Acid Bacteria. London: Marcel Dekker, Inc.

Stolz, A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. Appl. Mirobiol. Biotechnol. 56: 69-80.

Tondee, T. and Sirianuntapiboon, S. (2008). Decolorization of molasses wastewater by *Lactobacillus plantarum* No. PV71-1861. Bioresour. Technol. 99: 6258-6265.

Wee, Y.-J. and Ryu, H.-W. (2009). Lactic acid production by *Lactobacillus* sp. RKY2 in a cell-recycle continuous fermentation using lignocellulosic hydrolyzates as inexpensive raw materials. Bioresour. Technol. 100: 4262-4270.

Wisselink, H. W., Weusthuis, R. A., Eggink, G., Hugenholtz, J. and Grobben, G. J. (2002). Mannitol production by lactic acid bacteria: a review. Int. Dairy J. 12: 151-161.

You, S.-J. and Teng, J.-Y. (2009). Anaerobic decolorization bacteria for the treatment of azo dye in a sequential anaerobic and aerobic membrane bioreactor. J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 40: 500-504.

Zissi, U. and Lyberatos, G. (1996). Azo-dye biodegradation under anoxic conditions. Water Sci. Tech. 34: 495-500.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 450-462 (2553) KKU Sci. J.38(4) 450-462 (2010)

การพัฒนาวิธีการตรวจและยืนยัน *Clostridium perfringens* ในอาหารและน้ำ

Development of Detection and Confirmation Methods for *Clostridium perfringens* in Food and Water

เชาวรีย์ อรรถลังรอง [1]

Clostridium perfringens เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญทั้งในคนและสัตว์ โดยเป็นสาเหตุของการเกิดแผลเนื้อตายเน่าชนิดมีแก๊ส (gas gangrene) ลำไส้อักเสบเป็นเนื้อตาย (necrotic enteritis) อาหารเป็นพิษ (food poisoning) และอุจจาระร่วง (diarrhea) (Petit et al., 1999) เชื้อชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน แหล่งน้ำธรรมชาติ และแหล่งน้ำเสีย เป็นต้น ตลอดจนในลำไส้และอุจจาระของคนและสัตว์ และในอาหารหลายชนิด เช่น เนื้อย่าง แฮม ผลิตภัณฑ์จากเนื้อไก่และไก่งวง เนื้อสุกร อาหารทะเล สลัด ถั่วต่างๆ เป็นต้น (Bryan, 1988) อีกทั้งสามารถสร้างสปอร์ที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ จึงมีโอกาสอย่างมากที่จะปนเปื้อนในอาหาร น้ำดื่มและน้ำใช้ ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของระบบสาธารณสุขของประเทศและนานาชาติ

ด้วยเหตุนี้ องค์การอาหารและยาหรือหน่วยงานอื่นๆ ที่ทำหน้าที่รับผิดชอบในด้านความปลอดภัยของอาหารในหลายๆ ประเทศ รวมทั้งประเทศไทย จึงกำหนดให้มีการตรวจสอบการปนเปื้อนของ *C. perfringens* ในอาหารและน้ำดื่ม (Health Protection Agency, 2004; International Organization for Standardization, 1978; Rhodehamel and Harmon, 2001) โดยจะต้องไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อนี้ในอาหารและน้ำดื่ม นอกจากนี้ *C. perfringens* ยังสามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดความปลอดภัยของน้ำดื่มและการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคที่มาจากอุจจาระ ซึ่งปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ดังนั้น การตรวจและยืนยันผล *C. perfringens* จึงมีความสำคัญและจำเป็นต้องใช้วิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง ถูกต้องแม่นยำ และสามารถแสดงผลในเวลาที่รวดเร็ว บทความนี้จะได้กล่าวถึงวิธีการต่างๆ ที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจและยืนยันผล *C. perfringens* ตลอดจนข้อได้เปรียบและเสียเปรียบ หรือข้อจำกัดของวิธีดังกล่าว

ลักษณะทั่วไปของ *C. perfringens*

C. perfringens เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แต่บางครั้งอาจพบการย้อมติดสีแกรมลบด้วย ซึ่งเป็นลักษณะที่เรียกว่า Gram-variable ชื่อเดิมคือ *C. welchii*

[1] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ.เมือง จ.นครปฐม 73000

E-mail: chaowaree@su.ac.th

เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนตรง ขนาดใหญ่ (1 x 3-9 ไมครอน) จัดเป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศ (anaerobic bacterium) ไม่เคลื่อนที่ สร้างเอนโดสปอร์รูปไข่ในตำแหน่งค่อนไปทางปลายเซลล์ (subterminal) สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 43-47 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียสนั้น เชื้อจะมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่าได้ภายในเวลาเพียงประมาณ 7.1 นาทีเท่านั้น (Adams and Moss, 2008) จึงนับว่า *C. perfringens* เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้เร็วมากเมื่อเทียบกับแบคทีเรียอื่นๆ

การก่อโรค

ความเจ็บป่วยต่างๆ จาก *C. perfringens* นั้นเกิดจากสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นซึ่งมีไม่น้อยกว่า 12 ชนิด โดยสารพิษหลัก 4 ชนิด ซึ่งเป็นเอ็กโซท็อกซิน (exotoxins) และจะถูกขับออกมาภายนอกเซลล์ คือ แอลฟา (alpha, α) บีตา (beta, β) เอ็ปซิลอน (epsilon, ε) และไอโอตา (iota, τ) นั้น ถูกใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนกกลุ่มของ *C. perfringens* ได้เป็น 5 กลุ่ม คือ เอ (A) บี (B) ซี (C) ดี (D) และอี (E) (Baums et al., 2004) กลุ่มต่างๆ ของ *C. perfringens* สารพิษหลักที่เชื้อแต่ละกลุ่มสร้างขึ้น ตลอดจนการก่อโรคของเชื้อแต่ละกลุ่ม ได้สรุปไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 กลุ่มของ *C. perfringens* สารพิษหลักที่สร้าง และการก่อโรค

กลุ่มของ *C. perfringens*	สารพิษหลักที่สร้าง	การก่อโรคของเชื้อแต่ละกลุ่ม
เอ	แอลฟา	อาหารเป็นพิษ และ Gas gangrene ในคน Necrotic enteritis ในสัตว์ปีก
บี	แอลฟา บีตา เอ็ปซิลอน	โรคท้องร่วงในลูกแกะ และ Enterotoxemia ในแพะ แกะ ลูกม้า
ซี	แอลฟา บีตา	Necrotic enteritis ในคน (Pig-bel syndrome) และลำไส้อักเสบอย่างรุนแรงในลูกสุกร และลูกโค
ดี	แอลฟา เอ็ปซิลอน	Enterotoxemia ในแกะ โค กระบือ
อี	แอลฟา ไอโอตา	ลำไส้อักเสบและท้องร่วงในกระต่าย

ที่มา: Niilo (1980)

C. perfringens ทุกกลุ่มสามารถสร้างสารพิษชนิดแอลฟา ซึ่งมีกิจกรรมของฟอสโฟไลเพสซี (phospholipase C) หรือเรียกว่า เลซิทิเนส (lecitinase) เอนไซม์ชนิดนี้สามารถย่อยสลายฟอสโฟลิพิดซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ และเป็นสาเหตุของแผลเนื้อตายเน่าชนิดมีแก๊ส (Petit et al., 1999) *C. perfringens* บางสายพันธุ์ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มเอ สามารถสร้างเอนเทอโรท็อกซิน (*C. perfringens* enterotoxin, CPE) ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคอาหารเป็นพิษในคน สารพิษชนิดนี้จะถูกสร้างและปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ขณะที่เชื้อมีการสร้างสปอร์ในลำไส้ของผู้ป่วย ทำให้มีอาการปวดท้องอย่างรุนแรง มีแก๊สและท้องเสียหลังจากได้รับเชื้อเข้าไป 8-15 ชั่วโมง โดยธรรมชาติแล้ว เชื้อชนิดนี้จะไม่สร้างสปอร์ในอาหาร ยกเว้นในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะสำหรับกระตุ้นการสร้างสปอร์ของเชื้อ เช่น modified AE sporulation medium และ Duncan-Strong sporulation medium (Rhodehamel and Harmon, 2001)

CPE เป็นสารพิษที่ไวต่อความร้อน และถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (Jay, 2000) ดังนั้น หากมีการปนเปื้อนของ CPE ในอาหารหรือน้ำดื่ม จึงสามารถทำลายได้ง่ายด้วยการให้ความร้อน

อาหารเลี้ยงเชื้อ

การแยก *C. perfringens* ส่วนใหญ่จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อประเภท selective/differential media ที่มีสารปฏิชีวนะในการกดหรือยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการ อีกทั้งมีสารประกอบของซัลไฟต์ (sulfite compounds) และสารประกอบของเหล็ก (iron compounds) เพื่อช่วยให้เห็นความแตกต่างของลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้น โดย *C. perfringens* มีเอนไซม์ซัลไฟต์รีดักเทส (sulfite reductase) สามารถรีดิวซ์ซัลไฟต์เป็นซัลไฟด์ (sulfide) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเหล็กได้สารประกอบที่มีสีดำ ดังนั้น ลักษณะโคโลนีของ *C. perfringens* และแบคทีเรียอื่นๆ ที่สามารถรีดิวซ์ซัลไฟต์ได้ จึงมีสีดำบนอาหารดังกล่าว (de Jong et al., 2003; Mead, 1992) นอกจากนี้ ในอาหารเลี้ยงเชื้อยังเติมสารอื่นๆ เพื่อส่งเสริมการเจริญของเชื้อ ได้แก่ เพปโทน (peptone) ทริปโทน (tryptone) สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เป็นต้น ซึ่งจัดเป็นองค์ประกอบพื้นฐานของอาหาร (medium base) สำหรับตัวอย่างที่สงสัยว่าอาจมีสปอร์ปนเปื้อน จะต้องเพิ่มขั้นตอนการนำตัวอย่างไปให้ความร้อน เพื่อกระตุ้นการงอกของสปอร์ เช่น ที่ 80 องศาเซลเซียส 10 นาที ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร (Adams and Moss, 2008)

อาหารที่ใช้ในการแยก *C. perfringens* ในระยะแรกๆ ได้แก่ Iron sulfite (IS) agar, Sulfite polymyxin sulfadiazine (SPS) agar ในปี ค.ศ. 1971 Shahidi and Ferguson ได้พัฒนาอาหาร Shahidi Ferguson perfringens (SFP) agar สำหรับแยก *C. perfringens* และยังคงนิยมใช้จนถึงปัจจุบัน ในอาหารมีองค์ประกอบของเพปโทน ทริปโทนและซอยโทน (soytone) เพื่อเป็นแหล่งของคาร์บอน ไนโตรเจน ไวตามิน และแร่ธาตุ มีการเติมสารสกัดจากยีสต์ซึ่งอุดมด้วยไวตามินบีหลายชนิดเพื่อกระตุ้นการเจริญของเชื้อ มีโซเดียมไบซัลไฟต์ (sodium bisulfite) และเฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (ferric ammonium citrate) เพื่อให้สามารถสังเกตลักษณะสีดำซึ่งเกิดจากการที่เชื้อรีดิวซ์ซัลไฟต์เป็นซัลไฟด์และทำปฏิกิริยากับเหล็ก นอกจากนี้ ในอาหารยังเติมสารปฏิชีวนะสองชนิด คือ กานามัยซิน (kanamycin) และโพลีมัยซิน บี (polymyxin B) เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น สำหรับ Tryptose sulfite cycloserine (TSC) agar ที่วิธีมาตรฐานส่วนใหญ่นิยมใช้นั้น พัฒนามาจากอาหาร SFP โดย Harmon และคณะ ในปี 1971 ซึ่งอาหาร TSC มีองค์ประกอบพื้นฐานเช่นเดียวกับอาหาร SFP แต่ใช้สารปฏิชีวนะดี-ไซโคลซีรีน (D-cycloserine) แทนกานามัยซินและโพลีมัยซิน บี ในการใช้งาน SFP และ TSC อาจมีการเติมอีมัลชันของไข่แดง (egg yolk emulsion) ลงไปด้วย เพื่อทดสอบกิจกรรมเลซิทิเนสของ *C. perfringens* ซึ่งจะเกิดเป็นวงขาวขุ่นรอบๆ โคโลนีสีดำ (Rhodehamel and Harmon, 2001) นอกจากอาหารดังกล่าวแล้ว ยังมีอาหารอีกหลายชนิดที่พัฒนาขึ้นสำหรับการแยก *C. perfringens* ซึ่งส่วนใหญ่อาศัยหลักการเดียวกับอาหาร TSC แต่อาจใช้สารปฏิชีวนะหรือสารประกอบของซัลไฟต์และเหล็กต่างชนิดกัน ตลอดจนมีองค์ประกอบพื้นฐานแตกต่างกันเล็กน้อย ดังเช่นที่แสดงตัวอย่างในตารางที่ 2

แม้รายงานหลายฉบับจะระบุตรงกันว่า TSC เป็นอาหารที่ได้รับความนิยมสูงสุด และให้ผลที่ดีสำหรับการศึกษาปริมาณ *C. perfringens* ในอาหารและน้ำ (Byrne et al., 2008; de Jong et al., 2003; Mead, 1985) อีกทั้งเป็นอาหารที่ใช้ในวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจเชื้อดังกล่าว (Health Protection Agency, 2004; Rhodehamel and Harmon, 2001) แต่ TSC ก็อาจไม่ใช่อาหารที่เหมาะสมที่สุดในทุกกรณี ดังเช่นตัวอย่างต่อไปนี้

ตารางที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้นสำหรับการแยกและเพาะเลี้ยง *C. perfringens* และแบคทีเรียในกลุ่ม clostridia

อาหารเลี้ยงเชื้อ	สารปฏิชีวนะ	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
Bismuth iron sulfite cycloserine (BISC) agar	ดี-ไซโคลซีรีน	เพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Gubash and Ingham (1997)
Chromogenic m-CP medium	ดี-ไซโคลซีรีน และ โพลีมัยซิน บี	การกรองและเพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Bisson and Cabelli (1979)
CP ChromoSelect agar	ดี-ไซโคลซีรีน และ โพลีมัยซิน บี	การกรองและเพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Sartory et al. (1998).
Differential reinforeced clostridial medium (DRCM)	ไม่มี	MPN	Gibbs and Freame (1965)
Fluorocult TSC agar	ดี-ไซโคลซีรีน	เพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Manafi (2000)
Iron sulfite (IS) agar	ไม่มี	เพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	de Jong et al. (2003)
Lactose sulfite (LS) medium	ไม่มี	MPN	Beerens et al. (1982)
Oleandomycin polymyxin sulfadiazine perfringens (OPSP) agar	โซเดียมซัลฟาไดอะซีน (Sodium sulfadiazine) โอลีนโดมัยซินฟอสเฟต (Oleandomycin phosphate) และ โพลีมัยซิน บี	เพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Handford (1974)
PEM	ดี-ไซโคลซีรีน	MPN	Debevere (1979)
Reinforced clostridial medium (RCM)	ไม่มี	เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง	Hirsch and Grinsted (1954)
Shahidi Ferguson perfringens (SFP) agar	กานามัยซิน และโพลีมัยซิน บี	เพาะเลี้ยงบนจานอาหารและ FDT	Shahidi and Ferguson (1971)
Sulfite cycloserine azide (SCA)	ดี-ไซโคลซีรีนและโซเดียมเอไซด์ (sodium azide)	เพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Eisgruber and Reuter (1995)
Sulfite polymyxin sulfadiazine (SPS) agar	ซัลฟาไดอะซีน และ โพลีมัยซิน บี	เพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Angelotti et al. (1962)
Tryptose sulfite cycloserine (TSC) agar	ดี-ไซโคลซีรีน	เพาะเลี้ยงบนจานอาหารและ FDT	Harmon et al. (1971)
Tryptone sulfite neomycin (TSN)	โพลีมัยซิน บี และ นีโอมัยซิน (neomycin)	เพาะเลี้ยงบนจานอาหาร	Marshall et al. (1965)
TYD-C	นีโอมัยซินและเอไซด์ (azide)	MPN	Green and Litsky (1966)

ในการตรวจ *C. perfringens* โดยวิธี most probable number (MPN) นั้น การใช้ TSC ย่อมไม่เหมาะสมเนื่องจากเป็นอาหารแข็ง จึงต้องใช้อาหารเหลว ซึ่งได้แก่ Differential reinforeced clostridial medium (DRCM), Lactose sulfite (LS) medium, TYD-C และ PEM เป็นต้น ส่วนการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ กับอาหาร TSC นั้น Neut et al. (1985) พบว่า อาหาร LS ให้ผลที่ดีกว่าและใช้เวลาน้อยกว่า TSC ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่อาหาร LS ไม่เติมสารปฏิชีวนะใดๆ อีกทั้งเป็นอาหารเหลวที่มีองค์ประกอบเหมาะสม จึงส่งเสริมการเจริญของเชื้อได้ดี ส่วน Gubash and Ingham (1997) พัฒนาอาหาร Bismuth iron sulfite cycloserine (BISC) agar และเปรียบเทียบการเจริญของ *C. perfringens* บนอาหารดังกล่าวกับอาหาร TSC และ blood agar (BA) พบว่า อาหาร BA ให้ผลดีที่สุดในแง่ของการเจริญ อาหาร BISC มีข้อดีกว่า TSC ตรงที่สามารถสังเกตโคโลนีเป้าหมายได้ง่ายกว่า เนื่องจาก *C. perfringens* ที่ทดสอบทั้งหมดให้โคโลนีสีดำบนอาหาร BISC แต่ให้โคโลนีสีขาวถึงร้อยละ 39.6 บนอาหาร TSC จึงอาจทำให้การตรวจผลผิดพลาดได้ ทั้งนี้ มีรายงานว่าหากอาหารเลี้ยงเชื้อมีสภาพเป็นกรดจะทำให้สารประกอบเหล็กซัลไฟด์สลายตัวและโคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีขาว (Mead, 1992)

สำหรับหลักเกณฑ์ที่ใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของผู้ใช้ การเติมสารปฏิชีวนะและสารประกอบซัลไฟต์นั้น แม้จะช่วยให้สามารถคัดเลือก *C. perfringens* ได้ง่ายขึ้น แต่ก็อาจส่งผลให้เชื้อเจริญได้ไม่ดีเท่าที่ควร หากใช้ในปริมาณที่มากเกินไป โดยทั่วไปจะใช้ซัลไฟต์ไม่เกินร้อยละ 0.05 (Mead, 1992) อาหารบางชนิดไม่เติมสารปฏิชีวนะใดๆ เลย ได้แก่ DRCM, IS และ LS เป็นต้น จึงอาจมีแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่สามารถรีดิวซ์ซัลไฟต์ได้เจริญได้ดี อาหารบางชนิดไม่เติมทั้งสารปฏิชีวนะและสารประกอบซัลไฟต์และเหล็ก ได้แก่ Reinforced clostridial medium (RCM) ซึ่งเป็นอาหารที่ช่วยส่งเสริมให้ *C. perfringens* และ clostridia อื่นๆ เจริญเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น (Hirsch and Grinsted, 1954) แต่จะไม่เห็นลักษณะโคโลนีสีดำดังเช่นที่ปรากฏบนอาหารที่มีสารประกอบซัลไฟต์และเหล็ก จึงต้องนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารจำเพาะต่อไป อาหารบางชนิดมีการเติมซับสเตรตของสารที่ให้สี เช่น Chromogenic m-CP medium และ CP ChromoSelect agar หรือซับสเตรตของสารที่เรืองแสง เช่น Fluorocult TSC agar เพื่อให้สามารถยืนยันผลของ *C. perfringens* ได้ในขั้นตอนเดียว

หากพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างการใช้อาหารแข็งและอาหารเหลว พบว่าการใช้อาหารแข็งสามารถสังเกตลักษณะของโคโลนีและนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นได้ แต่หากมีการเติมน้ำตาลลงไปด้วยเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน หรือเพื่อทดสอบการหมักน้ำตาลของเชื้อ จะทำให้เกิดแก๊สขึ้นจำนวนมากดันให้อาหารวุ้นแตก ดังนั้น ในกรณีนี้การใช้อาหารเหลวจึงอาจเหมาะสมกว่า (Mead, 1992) หรือหากเป็นอาหารแข็งก็ควรใช้น้ำตาลไม่เกินร้อยละ 0.1 และควรเติมบัฟเฟอร์ในอาหารด้วย นอกจากนี้ ในกรณีการตรวจ *C. perfringens* โดยวิธี MPN ก็จำเป็นต้องใช้อาหารเหลวเช่นกัน

การตรวจการปนเปื้อนของ *C. perfringens*

การตรวจการปนเปื้อนของ *C. perfringens* ในอาหารและน้ำมีหลายวิธี ได้แก่ การตรวจนับเชื้อด้วยวิธีมาตรฐาน (standard plate count) วิธี MPN การกรอง (membrane filtration) และ วิธี Fung's Double Tube (FDT) เป็นต้น ส่วนใหญ่จะบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35-44 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เชื้อเจริญได้ดี (Health Protection Agency, 2004; Rhodehamel and Harmon, 2001) วิธีมาตรฐานบางวิธีได้แนะนำให้บ่มที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการแยก *C. perfringens* จากตัวอย่างน้ำ เพื่อให้ clostridia อื่นๆ เจริญได้น้อยลง ทำให้สามารถแยกเชื้อที่ต้องการได้ง่ายยิ่งขึ้น (Health Protection Agency, 2004)

Most probable number (MPN)

ในปี ค.ศ. 1965 Gibbs and Freame ได้พัฒนาอาหาร DRCM (ตารางที่ 2) สำหรับตรวจแบคทีเรียกลุ่ม clostridia ด้วยวิธี MPN อาหารชนิดนี้ไม่เติมสารปฏิชีวนะใดๆ แต่จะเติมโซเดียมไบซัลไฟต์และเฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต เพื่อสังเกตลักษณะสีดำซึ่งเกิดจากการรีดิวซ์ซัลไฟต์ นอกจากนี้ ยังเติมซิสเตอีน (cysteine) เพื่อช่วยรักษาสภาวะรีดิวซ์ (reducing condition) ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจะใช้ขวดฝาเกลียวที่ใส่อาหารจนเกือบเต็มและปิดฝา ซึ่งจะทำให้มีอากาศเหลืออยู่น้อยมากจึงไม่ต้องบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ใช้ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆความเข้มข้นละ 5 ขวด นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน Gibbs and Freame (1965) ได้ระบุว่า วิธี MPN มีข้อได้เปรียบกว่าวิธีการอื่นที่ใช้อาหารแข็งหลายประการ เช่น มีประสิทธิภาพในการตรวจดีกว่าในกรณีที่ตัวอย่างมีเชื้อน้อย เชื้อสามารถเจริญในอาหารเหลวได้ดีกว่าอาหารแข็ง และ DRCM ไม่มีสารปฏิชีวนะใดๆ จึงมีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อย อีกทั้งวิธี MPN นี้ไม่ต้องบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ส่วนข้อจำกัดของวิธี MPN ได้แก่ มีความถูกต้อง (accuracy) ต่ำ สิ้นเปลืองอาหารเลี้ยงเชื้อและแรงงานมาก อีกทั้งอาหาร DRCM ยังส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียอื่นๆ ที่ทำให้อาหารมีสีดำ เช่น *Bacteroides* spp. และกลุ่ม Enterobacteriaceae

ข้อแตกต่างของวิธี MPN ที่ใช้อาหาร DRCM เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานที่เพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง TSC คือ วิธี MPN จะใช้อาหารเหลวที่ไม่เติมสารปฏิชีวนะ ใช้ตัวอย่างในปริมาณมากกว่าและใช้จำนวนซ้ำของตัวอย่างมากกว่า ดังนั้น วิธี MPN จึงเหมาะสมในกรณีที่ตัวอย่างอาหารและน้ำมีการปนเปื้อนของเชื้อในปริมาณน้อยๆ นอกจากอาหาร DRCM แล้ว ยังมีอาหารอื่นๆ สำหรับตรวจ clostridia โดยวิธี MPN ได้แก่ อาหารแข็ง modified DRCM แต่ไม่เป็นที่นิยม นอกจากนี้ ยังมีอาหารเหลว LS, PEM และ TYD-C (Mead, 1985; 1992)

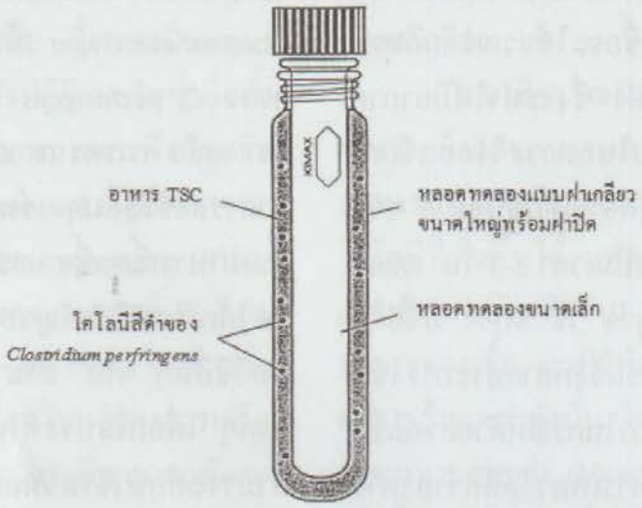
การกรอง (Membrane filtration)

การกรองเป็นวิธีที่นิยมใช้และได้รับการยอมรับให้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจ *C. perfringens* ในตัวอย่างน้ำ (Health Protection Agency, 2004) โดยจะกรองแยกเชื้อออกจากตัวอย่างน้ำ แล้วจึงนำแผ่นกรองไปวางบนอาหารสำหรับแยกเชื้อต่อไป ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้อาหาร TSC หรืออาจใช้อาหารชนิดอื่นๆ เช่น Chromogenic m-CP medium และ CP ChromoSelect agar เป็นต้น ซึ่งพัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจ *C. perfringens* ในตัวอย่างน้ำ นอกจากวิธีการกรองแล้ว การตรวจ *C. perfringens* ในตัวอย่างน้ำสามารถใช้วิธีอื่นๆ เช่น วิธี MPN การเพาะเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธี Bonde pour tube เป็นต้น ข้อได้เปรียบที่สำคัญของวิธีการกรองเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ คือ สามารถใช้ตัวอย่างน้ำในปริมาตรมากๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจ พร้อมทั้งสามารถศึกษาจำนวนและลักษณะโคโลนีของเชื้อได้ (Bisson and Cabelli, 1979) ดังนั้น วิธีการกรองนี้จึงเหมาะสมกับตัวอย่างน้ำซึ่งมีเชื้อปริมาณน้อยๆ แต่ไม่เหมาะกับตัวอย่างอาหาร เนื่องจากเศษอาหารจะอุดตันแผ่นกรอง

Fung's Double Tube (FDT)

Fung and Lee (1980) ได้พัฒนาวิธี FDT มาใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรบส์ (anaerobes) ซึ่งสามารถบ่มในตู้บ่มที่ใช้กันทั่วไป ทำให้สามารถทำงานได้อย่างสะดวกและลดค่าใช้จ่ายลงไปได้มาก วิธีนี้ใช้ได้ผลดีในการเพาะเลี้ยง *C. perfringens* จากตัวอย่างอาหารและน้ำ หลักการของวิธี FDT โดยสรุป คือ การใช้หลอดขนาดเล็กและหลอดขนาดใหญ่ที่ไร้เชื้อร่วมกันในการเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยใส่อาหารและเชื้อลงในหลอดใหญ่แล้วจึงใส่หลอดเล็กที่ปลอดเชื้อลงไป ซึ่งจะทำให้เกิดชั้นของอาหารและเชื้อระหว่างหลอดทั้งสองและเป็นสภาพที่ไร้อากาศ (รูปที่1) รายละเอียดสามารถศึกษาเพิ่มเติมได้จากรายงานของ Fung and Lee (1980) สำหรับ

ตัวอย่างน้ำที่มีเชื้อจำนวนน้อย สามารถใช้วิธีการกรองร่วมกับ FDT โดยนำแผ่นกรองที่กรองตัวอย่างน้ำแล้วพันรอบหลอดเล็กก่อนใส่อาหารเลี้ยงเชื้อลงในหลอดใหญ่ ตัวอย่างงานวิจัยที่ได้นำวิธี FDT ไปใช้ในการแยกหรือเพาะเลี้ยง *C. perfringens* เช่น Ruengwilysup et al. (2009) และ Sabah and Fung (2002) เป็นต้น โดยรายงานดังกล่าวระบุว่า วิธี FDT มีข้อได้เปรียบเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อบนจานอาหาร คือ ไม่ต้องใช้โถไร้อากาศ (anaerobic jar) ไม่ต้องมีการเททับผิวหน้าของอาหาร (overlay) และใช้พื้นที่ในการบ่มน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อบนจานอาหาร



รูปที่ 1 การเพาะเลี้ยง *C. perfringens* โดยวิธี FDT (ที่มา: Fung and Lee, 1980)

การยืนยันผล (Confirmation)

หลังจากตรวจ *C. perfringens* ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเหล็กและซัลไฟต์เป็นองค์ประกอบตามวิธีการต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้ว จำเป็นจะต้องมีขั้นตอนการยืนยันผล เนื่องจากมีแบคทีเรียอื่นๆ อีกหลายชนิดที่สามารถทำให้เกิดสีดำในอาหารได้เช่นกัน วิธีมาตรฐานส่วนใหญ่จะยืนยันผล *C. perfringens* โดยทำให้เชื้อบริสุทธิ์ ย้อมแกรม และทดสอบทางชีวเคมี ซึ่งพิจารณาจากสมบัติที่สำคัญ คือ ไม่เคลื่อนที่ รีดิวซ์ไนเตรต หมักน้ำตาลแลคโตสได้และทำให้เจลาตินเป็นของเหลว หรือที่เรียกว่า การทดสอบ MNLG (motility, nitrate reduction, lactose fermentation, and gelatin liquefaction test)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าวิธีมาตรฐานดังกล่าวจะได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง แต่ก็จำเป็นต้องใช้เชื้อที่บริสุทธิ์และว่องไว และต้องอาศัยความชำนาญในการสังเกตผลเพื่อป้องกันความผิดพลาดในการตรวจสอบผล ปัญหาที่สำคัญของการทดสอบทางชีวเคมี (MNLG) คือ จะเกิดความผิดพลาดในลักษณะ false negative ได้ง่าย เนื่องจาก *C. perfringens* บางสายพันธุ์ขาดสมบัติในการรีดิวซ์ไนเตรต (Sartory et al., 2006) และบางสายพันธุ์มีกิจกรรมของเอนไซม์เจลาติเนสต่ำมาก (Eisgruber et al., 2000) นอกจากนี้วิธีนี้ยังใช้เวลานานและสิ้นเปลืองแรงงานมาก ดังนั้น จึงมีการพัฒนาวิธีอื่นๆ สำหรับการยืนยัน *C. perfringens* ที่นิยมใช้ ได้แก่ การใช้ซับสเตรตของสารที่เรืองแสงและสารที่ให้สี (fluorogenic and chromogenic substrate) เทคนิค reverse CAMP test และปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR)

สำหรับการยืนยันผลโดย Nagler's reaction ที่ใช้ในการตรวจสอบสารพิษชนิดแอลฟาของ *C. perfringens* นั้น ปัจจุบันไม่ได้รับความนิยม

เนื่องจากมีความจำเพาะต่ำ และเชื้อบางสายพันธุ์ไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์เลซิทิเนส (Adams and Moss, 2008) วิธีการโดยสรุปของ Nagler's reaction คือ ใช้จานอาหารแข็งที่ผสมไข่แดง โดยแบ่งอาหารออกเป็นสองด้าน อาหารด้านหนึ่งจะถูกเกลี่ยด้วยสารต่อต้านสารพิษชนิดแอลฟา (anti-α-toxin) ป้ายเชื้อทดสอบโดยลากเป็นเส้นตรงผ่านอาหารทั้งสองด้าน แล้วนำไปบ่ม หากเชื้อที่ทดสอบ คือ *C. perfringens* จะพบการเจริญตามรอยลากทั้งสองด้านแต่จะเห็นบริเวณทึบแสง (zone of opacity) รอบโคโลนีเฉพาะด้านที่ไม่มีสารต่อต้านสารพิษเท่านั้น

การใช้ซับสเตรตของสารที่เรืองแสงและสารที่ให้สี

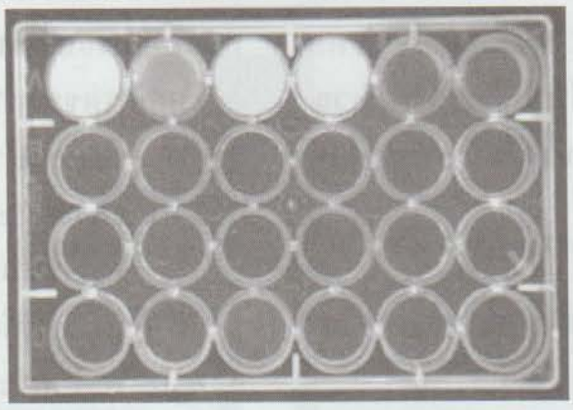
Ueno et al. (1970) ได้พัฒนาวิธีการยืนยันผล *C. perfringens* โดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเทสที่ทำงานในสภาวะที่เป็นกรด (acid phosphatase) ในการย่อยซับสเตรต คือ 1-แนฟธิลฟอสเฟต (1-naphthyl phosphate) ปลดปล่อยแนฟธิลซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับไดอะโซเนียม-ออร์โท-ไดอะนิซิดีน (diazonium *o*-dianisidine) เกิดเป็นสีม่วงน้ำตาล Adcock and Saint (2001) ใช้ซับสเตรตของสารที่เรืองแสง คือ 4-เมทิลอัมเบลลิเฟอริลฟอสเฟต (4-methylumbelliferyl phosphate, MUP) ในการทดสอบกิจกรรมของฟอสฟาเทสใน *C. perfringens* ซึ่งจะปลดปล่อยสารเรืองแสง คือ 4-เมทิลอัมเบลลิเฟอโรน (4-methylumbelliferone) ที่สามารถสังเกตผลได้ชัดเจนเมื่อส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร นอกจากนี้ Adcock and Saint (2001) ยังใช้ซับสเตรตของสารที่ให้สี คือ ออร์โท-ไนโตรเฟนิล-บีตา-ดี-กาแลคโตไพราโนไซด์ (*ortho*-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside, ONPG) ร่วมด้วยเพื่อให้สามารถยืนยันผลได้ดีขึ้น โดย *C. perfringens* มีกิจกรรมของบีตา-กาแลคโตซิเดส (β-galactosidase) จึงสามารถย่อยซับสเตรตของสารที่ให้สีดังกล่าวได้สารที่มีสี คือ ออร์โท-ไนโตรเฟนอล (*ortho*-nitrophenol) ผู้เขียนได้ทดสอบการใช้สารละลายที่พัฒนาโดย Adcock and Saint (2001) ซึ่งมี MUP และ ONPG เป็นส่วนประกอบ พบว่าสามารถสังเกตผลได้ในเวลาเพียง 4 ชั่วโมง โดย *C. perfringens* สามารถเปลี่ยนสีสารละลายเป็นสีเหลือง และเมื่อส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ก็พบการเรืองแสง ซึ่งลักษณะดังกล่าวไม่พบใน *Clostridium difficile* ที่ใช้ทดสอบเปรียบเทียบ (รูปที่ 2) ตัวอย่างอื่นของการใช้ซับสเตรตของสารที่เรืองแสงและสารที่ให้สี เช่น อาหาร Fluorocult TSC agar, Chromogenic m-CP และ CP ChromoSelect เป็นต้น

การใช้ซับสเตรตของสารที่เรืองแสงและสารที่ให้สี เป็นวิธีที่นิยมใช้มากขึ้นในปัจจุบันเนื่องจากสะดวกรวดเร็วและน่าเชื่อถือ Adcock and Saint (2001) รายงานว่า การยืนยันผลโดยใช้สารละลาย MUP-ONPG นั้น มีความไว (sensitivity, ความสามารถของวิธีทดสอบที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกในกลุ่มตัวอย่างที่เป็น *C. perfringens*) และความจำเพาะ (specificity, ความสามารถของวิธีทดสอบที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ใช่ *C. perfringens*) ที่ร้อยละ 99.3 และ 93.3 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน โดยวิธีมาตรฐานนั้นให้ผล false negative ค่อนข้างสูง ทั้งนี้ งานวิจัยของ Eisgruber et al. (2000) และ Sartory et al. (2006) ได้ยืนยันตรงกันว่า การทดสอบกิจกรรมของฟอสฟาเทสนั้นมีความไวสูงกว่าและเกิด false negative น้อยกว่าวิธีมาตรฐานที่ทดสอบด้วย MNLG

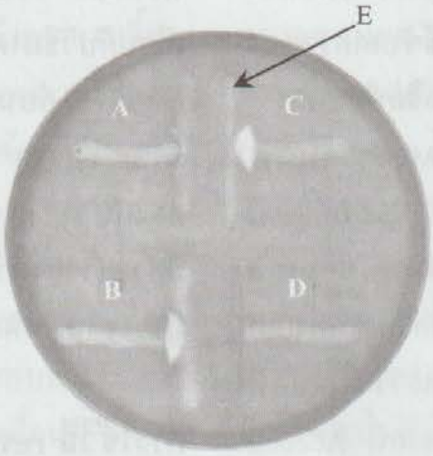
การใช้วิธี reverse CAMP test (RCT)

วิธี RCT ทำโดยการลากเชื้อ *C. perfringens* และ *Streptococcus agalactiae* ในแนวตั้งฉากกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดแกะเป็นองค์ประกอบ (Sheep blood agar) ซึ่งจะพบลักษณะคล้ายหัวลูกศร (arrowhead-shaped zone) อันเกิดจากการทำงานร่วมกันในการสลายเม็ดเลือดแดงของสารพิษแอลฟาของ *C. perfringens* และ CAMP แฟกเตอร์ (CAMP factor)

หรือที่เรียกในชื่อใหม่ว่า โปรตีน บี (protein B) ของ *S. agalactiae* โดยสารพิษแอลฟาจะย่อยสลายสฟิงโกไมอิลีน (sphingomyelin) ของเม็ดเลือดแดงและปลดปล่อยเซราไมด์ (ceramide) ออกมา จากนั้นโปรตีน บี จะจับกับเซราไมด์ส่งผลให้ชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายและทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก (Hansen and Elliott, 1980; Hansen and Skov Sorensen, 2003; Petit et al., 1999) โดยจะเห็นเป็นรูปลูกศรบริเวณรอยต่อ ดังรูปที่ 3



รูปที่ 2 ลักษณะการเรืองแสงเมื่อยืนยันผล *C. perfringens* โดยใช้สารละลายที่พัฒนาโดย Adcock and Saint (2001) ซึ่งมี MUP-ONPG เป็นส่วนประกอบ ส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต แถวบนสุดจากซ้ายหลุมที่ 1, 2, 3, 4 คือ *C. perfringens* รหัส NCTC 8533, NCTC 3180, NCTC 8503 และ NCTC 8084 ตามลำดับ หลุมที่ 5 คือ *C. difficile* หลุมที่ 6 มีเพียงสารละลายทดสอบ



รูปที่ 3 ลักษณะการแตกของเม็ดเลือดแดงเป็นรูปหัวลูกศร บนอาหาร Blood agar เมื่อทดสอบโดยวิธี RCT (A, B และ C คือ *C. perfringens*; D คือ *C. bifermentans*; E คือ *S. agalactiae*) (ที่มา: Hansen and Elliott, 1980)

Hansen and Elliott (1980) ได้ทดลองใช้เทคนิค RCT ในการยืนยันผล *C. perfringens* พบว่ามีความไวและความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 96.7 และ 97.8 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Hansen and Elliott (1980) ได้จัดวิธี RCT เป็นเพียงการจำแนกเชื้อในเบื้องต้นเท่านั้น Eisgruber et al. (2000) รายงานว่าวิธี RCT มีความไวสูงกว่าการทดสอบด้วย MNLG

การใช้เทคนิค PCR

เทคนิค PCR สามารถใช้ตรวจหายีน *cpa* ซึ่งควบคุมการสร้างสารพิษชนิดแอลฟาใน *C. perfringens* ทุกกลุ่ม (Baums et al., 2004) แต่ไม่พบในแบคทีเรียชนิดอื่น ดังนั้น จึงสามารถใช้เทคนิค PCR ในการยืนยันผล *C. perfringens* ได้ วิธีนี้ให้ผลรวดเร็ว ใช้ตัวอย่างไม่มาก และมีความไวสูง แต่ต้องอาศัยไพรเมอร์ (primer) ที่มีความจำเพาะสูง และสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยา Ruengwilysup et al. (2009) ได้ใช้วิธี FDT ในการแยก *C. perfringens* จากตัวอย่างอาหาร น้ำ และมูลสัตว์ แล้วจึงยืนยันผลด้วยเทคนิค PCR โดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานที่ทดสอบด้วย MNLG พบว่าให้ผลใกล้เคียงกัน แต่เทคนิค PCR ให้ผลที่รวดเร็วกว่ามาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fach and Popoff (1997); Kalender and Ertas (2005); Kanakaraj et al. (1998) ที่ระบุว่าเทคนิค PCR มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจและยืนยัน *C. perfringens*

Wang และคณะ (1994) ได้พัฒนาวิธี PCR ที่อาศัย 16s rDNA สำหรับการตรวจและยืนยัน *C. perfringens* ในอาหาร พบว่าวิธี PCR ดังกล่าวมีความไวและความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 100 Fach and Popoff (1997) ใช้เทคนิค duplex PCR ในการตรวจและยืนยัน *C. perfringens* ในอาหารที่เติมเชื้อลงไป พบว่าเทคนิคนี้มีความไวร้อยละ 96.5 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานที่ทดสอบด้วย MNLG นอกจากการยืนยันผลแล้ว เทคนิค PCR ยังสามารถจำแนกกลุ่มของ *C. perfringens* ได้ด้วยโดยเพิ่มคู่ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับยีนที่ควบคุมการสร้างสารพิษหลักชนิดอื่น (Baums et al., 2004)

นอกจากวิธีต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมีวิธีอื่นๆ เช่น การทำ DNA hybridization การตรวจเอนเทอโรท็อกซินโดยวิธี reverse passive latex agglutination, rapid ELISA และ electroimmunodiffusion เป็นต้น

บทสรุป

การตรวจการปนเปื้อนของ *C. perfringens* ในอาหารและน้ำประกอบด้วยขั้นตอนหลักๆ 2 ขั้นตอน คือ การตรวจการปนเปื้อนในเบื้องต้นและการยืนยันผล การตรวจการปนเปื้อนสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การตรวจนับเชื้อด้วยวิธีมาตรฐาน วิธี MPN การกรอง และวิธี FDT โดยจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อประเภท selective/differential media จากนั้นนำโคโลนีที่สงสัยมายืนยันผลด้วยวิธีการต่างๆ การทดสอบทางชีวเคมีเป็นวิธีมาตรฐานในการยืนยันผล แต่ใช้เวลานานและอาจเกิด false negative ได้ ดังนั้น การใช้ซับสเตรตของสารที่ให้สีและสารที่เรืองแสง เทคนิค reverse CAMP test และ PCR ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงและให้ผลรวดเร็ว จึงเป็นทางเลือกที่ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากในปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม การใช้ซับสเตรตของสารเรืองแสง จะต้องมีแหล่งกำเนิดแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม ส่วนวิธี PCR นั้น จำเป็นต้องใช้ผู้ที่มีความรู้ความเชี่ยวชาญเพื่อให้ได้ไพรเมอร์และสภาวะของปฏิกิริยาที่เหมาะสม อีกทั้งต้องมีอุปกรณ์ที่จำเป็นในการทำงาน ซึ่งเป็นปัจจัยที่ต้องพิจารณา สำหรับวิธี RCT นั้น อาจใช้ช่วยในการจำแนกเชื้อในเบื้องต้น เพื่อให้สามารถยืนยันเชื้อง่ายขึ้น แต่ก็ควรยืนยันผลด้วยวิธีอื่นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Adams, M. R. and Moss, M. O. (2008). Food Microbiology. (3rd ed.). Cambridge: RSC Publishing. pp. 209-214.

Adcock, P. W. and Saint, C. P. (2001). Rapid confirmation of *Clostridium perfringens* by using chromogenic and fluorogenic substrates. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4382-4384.

Angelotti, R., Hall, H. E., Foter, M. J. and Lewis, K. H. (1962). Quantitation of *Clostridium perfringens* in foods. Appl. Microbiol. 10: 193-199.

Baums, C. G., Schotte, U., Amtsberg, G. and Goethe, R. (2004). Diagnostic multiplex PCR for toxin genotyping of *Clostridium perfringens* isolates. Vet. Microbiol. 100: 11-16.

Beerens, H., Romond, C., Lepage, C. and Criquelion, J. (1982). A liquid medium for the enumeration of *Clostridium perfringens* in foods and feces. In: Isolation and Identification Methods for Food Poisoning Organisms. edited by Corry, J. E. L., Roberts, D. and Skinner, F. A. London: Academic Press. pp. 137-149.

Bisson, J. W. and Cabelli, V. J. (1979). Membrane filter enumeration method for *Clostridium perfringens*. Appl. Environ. Microbiol. 37: 55-66.

Bryan, F. L. (1988). Risks associated with vehicles of foodborne pathogens and toxins. J. Food Prot. 51: 498-508.

Byrne, B., Scannell, A. G. M., Lyng, J. and Bolton, D. J. (2008). An evaluation of *Clostridium perfringens* media. Food Control. 19: 1091-1095.

Debevere, J. M. (1979). A simple method for the isolation and determination of *Clostridium perfringens*. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 6: 409-414.

de Jong, A. E. I., Eijhusen, G. P., Brouwer-Post, E. J. F., Grand, M., Johansson, T., Kärkkäinen, T., Marugg, J., in't Veld, P. H., Warmerdam, F. H. M., Wörner, G., Zicavo, A., Rombouts, F. M. and Beumer, R. R. (2003). Comparison of media for enumeration of *Clostridium perfringens* from foods. J. Microbiol. Methods. 54: 359-366.

Eisgruber, H. and Reuter, G. (1995). A selective medium for the detection and enumeration of mesophilic sulphite-reducing clostridia in food monitoring programs. Food Res. Int. 28: 219-226.

Eisgruber, H., Schalch, B., Sperner, B. and Stolle, A. (2000). Comparison of four routine methods for the confirmation of *Clostridium perfringens* in food. Int. J. Food Microbiol. 57: 135-140.

Fach, P. and Popoff, M. R. (1997). Detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in food and fecal samples with a duplex PCR and the slide latex agglutination test. Appl. Environ. Microbiol. 63: 4232-4236.

Fung, D. Y. C. and Lee, C. M. (1980). Double tube anaerobic bacterial cultivation system. Food Sci. (Republic of China). 7: 209-213.

Gibbs, B. M. and Freame, B. (1965). Methods for the recovery of clostridia from foods. J. Appl. Bacteriol. 28: 95-111.

Green, J. H. and Litsky, W. (1966). A new medium and 'mimic' MPN method for *Clostridium perfringens* isolation and enumeration. J. Food Sci. 31: 610-614.

Gubash, S. M. and Ingham, L. (1997). Comparison of a new bismuth-iron-sulfite cycloserine agar for isolation of *Clostridium perfringens* with

the tryptose sulfite cycloserine and blood agars. Zentralbl Bakteriol. 285: 397-402.

Handford, P. M. (1974). A new medium for the detection and enumeration of *Clostridium perfringens* in foods. J. Appl. Bacteriol. 37: 559-570.

Hansen, M. V. and Elliott, L. P. (1980). New presumptive identification test for *Clostridium perfringens*: reverse CAMP test. J. Clin. Microbiol. 12: 617-619.

Hansen, S. M. and Skov Sørensen, U. B. (2003). Method for quantitative detection and presumptive identification of group B streptococci on primary plating. J. Clin. Microbiol. 41: 1399-1403.

Harmon, S. M., Kautter, D. A. and Peeler, J. T. (1971). Improved medium for enumeration of *Clostridium perfringens*. Appl. Microbiol. 22: 688-692.

Health Protection Agency. (2004). Enumeration of *Clostridium perfringens* by membrane filtration. National Standard Method W 5 Issue 3. Available at: http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/water/pdf/w5.pdf Accesses 15 Mar. 2010.

Hirsch, A. and Grinsted, E. (1954). Methods for the growth and enumeration of anaerobic spore formers from cheese, with observations on the effect of nisin. J. Dairy Res. 21: 101-110.

International Organization for Standardization. (1978). Meat and meat products: Enumeration of *Clostridium perfringens*. Working Draft ISO/TC 34/SC 6.

Jay, J. M. (2000). Modern Food Microbiology. (6th ed.). Maryland: Aspen Publishers. pp. 461-466.

Kalender, H. and Ertas, H. B. (2005). Isolation of *Clostridium perfringens* from chickens and detection of the alpha toxin gene by polymerase chain reaction (PCR). Turk J. Vet. Anim. Sci. 29: 847-851.

Kanakaraj, R., Harris, D. L., Songer, J. G. and Bosworth, B. (1998). Multiplex PCR assay for detection of *Clostridium perfringens* in feces and intestinal contents of pigs and in swine feed. Vet. Microbiol. 63: 29-38.

Manafi, M. (2000). New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. Int. J. Food Microbiol. 60: 205-218.

Marshall, R. S., Steenbergen, J. F. and McClung, L. S. (1965). Rapid technique for the enumeration of *Clostridium perfringen*. Appl. Microbiol. 13: 559-563.

Mead, G. C. (1985). Selective and differential media for *Clostridium perfringens*. Int. J. Food Microbiol. 2: 89-98.

Mead, G. C. (1992). Principles involved in the detection and Enumeration of clostridia in foods. Int. J. Food Microbiol. 17: 135-143.

Neut, C., Pathak, J. Romond, C. and Beerens, H. (1985). Rapid detection of *Clostridium perfringens*: comparison of lactose sulfite broth with tryptose-sulfite-cycloserine agar. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68: 881-883.

Niilo, L. (1980). *Clostridium perfringens* in animal disease. Can. Vet. J. 21: 141-148.

Petit, L., Gibert, M. and Popoff, M. R. (1999). *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. Trends Microbiol. 7: 104-110.

Ruengwilysup, C., Detvisitsakun, C, Aumyat, N and Fung, D. Y. C. (2009). Application of a colony PCR technique with Fung's double tube method for rapid detection and

confirmation of Clostridium perfringens. J. Rapid Methods and Automat. in Microbiol. 17: 280-290.

Rhodehamel, E. J. and Harmon, S. M. (2001). Bacteriological analytical manual online: *Clostridium perfringens*. At: http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070878 Accessed 15 Mar. 2010.

Sabah, J. R. and Fung, D. Y. C. (2002). Comparison of egg-yolk-free tryptose sulfite cycloserine and Shahidi-Ferguson-perfringens media for enumeration of *Clostridium perfringens* in meat products and peptone water using Fung' double tube method. J. Rapid Methods and Automat. in Microbiol. 10: 207-216.

Sartory, D. P., Field, M., Curbishley, S. M., and Pritchard, A. M. (1998). Evaluation of two media for the membrane filtration enumeration of *Clostridium perfringens* from water. Lett. Appl. Microbiol. 27: 323-327.

Sartory, D. P., Waldock, R., Davies, C. E. and Field, A. M. (2006). Evaluation of acid phosphatase as a confirmation test for *Clostridium perfringens* isolated from water. Lett. Appl. Microbiol. 42: 418-424.

Shahidi, S. A. and Ferguson, A. R. (1971). New quantitative, qualitative, and confirmatory media for rapid analysis of food for *Clostridium perfringens*. Appl. Microbiol. 21: 500-506.

Ueno, K., Fujii, H., Marui, T., Takahashi, J., Sugitani, T., Ushijima, T. and Suzuki, S. (1970). Acid phosphatase in *Clostridium perfringens*. A new rapid and simple identification method. Jpn. J. Microbiol. 14: 171-173.

Wang, R. F., Cao, W.W., Franklin, W., Campbell, W. and Cerniglia, C. E. (1994). A 16s rDNA-based PCR method for rapid and specific detection of *Clostridium perfringens* in food. Mol. Cell. Probes. 8: 131-138.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 463-471 (2553) KKU Sci. J.38(4) 463-471 (2010)

น้ำส้มควันไม้: ผลพลอยได้จากการเผาถ่าน...สู่การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

Wood Vinegar: A By-product of Carbonization... to An Antioxidant Agent

เฉลิม เรืองวิริยะชัย [1] และ ปวีณา วรรณประภา [1]*

บทนำ

การพัฒนาการผลิตและการใช้พลังงานจากชีวมวลเพื่อเป็นพลังงานทดแทนนั้น กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่งในปัจจุบัน เนื่องจากสถานการณ์น้ำมันขาดแคลนยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญและมีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจึงส่งผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตของประชากรทั่วโลก ทำให้การแสวงหาพลังงานจากแหล่งใหม่ๆ เพื่อมาใช้ทดแทนแหล่งพลังงานที่มีอยู่เดิมเป็นไปอย่างกว้างขวางและหลากหลายมากขึ้น (Qi et al., 2007) การพัฒนาการผลิตและการใช้ผลผลิตจากการเผาถ่านไม้ให้มีประสิทธิภาพ จึงเป็นหนึ่งในการพัฒนาการใช้พลังงานทดแทนจากชีวมวลเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยมีเป้าหมายอยู่ที่การนำผลผลิตจากทุกส่วนที่ได้จากกระบวนการเผาถ่านไม้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างเต็มประสิทธิภาพ (Wang et al., 2009)

ปัจจุบันหลายชุมชนในจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย ได้รับการส่งเสริมความรู้เกี่ยวกับกระบวนการเผาถ่านไม้เพื่อให้ได้ถ่านที่มีคุณภาพสูงด้วยการสร้างเตาเผาถ่านไม้ที่มีประสิทธิภาพสูง เรียกว่าเตาอิวาเตะ (Iwate stove) เป็นเตาที่สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในเตาได้เป็นอย่างดี มีต้นกำเนิดมาจากเมืองอิวาเตะ ประเทศญี่ปุ่น แสดงดังรูปที่ 1 (จิรพงษ์ คูหากาญจน์, 2550) ถ่านไม้ทั่วไปจะนำไปใช้เป็นถ่านปิ้งย่างและการหุงต้ม ส่วนถ่านไม้ที่มีคุณภาพสูงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้านมากขึ้น เช่น สามารถใช้เป็นตัวดูดซับสี กลิ่น และความชื้นได้ นอกจากนั้นยังใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตยาสระผม ครีมบำรุงผิว และใช้ในการทำน้ำแร่ เป็นต้น

กระบวนการเผาถ่าน นอกจากจะได้ถ่านซึ่งเป็นผลผลิตโดยตรงแล้ว น้ำส้มควันไม้ยังเป็นผลพลอยได้อย่างหนึ่งจากกระบวนการดังกล่าวที่มีความสำคัญไม่น้อย ปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตน้ำส้มควันไม้เพิ่มมากขึ้นในหลายจังหวัด เช่น ที่เคียงมูลพลังงานยั่งยืน จังหวัดอุบลราชธานี ผลิตน้ำส้มควันไม้เพื่อการจำหน่ายภายในประเทศ หมู่บ้านนาชุมเห็ด จังหวัดตรัง ส่งเสริมการผลิตเตาเผาถ่านประสิทธิภาพสูง ที่ได้ผลผลิตทั้งถ่านไม้และน้ำส้มควันไม้ที่มี

[1] ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

*Corresponding Author, E-mail: chal_ru@kku.ac.th

คุณภาพสูง เพื่อนำไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (ไชย ส่องอาชีพ, 2551) หมู่บ้านดอนมัน จังหวัดมหาสารคาม และหมู่บ้านทุ่งนาเมือง จังหวัดอุบลราชธานี เน้นการผลิตน้ำส้มควันไม้เพื่อใช้เป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชทดแทนการใช้สารเคมี และหมู่บ้านท่าพระทราย จังหวัดขอนแก่น เน้นการใช้น้ำส้มควันไม้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช เพื่อเพิ่มการผลิตและคุณภาพข้าว การผลิตและการใช้ประโยชน์จากน้ำส้มควันไม้เพื่อใช้ทางด้านเกษตรกรรมได้รับความสนใจอย่างยิ่ง โดยเฉพาะในการทำเกษตรแบบอินทรีย์ เนื่องจากน้ำส้มควันไม้เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ และสามารถนำมาใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์ได้

รูปที่ 1 แสดงลักษณะของเตาอิวาเตะ (ที่มา: http://www.agnet.org/library/pt/2005025/)

ในประเทศไทย น้ำส้มควันไม้เป็นที่รู้จักกันมากขึ้นและถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากมาย ทั้งในด้านเกษตรกรรม และปศุสัตว์ การใช้ประโยชน์จากน้ำส้มควันไม้ไม่สามารถนำมาใช้ได้โดยตรง แต่จำเป็นต้องเจือจางให้อยู่ในอัตราส่วนที่เหมาะสมก่อน เช่น ผสมน้ำ 20 เท่า ใช้ในการกำจัดปลวกและมด ผสมน้ำ 200 เท่า ใช้ในการฉีดพ่นใบไม้เพื่อขับไล่แมลงและป้องกันเชื้อรา หรือใช้ในการกำจัดกลิ่นในฟาร์มปศุสัตว์ เป็นต้น (เฉลิม เรืองวิริยะชัย, 2550)

น้ำส้มควันไม้ (Wood Vinegar)

น้ำส้มควันไม้เป็นของเหลวสีน้ำตาลใสมีกลิ่นควันไฟ มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน เกิดจากการควบแน่นของควันที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการเผาถ่านแบบจำกัดอากาศ อุณหภูมิภายในเตาอยู่ระหว่าง 300-400 องศาเซลเซียส (Loo et al., 2007) ลักษณะของน้ำส้มควันไม้แสดงดังรูปที่ 2 โดยสารเคมีต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อไม้เมื่อได้รับความร้อนจะสลายตัวเกิดเป็นสารชนิดใหม่มากกว่า 200 ชนิด เช่น กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ต่างๆ สารอินทรีย์ในกลุ่มคาร์บอนิล และฟีนอลิก เป็นต้น (จิรพงษ์ คูหากาญจน์, 2550)

รูปที่ 2 แสดงลักษณะของน้ำส้มควันไม้ (ที่มา: http://www.charcoal.snmcenter.com)

นอกจากนี้น้ำส้มควันไม้ยังได้รับความสนใจในการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์ เภสัชกรรม และอุตสาหกรรมอาหาร (Porto et al., 2006) เนื่องจากในน้ำส้มควันไม้มีสารฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (Kjallstrand and Petersson, 2001) ทำให้มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับการสกัดสารฟีนอลิกจากน้ำส้มควันไม้และสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ เช่น ใช้ผลิตสารแต่งกลิ่นอาหาร สารกันหืนในอาหาร

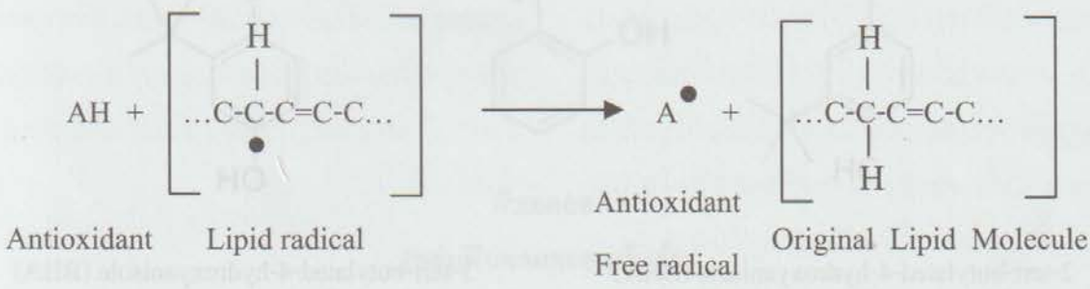
สารดับกลิ่นตัว เครื่องสำอาง และยารักษาโรค และอื่นๆ อีกมากมาย ตามที่มีการรายงานวิจัยในแหล่งต่างๆ (มรกต ทัพจันทร์, 2551; Guillen and Manzanos, 2002)

อนุมูลอิสระคืออะไร

อย่างที่ทราบกันดีว่า ในชีวิตประจำวันของคนเราล้วนต้องพบกับสภาวะที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่ยากต่อการหลีกเลี่ยง การเกิดอนุมูลอิสระขึ้นนั้นมีด้วยกันหลายสาเหตุ เช่น เกิดจากมลพิษในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ แก๊สพิษที่ปล่อยจากท่อไอเสียยานยนต์ ยาฆ่าแมลงในการปราบศัตรูพืช แสงแดดในตอนกลางวันที่ร้อนจัด และสารเคมีจากการปล่อยของโรงงานอุตสาหกรรมหรือที่เกิดจากวิถีการดำเนินชีวิตประจำวัน ได้แก่ อาหารที่รับประทาน ความเครียดที่เกิดจากการทำงาน การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา หรือแม้กระทั่งการใช้โทรศัพท์มือถือ เป็นต้น สิ่งเหล่านี้สามารถกระตุ้นและก่อให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกาย เนื่องจากอนุมูลอิสระคืออนุภาคที่ไม่เสถียร เพราะมีอิเล็กตรอนเพียงหนึ่งอนุภาค แต่จะเสถียรเมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากแหล่งต่างๆ อย่างเช่น โปรตีน ไขมันและดีเอ็นเอในร่างกาย เป็นแหล่งที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ง่าย ดังนั้นอนุมูลอิสระเหล่านี้จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เซลล์เสื่อมสภาพหรือตายเร็วกว่าปกติ จึงทำให้เกิดภาวะแก่ก่อนวัย หากมีมากจะก่อให้เกิดโรคแห่งความเสื่อมของร่างกาย เช่น โรคหลอดเลือด โรคหัวใจ และโรคชรา เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าอนุมูลอิสระอาจก่อให้เกิดโรคมะเร็ง เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ทำให้เซลล์กลายพันธุ์ และมีการกระตุ้นให้มีการสร้างเซลล์มากขึ้น (Ozyurt et al., 2007) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังก่อให้เกิดผลเสียต่ออาหารต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารประเภทเนื้อสัตว์ และไขมัน เนื่องจากอาหารประเภทนี้สามารถเกิดอนุมูลอิสระได้ง่าย ส่งผลให้อาหารเกิดการเหม็นหืน เสียรสชาติ และไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน

สารต้านอนุมูลอิสระคืออะไร

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารที่มีความสามารถในการยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ (free radical) สามารถพบได้ทั้งในธรรมชาติและได้จากการสังเคราะห์ เช่น วิตามินซี วิตามินอี กลูตาไธโอน (glutathione) เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) คูมารินส์ (coumarins) และกรดฟีนอลิก (phenolic acids) เป็นต้น ความสามารถในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระอาจอยู่ในรูปของการกำจัดอนุมูลอิสระ การให้ไฮโดรเจนอะตอม การกำจัดโลหะ หรือการกำจัดออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน ซึ่งเป็นออกซิเจนที่พร้อมจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล, 2549) สามารถแสดงกลไกการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ออโตออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระในรูปการให้ไฮโดรเจนอะตอม ดังรูปที่ 3

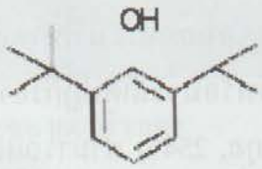


รูปที่ 3 แสดงกลไกการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ออโตออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระ ในรูปการให้ไฮโดรเจนอะตอม

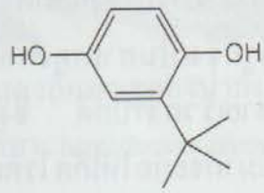
จากรูปที่แสดงกลไกข้างต้นนั้น สารต้านอนุมูลอิสระจะหยุดยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ออโตออกซิเดชัน โดยจะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ไลปิดเรดิคอล (lipid radical) จากนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์ คือ ไลปิดโมเลกุลเดิม (original lipid molecule) ที่มีความเสถียรมากขึ้น และอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ แต่เนื่องจากอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นนั้นมีความเสถียรมาก จึงไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ออโตออกซิเดชันต่อไปได้อีก ดังนั้นปฏิกิริยาลูกโซ่ออโตออกซิเดชันจึงหยุดลง (นิธิยา รัตนปนนท์, 2548)

บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ

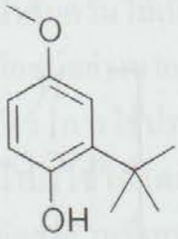
เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ ทำให้สารประเภทนี้ได้รับความสนใจและถูกนำมาใช้ประโยชน์มากมายทั้งในด้านการแพทย์และเภสัชกรรม เพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ ที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นในร่างกายจนทำให้เซลล์ต่างๆ ถูกทำลาย หรือเกิดการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคอื่นๆ ดังที่กล่าวมาข้างต้น นอกจากนี้ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระถูกนำไปใช้เป็นสารกันหืนเพื่อยืดอายุการเก็บของอาหารประเภทต่างๆ โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้จะเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี เช่น บิวทิลเลท ไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene, BHT), บิวทิลเลท ไฮดรอกซีอะนิโซล (butylated hydroxyanisole, BHA) และ เทอร์เชียรีบิวทิลไฮโดรควิโนน (tertiary butylhydroquinone, TBHQ) เป็นต้น ตามที่แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่มนี้ในรูปที่ 4 อย่างไรก็ตาม สารดังกล่าวเป็นสารที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี และปัจจุบันพบว่าสารเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อร่างกายและสามารถก่อให้เกิดเนื้องอก หรือโรคมะเร็งชนิดต่างๆ (กฤติกา นรจิตร, 2548) ดังนั้นจากข้อจำกัดนี้ทำให้มีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวาง เพื่อค้นคว้าหาสารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมาใช้ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์



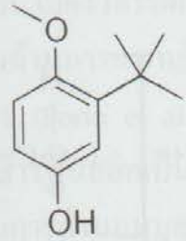
Butylated hydroxyltoluene (BHT)



Tertiary-butylhydroquinone (TBHQ)



2-tert-butylated-4-hydroxyanisole (BHA)



3-tert-butylated-4-hydroxyanisole (BHA)

รูปที่ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี (ที่มา: http://en.wikipedia.org)

สารประกอบฟีนอลิกคืออะไร

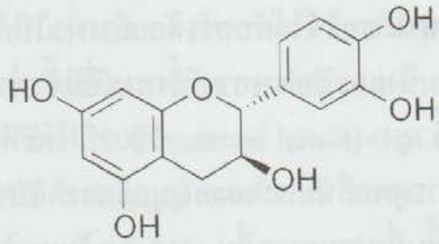
สารประกอบฟีนอลิก คือ สารที่มีสูตรโครงสร้างของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) อย่างน้อยหนึ่งหมู่บนวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) สามารถสังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยาเคมี และสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชต่างๆ สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี และมีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังนี้ (พิศมัย เหล่าภัทรเกษม, 2548)

1) กลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) คือสารที่มีโครงสร้างเป็นแบบ C6-C3-C6 สามารถแยกย่อยออกได้เป็นหลายกลุ่ม ได้แก่ แคทีชิน (catechins) โพรแอนโทไซยานิน (proanthocyanins) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ฟลาโวนอยดส์ (flavonoids) ฟลาโวโนนส์ (flavonones) และ ไอโซฟลาโวนส์ (isoflavones) เป็นต้น สารกลุ่มนี้สามารถพบได้ทั่วไปในพืช ผัก และผลไม้ชนิดต่างๆ เช่น ส้ม เบอร์รี่ หัวหอม และผักชีฝรั่ง เป็นต้น

2) กลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (Phenylpropanoids) คือ สารประกอบฟีนอลิกที่มีโซ่คาร์บอน 3 ตัวเกาะอยู่ที่วงแหวนอะโรมาติก ได้แก่ กรดเฟรูลิก (ferulic acid) กรดคาฟเฟอิก (caffeic acid) กรดคูมาริก (coumaric acid) ลิกแนนส์ (lignans) และคูมารินส์ (coumarins) เป็นต้น สารกลุ่มนี้สามารถพบได้ในพืชบางชนิด เช่น แอปเปิล แพร์ และกาแฟ เป็นต้น

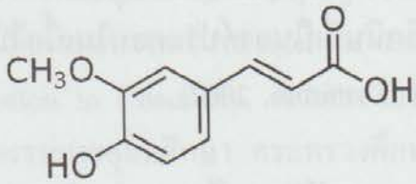
3) กลุ่มฟีนอลและอนุพันธ์ (Simple phenols/ phenolic acid) คือ สารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างอย่างง่ายและอนุพันธ์ที่เกิดจากการเกาะกันของสารฟีนอลิกเหล่านี้ ได้แก่ กรดแกลลิค (gallic acid) กรดเอลลาจิก (ellagic acid) กัวเอคอล (guaiacol) วานิลลิน (vanillin) แคทีคอล (catechol) และรีซอร์ซินอล (resorcinol) เป็นต้น สารกลุ่มนี้สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น กานพลู ใบชา และยังสามารถพบได้ในน้ำส้มควันไม้ดังได้กล่าวไปข้างต้น

โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มต่างๆ แสดงได้ดังรูปที่ 5



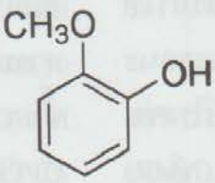
แคทีชิน

(กลุ่มฟลาโวนอยด์)



กรดเฟรูลิก

(กลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์)



กัวเอคอล

(กลุ่มฟีนอลและอนุพันธ์)

รูปที่ 5 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิด

(ที่มา: http://en.wikipedia.org)

สารประกอบฟีนอลิกในน้ำส้มควันไม้

สารประกอบฟีนอลิกในน้ำส้มควันไม้นั้นเกิดจากการสลายตัวด้วยความร้อนของลิกนินที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อไม้ ปัจจุบันมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับน้ำส้มควันไม้ในการเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น มีการศึกษาชนิดและสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกในน้ำส้มควันไม้ที่ผลิตจากไม้ชนิดต่างๆ เช่น ไม้ยูคาลิปตัส (มรกต ทัพจันทร์, 2551) ไม้ไผ่ (Mu et al., 2004) ไม้โกงกาง และไม้โอ๊ค (Loo et al., 2007) เป็นต้น ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในน้ำส้มควันไม้ ได้แก่ กัวเอคอลและอนุพันธ์ (guaiacol and guaiacol derivatives) ฟีนอลและอนุพันธ์ (phenol and phenol derivatives) ไซริงกอลและอนุพันธ์ (syringol and syringol derivatives) และอนุพันธ์ของเคทีคอล (catechol derivatives) ยูจีนอล (eugenol) และไอโซยูจีนอล (iso-eugenol) เป็นต้น (Loo et al., 2008; Porto et al., 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำส้มควันไม้ที่ผลิตจากไม้ต่างๆ กัน จะมีองค์ประกอบของสารฟีนอลิกที่แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการเผาถ่าน อุณหภูมิที่ใช้ในการเผา และปริมาณของลิกนินที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อไม้แต่ละชนิด เป็นต้น (Demirbas, 2002)

เทคนิคการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระทำได้อย่างไร

การตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระสามารถตรวจวัดได้หลายวิธี อาทิเช่น เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เช่น นิวเคลียร์แมกเนติก เรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (NMR) แมสสเปกโทสโกปี (MS) และอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-Vis) เป็นต้น โดยเทคนิคอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ถือได้ว่าเป็นเทคนิคที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และผู้วิเคราะห์ไม่จำเป็นต้องมีทักษะการใช้เครื่องมือสูงนัก มีวิธีการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระจำนวนมากที่อาศัยเทคนิคนี้ เช่น การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl ($DPPH^{\bullet}$) ด้วยวิธี DPPH (Bortolomeazzi et al., 2007) การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) ($ABTS^{\bullet+}$) ด้วยวิธี ABTS (Du et al., 2009) การวัดความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกให้เป็นเฟอร์รัส ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และวิธี 1,10-Phenanthroline (Phen) (Szydlowska-Czerniak et al., 2008) นอกจากนั้นยังตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งการเกิดภาวะเพอร์ออกซิเดชันด้วยวิธีลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxiidation) (มรกต ทัพจันทร์, 2551) เป็นต้น

วิธี DPPH นั้นเป็นวิธีพื้นฐานที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจวัดสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสามารถใช้ได้กับสารตัวอย่างทั่วไป ทั้งสารที่เป็นของแข็งและของเหลว ทั้งสารที่มีขั้วต่ำไปจนถึงสารที่มีขั้วสูง (Kartal et al., 2007) โดยทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (สีม่วง) เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากนั้นเมื่ออนุมูลอิสระดังกล่าวได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ถูกเปลี่ยนไปเป็นโมเลกุล DPPH ที่มีความเสถียร (สีเหลือง) ค่าการดูดกลืนแสงจึงลดลง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างนั้นจะแปรผกผันกับค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ส่วนปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นแสดงดังสมการข้างล่างนี้

$$DPPH^{\bullet} + AH \longrightarrow DPPH + A^{\bullet}$$

อนุมูลอิสระ (สีม่วง) | สารต้านอนุมูลอิสระ | โมเลกุลที่เสถียร (สีเหลือง) | อนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกในน้ำส้มควันไม้

นอกจากการศึกษาองค์ประกอบของสารฟีนอลิกในน้ำส้มควันไม้แล้ว ยังได้มีการศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกอย่างมากมาย เช่น Gonzalez และคณะ (2004) ได้ศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดจากน้ำส้มควันไม้ที่ผลิตจากไม้ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globulus*) ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากไม้ยูคาลิปตัสมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่า 0.43 กรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคิดเป็นความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC50) เท่ากับ 0.39 กรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า BHT ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่ได้จากการสังเคราะห์

การศึกษาน้ำส้มควันไม้ในประเทศไทย ส่วนใหญ่มีวัตถุประสงค์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านเกษตรกรรม อย่างไรก็ตาม มรกต ทัพจันทร์ (2551) ได้ประเมินสมบัติต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มควันไม้ที่ผลิตจากไม้ยูคาลิปตัสเพื่อเป็นแนวทางในการนำน้ำส้มควันไม้ไปใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหาร โดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธีโฟลิน-ซิโอแคลตูรี (Folin-Ciocalteu) และศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธีไลปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกในน้ำส้มควันไม้ที่ศึกษามีปริมาณ 11.20 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำส้มควันไม้ และพบว่าความเข้มข้นของน้ำส้มควันไม้ที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 4.92 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยวิธี DPPH ส่วนวิธีลิพิดเพอร์ออกซิเดชันมีค่าเท่ากับ 3.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุป

จากข้อมูลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่าน้ำส้มควันไม้ผลพลอยได้จากการเผาถ่าน มีสารเคมีเป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติและได้จากการสังเคราะห์ มีการใช้สารประกอบฟีนอลิกจากการสังเคราะห์เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมหลายด้าน แต่เนื่องจากปัจจุบันพบว่าสารดังกล่าวอาจก่อให้โรคร้ายแรงต่อร่างกาย ทำให้การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์เพิ่มขึ้นอย่างมากมาย น้ำส้มควันไม้จึงเป็นสารจากธรรมชาติอีกแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจเนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระ จำพวกสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบอยู่จำนวนมาก และเพื่อเป็นการสนับสนุนการพัฒนาการใช้พลังงานทดแทนจากชีวมวลให้เกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่า การศึกษาเพื่อนำน้ำส้มควันไม้มาใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้อง ปลอดภัย และมีประสิทธิภาพสูงสุด จึงเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นอย่างยิ่ง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (Center of Excellence for Innovation in Chemistry, PERCH-CIC) สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น มา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

กฤติกา นรจิตร. (2548). คุณสมบัติของสารสกัดจากพืชวงศ์ขิง: อิทธิพลของวิธีการสกัดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย

เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

จิระพงษ์ คูหากาญจน์. (2550). คู่มือการผลิตถ่านและน้ำส้มควันไม้. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์เกษตรกรรมธรรมชาติ. หน้า 59-77.

เฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2550). มารู้จักน้ำส้มควันไม้กันเถอะ. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 22(4): 51-56.

ไชย ส่องอาชีพ. (2551). ไปตรังดูพลังงานทดแทนที่บ้านนาชุมเห็ด. เทคโนโลยีชาวบ้าน. 20(426): 71.

นิธิยา รัตนปนนท์. (2548). วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์. หน้า 256.

พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. (2549). การใช้สารประกอบฟีนอลิกของพืชเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 26(3): 222-238.

พิศมัย เหล่าภัทรเกษม. (2548). บทบาทของผลิตภัณฑ์ในการป้องกันและรักษามะเร็ง. ศรีนครินทร์เวชสาร. 20(3): 180-189.

มรกต ทัพจันทร์. (2551). การประเมินสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพของน้ำส้มควันไม้ที่ผลิตจากไม้ยูคาลิปตัส. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีวิเคราะห์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Bortolomeazzi, R., Sebastianutto N., Toniolo R. and Pizzariello A. (2007). Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition DPPH radical scavenging and oxidation potential. Food Chemistry. 100: 1481-1489.

Demirbas, A. (2002). Party chemical analysis of liquid fraction of flash pyrolysis proucts from biomass in the presence of sodium carbonate. Energy Conversion and Management. 43: 1801-1809.

Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. Food Chemistry. 113: 557-562.

Gonzalez, J., Cruz, J., Dominguez, M. H. and Parajo, J. C. (2004). Production of antioxidants from *Eucalyptus globulus* wood by solvent extraction of hemicellulose hydrolysates. Food Chemistry. 84: 243-251.

Guillen, M. D. and Manzanos, M. J. (2002). Study of the volatile composition of an aqueous oak smoke preparation. Food Chemistry. 79: 283-292.

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferrera, D., Polissou, M., and Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant activities of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. Food Chemistry. 100: 284-289.

Kjallstrand, J. and Petersson, G. (2001). Phenolic antioxidants in alder smoke duing industrial meat curing. Food Chemistry. 74: 85-89.

Loo, A. Y., Jain, K. and Darah, I. (2007). Antioxidant and radical scavenging activities of the pyroligneous acid from a mangrove plant *Rhizophora apiculata*. Food Chemistry. 104: 300-307.

_____. (2008). Antioxidant activities of compounds isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophore apiculata*. Food Chemistry. 107: 1151-1160.

Mu, J., Uehara, T. and Furuno, T. (2004). Effect of bamboo vinegar on regulation of germination and radical growth of seed plant II: composition of Moso bamboo vinegar

at different collection temperature and its effects. Journal of Wood Science. 50: 470-476.

Ozyurt, D., Demirata, B. and Apak, R. (2007). Determination of total antioxidant capacity by a new spectrophotometric method based on Ce(IV) reducing capacity measurement. Talanta. 71: 1155-1165.

Porto, C. D., Moret, S. and Soldera, S. (2006). A study on composition of distillates obtained from smoked marc. Analytica Chimica Acta. 563: 396-400.

Qi, Z., Jie, C., Tiejun, W. and Ying, Xu. (2007). Review of pyrolysis oil properties and upgrading research. Energy Conversion and Management. 48: 87-92.

Szydowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G. and Szyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oil by ferric-ion spectrophotometric methods. Talanta. 76: 899-905.

Wang, Z., Cao, J. and Wang, J. (2009). Pyrolytic characteristics of pine wood in a slowly heating and gas sweeping fixed-bed reactor. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. 84: 179-184.

http://www.agnet.org/library/pt/2005025/ (8 กุมภาพันธ์ 2553).

http://www.charcoal.snmcenter.com/charcoalthai/Line_product.php (8 กุมภาพันธ์ 2553).

http://en.wikipedia.org/wiki/Butylated_hydroxyanisole (13 มีนาคม 2553).

http://en.wikipedia.org/wiki/Butylated_hydroxytoluene (13 มีนาคม 2553).

http://en.wikipedia.org/wiki/Catechins (13 มีนาคม 2553).

http://en.wikipedia.org/wiki/TBHQ (13 มีนาคม 2553).

http://en.wikipedia.org/wiki/Ferulic_acid (13 มีนาคม 2553).

http://en.wikipedia.org/wiki/Guaiacol (13 มีนาคม 2553).

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 472-485 (2553) KKU Sci. J.38(4) 472-485 (2010)

ดัชนีชี้วัดความชราในร่างกาย: F_2 – isoprostanes

Biomarkers of Aging: F_2 – isoprostanes

ปนัดนา อเนกเวียง [1] และ รินา ภัทรมานนท์ [1]*

บทคัดย่อ

ความชรา (aging) คือ สภาวะที่กิจกรรมภายเซลล์ต่างๆ ในร่างกายมีความเสื่อมถอยเนื่องมาจากความล้มเหลวในการจัดการกับสภาวะคุกคาม ทั้งที่มาจากภายในร่างกายเองหรือเกิดจากปัจจัยภายนอก สาเหตุของความชราที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง คือ ทฤษฎีอนุมูลอิสระ (free radical theory of aging) โดยอนุมูลอิสระจะไปทำลายสารชีวโมเลกุลต่างๆ ทำให้ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ ผลที่เกิดขึ้น คือ สัญญาณทางกายภาพภายนอกที่เห็นได้ด้วยตาเปล่าเรื่องความเหี่ยวย่นของร่างกายและกำลังของร่างกายที่ลดลง นอกจากนี้ยังมีสัญญาณภายในร่างกายที่สามารถใช้ประเมินสภาวะความชราได้ เรียกว่า ดัชนีชี้วัดความชรา (biomarkers of aging) F_2- isoprostanes เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันโดยไม่ใช้เอ็นไซม์ของกรดอราคิโดนิก (arachidonic acid) เกิดขึ้นเมื่อกรดอราคิโดนิกถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ ปริมาณของ F_2- isoprostanes ถูกใช้เป็นดัชนีชี้วัดสภาวะการเกิดโรคหลายชนิด เช่น เบาหวาน และโรคหลอดเลือดอุดตัน ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคเพื่อวัดปริมาณและชนิดของ F_2- isoprostanes เพื่อใช้เป็นข้อบ่งชี้สภาวะการเกิด oxidative stress ซึ่งมีผลในการเร่งอัตราความชราของร่างกาย อย่างไรก็ดีเทคนิค GC/MS และ LC/MS/MS ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันยังคงมีความยุ่งยากและราคาแพง หากในอนาคตมีการพัฒนาเทคนิคที่ง่าย และแม่นยำจะมีประโยชน์อย่างมากสำหรับบุคคลทั่วไปในการใช้ประเมินสภาวะสุขภาพ และความชราของตนเอง

Abstract

Aging is a deteriorate process that activities in cells are slowly declined and ineffective due to physiological or environmental stresses. The widely accepted cause of aging is the free radical theory of aging in which free radicals attack biomolecules leading to damage and malfunctioning. Well known visible signs of aging are wrinkles and loss of muscle strength whereas several useful biomarkers of aging reside in the body. F_2- isoprostanes is the product of nonenzymatic peroxidation of arachidonic acid. It has been used as indicators for several diseases relating to cellular oxidative damage including diabetes and atherosclerosis.

[1] กลุ่มวิจัยโปรตีนและโปรติโอมิกส์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

* Corresponding Author, E-mail: narin@kku.ac.th

Several techniques such as GC/MS and LC/MS-MS have been developed to quantify F_2- isoprostanes as biomarker for oxidative stress and aging. However, these approaches are infeasible and costly. Advances in technique development to be simpler, accurate, and less expensive might be publicly accessible to determine individual health status and rate of aging.

ทฤษฎีความชราที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (Free Radical Theory of Aging)

ความชรา (aging) คือ กระบวนการที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิตซึ่งดำเนินไปตลอดเวลา ทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อและเซลล์ จนนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ และตายในที่สุด ได้มีผู้เสนอทฤษฎีและสาเหตุของความความชราไว้หลายอย่าง อาทิ ความชราเกิดจากพันธุกรรมที่ถูกกำหนดไว้ในยีน หรือเกิดจากการหดสั้นลงของเทโลเมียร์ (Telomere shortening) (Bekaert et al., 2005; Cawthon et al., 2003) หรือเป็นไปตามกฎข้อที่สองของเทอร์โมไดนามิกส์ที่ว่าสสารทุกอย่างมีแนวโน้มเข้าสู่ความไม่เป็นระเบียบซึ่งรวมไปถึงเซลล์ในสิ่งมีชีวิตด้วย(Bortz II, 1986) ในระยะหลังมีทฤษฎีหนึ่งที่ได้รับการยอมรับมากขึ้นเนื่องจากมีหลักฐานสนับสนุนมากขึ้น คือ ทฤษฎีความชราที่เกิดจากอนุมูลอิสระ หรือ free radical theory of aging ซึ่งเสนอโดย Harman มีใจความว่า อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นสาเหตุของความชรา ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับทั้งพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมโดยทฤษฎีนี้ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความชรา คือ การทำลายเซลล์และองค์ประกอบของเซลล์โดยอนุมูลอิสระ ผลระยะยาวคือทำให้เกิดความเสื่อมของร่างกาย แม้แต่กระบวนการหายใจซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญในการดำรงชีวิตก็ยังทำให้เกิดอนุมูลอิสระ คือออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว จากปฏิกิริยา oxidation ก็ก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ได้เช่นกัน (Harman, 1981; Harman, 2003; Grune, 2005; Harman, 2006)

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ ไม่เสถียร พร้อมทันทีที่จะทำปฏิกิริยากับสารอื่นด้วยการแย่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียง ก่อเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายหรือการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น มลพิษจากโรงงานอุตสาหกรรม สารเคมีตกค้าง ยาฆ่าแมลง ควันเสียจากรถยนต์ ควันบุหรี่ แสงแดด รังสีต่างๆ การที่อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไวต่อปฏิกิริยาเคมีจึงมีผลต่อการทำลายและเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ และ oxidative damage หรือ oxidative stress ที่เกิดจาก oxygen free radical ยังสามารถทำให้เกิดโรคต่างๆได้ เช่น มะเร็ง หัวใจ เบาหวาน ความจำเสื่อม เป็นต้น (Beckman and Ames, 1998; Valko et al., 2006)

ดัชนีชี้วัดความชรา (Biomarkers of aging)

ตลอดระยะเวลาของการมีชีวิตอยู่นั้น ร่างกายของเราจะต้องเผชิญกับภาวะที่เรียกว่า oxidative stress อยู่เสมออย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เป็นภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากมายจนสารต้านอนุมูลอิสระมีไม่เพียงพอ ส่งผลให้เกิดการทำลายเซลล์จนนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆซึ่งเป็นภาวะที่เกิดขึ้นระหว่างการเกิดความชรา และภาวะดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการพิจารณาได้ว่า ร่างกายอยู่ในสภาวะการมีความชรารุนแรงหรือไม่ การพิจารณาภาวะ oxidative stress สามารถทำได้โดยการติดตามดัชนีชี้วัดที่เป็นผลิตภัณฑ์หรือโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับ oxidative stress ซึ่งสามารถแบ่งได้ตามชนิดของสารตั้งต้นของดัชนีชี้วัดดังกล่าวเช่น lipid peroxidation (LPO) products, protein oxidation products, antioxidative acting enzymes, minerals, vitamins, glutathione, flavonoids, bilirubin และ uric acid (UA) (Binder, 2008) ซึ่งผลิตภัณฑ์ต่างๆ เหล่านี้เป็นผลจากการที่อนุมูลอิสระไปทำลายโครงสร้างของ

โปรตีน (Breusing et al., 2009; Requena et al., 2003) DNA (Kasai et al., 1986) และลิพิด หรือมีผลต่อสารต้านออกซิเดชันต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยได้กล่าวถึงดัชนีชี้วัดชนิดต่างๆ ที่มีความสำคัญสำหรับใช้ประเมินภาวะการเกิดความชรา รวมทั้งวิธีการตรวจวัดปริมาณดัชนีชี้วัดชนิดต่างๆ (Gil et al., 2006; Voss and Siems, 2006)

ตารางที่ 1 ดัชนีชี้วัดที่ใช้ประเมินภาวะการเกิดความชรา

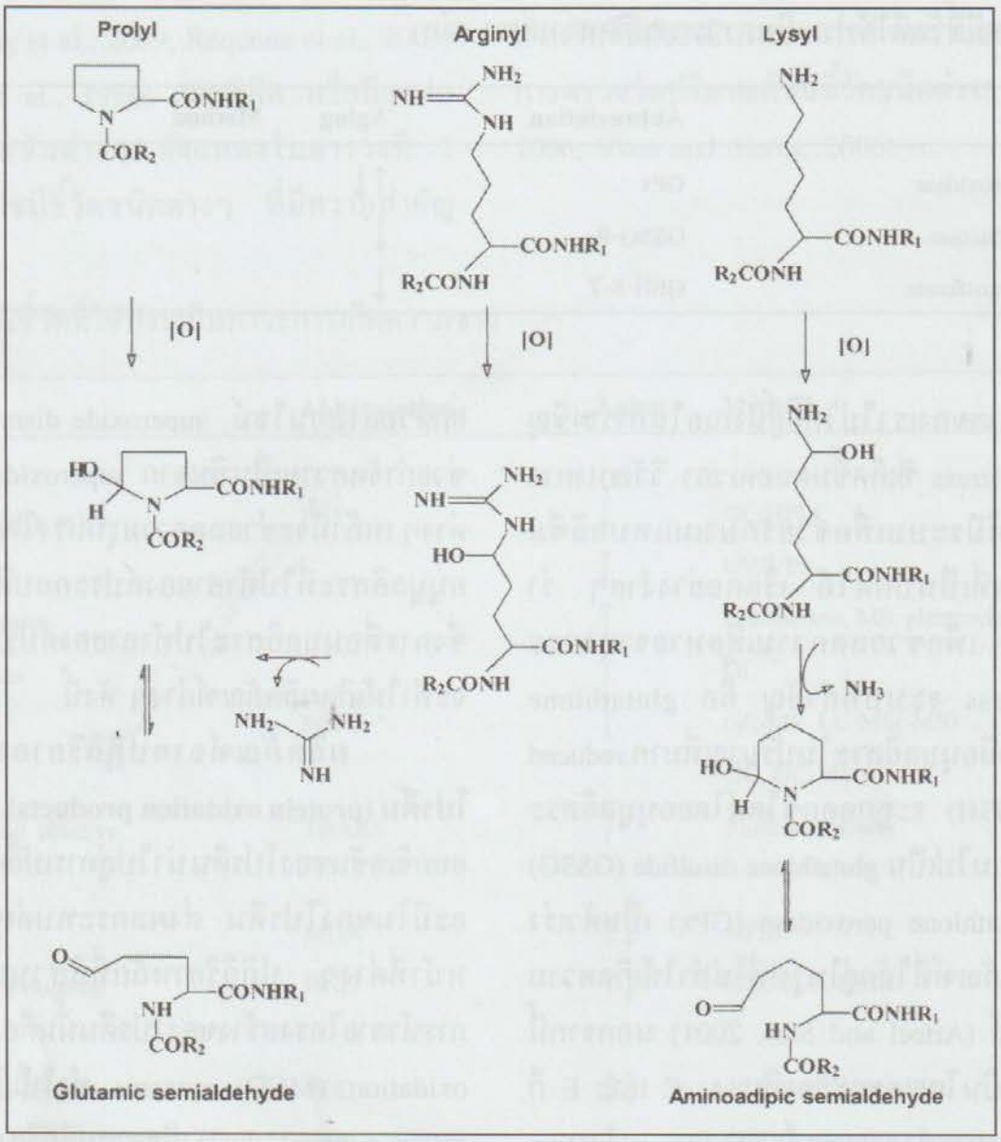
Biomarker	Abbreviation	Aging	Method
Lipid-based			
Polyunsaturated fatty acids	PUFA	↓	GC/HPLC
Conjugated dienes		↑	UV/VIS
Lipid hydroperoxides		↑	Iodomertric, MS, electrochemical
Hydrocarbon gases		↑	GC
F_2-isoprostanes	PGF2	↑	GC-MS LC-MS(-MS)
Oxystyrols			GC, GC-MS
Thiobarbituric acid reactive substances	TBARS	↑	Fluorometrically
Malondialdehyde	MDA	↑↓	HPLC
4-Hydroxy-2-trans-nonenal	HNE	↑↓	UV, TLC, HPLC
Protein-based			
Protein bound carbonyls	PCO	↑↓	ELISA, Western Blot
γ-Glutamic semialdehyde	GGS	↑	HPLC
Aminoadipic semialdehyde	AAS	↑	GC-MS
Branched-chain amino acid	BCAA		
Lipofuscin		↑	Autofluorescence
DNA-biomarkers			
8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine	8OHdG	↑↓	Comet assay, HPLC, GC-MS ELISA
DNA-adducts (I-compounds)		↑↓	^{32}P-post-labeling
Telomere length		↓	Electrophoresis
Antioxidative status			
Reduced glutathione	GSH	↓	Spectroscopy
Oxidized glutathione	GSSG	↑	Fluorometry
Glutathione ratio	GSSG/(GSH + 2GSSG)	↑	
Half-cell potential	E_{hc}	↑	
Uric acid	UA	↑↓	Spectroscopy
Vitamin A, C and E		↑↓	HPLC
Antioxidative acting enzymes			
Superoxide dismutase	SOD	↑↓	

ตารางที่ 1 ดัชนีชี้วัดที่ใช้ประเมินภาวะการเกิดความชรา (ต่อ)

Biomarker	Abbreviation	Aging	Method
Glutathione peroxidase	GPx	↑↓	
Glutathione reductase	GSSG-R	↓	
Glutathione S-transferase	GSH-S-T	↓	

ร่างกายของเราไม่ได้อยู่นิ่งเฉยในการเผชิญกับ oxidative stress ที่เกิดขึ้นตลอดเวลา วิวัฒนาการได้ออกแบบให้มีระบบเพื่อช่วยรักษาเมแทบอลิซึมให้อยู่ในสภาพที่เป็นปกติได้ เรียกอย่างง่ายๆ ว่า antioxidation เพื่อช่วยลดความเสียหายจากภาวะ oxidative stress ระบบที่สำคัญ คือ glutathione system โดยหากมีอนุมูลอิสระในปริมาณที่มาก reduced glutathione (GSH) จะถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลอิสระเหล่านี้และเปลี่ยนไปเป็น glutathione disulfide (GSSG) มีเอนไซม์ glutathione peroxidase (GPx) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลิตภัณฑ์ที่ได้อยู่ในรูปที่ไม่ทำให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ (Arteel and Sies, 2001) นอกจากนี้สารจำพวกวิตามินโดยเฉพาะวิตามิน A, C และ E ก็สามารถป้องกันการทำลายเซลล์จากภาวะ oxidative stress ได้เช่นกัน (Cracowski et al., 2005) วิตามินเหล่านี้มีความสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อและเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เกลือแร่ต่างๆ ที่มีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระเช่น selenium, manganese, copper และ zinc ก็ช่วยในการต้านภาวะ oxidative stress ยกตัวอย่างเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) ที่ช่วยกำจัดความเป็นพิษจาก superoxide ($O2^{\bullet-}$) ระบบต่างๆ เหล่านี้จะช่วยลดความรุนแรงโดยการลดปริมาณอนุมูลอิสระที่ไปทำลายองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ ซึ่งการที่อนุมูลอิสระไปทำลายองค์ประกอบของเซลล์จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ต่างๆ ดังนี้

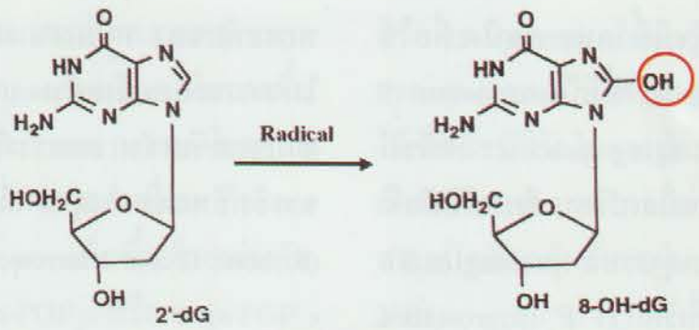
ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน (protein oxidation products) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงหมู่กรดอะมิโนของโปรตีน ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างและหน้าที่ต่างๆ ปฏิกิริยาหลักที่มีส่วนสำคัญทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของโปรตีนนั้นคือ metal-catalyzed oxidation (MCO) systems ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์คือ glutamic semialdehyde เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโน arginine และ proline และ aminoadipic semialdehyde เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโน lysine ดังรูปที่ 1 ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวถือเป็น carbonyl products หลักของ metal-catalyzed oxidation (MCO) systems ที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับความชรา และโรคต่างๆ



รูปที่ 1 การเกิดปฏิกิริยา metal-catalyzed oxidation

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันตำแหน่ง aliphatic side chains ของกรดอะมิโน alanine, valine, leucine และตำแหน่ง acid side chain ของกรดอะมิโน aspartate ทำให้เกิดการสะสมของเสียของโปรตีนที่เรียกว่า lipofuscin ซึ่งโดยปกติแล้วร่างกายของเราจะสามารถซ่อมแซม หรือลดภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนจากภาวะออกซิเดชันได้ โดยการทำงานของ proteasome และ lysosome หรือจากการสังเคราะห์โปรตีนขึ้นมาใหม่เพื่อทดแทนโปรตีนที่ถูกทำลายไป แต่หากมีอัตราการทำลายเซลล์จากภาวะออกซิเดชันเกิดขึ้นเร็วกว่าการซ่อมแซมเซลล์ก็จะเกิดการสะสมของเสียในเซลล์ โดยขึ้นกับตำแหน่งและส่วนประกอบของเซลล์นั้นๆ ของเสียในเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้นนี้ยังสามารถยับยั้งการทำงานของระบบซ่อมแซมเซลล์ได้อีกด้วย (Requena et al. 2003)

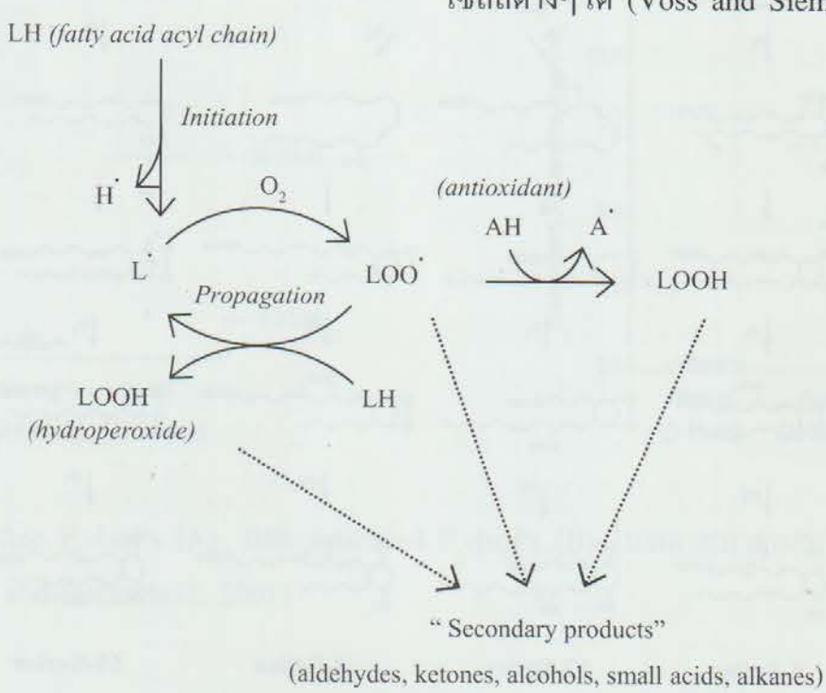
การทำลายดีเอ็นเอ (DNA damage) ภาวะ oxidative stress เกิดกับดีเอ็นเอได้โดย reactive oxygen species (ROS) จะไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ deoxyguanosine residues มากกว่า 200 ตำแหน่งของสาย DNA เกิด 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8OHdG) (รูปที่ 2) ทำให้เกิดความเสียหายแก่ DNA ซึ่งอาจนำไปสู่การเป็นมะเร็งได้



รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ deoxyguanosine

การหดสั้นของเทโลเมียร์ (Telomere shortening) เป็นการพิจารณาความยาวของเทโลเมียร์ซึ่งเป็นบริเวณที่มีลำดับเบสซ้ำๆ กันที่ปลายของโครโมโซม (chromosomes) ซึ่งการที่มีเทโลเมียร์สั้นลงนั้นเกิดจากความเสียหายโดย oxidative stress และ/หรือการเกิด mutations อย่างไรก็ตามไม่เพียง oxidative stress ที่มีผลต่อความยาวของเทโลเมียร์ แต่ยังมีอิทธิพลอื่นๆ อีก เช่น การทำงานของเอนไซม์เทโลเมอเรส (Telomerase) อัตราการแบ่งเซลล์ ซึ่งอาจจะถูกกำหนดโดยปัจจัยทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม (Bekaert et al., 2005) ดังนั้นการใช้เทโลเมียร์ที่สั้นลงเป็นตัวประเมินภาวะ Oxidative stress และความชรา จึงยังไม่มีความชัดเจนเท่าที่ควร

ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของลิพิด (Lipid peroxidation products) เกิดจากอนุมูลอิสระไปรบกวนโครงสร้างและเมแทบอลิซึมของลิพิดที่มีหน้าที่สำคัญต่างๆ หรือเป็นองค์ประกอบของเยื่อเซลล์ อะตอมของคาร์บอนที่ไม่เสถียรของกรดไขมันสามารถเปลี่ยนโครงสร้างกลายเป็น alkanes และ conjugated dienes แล้วถูกปล่อยออกมาทางลมหายใจ หรืออะตอมของคาร์บอนดังกล่าวทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้ lipid hydroperoxides ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องเกิด secondary oxidation products ได้แก่ malondialdehyde (MDA), 4-hydroxy-2-trans-nonenal (HNE), isoprostanes หรือ oxysterols (รูปที่ 3) ผลิตภัณฑ์เหล่านี้สามารถส่งผลกระทบต่อการแสดงออกของยีน การสังเคราะห์โปรตีนและนำไปสู่การทำลายเซลล์ต่างๆได้ (Voss and Siems, 2006)

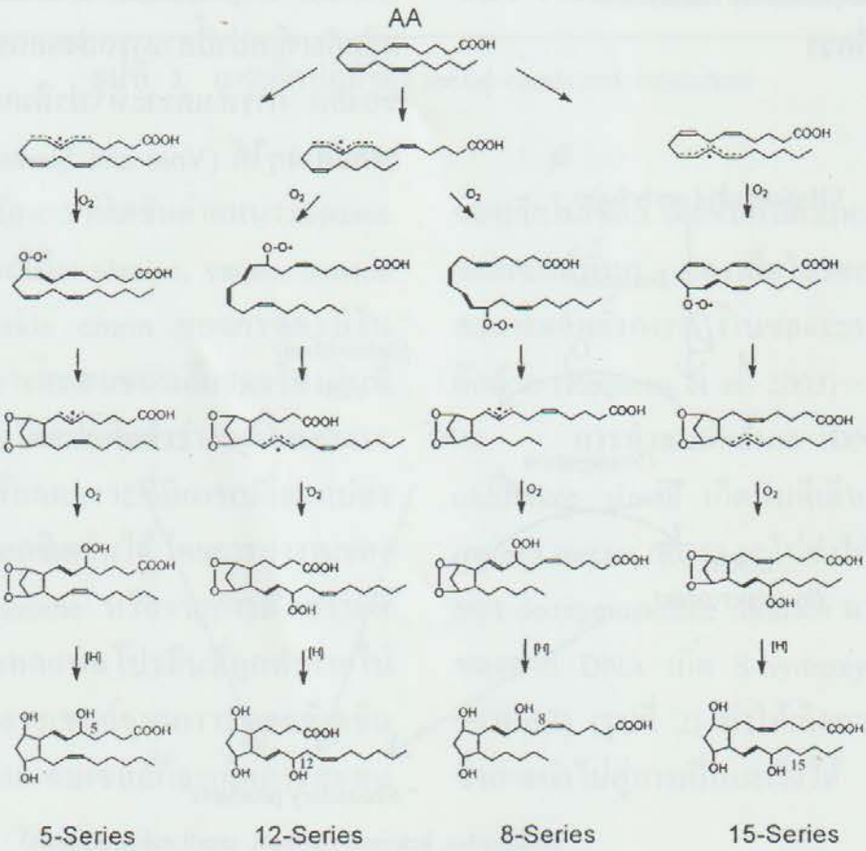


รูปที่ 3 การเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation

ได้มีการกล่าวถึงดัชนีชี้วัดหลายชนิดเพื่อใช้ประเมินภาวะ oxidative stress ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกิด aging process แต่ดัชนีชี้วัดที่มีความน่าเชื่อถือมากเมื่อเปรียบเทียบกับดัชนีชี้วัดชนิดอื่น คือ สารในกลุ่มของ prostaglandin F_2-like compounds หรือที่เรียกว่า F_2-isoprostanes (F_2-IsoPs) ถูกค้นพบเมื่อปี 1990 (Morrow et al., 1999; Roberts II and Milne, 2009) โดยปกติจะมีปริมาณของสารดังกล่าวประมาณ 5-40 พิโกกรัม/มิลลิลิตรของพลาสมา และ 500-4000 พิโกกรัม/มิลลิกรัมของ creatinine ในปัสสาวะ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของ F_2-IsoPs จะเพิ่มสูงขึ้นถึง 200 เท่าในหนูที่อยู่ภายใต้สภาวะที่เร่งให้มีการเกิดอนุมูลอิสระทำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และคุณสมบัติหลายประการที่ทำให้ F_2-IsoPs มีความสำคัญในการเป็นดัชนีชี้วัดภาวะ oxidative stress คือ เป็นผลิตภัณฑ์ของ lipid peroxidation ที่มีความจำเพาะ เป็นสารประกอบที่มีความเสถียร โดยปกติก็จะพบปริมาณที่สามารถตรวจวัดได้ทั้งในของเหลวและเนื้อเยื่อของร่างกาย พบระดับของ F_2-IsoPs เพิ่มขึ้นเมื่อให้สัตว์ทดลองอยู่ในสภาวะออกซิเดชัน แต่สามารถลดลงได้โดยสารต้านออกซิเดชัน และระดับของ F_2-IsoPs ไม่ได้เกิดจากอิทธิพลของ lipid ที่เป็นองค์ประกอบในอาหาร (Roberts II and Morrow, 2000)

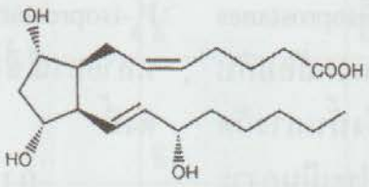
F_2-isoprostanes

เป็นสารที่มีโครงสร้างในกลุ่มเดียวกันกับ prostaglandins เกิดจากอนุมูลอิสระ ที่ชักนำให้เกิดปฏิกิริยา nonenzymatic peroxidation ของกรดอราคิโดนิก (ตัวย่อ AA, รูปที่ 4) ซึ่งกรดอราคิโดนิกอยู่ในรูปเอสเทอร์กับฟอสโฟลิปิดบนเมมเบรนหรือในเซลล์ และ F_2-isoprostanes จะถูกปล่อยออกมาภายหลังในรูปอิสระ (free form) โดยการทำงานของเอนไซม์ phospholipase พบ regioisomers ของ F_2-isoprostanes มี 4 แบบ ซึ่งถูกเรียกแตกต่างกันไปตามจำนวนคาร์บอนของ side chain ของตำแหน่งที่มีหมู่ hydroxyl ดังรูปที่ 4



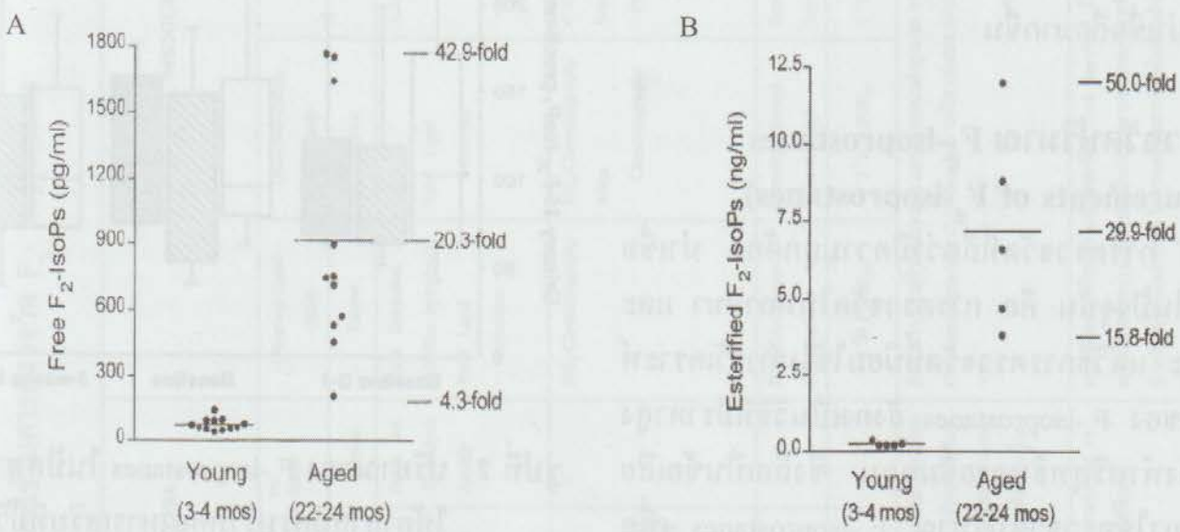
รูปที่ 4 กลไกการเกิด F_2-isoprostanes

ในระหว่างกระบวนการเกิดภาวะความชรา พบว่าจะมีความเข้มข้นของ F_2-isoprostanes เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ที่ป่วยเป็นโรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือด โรคความจำเสื่อม ก็จะพบปริมาณของ F_2-isoprostanes เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ (8-iso-$PGF_{2\alpha}$ หรือ 8-epi-$PGF_{2\alpha}$ หรือ 15-F_2t-isoprostane, รูปที่ 5) ถือเป็น isomer ของ F_2-isoprostanes ที่ได้รับความสนใจในการศึกษา และใช้เป็นดัชนีชี้วัดในการประเมินภาวะ Oxidative stress เป็นอย่างมาก จนอาจกล่าวได้ว่า 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ คือสารชนิดเดียวกันกับ F_2-isoprostanes (Praticò et al., 2001)



รูปที่ 5 โครงสร้างของ 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ (15-$F_{2\alpha}$-IsoP)

ความไม่สมดุลของระบบต้านออกซิเดชันและภาวะ oxidative stress ทำให้ความสามารถของระบบดังกล่าวลดลง ส่งผลให้เกิดการทำลายเซลล์ต่างๆ และเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดความชรา ซึ่งพบว่าเมื่อทำการตรวจวัดปริมาณของ F_2-isoprostanes ซึ่งใช้เป็นดัชนีชี้วัดความชราในหนูที่อายุน้อยกับอายุมาก พบปริมาณของ F_2-isoprostanes สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในหนูอายุมาก (รูปที่ 6) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างความชรา และการทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย (Roberts II and Reckelhoff, 2001)



รูปที่ 6 ปริมาณของ free F_2-IsoPs (A) และ esterified F_2-IsoPs (B) ในพลาสมาของหนูอายุน้อยและอายุมาก (Roberts II and Reckelhoff, 2001)

การตรวจวัดปริมาณของ F_2-isoprostanes นิยมทำในพลาสมา (plasma) และปัสสาวะ (urine) ซึ่งถือว่าเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และเกิดการแพร่กระจายเชื้อที่น้อยที่สุด แต่การตรวจวัดปริมาณของ 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ ในพลาสมานั้น พบว่าเกิดการสลายตัวของ 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ อย่างรวดเร็วภายใน 16 นาที ซึ่งเป็นข้อเสียในการที่จะใช้พลาสมาเป็นสารตัวอย่างในการประเมินภาวะ oxidative stress นอกจากนี้ยังพบว่า F_2-isoprostanes อาจเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากสิ่งแวดล้อมกับกรดอราคิโดนิกที่มีอยู่ในพลาสมา ดังนั้นการวัดปริมาณ 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ ในปัสสาวะเพื่อใช้ประเมินภาวะ oxidative stress จึงมีความน่าเชื่อถือมากกว่า (Davies et al., 2006)

จนกระทั่งถึงปัจจุบัน 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ ก็ยังคงเป็นดัชนีชี้วัดที่มีความน่าเชื่อถือสำหรับการประเมินภาวะ oxidative stress แต่การวัดปริมาณของ 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ ยังคงต้องใช้วิธีการที่มีราคาสูง หรือต้องทำบริสุทธิ์หลายขั้นตอนก่อนการตรวจวัด นักวิจัยจึงมีความพยายามที่จะนำเทคนิคที่ง่าย และไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงเพื่อวัดปริมาณของ 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ และใช้ประเมินภาวะ oxidative stress ให้มีความถูกต้องแม่นยำน่าเชื่อถือมากขึ้น

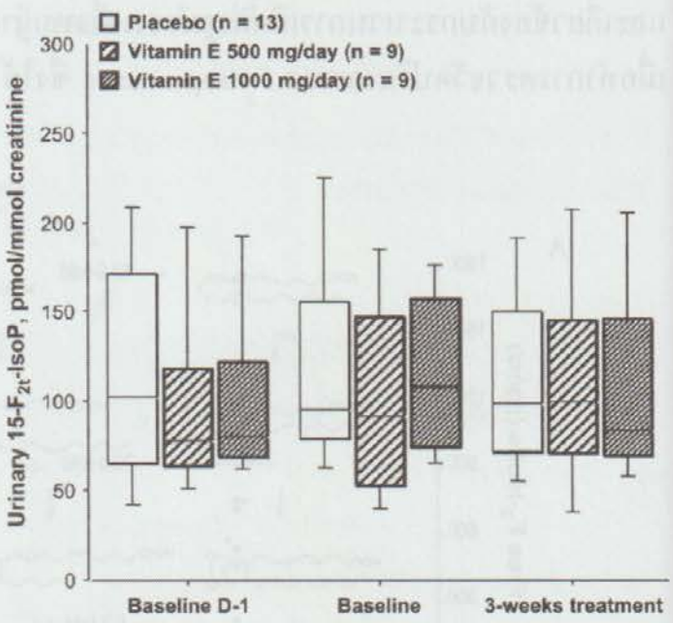
การตรวจวัดปริมาณ F_2-isoprostanes (Measurements of F_2-isoprostanes)

การตรวจวัดที่ถือว่ามีความถูกต้อง น่าเชื่อถือมากในปัจจุบัน คือ การตรวจวัดในพลาสมา และปัสสาวะ แต่วิธีการตรวจวัดที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของ F_2-isoprostanes ยังคงเป็นวิธีที่มีราคาสูงหรือต้องทำบริสุทธิ์หลายขั้นตอน ซึ่งถือเป็นข้อเสียที่จะนำมาใช้ตรวจวัดปริมาณ F_2-isoprostanes เพื่อประเมินภาวะความชรา ดังนั้นจึงเป็นไปได้ยากที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการประเมินสุขภาพของประชาชนได้ วิธีการตรวจวัดที่นิยมใช้ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ผลของอาหารเสริมต่อระดับของ F_2-isoprostanes (Effects of food supplements on F_2-isoprostanes levels)

เมื่อทราบแล้วว่า ปริมาณ F_2-isoprostanes เป็นดัชนีบอกสภาวะ oxidative stress ในร่างกาย ได้เกิดข้อสงสัยว่าหากมีการให้อาหารเสริมพวกสารต้านออกซิเดชัน จะลด oxidative stress และส่งผลให้ปริมาณ F_2-isoprostanes ลดลงหรือไม่อย่างไร มีการศึกษาในหลายกรณีซึ่งให้ข้อสรุปที่ยังไม่ไปในทางเดียวกันนัก ดังนี้

การศึกษาผลของวิตามินอีต่อการลดลงของระดับ F_2-isoprostanes แสดงให้เห็นว่าการให้อาสาสมัครบริโภคอาหารเสริมที่มีวิตามินอี 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ไม่ทำให้ระดับ F_2-isoprostanes มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (Cracowski et al., 2005) ดังรูปที่ 7

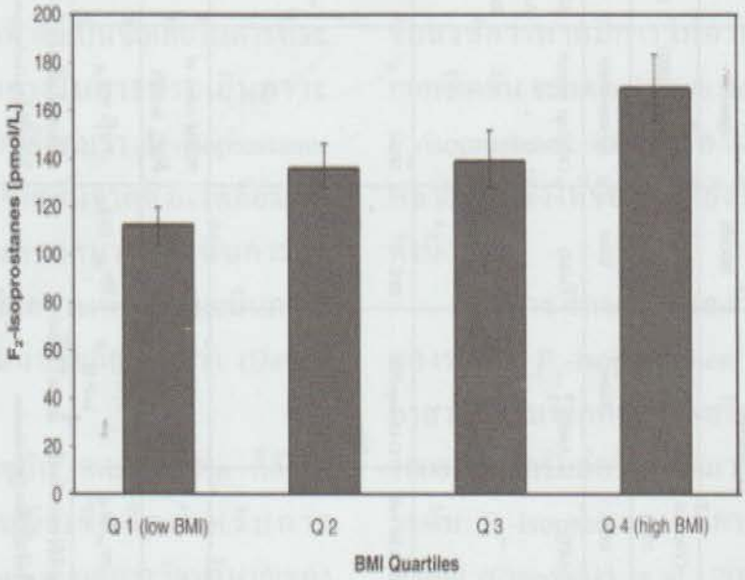


รูปที่ 7 ปริมาณของ F_2-isoprostanes ในปัสสาวะ เมื่อให้อาสาสมัครบริโภคอาหารเสริมที่มีวิตามินอี (Cracowski et al., 2005)

ตารางที่ 2 เทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจวัด F_2- isoprostanes

Detector / ขั้นตอนก่อนการตรวจวัด/ข้อดี/ข้อเสีย	ELISA		GC-MS/NICI				LC			HPLC		
							LC-MS/MS		UPLC-MS/MS	Fluorescence detector	HPLC-MS-MS	HPLC/ESI /MS/MS
	(Chu et al. 2009)		(Nourooz-Zadeh 2009)	(Nourooz-Zadeh 2008)	(Milne et al. 2007)		(Yan et al. 2007)	(Davies et al. 2006)	(Zhang et al. 2010)	(Ritov et al. 2002)	(Taylor et al. 2006)	(Li et al. 1999)
	Urine	Plasma	Plasma	Urine	Plasma	Urine	Urine	Urine	Urine	F_2- isoprostane	Plasma	Urine
การเตรียมสารตัวอย่าง	การเตรียม monoclonal Ab โดยใช้ 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ เป็น Ag	Folch Sol. Hydrolysis Acidify	Folch Extraction Alkaline hydrolysis Total Lipid Extraction	Acidify Total Lipid Extraction	Acidify	Acidify	Acidify	Acidify	Acidify	Cellulose support	Alkaline hydrolysis Acidify Extracted with organic solvents	-
Column ที่ใช้เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	NAP-10 cartridge สำหรับเตรียม antigen ฉีดให้หนูเพื่อสร้าง antibody	-	NH_2-Chromatography	NH_2-Chromatography Silica Chromatography	C-18 Sep-Pak Silica Chromatography	C-18 Sep-Pak Silica Chromatography TLC	HLB 96-well	C-18 Sep-Pak Silica Chromatography	SPE	SPE	-	SPE
Derivatisation	-	-	Pentaflourobenzyl Trimethylsilyl	Pentaflourobenzyl Trimethylsilyl	Pentaflourobenzyl Trimethylsilyl	Pentaflourobenzyl Trimethylsilyl	-	-	-	PDAM esters of $PGF_{2\alpha}$ isomers	-	-
Internal standard	-	-	$[^3H]$-$PGF_{2\alpha}$	$[^2H_4]$-$PGF_{2\alpha}$	$[^2H_4]$-15-F_{2t}-IsoP	$[^2H_4]$-15-F_{2t}-IsoP	$iPF_{2\alpha}$-III-d_4	$[^{18}O_2]$15-F_{2t}-IsoP-M	$iPF_{2\alpha}$ – III-d_4	11β- $PGF_{2\alpha}$	8-iso-$PGF_{2\alpha}$-d_4 $PGF_{2\alpha}$-d_4	$iPF_{2\alpha}$ – III
ข้อดี	เหมาะสำหรับใช้เป็นทางเลือกเชิงการค้า ค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก วิธีการไม่ยุ่งยาก สามารถวิเคราะห์หลายๆตัวอย่าง ในเวลาเดียวกันได้		มีความไว ความจำเพาะเจาะจง และความแม่นยำสูงมาก การเตรียมสารตัวอย่างโดยใช้ NH_2-Chromatography และ C-18 Sep-Pak จะมีความสะดวกและขั้นตอนการทำที่ง่ายกว่าเทคนิคที่ใช้ TLC				ค่าใช้จ่ายค่อนข้างน้อย มีความไว แม่นยำ ไม่จำเป็นต้อง Derivatisation			เตรียมสารตัวอย่างง่าย มีความเที่ยงตรง ไม่จำเป็นต้อง Derivatisation		
ข้อเสีย	ความจำเพาะเจาะจงของ antibody อาจไม่ดีเท่าที่ควร		การเตรียมสารตัวอย่างในขั้นตอนที่ใช้ C-18 Sep-Pak มีความเสียเวลาและต้องระวังในการเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเป็นกรดเพราะจะมีผลต่อการจับกับคอลัมน์ ใช้แรงงาน และค่าใช้จ่ายสำหรับเครื่องมือต่างๆสูง ในการเตรียมสารตัวอย่างต้องทำให้แห้งทุกขั้นตอน ต้องทำบริสุทธิ์และ Derivatisation หลายขั้นตอน									

นอกจากนี้มีรายงานวิจัยพบว่า ระดับของ F_2-isoprostanes มีความสัมพันธ์กับปริมาณไขมันสะสมในร่างกาย (adiposity) ดังนั้น ผู้ที่มีค่าดัชนีมวลกาย [Body Mass Index : BMI (น้ำหนัก(ก.ก.)/ส่วนสูง (เมตร^2)] สูงจะมีระดับของ F_2-isoprostanes สูงกว่าผู้ที่มีค่า BMI ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Dietrich et al., 2002) ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า BMI และ ปริมาณ F_2-isoprostanes ที่เพิ่มสูงขึ้น

นอกจากค่า BMI จะมีผลต่อระดับของ F_2-isoprostanes ที่เพิ่มขึ้นแล้ว ยังพบว่าผู้ที่มีค่า BMI สูงจะมีการลดลงของระดับ F_2-isoprostanes ได้ดีกว่าผู้ที่มีค่า BMI ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการทดลองโดยการให้อาสาสมัครที่มีพฤติกรรมสูบบุหรี่บริโภคอาหารเสริมที่มีวิตามินซี 500 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลาสองเดือน (Dietrich et al., 2002)

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของระดับ F_2-isoprostanes ในพลาสมา หลังจากให้อาสาสมัครบริโภคอาหารเสริมที่มีวิตามินซี

	ปริมาณ F_2-isoprostanes ในพลาสมา (pmol/liter)
ก่อนการบริโภคอาหารเสริม	129.1 ± 67.1
หลังการบริโภคอาหารเสริม	114.7 ± 61.9
ปริมาณ F_2-isoprostanes ที่ลดลง (pmol/liter)	14.4 ± 44.9
ปริมาณ F_2-isoprostanes ที่ลดลง (%)	11.13%

ตารางที่ 4 ปริมาณ F_2-isoprostanes ที่ลดลงระหว่างอาสาสมัครที่มีค่า BMI สูงและต่ำหลังจากการบริโภคอาหารเสริมที่มีวิตามินซี

	ปริมาณ F_2-isoprostanes ใน plasma ที่ลดลง (pmol/liter)
อาสาสมัครที่มีค่า BMI สูง	28.83
อาสาสมัครที่มีค่า BMI ต่ำ	3.14

แม้จะมีการศึกษาพบว่าสารต้านออกซิเดชันสามารถลดปริมาณของ F_2-isoprostanes ได้ก็ตาม แต่การศึกษาในบางครั้งกลับแสดงให้เห็นว่าสารต้านออกซิเดชันไม่ได้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ F_2-isoprostanes ซึ่งข้อมูลที่ขัดแย้งกันนี้อาจเกิดจากความแตกต่างของกลุ่มอาสาสมัครที่ทำการศึกษา ชนิดหรือปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน และระยะเวลาที่ให้อาสาสมัครบริโภคสารต้านออกซิเดชัน

สรุป

ความชราเป็นกระบวนการที่ทุกคนจะต้องเผชิญอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากร่างกายมีการเกิด oxidative stress ซึ่งเป็นภาวะที่อนุมูลอิสระไปทำลายชีวโมเลกุล เซลล์ และเนื้อเยื่อต่างๆ ทำให้เกิดความเสื่อมของร่างกาย ความเจ็บป่วย และตายในที่สุด มีการนำดัชนีชี้วัดหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับภาวะ oxidative stress มาใช้ประเมินกระบวนการเกิดความชรา แต่ F_2-isoprostanes ถือเป็นดัชนีชี้วัดที่มีความน่าเชื่อถือและได้รับความสนใจมากในขณะนี้ อย่างไรก็ตามด้วยวิธีการตรวจวัดที่ยุ่งยาก และมีค่าใช้จ่ายสูงจึงทำให้เป็นข้อจำกัดในการนำ F_2-isoprostanes มาใช้ประโยชน์เพื่อประเมินภาวะความชราของประชาชนให้เป็นที่แพร่หลายได้

เอกสารอ้างอิง

Arteel, G. E. and Sies, H. (2001). The biochemistry of selenium and the glutathione system. Environmental Toxicology and Pharmacology. 10(4): 153-158.

Beckman, K. B. and Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. Physiol. Rev. 78(2): 547-581.

Bekaert, S., Van Pottelbergh, I., De Meyer, T., Zmierczak, H., Kaufman, J. M., Van Oostveldt, P. and Goemaere, S. (2005). Telomere length versus hormonal and bone mineral status in healthy elderly men. Mechanisms of Ageing and Development. 126(10): 1115-1122.

Binder, H. M. (2008). Time dependent changes during hydroxyurea induced senescence in MYCN amplified neuroblastoma. Thesis. Diplomarbeit, Universität Wien. Zentrum für Molekulare Biologie BetreuerIn: Kovar, Heinrich

Bortz II, W. M. (1986). Aging as entropy. Experimental Gerontology. 21(4-5): 321-328.

Breusing, N., Arndt, J., Voss, P., Bresgen, N., Wiswedel, I., Gardemann, A., Siems, W. and Grune, T. (2009). Inverse correlation of protein oxidation and proteasome activity in liver and lung. Mechanisms of Ageing and Development. 130(11-12): 748-753.

Cawthon, R. M., Smith K. R., Elizabeth O'Brien, Sivatchenko, A. and Kerber, R. A. (2003). Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. The Lancet. 361(9355): 393-395.

Chu, X., Ageishi, Y., Nishimura, K., Jisaka, M., Nagaya, T., Shono, F. and Yokota, K. (2009). Development of enzyme-linked immunosorbent assay for 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$, a biomarker of oxidative stress in vivo, and its application to the quantification in aged rats. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 50(5): 911-916.

Cracowski, J., Girolet, S., Imbert, B., Seinturier, C., Stanke-Labesque, F., Bessard, J., Boignard, A., Bessard, G. and Carpentier, P. H. (2005). Effects of short-term treatment with vitamin E in systemic sclerosis: a double blind, randomized, controlled clinical trial of

efficacy based on urinary isoprostane measurement. Free Radical Biology and Medicine. 38(1): 98-103.

Davies, S. S., Zackert, W., Luo, Y., Cunningham, C. C., Frisard, M. and Roberts II, L. J. (2006). Quantification of dinor, dihydro metabolites of F_2-isoprostanes in urine by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Analytical Biochemistry. 348(2): 185-191.

Dietrich, M., Block, G., Hudes, M., Morrow, J. D., Norkus, E. P., Traber, M. G., Cross, C. E. and Packer, L. (2002). Antioxidant supplementation decreases lipid peroxidation biomarker F_2-isoprostanes in plasma of smokers. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 11(1): 7-13.

Gil, L., Siems, W., Mazurek, B., Gross, J., Schroeder, P., Voss, P. and Grune, T. (2006). Age-associated analysis of oxidative stress parameters in human plasma and erythrocytes. Free Radical Research. 40(5): 495-505.

Grune, T. (2005). Book. Free Radicals and Diseases. IOS Press.

Harman, D. (2006). Free radical theory of aging : An update : Increasing the functional life span. Annals of the New York Academy of Sciences. 1067(1): 10-21.

Harman, D. (1981). The aging process. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 78(11): 7124-7128.

Harman, D. (2003). The free radical theory of aging. Antioxidants Redox Signaling. 5(5): 557-561.

Kasai, H., Crain, P. F., Kuchino, Y., Nishimura, S., Ootsuyama, A. and Tanooka, H. (1986). Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. Carcinogenesis. 7(11): 1849-1851.

Li, H., Lawson, J. A., Reilly, M., Adiyaman, M., Hwang, S. and Rokach, J. (1999). Quantitative high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric analysis of the four classes of F_2-isoprostanes in human urine. Proceedings of the National Academy of Sciences. 96(23): 13381-13386.

Milne, G. L., Sanchez, S. C., Musiek, E. S. and Morrow, J. D. (2007). Quantification of F_2-isoprostanes as a biomarker of oxidative stress. Nature Protocols. 2(1): 221-226.

Morrow, J. D., Chen, Y., Brame, C. J., Yang, J., Sanchez, S. C., Xu, J., Zackert, W. E., Awad, J. A. and Roberts, L. J. (1999). The isoprostanes : Unique prostaglandin-like products of free-radical-initiated lipid peroxidation. Drug Metabolism Reviews. 31(1): 117-139.

Nourooz-Zadeh, J. (2008). Key issues in F_2-isoprostane analysis. Biochemical Society Transactions. 36(5): 1060-1065.

Nourooz-Zadeh, J. (2009). An improved procedure for the enrichment of plasma F_2-isoprostanes prior to final determination by GC-MS/NICI. Scientla Iranica. 16(2): 140-144.

Praticò, D., Lowson, J. A., Rokach, J. and FitzGerald, G. A. (2001). The isoprostanes in biology and medicine. Trends in Endocrinology and Metabolism. 12(6): 243-247.

Requena, J. R., Levine, R. L. and Stadtman, E. R. (2003). Recent advances in the analysis of oxidized proteins. Amino acids. 25(3): 221-226.

Ritov, V. B., Kelley, D. E. and Kagan, V. E. (2002). Derivatization of F_2-isoprostanes with 1-pyrenyldiazomethane and their subsequent determination by fluorescence high-performance liquid chromatography. Analytical Biochemistry. 311(1): 10-18.

Roberts II, L. J. and Milne, G. L. (2009). Isoprostanes. The Journal of Lipid Research. 50 (Supplement): S219-S223.

Roberts II, L. J. and Reckelhoff, J. F. (2001). Measurement of F_2-isoprostanes unveils profound oxidative stress in aged rats. Biochemical and Biophysical Research Communications. 287(1): 254-256.

Roberts II, L. J. and Morrow, J. D. (2000). Measurement of F2-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. Free Radical Biology and Medicine. 28(4): 505-513.

Taylor, A. W., Bruno, R. S., Frei, B. and Traber, M. G. (2006). Benefits of prolonged gradient separation for high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry quantitation of plasma total 15-series F_2-isoprostanes. Analytical Biochemistry. 350(1): 41-51.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions. 160(1): 1-40.

Voss, P. and Siems, W. (2006). Clinical oxidation parameters of aging. Free Radical Research. 40(12): 1339-1349.

Yan, W., Byrd, G. D. and Ogden, M. W. (2007). Quantitation of isoprostane isomers in human urine from smokers and nonsmokers by LC-MS/MS. The Journal of Lipid Research. 48(7): 1607-1617.

Zhang, H., Il'yasova, D., Sztaray, J., Young, S. P., Wang, F. and Millington, D. S. (2010). Quantification of the oxidative damage biomarker 2,3-dinor-8-isoprostaglandin-$F_{2\alpha}$ in human urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Analytical Biochemistry. 399(2): 302-304.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 486-496 (2553) KKU Sci. J.38(4) 486-496 (2010)

วัสดุฉลาดกับการประยุกต์
Smart Materials and Applications

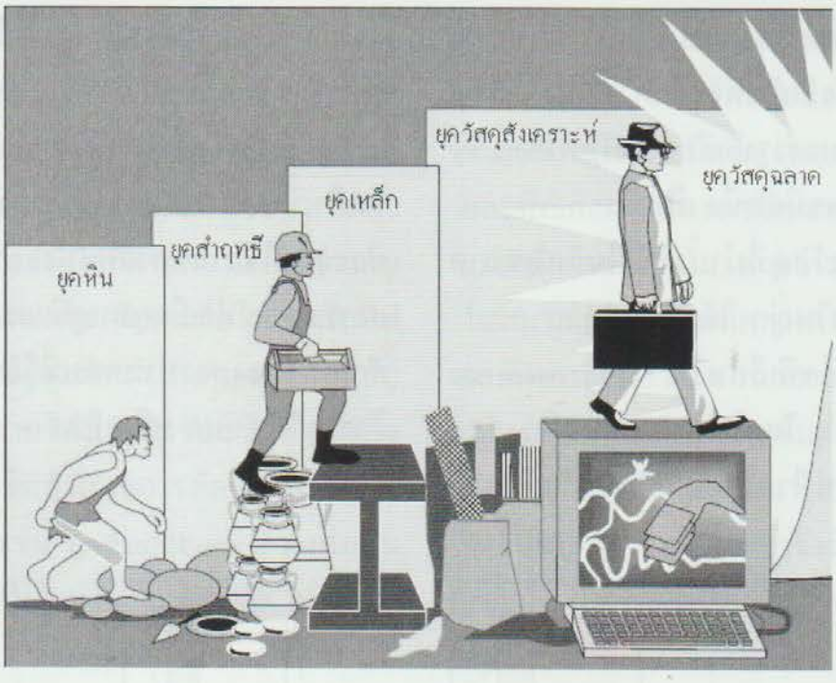
อนุรักษ์ ประสาทเขตร์การ [1]

บทนำ

วิวัฒนาการทางวัสดุและวัฒนธรรมของมนุษย์ถือว่าเป็นความสัมพันธ์ที่ลึกซึ้งมาก เนื่องจากว่ามนุษย์นำสิ่งที่อยู่รอบๆ ตัว ทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์เพื่อตอบสนองความต้องการในการดำรงชีวิต ซึ่งอารยธรรมของมนุษย์ตั้งแต่แรกเริ่มถึงปัจจุบัน หรือแม้แต่อนาคต ล้วนถูกนิยามโดยระดับการพัฒนาวัสดุ (เช่น ยุคหิน ยุคสำริด ยุคเหล็ก ฯลฯ) ทั้งสิ้น มนุษย์ในยุคแรกสุดใช้วัสดุเพียงไม่กี่ชนิดซึ่งเป็นวัสดุที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น หิน ดินเหนียว ไม้ หนังสัตว์ เป็นต้น จึงเรียกยุคนี้ว่ายุคหิน (stone age) เมื่อเวลาผ่านไปมนุษย์ก็ค้นพบวิธีการผลิตวัสดุที่มีสมบัติเหนือกว่าสิ่งที่มีอยู่ตามธรรมชาติ วัสดุใหม่ๆ เหล่านี้ได้แก่ เครื่องปั้นดินเผาและโลหะหลายๆ ชนิด จึงเรียกยุคนี้ว่ายุคสัมฤทธิ์ (bronze age) ต่อจากนั้นได้มีการค้นพบว่า สมบัติของวัสดุสามารถเปลี่ยนแปลงได้ด้วยกรรมวิธีการทางความร้อน (heat treatment) และโดยการเติมสารอื่นลงไปผสม จึงได้มีการผลิตวัสดุที่มีความทันสมัยมากขึ้น เช่น เหล็ก และโลหะอื่นๆ จึงเรียกยุคนี้ว่ายุคเหล็ก (iron age) ซึ่งยุคนี้ถือว่าเป็นยุคที่ทำให้โลกของเราเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก ทั้งทางด้านเกษตรกรรมและการพัฒนาประเทศ ซึ่งในสมัยนั้น ถ้าประเทศใดที่มีอุตสาหกรรมเหล็กถือว่าเป็นประเทศมหาอำนาจ เนื่องจากสามารถที่จะผลิตอาวุธที่มีความคงทน และมีพลังทำลายล้างสูง ทำให้เกิดค่านิยมเกี่ยวกับการล่าอาณานิคมเกิดขึ้น ส่งผลถึงการเกิดสงครามโลกถึงสองครั้ง และต่อมานักวิทยาศาสตร์เริ่มเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างส่วนประกอบทางโครงสร้างของวัสดุกับสมบัติของมัน ทำให้ลักษณะเฉพาะของวัสดุได้ถูกพัฒนาให้ดีขึ้นอย่างมากเพื่อตอบสนองต่อความต้องการในการใช้งานด้านต่างๆ ของมนุษย์ เช่น พลาสติก แก้ว เส้นใย เป็นต้น จึงเรียกยุคนี้ว่า ยุควัสดุสังเคราะห์ (synthetic materials age) หรือบางคนอาจเรียกว่ายุคพลาสติก (plastic age) เนื่องจากพลาสติกถูกผลิตออกมาใช้งานจำนวนมากมาย ไม่ว่าจะเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับใส่อาหาร เครื่องครัว หรือแม้กระทั่งชิ้นส่วนอุปกรณ์ในรถยนต์ แต่ถึงกระนั้นก็ตาม การพัฒนาอย่างไม่หยุดยั้งทางด้านวัสดุนี้เอง ทำให้มีวัสดุที่สามารถตอบสนองต่อความต้องการได้หลากหลายขึ้น สามารถรับรู้การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม (ที่มันทำงานอยู่) ได้ และตอบสนองการเปลี่ยนแปลงเหล่านั้นซึ่งมีลักษณะเหมือนพฤติกรรมที่พบในสิ่งมีชีวิต จึงเรียกยุคนี้ว่า ยุควัสดุฉลาด (smart materials age)

[1] สาขาวิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา 56000

E-mail: prasatkhetragarn@yahoo.com



รูปที่ 1 วิวัฒนาการของวัสดุและพัฒนาการของมนุษย์ (ที่มา: Schwartz Mel., 2002)

วัสดุฉลาด (Addington and Schodek, 2005; แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ, 2551; สุวันชัย พงษ์สุกิจวัฒน์ และคณะ, 2548; http://en.wikipedia.org/wiki/Smart_material)

Smart Materials หรือ **Intelligent Materials** หรือ "วัสดุฉลาด" คือ วัสดุที่สามารถรับรู้สิ่งที่มากระตุ้นหรือการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม (ที่มันทำงานอยู่) ได้ และตอบสนองการเปลี่ยนแปลงเหล่านั้นตามรูปแบบที่ได้มีการกำหนดไว้ก่อนล่วงหน้า ซึ่งลักษณะเช่นนี้เป็นลักษณะพฤติกรรมที่พบในสิ่งมีชีวิตนั่นเอง โดยสิ่งที่มากระตุ้นอาจอยู่ในรูปแบบของความเค้น ความเครียด อุณหภูมิ สารเคมี สนามไฟฟ้า สนามแม่เหล็ก ความดัน และรังสีต่างๆ เป็นต้น นอกจากนี้ วัสดุฉลาดยังถูกพัฒนาให้มีความซับซ้อนขึ้น ซึ่งเป็นตัวจักรสำคัญและอยู่เบื้องหลังการทำงานของอุปกรณ์และเครื่องใช้ไฟฟ้ามาโดยตลอด

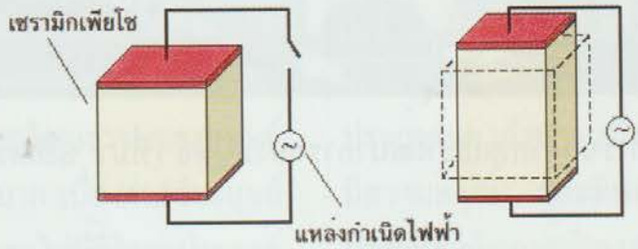
ลักษณะเฉพาะที่สำคัญของวัสดุฉลาด คือ การมีโครงสร้างที่ฉลาด ซึ่งโครงสร้างที่ฉลาดแบบง่ายๆ นั้น ประกอบด้วย เซ็นเซอร์ (sensors) เปรียบได้กับเส้นประสาท (nerves) แอคชูเอเตอร์ (actuators) เปรียบได้กับกล้ามเนื้อ (muscles) และระบบควบคุม (control system) เปรียบได้กับสมอง (brain) โดยองค์ประกอบทั้งสามส่วนนี้มีหน้าที่การทำงานที่แตกต่างกัน กล่าวคือ เซ็นเซอร์ คือ วัสดุหรืออุปกรณ์ที่สามารถรับรู้สิ่งที่มากระตุ้นและสามารถตอบสนองในรูปของสัญญาณ หรืออาจกล่าวได้ว่าเซ็นเซอร์คือตัวแปลงหรือทรานสดิวเซอร์ (transducer) ที่สามารถแปลงสิ่งเร้าที่มากระตุ้นให้อยู่ในรูปที่จะมีประโยชน์ต่อกรรมวิธีการใช้งานหรือเพื่อการประมวลผลต่อไป และในการประมวลผลนั้นจะกระทำผ่านระบบควบคุมที่มีการกำหนดรูปแบบไว้ล่วงหน้าแล้ว เช่น คอมพิวเตอร์ หรือไมโครคอนโทรลเลอร์ ส่วนแอคชูเอเตอร์ คือ วัสดุที่ทำหน้าที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้านั้น โดยจะนำสัญญาณจากเซ็นเซอร์ผ่านระบบควบคุมมาตอบสนองในรูปของการเคลื่อนที่ หรือการสั่นไหว เป็นต้น

เซ็นเซอร์และแอคชูเอเตอร์คืออุปกรณ์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญสำหรับระบบการทำงานของวัสดุฉลาด โดยวัสดุที่ว่าฉลาดนั้น สามารถแสดงความฉลาดในการทำงานออกมาได้หลากหลายแบบ เช่น การปรับระดับแสงและอุณหภูมิของเครื่องปรับอากาศ การควบคุมการเปิดและปิดไฟโดยใช้เสียง การซ่อมแซมตัวเองของสะพานเมื่อเกิดความเสียหาย

หุ่นยนต์ที่มีการทำงานคล้ายมนุษย์ เป็นต้น มีอุปกรณ์และเครื่องมือหลายประเภทที่อาศัยความฉลาดของวัสดุฉลาดนี้ เช่น โลหะจำรูปหรือ "shape memory alloy" ก็เป็นวัสดุฉลาดชนิดหนึ่ง เป็นต้น

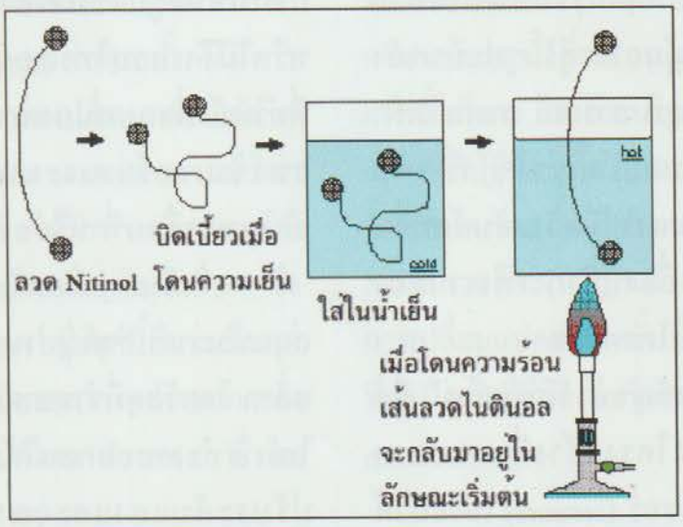
ตัวอย่างของวัสดุที่นำมาใช้เป็นวัสดุฉลาดแบ่งได้เป็น 9 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่

1. วัสดุเพียโซอิเล็กทริก (Piezoelectric materials) หรือเรียกว่า วัสดุไฟฟ้าแรงดัน คือ วัสดุที่สามารถให้สนามไฟฟ้าเมื่อมีความเค้นที่เกิดจากแรงจากภายนอกมากระทำ หรือในทางกลับกัน คือ สามารถให้ความเครียด (strain) หรือการอัดตัว (compression) หรือการยืดตัว (elongation) เมื่อให้สนามไฟฟ้าเช่นกัน นอกจากนั้นสมบัติที่สำคัญยิ่งต่อการประยุกต์ใช้งานของวัสดุประเภทนี้ ก็คือการเปลี่ยนสถานะหรือเฟสเมื่ออุณหภูมิและองค์ประกอบเปลี่ยนไป ตัวอย่างของสารประกอบที่รู้จักกันดี คือ เลดเซอร์โคเนตไททาเนต หรือ PZT



รูปที่ 2 วัสดุเพียโซอิเล็กทริก (ดัดแปลงจาก http://www.piezomaterials.com/)

2. โลหะจำรูป หรือที่เรียกว่า Shape Memory Alloys คือ วัสดุที่สามารถเปลี่ยนรูปร่างและขนาดไปยังรูปร่างและขนาดตั้งต้น เมื่ออุณหภูมิที่ให้แก่วัสดุนั้นเปลี่ยนไป โดยทั่วไปโลหะจำรูปจะเกิดการเปลี่ยนรูป (plastic deformation) ที่อุณหภูมิค่อนข้างต่ำ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โลหะดังกล่าวจะเปลี่ยนรูปร่างตัวเองไปยังจุดเดิมโลหะจำรูปที่กล่าวถึงนี้จะเป็นชนิด "one-way shape memory" ส่วนวัสดุที่เปลี่ยนรูปร่างในช่วงอุณหภูมิที่ให้เย็นตัวลง จะเรียกว่า "two-way shape memory" ตัวอย่างการนำวัสดุประเภทนี้ไปใช้งาน ได้แก่ แว่นตา ตัวเปิดวาวล์ในหม้อต้มกาแฟ อุปกรณ์และเครื่องมือที่โค้งงอใช้ในการผ่าตัด ซึ่งจะกลับคืนรูปร่างตรงดังเดิมเมื่อผ่านการฆ่าเชื้อ (sterilization) เป็นต้น

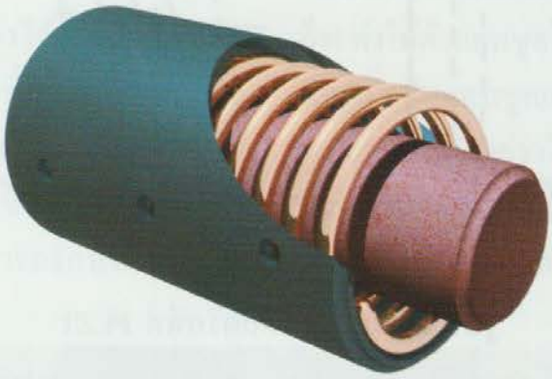


รูปที่ 3 ลักษณะสำคัญของโลหะจำรูป

(ดัดแปลงจาก http://www.talkingelectronics.com.au/projects/Nitinol/Nitinol-1.html)

3. วัสดุอิเล็กโตรสตริกทีฟ (Electrostrictive materials) หรือเรียกว่าวัสดุยืดตัวไฟฟ้า วัสดุประเภทนี้มีลักษณะเหมือนวัสดุประเภทเพียโซอิเล็กทริกที่สามารถให้ความเครียด หรือการอัด หรือการยืดตัวเมื่อให้สนามไฟฟ้า อย่างไรก็ตามความแตกต่างกันของวัสดุทั้ง 2 ประเภท คือ วัสดุอิเล็กโตรสตริกทีฟจะเกิดการยืดตัวเพียงอย่างเดียวในทิศทางที่ไม่ขึ้นกับทิศทางของการให้สนามไฟฟ้า ในขณะที่วัสดุเพียโซอิเล็กทริกจะเกิดการยืดตัวและการอัดตัวในทิศทางของการเกิดโพลาไรเซชั่น (polarization) ตัวอย่างเช่น สารประกอบเลดแมกนีเซียมไนโอเบต หรือ PMN

4. วัสดุแมกนีโตรสตริกทีฟ (Magnetostrictive) หรือเรียกว่า วัสดุอัดหรือยืดตัวแม่เหล็ก เป็นวัสดุจำพวกเฟอโรแมกนีตริก (ferromagnetic) เช่น เหล็กและนิกเกิล ที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อมีสนามแม่เหล็กผ่านวัสดุนั้น ตัวอย่างเช่น แท่งเหล็กที่วางไว้ในสนามแม่เหล็กในทิศทางตามยาวของแท่งเหล็กนั้นจะเกิดการยืดตัวตามแนวยาวของแท่งเหล็ก เมื่อมีสนามแม่เหล็กที่มีความเข้มต่ำผ่าน และจะเกิดการอัดตัวหรือหดตัว เมื่อมีสนามแม่เหล็กความเข้มสูงผ่าน จากปรากฏการณ์ดังกล่าวจึงมีการนำไปประยุกต์ทำแมกนีโตรสตริกทีฟทรานสดิวเซอร์ (Magnetostrictive transducer)



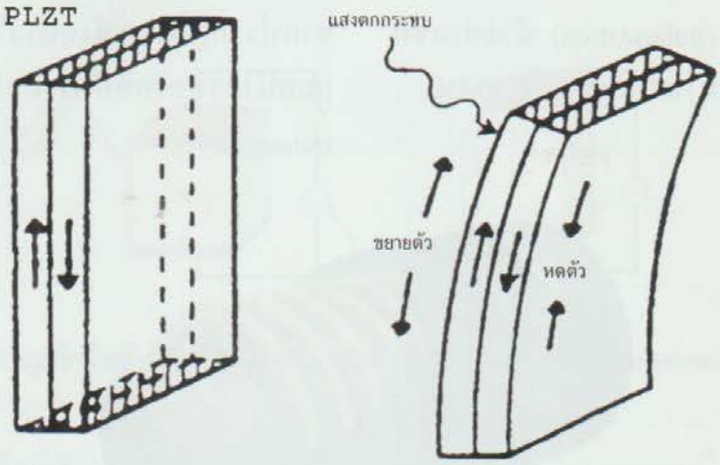
รูปที่ 4 แมกนีโตรสตริกทีฟทรานสดิวเซอร์
(ดัดแปลงจาก http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Magnetostrictive_transducer.PNG)

5. วัสดุโฟโตสตริกทีฟ (Photostrictive or Photomechanical materials) หรือเรียกว่า วัสดุอัดหรือยืดตัวโดยพลังงานแสง คือ วัสดุที่สามารถเกิดปรากฏการหนึ่งที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของวัสดุเมื่อมีแสงมาส่องกระทบ ซึ่งจะเกิดขึ้นได้ต้องมีปรากฏการณ์แสงขับเคลื่อนไฟฟ้า (photovoltaic effect) เกิดขึ้น และต้องอาศัยปรากฏการณ์ของวัสดุเพียโซอิเล็กทริก ที่เป็นแบบย้อนกลับ คือ แบบที่ให้ความเครียดเมื่อให้สนามไฟฟ้าเข้าไป เช่น สารประกอบออกไซด์เลดแลนทานัมเซอร์โคเนตไททาเนต หรือเรียกว่า สาร PLZT เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นที่ต่ำกว่าพลังงานข้ามผ่าน (energy band-gap) ของวัสดุโฟโตสตริกทีฟตกกระทบลงมาที่วัสดุประเภทนี้ซึ่งมีพฤติกรรมของปรากฏการณ์แสงขับเคลื่อนไฟฟ้า จะทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าและความต่างศักย์ในวัสดุนั้น และเนื่องจากวัสดุดังกล่าวเป็นวัสดุเพียโซอิเล็กทริก กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดการอัดหรือการยืดตัวขึ้นในวัสดุนั้น

6. วัสดุเคโมสตริกทีฟพอลิเมอร์ (Chemostrictive polymer) หรือเรียกว่า วัสดุอัดหรือยืดตัวด้วยเคมีประเภทพอลิเมอร์ การอัดหรือยืดตัวด้วยเคมีเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในวัสดุประเภทโพลิเมอร์เมื่อมีการเปลี่ยนเฟส เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีในวัสดุนั้น ตัวอย่างเช่น เจลพอลิเมอร์ (polymer gels) ที่มีการตอบสนองต่อความร้อนจะหดตัวเมื่อมีการระเหยของตัวทำละลาย และยังมีวัสดุ

ประเภท pH-sensitive polymers ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีการยืดหรือหดตัวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบส เป็นต้น

7. วัสดุโครโมจีนิค (Chromogenic materials) หรือวัสดุเปลี่ยนสี หมายถึง วัสดุจะมีการเปลี่ยนสีของตัวมันเองเมื่อสภาพแวดล้อมภายนอกมีการเปลี่ยนแปลง โดยสภาพแวดล้อมที่กล่าวถึง ได้แก่ สนามไฟฟ้า แสง และอุณหภูมิ เป็นต้น ถ้าวัสดุมีการเปลี่ยนสีเมื่อสนามไฟฟ้ามีการเปลี่ยนแปลง เรียกว่า อิเล็กโตรโครมิก (Electrochromic) แต่ถ้ามีการเปลี่ยนสีตามความเข้มของแสง เรียกว่า โฟโตโครมิก (Photochromic) และถ้าวัสดุเปลี่ยนสีเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลง เรียกว่า เทอร์โมโครมิก (Thermochromic) การประยุกต์ใช้วัสดุประเภทนี้ที่เห็นได้ชัดเจน ได้แก่ แว่นกันแดดเมื่ออยู่ในร่มเลนส์จะมีลักษณะใส แต่เมื่อออกกลางแจ้งจะปรับสีให้ทึบขึ้น ช่วยในการถนอมสายตา



รูปที่ 5 วัสดุโฟโตสตริกทีฟ PLZT

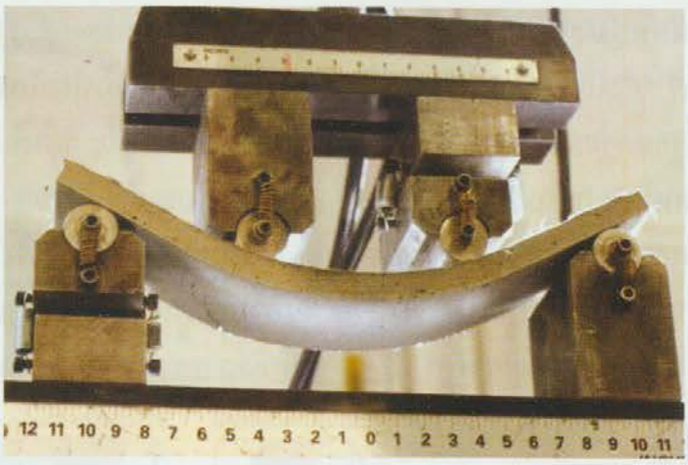
(ที่มา: http://www.physics.montana.edu/eam/photostriction/photostriction.htm)

รูปที่ 6 ระบบอิเล็กโตรโครมิก

(ดัดแปลงจาก http://home.howstuffworks.com/home-improvement/energy-efficiency/smart-window.htm/printable)

8. วัสดุของไหลประเภท Non-Newtonian Fluid เป็นของไหลที่ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยค่าคงที่ของความหนืดเพียงอย่างเดียว แต่ต้องมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น แรง ความเค้น ความเครียด และสนามแม่เหล็ก เป็นต้น วัสดุชนิดนี้ส่วนมากจะเป็นสารละลายพอลิเมอร์ แต่ยังมีสารที่สามารถพบในชีวิตประจำวันของเรา ได้แก่ ซอสมะเขือเทศ เลือด สี และแชมพูสระผม เป็นต้น โดยพฤติกรรมของของเหลวที่มีความหนืดเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการให้แรงจากภายนอกอย่างรวดเร็ว เรียกว่า "non-newtonian fluid" แต่ถ้ามีการให้สนามแม่เหล็กเข้าไปแล้วทำให้ของไหลนั้นมีความเข้มโพลาไรซ์ที่แข็งแรง เรียกว่า เฟอโรฟูลอิต (ferrofluid)

9. วัสดุที่ซ่อมแซมตัวเองได้ (self-healing materials) เป็นวัสดุฉลาดชนิดหนึ่งที่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้หลังจากได้รับความเสียหายจากการใช้งาน แรงบันดาลใจของการคิดค้นวัสดุชนิดนี้ขึ้นมา เกิดจากการเลียนแบบสิ่งมีชีวิตที่สามารถรักษาตัวเองได้หลังจากได้รับบาดเจ็บ ตัวอย่างของการประยุกต์ใช้งานวัสดุชนิดนี้ เช่น Self Healing Concrete เป็นวัสดุคอนกรีตที่มีคุณสมบัติที่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้โดยที่ไม่เกิดการสูญเสียกำลังในการรับน้ำหนัก ถูกค้นพบโดย รองศาสตราจารย์ ดร. Carolyn Dry อาจารย์ประจำภาควิชาสถาปัตยกรรมศาสตร์จาก University of Illinois at Urbana-Champaign และคณะ โดยมีแนวความคิดที่จะผสมไมโครแคบซูลไฟเบอร์หุ้มอิมัลชัน ที่มีลักษณะกลมกลวงภายในบรรจุน้ำยาเชื่อมประสาน หรือสารเคมีเหลวประเภทพอลิเมอร์ลงไปในเนื้อของคอนกรีตก่อนที่จะเกิดการแตกร้าว เมื่อรอยแตกร้าวขนาดไม่ใหญ่มากนักปรากฏขึ้นใกล้กับบริเวณเนื้อคอนกรีตที่มีแคบซูลอยู่ รอยแตกดังกล่าวก็จะทำให้ตัวแคบซูลไฟเบอร์แตก และส่งผลให้สารเคมีที่อยู่ภายในแคบซูลแพร่ออกมาปิดและเชื่อมประสานรอยแตกร้าวดังกล่าวได้ทันท่วงที ทำให้รอยแตกหายไปมีขนาดเล็กลง และไม่ส่งผลให้รอยแตกร้าวเกิดการแพร่ขยายตัวใหญ่ขึ้นในที่สุด



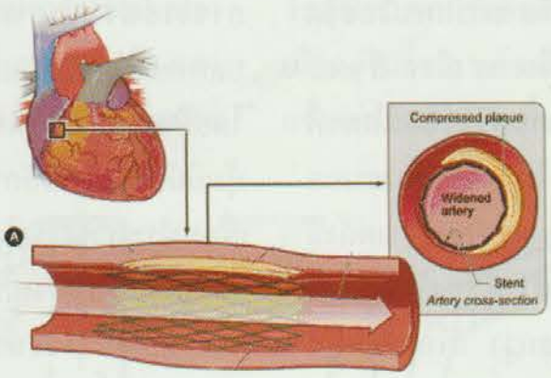
รูปที่ 7 วัสดุคอนกรีตซ่อมแซมตัวเองได้ (self healing concrete)
(คัดแปลงจาก http://www.impactlab.com/2009/04/24/self-healing-bendable-concrete-for-a-safer-infrastructure/)

การประยุกต์ใช้งานวัสดุฉลาด

1. การประยุกต์ทางการแพทย์

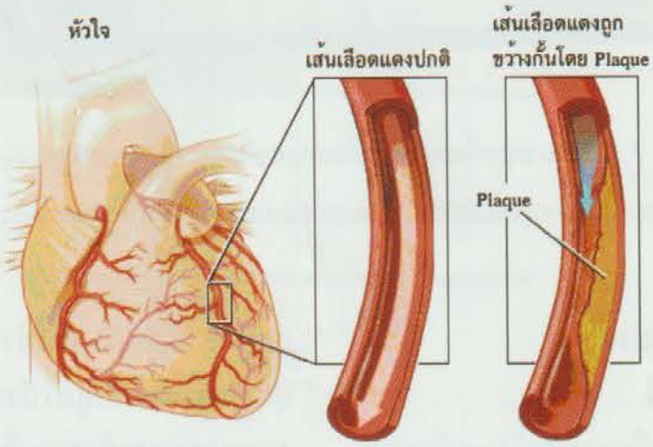
- สเต็นท์ (Stent) เป็นอุปกรณ์ถ่างหรือขยายหลอดเลือด มีรูปร่างลักษณะเป็นขดลวดตาข่ายทรงกระบอก ผลิตจากสเตนเลสหรือโลหะจำรูปก็ได้ ในกรณีที่เป็นสเต็นท์ที่ทำจากสเตนเลส แพทย์จะยึดอุปกรณ์นี้ติดกับลูกโป่งหรือบอลลูน (balloon) ด้วยลวดและสอดเข้าทางเส้นเลือดในร่างกายจนถึงหลอดเลือดของอวัยวะเป้าหมาย จากนั้นแพทย์จะอัดลมเข้าไปในลูกโป่งเพื่อให้ลูกโป่งพองตัวออกเพื่อดัน

สเต็นท์ให้ขยายตัวออกติดผนังของหลอดเลือด จากนั้นแพทย์จะปล่อยลมออกจากลูกโป่ง และถอนเส้นลวดที่ยึดสเต็นท์ออกมา แต่ในกรณีสเต็นท์ที่ทำจากโลหะจำรูป แพทย์ไม่ต้องยึดสเต็นท์เข้ากับลูกโป่ง เพราะเมื่อเลือกใช้โลหะจำรูปที่ออกแบบให้มีการเปลี่ยนรูปร่างที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียสแล้ว สเต็นท์ที่เข้าไปอยู่ในร่างกายจะขยายตัวออกมาดันติดผนังหลอดเลือดได้เอง



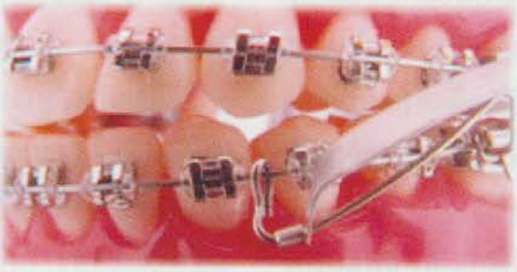
รูปที่ 8 วัสดุจำรูปสำหรับถ่างหรือขยายหลอดเลือด
(ดัดแปลงจาก http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/stents/stents_risk.html)

• ลวดนำทาง (guide wire) ในการผ่าตัดที่ต้องสอดสายสวน (catheter) ผ่านทางเส้นเลือดนั้นไม่สามารถใช้เส้นลวดโลหะทั่วไปได้ เนื่องจากโลหะทั่วไปจะแข็งและขาดความยืดหยุ่น จึงไม่สามารถโค้งงอเข้าไปตามเส้นเลือดได้ ดังนั้นจึงต้องเลือกใช้ลวดนำทางที่ทำจากโลหะจำรูปเพราะมีความยืดหยุ่นสูงกว่า รวมทั้งลวดดักจับสิ่งแปลกปลอมในเส้นเลือดวีนาคาว่า (vena-cava filter) วีนาคาว่าเป็นชื่อของท่อหลอดเลือดดำใหญ่ที่นำเลือดจากทั่วร่างกายส่งเข้าหัวใจเพื่อสูบฉีดไปฟอกที่ปอด อุปกรณ์ชิ้นนี้ผลิตจากโลหะจำรูปชนิดยืดหยุ่นยิ่งยวด (superelastic) ซึ่งเมื่อใส่เข้าไปในหลอดเลือดแล้ว จะขยายตัวคล้ายกับร่มที่กางออกและยึดอยู่กับผนังของหลอดเลือดคอยดักจับสิ่งแปลกปลอมในท่อหลอดเลือดดำใหญ่ไม่ให้เข้าไปอุดตันที่ปอด



รูปที่ 9 ลวดนำทางและลักษณะการประยุกต์ใช้งาน
(ดัดแปลงจาก http://myhealth.ucsd.edu/library/healthguide/en-us/support/topic.asp?hwid=zm2633)

• ลวดจัดฟัน การนำโลหะจำรูปมาประยุกต์ใช้ในทางทันตกรรมเป็นสิ่งที่ใกล้ตัวเรามากกว่าการประยุกต์ที่กล่าวมาข้างต้น ตัวอย่างที่เห็นได้อย่างชัดเจน คือ ลวดจัดฟัน หรือลวดดัดฟัน ข้อดีของการใช้โลหะจำรูปทดแทนลวดสเตนเลส คือ เรื่องความตึงของลวดสเตนเลสที่ผูกฟันอยู่จะลดลงภายหลังจากที่ใช้งานไปได้ระยะเวลาหนึ่ง ทำให้คนไข้ต้องเดินทางมาพบทันตแพทย์เพื่อปรับให้ลวดมีความตึงเท่าเดิมทุกๆ 3-4 อาทิตย์ ทำให้เสียเวลา แต่หากใช้เส้นลวดที่ทำจากโลหะจำรูปที่มีความยืดหยุ่นสูงกว่าจะช่วยลดความถี่ของการมาพบแพทย์ให้เหลือเพียงแค่ 3-4 ครั้ง/ปี เท่านั้น



รูปที่ 10 ลักษณะของลวดจัดฟันที่ทำจากโลหะจำรูป
(ดัดแปลงจาก http://www.mwit.ac.th/~sarawoot/smart_material2.htm)

2. การประยุกต์ทางอุตสาหกรรม

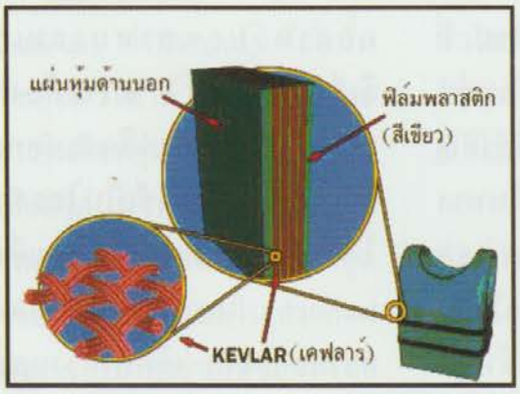
การพัฒนาวัสดุส่วนใหญ่ในปัจจุบันนี้ก็เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาดอุตสาหกรรม ที่ต้องการความแข็งแรง ทนทาน มีความยืดหยุ่น สามารถดัดแปลงหรือขึ้นรูปได้ง่าย และที่สำคัญคือมีน้ำหนักเบา ตัวอย่างการนำวัสดุมาใช้ในทางอุตสาหกรรม ได้แก่ การใช้เทอโมพลาสติกเอบีเอสในอุตสาหกรรมรถยนต์ ซึ่งพลาสติกที่จะนำมาใช้ในรถยนต์มักถูกกำหนดเกณฑ์เรื่องคุณภาพไว้ค่อนข้างสูง โดยพลาสติกต้องมีสภาพหรือรูปร่างดีไม่โก่งงอหรือบิดตัวในสภาวะที่มีความเค้น (stress) หรือสภาพที่ต้องเผชิญการเปลี่ยนอุณหภูมิช่วงกว้าง ซึ่งเอบีเอสมีสมบัติต่างๆ สูง จึงรองรับสภาพการใช้งานในรถยนต์ได้ดี แต่สำหรับอุตสาหกรรมเครื่องใช้ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ ความต้องการเรื่องวัสดุสำหรับอุตสาหกรรมการผลิตจะแตกต่างจากอุตสาหกรรมรถยนต์ วัสดุที่ใช้เป็นโครงภายนอกของเครื่องใช้ไฟฟ้านอกจากจะต้องมีความแข็งแรง ทนต่อการขีดข่วน (scratch) และการเสียดสี (wear) ดี แล้วยังต้องมีความสวยงาม เช็ดทำความสะอาดง่าย และไม่เกิดไฟฟ้าสถิต ซึ่งเอบีเอสสามารถตอบสนองความต้องการเหล่านี้ได้เป็นอย่างดี

รูปที่ 11 การประยุกต์ใช้งานพลาสติกเอบีเอสในอุตสาหกรรมรถยนต์
(ดัดแปลงจาก http://www.caronline.net/Images/Uploaded/1096029.jpg)

รูปที่ 12 การประยุกต์ใช้งานพลาสติกเอบีเอสในเครื่องใช้ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์
(ดัดแปลงจาก http://www.arip.co.th/images/news/mobile6/htc_magic_black.jpg)

3. การประยุกต์ทางทหาร

ความสำคัญของเทคโนโลยีวัสดุอีกแง่มุมหนึ่งที่ประชาชนส่วนใหญ่ไม่ค่อยได้สัมผัสเท่าไรก็คือ การประยุกต์ใช้วัสดุทางการทหาร ซึ่งวัสดุที่ใช้กันมากทางการทหารก็คือเคฟลาร์ หลายคนคงรู้ว่าเป็นวัสดุที่ใช้ทำเสื้อเกราะกันกระสุน และผลิตภัณฑ์อื่นที่ต้องการความแข็งแรงสูงแต่น้ำหนักเบา เคฟลาร์เป็นวัสดุที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่ามีความแข็งแรงสูง ทนทานต่อการกระแทก (impact resistance) ทนต่อการขัดถู (abrasion resistance) ทนต่อสารเคมี (chemical resistance) และเป็นวัสดุที่มีความหนาแน่นต่ำทำให้มีน้ำหนักเบา โดยหากเปรียบเทียบกับเหล็กกล้าที่หนักเท่ากันแล้ว เคฟลาร์จะมีความแข็งแรงดึง (tensile strength) มากกว่าเหล็กกล้าถึง 5 เท่า ทำให้วัสดุชนิดนี้มีความน่าสนใจมาก เคฟลาร์เป็นชื่อเรียกทางการค้าของเส้นใยสังเคราะห์ของโพลิพาราฟีนิลีนเทเรฟทาลาไมด์ (poly-p-phenylene terephthalamide, PPTA) เคฟลาร์ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1965 โดยสเตฟานี กวอเลก (Stephanie Kwolek) และเฮอร์เบิร์ต เบลดส์ (Herbert Blades) นักวิทยาศาสตร์ของบริษัทดูปองท์ ประเทศสหรัฐอเมริกา และวัสดุอีกตัวหนึ่งที่ใช้กันทางการทหารโดยทั่วไปคือ ไนลอน ด้วยเหตุที่ไนลอนมีทั้งความแข็งแรง และมีสมบัติเชิงกลต่างๆ ดี โพลิเมอร์ชนิดนี้จึงถูกประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ทางการทหารหลายอย่าง เช่น ร่มชูชีพ (parachutes) และเชือก เป็นต้น ทุกวันนี้ไนลอนไม่ได้จำกัดอยู่เพียงแค่การเป็นวัสดุในวงการสิ่งทอแต่เพียงอย่างเดียวแล้ว แต่ไนลอนได้ขยายขอบเขตการใช้งานเข้าไปในอุตสาหกรรมอื่นด้วย อย่างการใช้ไนลอนเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเฟือง (gear) ข้อต่อ (fitting) ล้อ (wheel) เป็นต้น



รูปที่ 13 เสื้อเกราะกันกระสุน ใช้สำหรับทหารและตำรวจ
(ดัดแปลงจาก http://static.howstuffworks.com/gif/body-armor-layers.jpg)

4. การประยุกต์ทางเกษตรกรรม

ผลิตผลด้านเกษตรกรรมของเกษตรกรไทยเป็นสินค้าส่งออกหลักที่สร้างรายได้ ให้กับประเทศมาโดยตลอด ในบรรดาผลิตผลด้านการเกษตรนอกจากข้าวแล้ว ผักและผลไม้เป็นผลิตผลหลักที่ประเทศไทยส่งออก อย่างไรก็ดี หากเปรียบเทียบกับปริมาณการผลิตผักและผลไม้ที่มีมาก กลับพบว่ามีความสูญเสียของผลผลิตเกิดขึ้นในระหว่าง การขนส่งและการขายเป็นจำนวนมาก ความสูญเสียที่เกิดขึ้นสืบเนื่องจากการขาดความรู้ความเข้าใจ และไม่มีการประยุกต์ใช้วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมตลอดจนเทคนิคการยืดอายุ ผลิตผลเพื่อรักษาคุณภาพให้คงเดิม การสูญเสียผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยว ไม่ว่าเนื่องจากโรค การเปลี่ยนแปลงทางสรีระของผักผลไม้จากการหายใจหรือสูญเสียน้ำ หรือจากการเกิดบาดแผลซึ่งเคยเป็นปัญหาใหญ่ระดับโลกมาแล้ว หนทางหนึ่ง

ในการแก้ปัญหาดังกล่าว ก็คือ การพัฒนาเทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการบรรจุผลิตผลการเกษตรเพื่อยืดอายุผลิตผลให้นานมากขึ้น ซึ่งก็คือ Active Packaging หรือ บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ ได้รับการยอมรับว่าเป็น Preservation of The 21st Century โดยมีการประยุกต์ใช้ในหลายประเทศ ไม่ว่าจะเป็น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย และประเทศทางแถบยุโรป รวมทั้งประเทศไทยเอง

บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ คืออะไร (http://learning.eduzones.com/jade/3518)

บรรจุภัณฑ์แอคทีฟเป็นนวัตกรรมการควบคุมองค์ประกอบของบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ ซึ่งโดยมากใช้สารประกอบเคมีที่มีสมบัติพิเศษในการดูดหรือคายก๊าซบางชนิด ได้แก่ สารดูดออกซิเจน สารดูดเอทิลีน (เป็นก๊าซที่เกิดจากผลไม้ ทำให้ผลไม้สุก) สารดูดกลิ่น สารควบคุมความชื้น สารคายคาร์บอนไดออกไซด์ หรือสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

หน้าที่ของบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ คือ การปกป้องอาหารและขณะเดียวกันก็ควบคุมสภาพบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ โดยการยอม หรือสกัดกั้นการแพร่ของก๊าซต่างๆ ผ่านเข้า-ออกจากภาชนะบรรจุให้มีความเหมาะสมตามความต้องการของอาหารหรือผลิตผลนั้นๆ เพื่อยืดอายุและรักษาคุณภาพ

การทำงานของบรรจุภัณฑ์ฉลาดนี้ (smart packaging) คือ วัสดุหรือฟิล์มที่ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์สามารถเกิดปฏิสัมพันธ์กับก๊าซภายในบรรจุภัณฑ์และส่งผลถึงการปรับสภาพบรรยากาศอย่างต่อเนื่อง เช่น การลดปริมาณก๊าซ หรือเพิ่มปริมาณก๊าซในบรรยากาศรอบๆ ผลิตผล ทำให้เกิดสมดุลที่ผลิตผลต้องการและชะลอการเสื่อมสภาพได้ สำหรับการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์แอคทีฟให้เหมาะกับอาหารที่ต้องการบรรจุแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเลือกใช้บรรจุภัณฑ์แอคทีฟให้เหมาะกับอาหารที่ต้องการบรรจุ

ประเภทของบรรจุภัณฑ์แอคทีฟ	ประโยชน์การใช้งาน
ดูดหรือลดปริมาณออกซิเจน	อาหารทั่วไป และอาหารที่ผ่านการอบ
เพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์	อาหารที่เกิดราได้ง่าย
ควบคุมความชื้น	ผลิตผลจากพืชสวน และอาหารแห้ง
ดูดหรือลดเอทิลีน	ผลิตผลจากพืชสวน
เพิ่มเอทานอล	อาหารที่ผ่านการอบ

บทสรุป

"วัสดุฉลาด" คือ วัสดุที่สามารถรับรู้สิ่งที่มากระตุ้นหรือการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม (ที่มันทำงานอยู่) ได้ และตอบสนองการเปลี่ยนแปลงเหล่านั้นตามรูปแบบที่ได้มีการกำหนดไว้ก่อนล่วงหน้า โดยวัสดุฉลาดเป็นวัสดุสมัยใหม่ที่ถูกคิดค้นขึ้นมาเพื่อตอบสนองความต้องการของมนุษย์ ทั้งในด้านการดำรงชีวิตและการประยุกต์ใช้งาน ซึ่งส่งผลถึงชีวิตความเป็นอยู่ที่ดี ความสะดวกสบาย และอาจส่งผลถึงเทคโนโลยีที่ทันสมัยในอนาคตด้วย ลักษณะเฉพาะที่สำคัญของวัสดุฉลาด คือการมีโครงสร้างที่ฉลาด ซึ่งโครงสร้างที่ฉลาด ประกอบด้วย เซ็นเซอร์ (sensors) ซึ่งเปรียบได้กับเส้นประสาท (nerves) แอคชูเอเตอร์ (actuators) เปรียบได้กับกล้ามเนื้อ (muscles) และระบบควบคุม (control system) เปรียบได้กับสมอง (brain) โดยองค์ประกอบทั้งสามส่วนนี้มีหน้าที่การทำงานที่แตกต่างกัน แต่การขาดส่วนใดส่วนหนึ่งไปอาจทำให้ส่วนที่เหลือทำงานไม่สมบูรณ์ได้ วัสดุที่นำ

มาใช้เป็นวัสดุฉลาด สามารถแบ่งออกได้เป็น 9 ประเภทใหญ่ๆ คือ วัสดุเพียโซอิเล็กทริก (piezoelectric materials) วัสดุอิเล็กโตรสตริกทีฟ (electrostrictive materials) โลหะจำรูป (shape memory alloys) วัสดุแมกนีโตรสตริกทีฟ (magnetostrictive) วัสดุเปลี่ยนเฟสประเภทเพอรอฟสไกต์ (perovskite) วัสดุโฟโตสตริกทีฟ (photostrictive) และวัสดุเคโมสตริกทีฟพอลิเมอร์ (chemostrictive polymer) ซึ่งปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้วัสดุที่มีโครงสร้างที่ฉลาดนี้อย่างแพร่หลาย เช่น ระบบการทำงานอัตโนมัติในงานอุตสาหกรรม เกษตรกรรม ทางการทหาร และทางการแพทย์ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

บรรจุภัณฑ์แอคทีฟ (active packaging): สิ่งประดิษฐ์ไทย [ออนไลน์]. Available: http://learning.eduzones.com/jade/3518 [28 กุมภาพันธ์ 2551].

แม้น อมรสิทธิ์, สมชัย อัครทิวา และ ธรรมนูญ อุดมมั่น. (2551). วัสดุวิศวกรรม. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แมคกรอ-ฮิล. 531-586.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. วัสดุฉลาด (smart materials) [ออนไลน์]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Smart_material [28 กุมภาพันธ์ 2553].

สุวันชัย พงษ์สุกิจวัฒน์ กอบบุญ หล่อทองคำ เอกสิทธิ์ นิสารัตนพร ธาชาย เหลืองวรานันท์ มาวิน สุประดิษฐ ณ อยุธยา และ ปฐมา วิสุทธิพิทักษ์กุล (2548). วัสดุศาสตร์และวิศวกรรมวัสดุพื้นฐาน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ท้อป. 479-517.

Addington, M. and Schodek, D. (2005). Smart Materials and New Technologies. Oxford: Architectural Press. pp. 1-20.

Schwartz Mel. (2002). Encyclopedia of Smart Materials. New York: John Wiley & Sons, Inc. pp. 1-1145.

http://www.piezomaterials.com/

http://www.talkingelectronics.com.au/projects/Nitinol/Nitinol-1.html

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Magnetostrictive_transducer.PNG

http://www.physics.montana.edu/eam/photostriction/photostriction.htm

http://home.howstuffworks.com/home-improvement/energy-efficiency/smart-window.htm/printable

http://www.impactlab.com/2009/04/24/self-healing-bendable-concrete-for-a-safer-infrastructure/

http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/stents/stents_risk.html

http://myhealth.ucsd.edu/library/healthguide/en-us/support/topic.asp?hwid=zm2633

http://www.mwit.ac.th/~sarawoot/smart_material2.htm

http://www.caronline.net/Images/Uploaded/1096029.jpg

http://www.arip.co.th/images/news/mobile6/htc_magic_black.jpg

http://static.howstuffworks.com/gif/body-armor-layers.jpg

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 497-508 (2553) KKU Sci. J.38(4) 497-508 (2010)

คณิตศาสตร์กับกฎการเคลื่อนที่ของดาวเคราะห์ของเคปเลอร์

Mathematics of the Kepler's Laws of Planetary Motion

เบญจวรรณ โรจนดิษฐ์ [1]

กฎของเคปเลอร์ คือ กฎทางคณิตศาสตร์สามข้อที่กล่าวถึง การเคลื่อนที่ของดาวเคราะห์รอบดวงอาทิตย์ ซึ่งโจฮานเนส เคปเลอร์ (Johannes Kepler พ.ศ. 2114 - 2173) เป็นผู้ค้นพบ โดยกฎสามข้อนั้น คือ

ข้อ 1 วงโคจรของดาวเคราะห์เป็นวงรี โดยมีดวงอาทิตย์อยู่ที่จุดโฟกัสจุดหนึ่ง

ข้อ 2 เมื่อดาวเคราะห์เคลื่อนที่ไปตามวงโคจรนั้น เวกเตอร์รัศมีจากดวงอาทิตย์ไปยังดาวเคราะห์จะกวาดพื้นที่ได้เท่า ๆ กันในเวลาที่เท่ากัน

ข้อ 3 กำลังสองของคาบการโคจรของดาวเคราะห์ จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับกำลังสามของครึ่งแกนเอกของวงโคจร (เฉลียว มณีเลิศ, 2521)

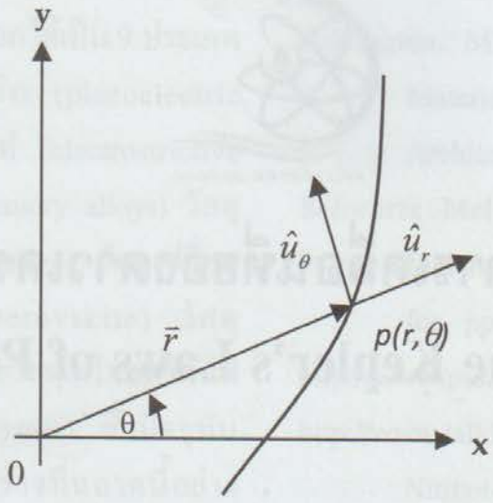
ต่อมา เซอร์ไอแซกนิวตัน (Sir Isaac Newton พ.ศ. 2186 - 2270) ได้ศึกษาและสร้างบทพิสูจน์ทางคณิตศาสตร์พิสูจน์กฎทั้งสามข้อ ซึ่งผู้เขียนจะแสดงให้เห็นถึงการพิสูจน์ของกฎทั้งสามข้อในบทความนี้ (George and Ross, 1996)

สมการของเวกเตอร์ที่เกี่ยวกับ การเคลื่อนที่ในระบบพิกัดเชิงขั้วและพิกัดทรงกระบอก

เมื่ออนุภาคเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้งในระนาบพิกัดเชิงขั้ว (ตามรูปที่ 1)

[1] สาขาวิชาคณิตศาสตร์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000

E-mail: benjawan@sut.ac.th



รูปที่ 1 แสดงการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้งของอนุภาคในพิกัดเชิงขั้ว (ดัดแปลงจาก: George and Ross, 1996)

จากรูปให้ $\bar{r}$ เป็นเวกเตอร์บอกตำแหน่งของอนุภาค ($\bar{r}$ มีจุดเริ่มต้นที่จุดกำเนิด และมีจุดปลายอยู่ที่จุด p, $\bar{r} = \overline{op}$)

ให้ r แทนขนาดของเวกเตอร์ $\bar{r}$

$\hat{u}_r$ เป็นเวกเตอร์หนึ่งหน่วยในทิศทางการเพิ่มของ r

$\hat{u}_\theta$ เป็นเวกเตอร์หนึ่งหน่วยที่ตั้งฉากกับ $\hat{u}_r$ ในทิศทางการเพิ่มของ θ

$\hat{u}_r$ และ $\hat{u}_\theta$ สัมพันธ์กับ $\hat{i}$ และ $\hat{j}$ โดยสมการ ($\hat{i}$ คือ เวกเตอร์หน่วยบนแกน x, $\hat{j}$ คือ เวกเตอร์หน่วยบนแกน y)

$$\left.\begin{aligned} \hat{u}_r &= (\cos\theta)\hat{i} + (\sin\theta)\hat{j} \\ \hat{u}_\theta &= -(\sin\theta)\hat{i} + (\cos\theta)\hat{j} \end{aligned}\right\} \quad (1)$$

จาก $\hat{u}_r$ เป็นเวกเตอร์หนึ่งหน่วยที่มีทิศทางเดียวกับ $\bar{r}$ ดังนั้น $\hat{u}_r = \dfrac{\bar{r}}{|\bar{r}|} = \dfrac{\bar{r}}{r}$ และ $\bar{r} = r\hat{u}_r$ (2)

จากสมการที่ (1) หาอนุพันธ์ของ $\hat{u}_r$ และ $\hat{u}_\theta$ เทียบกับ θ จะได้

$$\left.\begin{aligned} \frac{d\hat{u}_r}{d\theta} &= -(\sin\theta)\hat{i} + (\cos\theta)\hat{j} = \hat{u}_\theta \\ \frac{d\hat{u}_\theta}{d\theta} &= -(\cos\theta)\hat{i} - (\sin\theta)\hat{j} = -\hat{u}_r \end{aligned}\right\} \quad (3)$$

หาอนุพันธ์ของ $\hat{u}_r$ และ $\hat{u}_\theta$ เทียบกับ t โดยใช้กฎลูกโซ่ จะได้

$$\left.\begin{aligned} \frac{d\hat{u}_r}{dt} &= \frac{d\hat{u}_r}{d\theta}\cdot\frac{d\theta}{dt} = \hat{u}_\theta\dot{\theta} \\ \frac{d\hat{u}_\theta}{dt} &= \frac{d\hat{u}_\theta}{d\theta}\cdot\frac{d\theta}{dt} = -\hat{u}_r\dot{\theta} \end{aligned}\right\} \quad (4)$$

($\dot{\theta}$ หมายถึง $\frac{d\theta}{dt}$ และ $\dot{r}$ หมายถึง $\frac{dr}{dt}$)

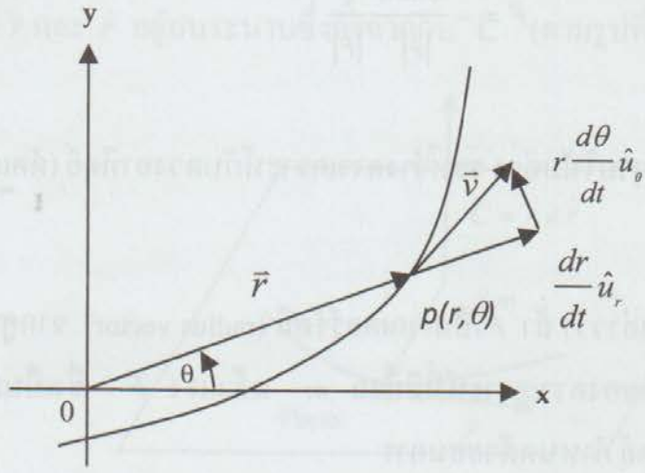
ดังนั้น ความเร็วของอนุภาค คือ

$$\bar{v} = \frac{d\bar{r}}{dt} = \frac{d}{dt}(r\hat{u}_r) \qquad \text{(จากสมการที่ (4))}$$

$$= r\frac{d\hat{u}_r}{dt} + \hat{u}_r\frac{dr}{dt} \qquad (5)$$

$$= r(\dot{\theta}\hat{u}_\theta) + \hat{u}_r\dot{r}$$

$$= \dot{r}\hat{u}_r + (r\dot{\theta})\hat{u}_\theta$$



รูปที่ 2 แสดงความเร็วของอนุภาคในพิกัดเชิงขั้ว (ดัดแปลงจาก: George and Ross, 1996)

ความเร่งของอนุภาค คือ

$$\bar{a} = \frac{d\bar{v}}{dt} = \frac{d}{dt}(\dot{r}\hat{u}_r + r\dot{\theta}\hat{u}_\theta) \qquad \text{(จากสมการที่ (5))}$$

$$= \left(\dot{r}\frac{d}{dt}\hat{u}_r + \hat{u}_r\frac{d}{dt}\dot{r}\right) + \left(r\dot{\theta}\frac{d}{dt}\hat{u}_\theta + r\hat{u}_\theta\frac{d}{dt}\dot{\theta} + \dot{\theta}\hat{u}_\theta\frac{d}{dt}r\right)$$

$$= (\dot{r}\dot{\hat{u}}_r + \ddot{r}\hat{u}_r) + (r\dot{\theta}\dot{\hat{u}}_\theta + r\ddot{\theta}\hat{u}_\theta + \dot{r}\dot{\theta}\hat{u}_\theta) \qquad (6)$$

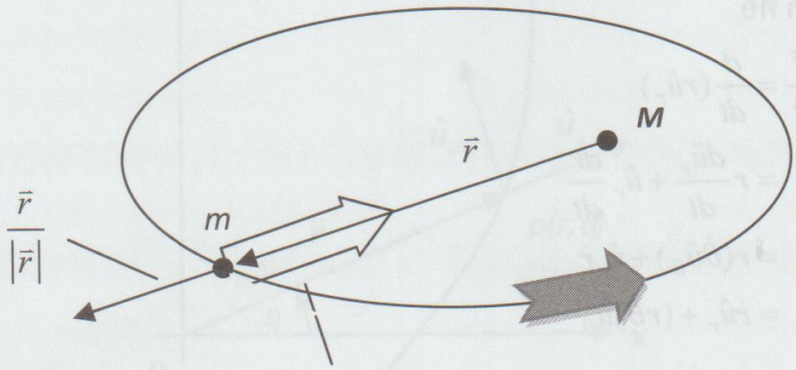
($\dot{\hat{u}}_r$ หมายถึง $\frac{d}{dt}\hat{u}_r$, $\dot{\hat{u}}_\theta$ หมายถึง $\frac{d}{dt}\hat{u}_\theta$, $\ddot{r}$ หมายถึง $\frac{d}{dt}\dot{r}$ และ $\ddot{\theta}$ หมายถึง $\frac{d}{dt}\dot{\theta}$)

นำค่าจากสมการที่ (4) แทนในสมการที่ (6)

$$\bar{a} = \left(\dot{r}(\dot{\theta}\hat{u}_\theta) + \ddot{r}\hat{u}_r\right) + \left(r\dot{\theta}(-\dot{\theta}\hat{u}_r) + r\ddot{\theta}\hat{u}_\theta + \dot{r}\dot{\theta}\hat{u}_\theta\right)$$

$$= (\ddot{r} - r\dot{\theta}^2)\hat{u}_r + (r\ddot{\theta} + 2\dot{r}\dot{\theta})\hat{u}_\theta \qquad (7)$$

การเคลื่อนที่ของดาวเคราะห์ในระนาบ



$$\vec{F} = -\frac{GmM}{|\vec{r}|^2}\frac{\vec{r}}{|\vec{r}|}$$

รูปที่ 3 แสดงแรงดึงดูดแห่งความโน้มถ่วง ระหว่างดาวเคราะห์กับดวงอาทิตย์ (ดัดแปลงจาก: George and Ross, 1996)

จากกฎแรงโน้มถ่วงของนิวตัน กล่าวว่า ถ้า $\vec{r}$ เป็นเวกเตอร์รัศมี (radius vector) จากศูนย์กลางมวลของดวงอาทิตย์ที่มีมวล M ไปยังศูนย์กลางมวลของดาวเคราะห์ที่มีมวล m แล้วแรง $\vec{F}$ ซึ่งเป็นแรงดึงดูดแห่งความโน้มถ่วงระหว่างดาวเคราะห์กับดวงอาทิตย์ กำหนดด้วยสมการ

$$\vec{F} = -\frac{GmM}{|\vec{r}|^2}\times\frac{\vec{r}}{|\vec{r}|} \tag{8}$$

โดยที่ค่า G คือ ค่าคงที่โน้มถ่วงสากล (universal gravitational constant) มีค่าประมาณ 6.6720×10^{-11} Nm^2kg^{-2} จากสมการที่ (8) และกฎการเคลื่อนที่ข้อสองของนิวตัน $\vec{F} = m\vec{a}$ หรือ $\vec{F} = m\ddot{\vec{r}}$ ได้ว่าแรงดึงดูดแห่งความโน้มถ่วงกำหนดโดย

$$m\ddot{\vec{r}} = -\frac{GmM}{|\vec{r}|^2}\times\frac{\vec{r}}{|\vec{r}|}$$

$$\ddot{\vec{r}} = -\frac{GM}{|\vec{r}|^2}\times\frac{\vec{r}}{|\vec{r}|} \tag{9}$$

จากสมการที่ (9) แสดงให้เห็นว่า ดาวเคราะห์เคลื่อนที่ มีความเร่งในทิศทางเข้าสู่จุดศูนย์กลางของดวงอาทิตย์ และ $\ddot{\vec{r}}$ จะขนานกับ $\vec{r}$

ดังนั้น

$$\ddot{\vec{r}}\times\vec{r} = \vec{0} \tag{10}$$

พิจารณา

$$\frac{d}{dt}(\bar{r}\times\dot{\bar{r}}) = \bar{r}\times\frac{d\dot{\bar{r}}}{dt}+\frac{d\bar{r}}{dt}\times\dot{\bar{r}}$$

$$= \bar{r}\times\ddot{\bar{r}}+\underbrace{\dot{\bar{r}}\times\dot{\bar{r}}}_{\bar{0}}$$

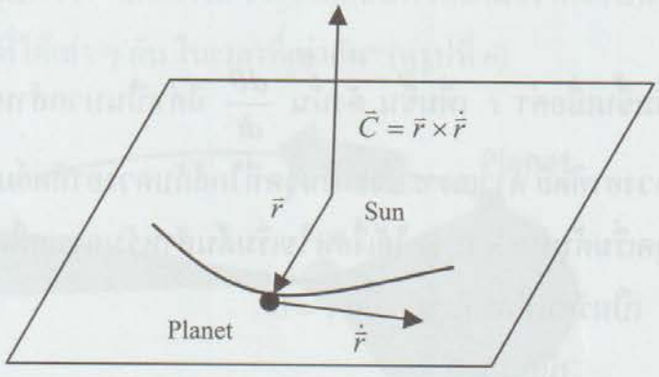
$$= \bar{r}\times\ddot{\bar{r}} \tag{11}$$

เพราะฉะนั้นจากสมการที่ (10) ได้ว่า $$\frac{d}{dt}(\bar{r}\times\dot{\bar{r}}) = \bar{0} \tag{12}$$

ดังนั้น $$\bar{r}\times\dot{\bar{r}} = \bar{C} \tag{13}$$

สำหรับเวกเตอร์คงตัว $\bar{C}$ บางค่า

จากสมการที่ (13) แสดงว่า $\bar{r}$ และ $\dot{\bar{r}}$ อยู่บนระนาบซึ่งตั้งฉากกับ $\bar{C}$ (ตามรูปที่ 4)

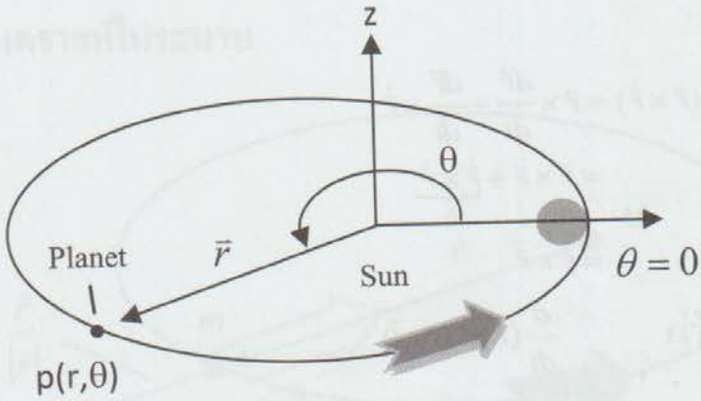


รูปที่ 4 แสดงดาวเคราะห์เคลื่อนที่ บนระนาบที่ตั้งฉากกับเวกเตอร์คงที่ $\bar{C}$ (ดัดแปลงจาก: George and Ross, 1996)

นั่นคือ จุดศูนย์กลางของดวงอาทิตย์ อยู่ในระนาบของวงโคจรที่ดาวเคราะห์เคลื่อนที่ไปรอบ ๆ

ระบบพิกัด และเงื่อนไขเริ่มต้น

เราสามารถนำพิกัดทรงกระบอกมาใช้ โดยเราให้จุดกำเนิดของพิกัดทรงกระบอก อยู่ที่ศูนย์กลางมวลของดวงอาทิตย์ และให้ระนาบของการเคลื่อนที่ของดาวเคราะห์ เป็นระนาบพิกัดเชิงขั้ว ให้ $\bar{r}$ เป็นเวกเตอร์บอกตำแหน่งของดาวเคราะห์ในพิกัดเชิงขั้ว และให้ r แทนขนาดของ $\bar{r}$ และ $\hat{u}_r$ แทน $\frac{\bar{r}}{|\bar{r}|}$ ให้ $\hat{k}$ เป็นเวกเตอร์ที่มีทิศทางเดียวกับ $\bar{C}$ และเป็นเวกเตอร์หนึ่งหน่วยบนแกน z ดังนั้น เมื่อเราสังเกตแกน z ทางบวก จะเห็นว่าการเคลื่อนที่ของดาวเคราะห์ จะเคลื่อนที่ในทิศทวนเข็มนาฬิกา (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 แสดงวงโคจรของดาวเคราะห์ ที่เคลื่อนที่ในทิศทวนเข็มนาฬิกา รอบดวงอาทิตย์ (ดัดแปลงจาก: George and Ross, 1996)

ให้ค่า θ เพิ่มขึ้นเมื่อค่า t เพิ่มขึ้น ดังนั้น $\frac{d\theta}{dt}$ มีค่าเป็นบวกสำหรับทุก ๆ ค่า t จากรูปที่ 5 เมื่อดาวเคราะห์เคลื่อนที่รอบดวงอาทิตย์ ดาวเคราะห์จะผ่านจุดที่ใกล้กับดวงอาทิตย์มากที่สุด ดังนั้น เราให้จุดที่อยู่ใกล้ดวงอาทิตย์มากที่สุด เป็นจุดเริ่มต้นที่ $t = 0$ จะได้เงื่อนไขเริ่มต้นสำหรับการเคลื่อนที่ของดาวเคราะห์ ดังนี้

1. $r = r_0$ เป็นรัศมีที่สั้นที่สุด เมื่อ $t = 0$
2. $\dot{r} = 0$ เมื่อ $t = 0$
3. $\theta = 0$ เมื่อ $t = 0$
4. $|\vec{v}| = v_0$ เมื่อ $t = 0$

เนื่องจาก

$$
\begin{aligned}
v_0 &= |\vec{v}|_{t=0} \\
&= \left|\dot{r}\hat{u}_r + r\dot{\theta}\hat{u}_\theta\right|_{t=0} && \text{(จากสมการที่ (5))} \\
&= \left|r\dot{\theta}\hat{u}_\theta\right|_{t=0} && (\dot{r} = 0 \text{ เมื่อ } t = 0) \\
&= \left(\left|r\dot{\theta}\right|\left|\hat{u}_\theta\right|\right)_{t=0} \\
&= \left|r\dot{\theta}\right|_{t=0} && (|\hat{u}_\theta| = 1) \\
&= \left(r\dot{\theta}\right)_{t=0} && (r \text{ และ } \dot{\theta} \text{ เป็นค่าบวกทั้งคู่})
\end{aligned}
$$

ดังนั้น ได้ว่า

5. $r\dot{\theta} = v_0$ เมื่อ $t = 0$

กฎข้อที่หนึ่งของเคปเลอร์

กฎข้อที่หนึ่งของเคปเลอร์ กล่าวว่า "วงโคจรของดาวเคราะห์เป็นภาคตัดกรวยชนิดหนึ่ง โดยมีดวงอาทิตย์อยู่ที่จุดโฟกัสจุดหนึ่ง" ค่าความเยื้องศูนย์กลาง (The eccentricity) ของภาคตัดกรวยซึ่งจะใช้สัญลักษณ์ e แทน คือ

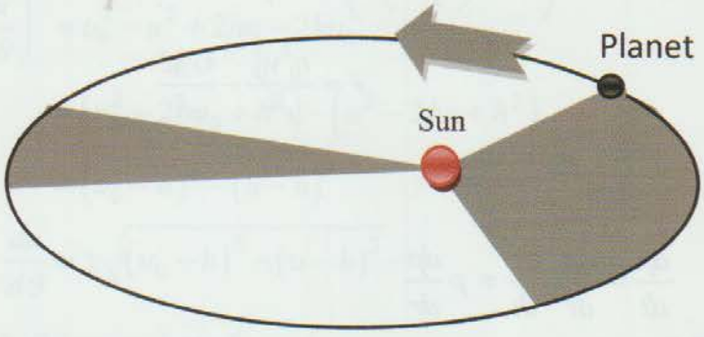
$$e = \frac{r_0 v_0^2}{GM} - 1 \tag{14}$$

และมีสมการเชิงขั้ว คือ

$$r = \frac{(1+e)r_0}{1+e\cos\theta} \tag{15}$$

กฎข้อที่สองของเคปเลอร์

กฎข้อที่สองของเคปเลอร์ กล่าวว่า "เมื่อดาวเคราะห์เคลื่อนที่ไปตามวงโคจรนั้น เวกเตอร์รัศมีจากดวงอาทิตย์ไปยังดาวเคราะห์ จะกวาดพื้นที่ได้เท่า ๆ กัน ในเวลาที่เท่ากัน" (ดูรูปที่ 6)



รูปที่ 6 แสดงพื้นที่ที่ได้จากการเคลื่อนที่ของเวกเตอร์รัศมี จากดวงอาทิตย์ไปยังดาวเคราะห์ ในเวลาที่เท่ากัน (ดัดแปลงจาก :George and Ross, 1996)

เราจะแสดงการพิสูจน์กฎข้อที่สองของเคปเลอร์ก่อนแล้วจึงจะแสดงการพิสูจน์กฎข้อที่หนึ่ง

จากสมการที่ (13)

$$\begin{aligned}\vec{C} &= \vec{r}\times\dot{\vec{r}} = \vec{r}\times\vec{v} \\ &= \vec{r}\times\left(\dot{r}\hat{u}_r + r\dot{\theta}\hat{u}_\theta\right) && \text{(จากสมการที่ (5))} \\ &= (r\hat{u}_r\times\dot{r}\hat{u}_r) + \left(r\hat{u}_r\times r\dot{\theta}\hat{u}_\theta\right) \\ &= r(r\dot{\theta})\hat{k}\end{aligned} \tag{16}$$

เมื่อพิจารณาที่ $t=0$ จะได้ว่า

$$\vec{C} = \left[r\left(r\dot{\theta}\right)\right]_{t=0}\hat{k} \quad = r_0 v_0 \hat{k} \tag{17}$$

เนื่องจาก $\vec{C}$ เป็นเวกเตอร์คงตัว เราสามารถแทนค่า $\vec{C}$ ที่ได้จากสมการที่ (17) ลงในสมการที่ (16) จะได้

$$r_0 v_0 \hat{k} = r^2\dot{\theta}\hat{k} \quad \text{หรือ} \quad r^2\dot{\theta} = r_0 v_0 \tag{18}$$

จากค่าเชิงอนุพันธ์ของพื้นที่ในระบบพิกัดเชิงขั้ว คือ $dA = \frac{1}{2}r^2 d\theta$

ดังนั้น

$$\frac{dA}{dt} = \frac{1}{2}r^2\frac{d\theta}{dt} = \frac{1}{2}r^2\dot{\theta} = \frac{1}{2}r_0 v_0 \tag{19}$$

ค่า $\frac{dA}{dt}$ ที่ได้ในสมการที่ (19) เป็นค่าคงที่ ซึ่งแสดงว่า อัตราการเคลื่อนที่ของพื้นที่ในวงโคจร จะคงที่เสมอ

พิสูจน์กฎข้อที่หนึ่งของเคปเลอร์

จากสมการที่ (9) $\ddot{\bar{r}} = -\frac{GM}{|\bar{r}|^2}\cdot\frac{\bar{r}}{|\bar{r}|}$ และ $\hat{u}_r = \frac{\bar{r}}{|\bar{r}|}$ ดังนั้น $\ddot{\bar{r}} = -\frac{GM}{|\bar{r}|^2}\cdot\hat{u}_r$

แสดงว่า ความเร่งของอนุภาค มีทิศทางตรงข้ามกับ $\hat{u}_r$ และความเร่งในทิศ $\hat{u}_\theta$ เป็นศูนย์

จากสมการที่ (7) จะได้ว่า $\bar{a} = \left(\ddot{r} - r\dot{\theta}^2\right)\hat{u}_r + \bar{0}$

ดังนั้นจะได้ว่า

$$\left(\ddot{r} - r\dot{\theta}^2\right)\hat{u}_r = -\frac{GM}{|\bar{r}|^2}\hat{u}_r$$

$$\left(\ddot{r} - r\dot{\theta}^2\right) = -\frac{GM}{|\bar{r}|^2} \tag{20}$$

แทน $\dot{\theta} = \frac{r_0 v_0}{r^2}$ จากสมการที่ (18) ลงในสมการที่ (20)

$$\left(\ddot{r} - r\left(\frac{r_0 v_0}{r^2}\right)^2\right) = -\frac{GM}{r^2}$$

$$\ddot{r} = \frac{r_0^2 v_0^2}{r^2} - \frac{GM}{r^2} \tag{21}$$

ให้ $p = \frac{dr}{dt}$ ดังนั้น $\frac{d^2 r}{dt^2} = \frac{dp}{dt}$

จากกฎลูกโซ่ จะได้ว่า $\frac{dp}{dt} = \frac{dp}{dr}\cdot\frac{dr}{dt} = p\frac{dp}{dr}$

แทนลงในสมการที่ (21) จะได้

$$p\frac{dp}{dr} = \frac{r_0^2 v_0^2}{r^3} - \frac{GM}{r^2} \tag{22}$$

$$\int p\,dp = \int\left(\frac{r_0^2 v_0^2}{r^3} - \frac{GM}{r^2}\right)dr$$

ดังนั้น

$$(\dot{r})^2 = p^2 = -\frac{r_0^2 v_0^2}{r^2} + \frac{2GM}{r} + C_1$$

(23)

จากเงื่อนไขเริ่มต้น $r = r_0$ และ $\dot{r} = 0$ เมื่อ $t = 0$ ดังนั้น $C_1 = v_0^2 - \frac{2GM}{r_0}$

นำค่า C_1 ที่ได้ แทนในสมการที่ (23)

$$\dot{r}^2 = -\frac{r_0^2 v_0^2}{r^2} + \frac{2GM}{r} + v_0^2 - \frac{2GM}{r_0}$$

$$= v_0^2\left(1 - \frac{r_0^2}{r^2}\right) + 2GM\left(\frac{1}{r} - \frac{1}{r_0}\right) \tag{24}$$

จาก $r^2\dot{\theta} = r_0 v_0$ และ $\frac{\dot{r}}{\dot{\theta}} = \frac{\left(dr/dt\right)}{\left(d\theta/dt\right)} = \frac{dr}{d\theta}$

นำ $\frac{1}{r^4\dot{\theta}^2}$ คูณทั้งสองข้างของสมการที่ (24)

$$\frac{\dot{r}^2}{r^4\dot{\theta}^2} = \frac{v_0^2}{r^4\dot{\theta}^2}\left(1-\frac{r_0^2}{r^2}\right)+\frac{2GM}{r^4\dot{\theta}^2}\left(\frac{1}{r}-\frac{1}{r_0}\right)$$

$$\frac{1}{r^4}\left(\frac{\dot{r}}{\dot{\theta}}\right)^2 = \frac{v_0^2}{\left(r^2\dot{\theta}\right)^2}\left(1-\frac{r_0^2}{r^2}\right)+\frac{2GM}{\left(r^2\dot{\theta}\right)^2}\left(\frac{1}{r}-\frac{1}{r_0}\right)$$

$$\frac{1}{r^4}\left(\frac{dr}{d\theta}\right)^2 = \frac{v_0^2}{r_0^2v_0^2}\left(1-\frac{r_0^2}{r^2}\right)+\frac{2GM}{r_0^2v_0^2}\left(\frac{1}{r}-\frac{1}{r_0}\right)$$

$$\frac{1}{r^4}\left(\frac{dr}{d\theta}\right)^2 = \frac{1}{r_0^2}-\frac{1}{r^2}+2h\left(\frac{1}{r}-\frac{1}{r_0}\right) \qquad \left(h=\frac{GM}{r_0^2v_0^2}\right) \tag{25}$$

แทน $u=\frac{1}{r}, u_0=\frac{1}{r_0}, \frac{du}{d\theta}=-\frac{1}{r^2}\frac{dr}{d\theta}, \left(\frac{du}{d\theta}\right)^2=\frac{1}{r^4}\left(\frac{dr}{d\theta}\right)^2$ ลงในสมการที่ (25)

$$\begin{aligned}\left(\frac{du}{d\theta}\right)^2 &= u_0^2-u^2+2hu-2hu_0\\ &= \left(u_0^2-2hu_0+h^2\right)-\left(u^2-2hu+h^2\right)\\ &= (u_0-h)^2-(u-h)^2\end{aligned} \tag{26}$$

ดังนั้น

$$\frac{du}{d\theta} = \pm\sqrt{(u_0-h)^2-(u-h)^2} \tag{27}$$

จาก $\dot{\theta}=\frac{r_0v_0}{r^2}$ ซึ่ง $\dot{\theta}$ มีค่ามากกว่าศูนย์ และ $\dot{r}\geq 0$

เพราะฉะนั้น $\frac{dr}{d\theta}=\frac{dr}{dt}\Big/\frac{d\theta}{dt}=\frac{\dot{r}}{\dot{\theta}}\geq 0$ และ $\frac{du}{d\theta}=-\frac{1}{r^2}\frac{dr}{d\theta}\leq 0$

ดังนั้น

$$\frac{du}{d\theta} = -\sqrt{(u_0-h)^2-(u-h)^2}$$

$$-\frac{1}{\sqrt{(u_0-h)^2-(u-h)^2}}du = d\theta$$

ให้ $u-h=(u_0-h)\cos\theta$ จะได้

$$\begin{aligned}\sqrt{(u_0-h)^2-(u-h)^2} &= \sqrt{(u_0-h)^2-(u_0-h)^2\cos^2\theta}\\ &= \sqrt{(u_0-h)^2\sin^2\theta}\\ &= (u_0-h)\sin\theta\end{aligned}$$

$$d(u-h) = d(u_0-h)\cos\theta = -(u_0-h)\sin\theta d\theta$$

$$-\int\frac{d(u-h)}{\sqrt{(u_0-h)^2-(u-h)^2}} = -\int\frac{-(u_0-h)\sin\theta d\theta}{(u_0-h)\sin\theta}$$

$$= \int d\theta = \theta + C$$

จาก $\cos\theta=\frac{u-h}{u_0-h}$ จะได้ $\theta=\cos^{-1}\left(\frac{u-h}{u_0-h}\right)$

ดังนั้น
$$-\int \frac{d(u-h)}{\sqrt{(u_0-h)^2-(u-h)^2}} = \cos^{-1}\left(\frac{u-h}{u_0-h}\right)+C$$

จาก
$$\int \frac{-du}{\sqrt{(u_0-h)^2-(u-h)^2}} = \int d\theta$$

ฉะนั้น
$$\cos^{-1}\left(\frac{u-h}{u_0-h}\right) = \theta + C_2 \tag{28}$$

ค่าคงที่ของการอินทิเกรตจะเท่ากับศูนย์ เพราะว่าเมื่อ $\theta = 0$ ค่า $u = u_0$ และ $\cos^{-1}(1) = 0$

ดังนั้น
$$\cos^{-1}\left(\frac{u-h}{u_0-h}\right) = \theta$$
$$(u-h) = (u_0-h)\cos\theta$$
$$u = (u_0-h)\cos\theta + h \tag{29}$$

เพราะฉะนั้น $\frac{1}{r} = \left(\frac{1}{r_0}-h\right)\cos\theta + h = \frac{(1-r_0h)}{r_0}\cos\theta + h = \frac{(1-r_0h)\cos\theta + r_0h}{r_0}$

ดังนั้น
$$r = \frac{r_0}{(1-r_0h)\cos\theta + r_0h} \tag{30}$$

ให้
$$e = \frac{1}{r_0h} - 1$$

จะได้
$$er_0h = 1 - r_0h \tag{31}$$
$$(1+e)r_0 = \left[1+\left(\frac{1-r_0h}{r_0h}\right)\right]r_0 = \frac{r_0}{r_0h} \tag{32}$$

นำค่าในสมการที่ (31) แทนลงในสมการที่ (30)
$$r = \frac{r_0}{r_0h(e\cos\theta+1)}$$

จากสมการที่ (32) ได้ว่า
$$r = \frac{(1+e)r_0}{(1+e\cos\theta)} \tag{33}$$

และ
$$e = \frac{1}{r_0h} - 1 = \frac{r_0v_0^2}{GM} - 1 \tag{34}$$

จากสมการที่ (33) และสมการที่ (34) ทั้งสองสมการนี้กล่าวได้ว่า วงโคจรของดาวเคราะห์เคลื่อนที่เป็นวงรีโดยมีดวงอาทิตย์เป็นจุดโฟกัสจุดหนึ่งและมีค่าความเยื้องศูนย์กลางเท่ากับ $\frac{r_0v_0^2}{GM} - 1$

กฎข้อที่สามของเคปเลอร์

กฎข้อที่สามของเคปเลอร์กล่าวว่า "กำลังสองของคาบการโคจรของดาวเคราะห์ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับกำลังสามของครึ่งแกนเอก (รัศมีเฉลี่ย) ของวงโคจร" กฎข้อที่สามนี้เขียนเป็นสมการได้ว่า $T^2 = ka^3$

โดยที่ T คือ คาบการโคจรของดาวเคราะห์ รอบดวงอาทิตย์

a คือ ระยะทางเฉลี่ยของดาวเคราะห์ จากดวงอาทิตย์ (a เรียกว่า ครึ่งแกนเอกของวงรี)

k คือ ค่าคงที่ซึ่งมีค่าเดียวกัน สำหรับดาวเคราะห์ทุกดวง ซึ่งค่าคงที่ในกฎข้อ 3 ของเคปเลอร์คือ

$$k = \frac{4\pi^2}{GM}$$

ดังนั้น เราสามารถเขียน สมการกฎข้อที่สามของเคปเลอร์ใหม่ได้เป็น $\frac{T^2}{\mathrm{a}^3} = \frac{4\pi^2}{GM}$ (35)

ในการพิสูจน์กฎข้อที่สามของเคปเลอร์นี้ จะพิสูจน์โดยนำสูตรในการหาพื้นที่ของบริเวณ ซึ่งปิดล้อมด้วยวงโคจรของดาวเคราะห์ 2 สูตรมาใช้

สูตรที่ 1 คือ สูตรหาพื้นที่ของวงรี $= \pi \mathrm{a} b$ เมื่อ a คือความยาวครึ่งแกนเอกของวงรี และ b คือความยาวครึ่งแกนโทของวงรี

สูตรที่ 2 คือ พื้นที่ที่ได้จากการเคลื่อนที่ของเวกเตอร์รัศมีจากดวงอาทิตย์ ไปยังดาวเคราะห์

$$= \int_0^T dA$$

$$= \int_0^T \frac{1}{2} r_0 v_0 dt \quad \text{(จากสมการที่ (19))}$$

$$= \frac{1}{2} T r_0 v_0$$

จากสูตรพื้นที่ของวงโคจรสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ได้ว่า

$$\frac{1}{2} T r_0 v_0 = \pi \mathrm{a} b$$

$$T = \frac{2\pi \mathrm{a} b}{r_0 v_0}$$

เนื่องจาก e เป็นค่าเยื้องศูนย์กลางและโดยสมบัติของวงรี จะได้ $b = \mathrm{a}\sqrt{1-e^2}$

ดังนั้น $$T = \frac{2\pi \mathrm{a}\left(\mathrm{a}\sqrt{1-e^2}\right)}{r_0 v_0} = \frac{2\pi \mathrm{a}^2\sqrt{1-e^2}}{r_0 v_0} \quad (36)$$

จากสมการที่ (33) จะเห็นว่า r มีค่ามากที่สุด เมื่อ $\theta = \pi$ ดังนั้น

$$r_{\max} = \frac{(1+e) r_0}{1 + e\cos\pi} = \frac{r_0(1+e)}{(1-e)}$$

จาก

$$2\mathrm{a} = r_0 + r_{\max}$$

$$= r_0 + \frac{r_0(1+e)}{(1-e)}$$

$$= \frac{2r_0}{(1-e)} \quad (37)$$

จากสมการที่ (36) ยกกำลังสองทั้งสองข้าง จะได้

$$T^2 = \frac{4\pi^2 a^4 \left(1-e^2\right)}{r_0^2 v_0^2}$$

$$\frac{T^2}{a^3} = \frac{4\pi^2 a \left(1-e^2\right)}{r_0^2 v_0^2} \tag{38}$$

$$\frac{T^2}{a^3} = \frac{4\pi^2 \left(\frac{r_0}{1-e}\right)\left(1-e^2\right)}{r_0^2 v_0^2} \quad \text{(จากสมการที่ (37))}$$

$$= \frac{4\pi^2 \left(1+e\right)}{r_0 v_0^2}$$

$$= \frac{4\pi^2 \left(1+\frac{r_0 v_0^2}{GM}-1\right)}{r_0 v_0^2} \quad \text{(จากสมการที่ (34))}$$

$$= \frac{4\pi^2}{GM} \tag{39}$$

ดังนั้น ก็จะได้ว่า $\frac{T^2}{a^3} = \frac{4\pi^2}{GM}$ โดยที่ค่า $\frac{4\pi^2}{GM}$ เป็นค่าคงที่ นั่นคือสามารถสรุปได้ว่า กำลังสองของคาบการโคจรของดาวเคราะห์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับกำลังสามของครึ่งแกนเอกของวงโคจร

เอกสารอ้างอิง

เฉลียว มณีเลิศ. (2521). ฟิสิกส์ระดับมหาวิทยาลัย 1 กลศาสตร์. ปทุมธานี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรังสิต.

George, B., Thomas, Jr. and Ross, L. F. (1996). Calculus and Analytic Geometry. (9th ed). USA : Addison-Wesley. 893 - 899.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 509-519 (2553) KKU Sci. J.38(4) 509-519 (2010)

แบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี ในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

Halotolerant Bacteria and Enterobacteriaceae in Dried Squid Products Distributed in Chon Buri Province, Thailand

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ [1] ปรียพร ทองเนียม [2] และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย [3]*

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาถึงการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี ในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี จำนวน 21 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษา (คิดเป็นร้อยละ 100) โดยอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มมากที่สุด คือ หมึกกะตอย มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.97 \pm 0.16 \times 10^9$ CFU/g และพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี จำนวน 3 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 12.5) โดยอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีมากที่สุด คือ หมึกไข่ มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.70 \pm 0.21 \times 10^4$ CFU/g เมื่อนำมาจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มในผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมา คือ *Micrococcus* และ *Bacillus* ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีที่จำแนกได้ คือ *Proteus, Enterobacter* และ *Klebsiella* ดังนั้นควรมีการติดตามตรวจสอบและตระหนักถึงความปลอดภัยของอาหารเป็นระยะ โดยเฉพาะการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารที่บริโภคในแต่ละวันและผลิตภัณฑ์ที่มีการส่งออก

[1] ภาควิชาจุลชีววิทยา และโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131

[2] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131

[3] ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131

* Corresponding Author, E-mail: subunti@buu.ac.th

Abstract

The aim of this study was to assess the contamination of halotolerant bacteria and Enterobacteriaceae in dried squid products distributed in Chon Buri Province. The 21 samples of dried squid products were in investigated. Results showed that all samples were contaminated with halotolerant bacteria (100%) while three samples (12.5%) detected Enterobacteriaceae. Kobi squid and Bake squid presented the most numbers of halotolerant bacteria ($1.97 \pm 0.16 \times 10^9$ CFU/g) and Enterobacteriaceae ($1.70 \pm 0.21 \times 10^4$ CFU/g), respectively. The most predominant halotolerant bacteria found in dried squid were *Staphylococcus*, followed by *Micrococcus* and *Bacillus*. Enterobacteriaceae found in those samples were *Proteus*, *Enterobacter* and *Klebsiella*. As a consequence, some of dried squid products distributed in Chon Buri Province should be sporadically monitored and be aware of food safety, especially the contamination of bacteria in dried seafood products consumed daily and exported.

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง แบคทีเรียกลุ่มทนเค็ม แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี

Keywords: Dried squid products, Salt tolerant bacteria, Enterobacteriaceae

บทนำ

อาหารทะเลจัดเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศและต่างประเทศ และยังเป็นสินค้าที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นจำนวนมหาศาล โดยมูลค่าการส่งออกอาหารทะเลกระป๋องและแปรรูปในปี พ.ศ. 2552 มีค่าเท่ากับ 126,711.69 ล้านบาท (สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์, 2553) ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งและอาหารทะเลแปรรูปที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด ได้แก่ กุ้งแห้ง ปลาแห้ง หมึกแห้ง หมึกอบชุบน้ำเชื่อม หมึกตัวฉาบ หอยแห้ง และปูกรอบ เป็นต้น โดยแหล่งผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้ส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออก แถบจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด (Samutsan et al., 2009)

ในปัจจุบันสาธารณสุขจังหวัดชลบุรีและจังหวัดอื่นๆ ในภาคตะวันออกได้ทำการตรวจสอบคุณภาพทางด้านเคมีและด้านจุลชีววิทยาของอาหารทะเลแห้ง เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและมุ่งยกระดับมาตรฐานอาหารและผลิตภัณฑ์อาหารทะเลที่ผลิตจากภาคตะวันออก การตรวจติดตามดังกล่าวทำให้พบปัญหาการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงบางชนิดและสีสังเคราะห์ที่ไม่ใช่สีผสมอาหารในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้งหลายชนิด เช่น กุ้งแห้ง หอยแห้ง และปลากรอบสามรส เป็นต้น (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ, 2551; กิตติคุณ โชติมงคล และคณะ, 2553; สิรีพร สุนทรเสน และคณะ, 2553; Chotmongcol et al., 2009) โดยเฉพาะอย่างยิ่งหมึกนิยมนำมาแปรรูปได้หลายรูปแบบ นอกจากนี้ในอาหารทะเลแห้งมักพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์หลายชนิด ซึ่งอาจเกิดการปนเปื้อนในขั้นตอนการผลิต การขนส่งและการจำหน่าย จุลินทรีย์ที่พบปนเปื้อนในอาหารทะเลแห้ง ยกตัวอย่างเช่น แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* (บัญญัติ สุขศรีงาม และคณะ, 2551) และ *Vibrio parahaemolyticus* (Yang et al., 2008) แบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่ *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Moraxella* และ *Acinetobacter* เป็นต้น และยังพบแบคทีเรียกลุ่มชอบเค็ม (Halophilic bacteria) ได้แก่ *Halobacterium*, *Halococcus* และ *Bacillus* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มักจะทำให้ผิวของหมึกแห้งมีสีชมพู

หรือสีแดงส้ม หรือทำให้มีกลิ่นเหม็น มีเนื้อสัมผัสนิ่ม ยุ่ยและเน่าเสียในที่สุด (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2526)

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงศึกษาสถานการณ์การปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่วางจำหน่ายในจังหวัดชลบุรี เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการตรวจติดตามและป้องกันการระบาดของแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแห้ง

วิธีดำเนินงาน

การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้งจากร้านค้าแผงลอย ได้แก่ หมึกกล้วย หมึกกะตอย หมึกแกะตา หนวดหมึก หมึกหนัง หมึกวง หมึกแพ หมึกไข่ หมึกแก้ว และผลิตภัณฑ์หมึกแปรรูป ได้แก่ หมึกอบเนย หมึกแก้วกรอบ หมึกหวาน หมึกบดชุบน้ำเชื่อม หมึกตัวฉาบ เต่าทองสามรส หมึกเส้นไม่เผ็ด และหมึกกรอบ จำนวน 21 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี โดยแต่ละตัวอย่างเก็บในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ และนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาภายใน 2 ชั่วโมง หลังจากการสุ่มเก็บตัวอย่าง

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง

1. ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มทนเค็ม (Halotolerant bacteria; ดัดแปลงจาก Garcia Fontan et al., 2007)

ใช้กรรไกรปลอดเชื้อตัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่ได้จากแหล่งจำหน่ายในจังหวัดชลบุรีให้ละเอียดชั่งตัวอย่าง 50 กรัม ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อและเติมสารละลาย Butterfield's Phosphate - Buffered Dilution Water (BF) ปริมาตร 450 มิลลิลิตร ลงในถุง ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีผสมอาหาร (stomacher) เป็นเวลา 60 วินาที จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-1} จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างจนถึงระดับความเจือจาง 10^{-6} ถ่ายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-6} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7.5 ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วด้วยวิธีสเปรดเพลท (Spread plate) นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกผลในหน่วย Colony forming unit ต่อกรัม (CFU/g)

2. ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี (Enterobacteriaceae; ดัดแปลงจาก Finney et al., 2003)

ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1 แต่เปลี่ยนจากอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7.5 เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar

การจำแนกชนิดของแบคทีเรียในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง

จำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี โดยการย้อมแกรม และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ตามวิธีการของ Brenner (1984); Kocur (1986); Kloos and Schilefer (1986); Seeliger and Jones (1986); Sneath et al. (1986) และ Holt et al. (1994)

ผลการวิเคราะห์

จำนวนแบคทีเรียกลุ่มทนเค็ม และแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่างๆ

จากการนำผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่างๆ จำนวน 21 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มและแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี พบว่าอาหารทะเลแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มมากที่สุด คือ หมึกกะตอย มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.97 \pm 0.16 \times 10^{9}$ CFU/g รองลงมา คือ หมึกเส้นสามรส (เผ็ด) 2 และหนวดหมึกมีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $2.43 \pm 0.38 \times 10^{7}$ และ $6.20 \pm 2.45 \times 10^{6}$ CFU/g ตามลำดับ ส่วนผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มน้อยที่สุด คือ หนวดหมึกอบชุบน้ำเชื่อม 2

มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.67\pm0.58\times10^{2}$ CFU/g รองลงมา คือ หมึกแก้วกรอบและหมึกอบชุบน้ำเชื่อม มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.80\pm0.20\times10^{2}$ และ $2.00\pm1.00\times10^{2}$ CFU/g ตามลำดับ ส่วนผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีมากที่สุด คือ หมึกไข่ มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $1.70\pm0.14\times10^{4}$ CFU/g รองลงมา คือ หมึกกรอบ 1 หมึกแก้วกรอบ และหมึกอบเนย มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $7.33\pm3.06\times10^{3}$, $2.33\pm1.53\times10^{2}$ และ $1.67\pm0.58\times10^{2}$ CFU/g ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่างๆ

ผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU/g)	
	แบคทีเรียกลุ่มทนเค็ม	แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี
หมึกแห้ง		
- หมึกกล้วย	$1.66\pm0.39\times10^{4\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกกะตอย	$1.97\pm0.16\times10^{9\,(a)}$	$0^{(b)}$
- หมึกแกะตา	$1.06\pm0.05\times10^{6\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หนวดหมึก	$6.20\pm2.45\times10^{6\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกหนัง	$3.30\pm3.04\times10^{5\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกวง	$1.26\pm0.06\times10^{4\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกแพ	$3.30\pm0.93\times10^{6\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกไข่	$1.33\pm0.14\times10^{6\,(b)}$	$1.70\pm0.21\times10^{4\,(a)}$
- หมึกแก้ว 1	$2.17\pm0.15\times10^{5\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกแก้ว 2	$3.23\pm0.38\times10^{4\,(b)}$	$0^{(b)}$
หมึกแปรรูป		
- หมึกอบเนย	$5.50\pm0.17\times10^{3\,(b)}$	$1.67\pm0.58\times10^{2\,(b)}$
- หมึกแก้วกรอบ	$1.80\pm0.20\times10^{2\,(b)}$	$2.33\pm1.53\times10^{2\,(b)}$
- หมึกหวาน	$7.03\pm3.50\times10^{3\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกบดชุบน้ำเชื่อม 1	$4.47\pm1.10\times10^{3\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกบดชุบน้ำเชื่อม 2	$2.00\pm1.00\times10^{2\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกตัวฉาบ	$3.67\pm2.08\times10^{3\,(b)}$	$0^{(b)}$
- เต่าทองสามรส	$1.74\pm0.21\times10^{4\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกเส้นไม่เผ็ด	$1.23\pm0.08\times10^{4\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกเส้นสามรส (เผ็ด) 1	$3.20\pm1.04\times10^{4\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกเส้นสามรส (เผ็ด) 2	$2.43\pm0.38\times10^{7\,(b)}$	$0^{(b)}$
- หมึกกรอบ	$3.20\pm0.79\times10^{3\,(b)}$	$7.33\pm3.06\times10^{3\,(b)}$

หมายเหตุ a,b แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแนวตั้ง ($p<0.05$)

การจำแนกชนิดแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่างๆ

จากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่างๆ พบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด (24 ไอโซเลท) รองลงมาคือ แบคทีเรียกลุ่ม *Micrococcus* (16 ไอโซเลท) และ *Bacillus* (9 ไอโซเลท) ตามลำดับ ส่วนการจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีพบ *Proteus, Entrobacter* และ *Klebsiella* ดังแสดงในตารางที่ 2

บทสรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มอยู่ในช่วง $1.67\pm0.58\times10^{2}$ ถึง $1.97\pm0.16\times10^{9}$ CFU/g โดยพบมากที่สุดในหมึกกะตอย และพบน้อยที่สุดในหนวดหมึกอบชุบน้ำเชื่อม 2 การที่ผลิตภัณฑ์หมึกแห้งมีปริมาณแบคทีเรียมากน้อยแตกต่างกันนั้นอาจเกิดจากคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด รวมทั้งแบคทีเรียที่พบในการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ขั้นตอนการผลิตหรือมาจากเครื่องมือที่ใช้และผู้ปฏิบัติงาน (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538) หรืออาจเกิดจากการแปรรูปอาหารโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจึงทำให้สภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียบางกลุ่ม (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

การจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มทนเค็มพบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* มากที่สุด รองลงมาคือ *Micrococcus* และ *Bacillus* ตามลำดับ Holt et al. (1994) รายงานว่า *Staphylococcus* และ *Planococcus halophilus* สามารถเจริญบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่าร้อยละ 10 และการศึกษาของ สุวรรณี นพรัตน์ (2546) รายงานว่า *Micrococcus* สามารถเจริญบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่าร้อยละ 5 นอกจากนี้ยังพบ *Planococcus halophilus, Listeria* spp. และ *Corynebacterium* spp. แต่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี เนื่องจากมีรายงานว่าแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีสามารถเจริญที่ความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 0-5 ดังนั้นจึงไม่พบการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มนี้บนอาหาร PCA ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 7.5 ส่วน *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้บนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ ร้อยละ 2-10 (Sneath et al., 1986)

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีในผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง พบปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง $1.67\pm0.58\times10^{2}$ ถึง $1.70\pm0.21\times10^{4}$ CFU/g โดยหมึกไข่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีมากที่สุด และหมึกอบชุบน้ำเชื่อมมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีน้อยที่สุด และเมื่อนำมาจำแนกชนิดแบคทีเรียสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Enterobacter* spp., *E. cloacae, Klebsiella pneumoniae* และ *K. ozaenae* และแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช่ฟีคอลโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Proteus mirabilis* (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2552)

การศึกษาในครั้งนี้พบแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *E. cloacae, K. pneumoniae, K. ozaenae* และ *P. mirabilis* โดย *P. mirabilis* เป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ ขยะและลำไส้คน (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2552) และมีรายงานว่าสามารถแยกแบคทีเรียชนิดนี้ได้จากอาหารทะเล เช่น ปลา หอย เป็นต้น (Fernandez-Delgado et al., 2007) แบคทีเรียชนิดนี้จะทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (Scavone et al., 2007) นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลโคลิฟอร์มที่เป็นแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *E. cloacae* ทำให้เกิดโรคปอดบวม (Kanemitsu et al., 2007) *K. ozaenae* ทำให้เกิดโรคจมูกอักเสบเรื้อรัง (Botelho-Nevers et al., 2007) และ *K. pneumoniae* ทำให้เกิดโรคปอดบวมและติดเชื้อในกระแสเลือด (Samra et al., 2007) แบคทีเรียกลุ่มนี้ยังใช้เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพทางด้านสุขาภิบาลโดยเฉพาะใช้เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพทางด้านอาหาร ถ้ามีการปนเปื้อนของ

ตารางที่ 2 ชนิดของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่าง ๆ (✓= พบ)

ผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง	แบคทีเรียกลุ่มทนเค็ม																			แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี				
	Bacillus spp.	*Corynebacterium* spp.	*Listeria* spp.	*Micrococcus lylae*	*Micrococcus sedentarius*	*Micrococcus varians*	*Planococcus halophilus*	*Staphylococcus auricularis/ S. haemolyticus*	*Staphylococcus auricularis/ S. cohnii* subsp. 1	*Staphylococcus caprae*	*Staphylococcus capitis*	*Staphylococcus cohnii* subsp. 1/ *S. warneri*	*Staphylococcus horminis*	*Staphylococcus horminis/ S. saprophyticus/S. warneri*	*Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes*	*Staphylococcus saccharolyticus*	*Staphylococcus simulans/ S. warneri*	*Staphylococcus simulans/ S. xylosus*	*Staphylococcus warneri/ S. xylosus*	*Enterobacter cloacae*	*Enterobacter* spp.	*Klebsiella ozaenae*	*Klebsiella pneumoniae*	*Proteus mirabilis*
หมึกแห้ง																								
- หมึกกล้วย	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกกะตอย	-	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกแกะตา	-	-	-	✓	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หนวดหมึก	-	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกหนัง	-	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกวง	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	✓	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกแพ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	✓	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกไข่	-	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	✓	-	-	✓
- หมึกแก้ว 1	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-
- หมึกแก้ว 2	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2 ชนิดของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่าง ๆ (✓= พบ) (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง	แบคทีเรียกลุ่มทนเค็ม																			แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี				
	Bacillus spp.	*Corynebacterium* spp.	*Listeria* spp.	*Micrococcus lylae*	*Micrococcus sedentarius*	*Micrococcus varians*	*Planococcus halophilus*	*Staphylococcus auricularis/ S. haemolyticus*	*Staphylococcus auricularis/ S. cohnii* subsp. 1	*Staphylococcus caprae*	*Staphylococcus capitis*	*Staphylococcus cohnii* subsp. 1/ *S. warneri*	*Staphylococcus horminis*	*Staphylococcus horminis/ S. saprophyticus/S. warneri*	*Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes*	*Staphylococcus saccharolyticus*	*Staphylococcus simulans/ S. warneri*	*Staphylococcus simulans/ S. xylosus*	*Staphylococcus warneri/ S. xylosus*	*Enterobacter cloacae*	*Enterobacter* spp.	*Klebsiella ozaenae*	*Klebsiella pneumoniae*	*Proteus mirabilis*
หมึกแปรรูป																								
- หมึกอบเนย	-	-	-	-	✓	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-
- หมึกแก้วกรอบ	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-
- เต่าทองสามรส	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกเส้นไม่เผ็ด	✓	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกกรอบ	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-
- หมึกบดชุบน้ำเชื่อม 1	✓	-	✓	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกหวาน	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2 ชนิดของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างผลิตภัณฑ์หมึกแห้งชนิดต่าง ๆ (✓= พบ) (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์หมึกแห้ง	แบคทีเรียกลุ่มทนเค็ม																			แบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี				
	Bacillus spp.	*Corynebacterium* spp.	*Listeria* spp.	*Micrococcus lylae*	*Micrococcus sedentarius*	*Micrococcus varians*	*Planococcus halophilus*	*Staphylococcus auricularis/ S. haemolyticus*	*Staphylococcus auricularis/ S. cohnii* subsp. 1	*Staphylococcus caprae*	*Staphylococcus capitis*	*Staphylococcus cohnii* subsp. 1/ *S. warneri*	*Staphylococcus horminis*	*Staphylococcus horminis/ S. saprophyticus/S. warneri*	*Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes*	*Staphylococcus saccharolyticus*	*Staphylococcus simulans/ S. warneri*	*Staphylococcus simulans/ S. xylosus*	*Staphylococcus warneri/ S. xylosus*	*Enterobacter cloacae*	*Enterobacter* spp.	*Klebsiella ozaenae*	*Klebsiella pneumoniae*	*Proteus mirabilis*
- หมึกเส้นสามรส (เผ็ด) 1	✓	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกเส้นสามรส (เผ็ด) 2	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกตัวฉาบ	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- หมึกอบชุบน้ำเชื่อม	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-

แบคทีเรียกลุ่มนี้ก็แสดงว่าอาหารมีการปนเปื้อนด้วยอุจจาระ (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2552)

จากการศึกษาการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ PCA ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 7.5 และ MacConkey Agar พบว่าสามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียทนเค็มและไม่ทนเค็มออกจากกันได้ดี ซึ่งจากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอีไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่มีเกลือความเข้มข้นร้อยละ 7.5 แต่เจริญได้บนอาหาร MacConkey Agar ทำให้ทราบถึงชนิดของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลแห้งทั้งแบคทีเรียทนเค็มและไม่ทนเค็ม ซึ่งแบคทีเรียที่ไม่ทนเค็มส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียก่อโรคในกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซีอี นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียทนเค็มที่พบส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียไม่ก่อโรคซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบได้ในสิ่งแวดล้อม

ผลิตภัณฑ์หมึกแห้งที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ส่วนใหญ่มีปริมาณแบคทีเรียที่พบในระดับสูง ดังนั้นในการบริโภคอาหารทะเลแห้งควรนำมาปรุงให้สุก ส่วนอาหารทะเลแห้งพร้อมบริโภคควรระมัดระวังในการบริโภคโดยการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ที่สะอาด บรรจุภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อเป็นการป้องกันอันตรายจากการบริโภคอาหารทะเลที่ปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียก่อโรค

เอกสารอ้างอิง

กิตติคุณ โชติมงคล, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, สวามินี ธีระวุฒิ และ สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2553). การปนเปื้อนของฟอร์มาลีน กรดซาลิซิลิค และสีสังเคราะห์ในอาหารที่จำหน่ายในบริเวณภาคตะวันออกของประเทศไทย. การประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 9 วันที่ 24-27 มีนาคม 2553. กรุงเทพฯ: โรงแรมสุนีย์แกรนด์แอนด์คอนเวนชั่นเซ็นเตอร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม, กาญจนา หริ่มเพ็ง, นิสา ไกรรักษ์, ปริยา นุพาสันต์, ศิริโฉม ทุ่งเก้า, พรรณนิภา ศิริเพิ่มพูน, ศิริพร เอื้ออังกูร, สุดสายชล หอมทอง, สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, วรนาฏ จงโยธา, สุดารัตน์ สวนจิตร และ อภิรดี ปิลันธนภาคย์. (2551). สถานการณ์การปนเปื้อนและการพัฒนาเทคนิคในการตรวจวัดจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารทะเลแห้งเพื่อมุ่งสู่การเป็นศูนย์ตรวจจุลินทรีย์และการรับรองมาตรฐานสินค้าอาหารทะเลแห้ง. ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ไพโรจน์ วิริยจารี. (2526). การยืดอายุการเก็บรักษาปลาหมึกแห้งโดยวิธีร่วมระหว่างการฉายรังสีและการให้สารกันเชื้อรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราวุฒิ ครูส่ง. (2538). จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สิรีพร สมุทรเสน, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, สวามินี ธีระวุฒิ และ สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2553). สถานการณ์การตกค้างของบอแรกซ์ สารฟอกขาวและยาฆ่าแมลงในอาหารที่จำหน่ายในภาคตะวันออก. การประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 9 วันที่ 24-27 มีนาคม 2553, กรุงเทพฯ: โรงแรมสุนีย์แกรนด์แอนด์คอนเวนชั่นเซ็นเตอร์.

สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ (2553). สินค้าส่งออกสำคัญ 15 รายการแรกของไทย ปี 2548 - 2552 (ม.ค. - ธ.ค.) วันที่ค้นข้อมูล 7 มีนาคม 2553, เข้าถึงได้จาก http://www2.ops3.moc.go.th/export/export_topn_5y/report.asp

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, ปริยา นุพาสันต์, สุดสายชล หอมทอง, จิระสันต์ มีรัตน์ และ สมศักดิ์ จำปาทอง. (2551). สถานการณ์การปนเปื้อนและการพัฒนาเทคนิคในการตรวจวัดยาฆ่าแมลงและสีสังเคราะห์ในอาหารทะเลเพื่อมุ่งสู่การเป็นศูนย์ข้อมูลสถานการณ์การปนเปื้อนและความเป็นพิษของสารทั้ง 2 กลุ่ม ในอาหารทะเล

ของจังหวัดชลบุรี. ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2552). การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน วงศ์เอนเทอโรแบคทีเรีย ซีอี. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุวรรณี นพรัตน์. (2546). การคัดเลือกแบคทีเรียชอบเค็มที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไลเปส. ปัญหาทางจุลชีววิทยา ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุมาลี เหลืองสกุล. (2541). จุลชีววิทยาทางอาหาร (พิมพ์ครั้งที่ 4). ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

Botelho-Nevers, E., Gouriet , F., Lepidi, H., Couvret, A., Amphoux, B., Dessi, P. and Raoult, D. (2007). Chronic nasal infection caused by *Klebsiella rhinoscleromatis* or *Klebsiella ozaenae*: two forgotten infectious diseases. International Journal of Infectious Diseases. 11: 423-429.

Brenner, D. J. (1984). Section: 5 Facultative Anaerobic Gram-Negative Rods. In N. R. Krieg, and J. G. Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 1. Baltimore: Williams & Wilkins. pp. 414-417.

Chotmongcol, K., Vuthiphandchai, V. and Nimrat, S. (2009). Detection of synthetic dyes in dry seafood products by synthetic dye's test kit. Conference on Trends in Environmental Health and Toxicology Research. 27-28 June, Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand.

Fernandez-Delgado, M., Contreras, M., Garcia-Amado, M. A., Gueneau, P. and Suarez, P. (2007). Occurrence of *Proteus mirabilis* associated with two species of venezuelan oysters. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo. 49(6): 355-399.

Finney, M., Smullen, J., Foster, H. A., Brokx, S. and Storey, D. M. (2003). Evaluation of Chromocult coliform agar for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae from faecal samples from healthy subjects. Journal of Microbiological Methods. 54: 353-358.

Garcia Fontan, M. C., Lorenzo, M. J., Martinez, S., Franco, I. and Carballo, J. (2007). Microbiological characteristics of Botillo, a Spanish traditional pork sausage. Food Science and Technology. 40: 1610-1622.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology (9th ed.). Baltimore: Williams & Wilkins.

Kanemitsu, K., Endo, S., Oda, K., Saito, K., Kunishima, H., Hatta, M., Inden, K. and Kaku, M. (2007). An increased incidence of *Enterobacter cloacae* in a cardiovascular ward. Journal of Hospital Infection. 66: 130-134.

Kloss, W. E. and Schilefer, K. H. (1986). Section 12: Gram-Positive Cocci Genus IV *Staphylococcus*. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe and J. G. Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins. pp. 1016-1017.

Kocur, M. (1986). Section 12: Gram-Positive Cocci Genus III *Planococcus* In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic

bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins. pp. 1011-1013.

Samra, Z., Ofir, O., Lishtzinsky, Y., Madar-Shapiro, L. and Bishara, J. (2007). Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel. International Journal of Antimicrobial Agents. 30: 525-529.

Samutsan, S., Vuthiphandchai, V. and Nimrat, S. (2009). Incidence of pesticide contamination in dry seafood products collected from Chon Buri Province, Thailand. Conference on Trends in Environmental Health and Toxicology Research. 27-28 June, Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand.

Seeliger, H. P. R. and Jones, D. (1986). Section 14: Regular, Nonsporing Gram-Positive Rods. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.), Bergey's manual of systematic bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Scavone, P., Miyoshi, A., Rial, A., Chabalgoity, A., Langella, P., Azevedo, V. and Zunino, P. (2007). Intranasal immunisation with recombinant *Lactococcus lactis* displaying either anchored or secreted forms of *Proteus mirabilis* MrpA fimbrial protein confers specific immune response and induces a significant reduction of kidney bacterial colonisation in mice. Microbes and Infection. 9: 821-828.

Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., and Holt, J. G. (1986). Bergey's manual of systematic bacteriology volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins.

Yang, Z., Jiao, X., Zhou, X., Cao, G., Fang, W. and Gu, R. (2008) Isolation and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fresh, low-temperature preserved, dried, and salted seafood products in two coastal areas of eastern China. International Journal of Food Microbiology. 125 (3): 279-285.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 520-531 (2553) KKU Sci. J.38(4) 520-531 (2010)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสมุนไพรผักเม็ก

Biological Evaluation of Crude Extracts of *Kanchanaburi gratum* (Wight) S.W. Mitra

สมหมาย ปะติตังโข [1] และ สมศักดิ์ จีวัฒนา [2]*

บทคัดย่อ

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรผักเม็ก โดยการสกัดสารจากใบแห้งหนัก 300 กรัม ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ได้แก่ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทิลแอซิเตต (ethyl acetate) เมทานอล (methanol) และ เอทานอล (ethanol) ได้สารสกัดหยาบที่มีน้ำหนัก 22.21 60.01 80.14 42.36 และ 90.03 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหยาบแต่ละชนิดไปหาปริมาณของ polyphenolic content ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) และ ferric reducing/antioxidant power (FRAP) และความสามารถในการต้านแบคทีเรียชนิด *E.coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. พบว่า สารสกัดหยาบที่มีปริมาณของ polyphenolic content สูง ได้แก่ crude methanol และ crude ethanol ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• พบว่า สารสกัดหยาบจากตัวทำละลาย methanol และ ethyl acetate ออกฤทธิ์ได้ดีด้วยค่า IC_{50} ที่ต่ำในระดับ 53.019 และ 59.910 มิลลิกรัม/ลิตร สำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดหยาบที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ได้มากที่สุด คือ crude dichloromethane ส่วนความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย พบว่า crude dichloromethane crude ethyl acetate crude methanol และ crude ethanol สามารถต้านการเจริญเติบโตของ *E.coli, Klebsiella* spp., *Etherobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. ได้ดี

[1] Department of Chemistry, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Thailand

[2] Department of Computer Science, Buriram Rajabhat University, Thailand

* Corresponding Author, E-mail: psommai63@yahoo.com

Abstract

Biological investigation of crude extracts of *Kanchanaburi gratum* (Wight) S.W. Mitra, belonging to the family of the Hypericaceae was conducted by using 300 g of dry leaves, extracted by hexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol and ethanol. The crude extracts were found at amount of 22.21, 60.01, 80.14, 90.03 and 42.36 g, respectively. When each crude extract was analyzed to find polyphenolic content, to investigate antioxidant capacity by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) and ferric reducing/antioxidant power (FRAP) techniques, to test the activity of antibacterial, viz. *E. coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. and *Citrobacter* spp., it was found that the crude extracts which had high polyphenolic contents were crude methanol and crude ethanol.

The ability of antioxidant by DPPH was revealed that crude methanol and crude ethyl acetate were good antioxidant with the lowest IC_{50} at the level of 53.019 and 59.910 mg/L. The ability of antioxidant by FRAP was discovered that the crude extract which highly reduced Fe^{3+} was crude dichloromethane. For the ability of antibacterial, it was found that crude dichloromethane, crude ethyl acetate, crude methanol and crude ethanol can well resist the growth of *E. coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. and *Citrobacter* spp.

คำสำคัญ: ฤทธิ์ทางชีวภาพ สมุนไพรผักเม็ก การต้านอนุมูลอิสระ DPPH FRAP

Keywords: Biological evaluation, *Kanchanaburi gratum* (Wight) S.W. Mitra, Antioxidant, DPPH, FRAP

บทนำ

ในยุคบริโภคนิยมหรือยุคทุนนิยม ทำให้การดำเนินกิจการทุกอย่างเล็งไปที่ผลกำไรเป็นหลัก ทำให้โลกตกอยู่ในภาวะที่พัฒนาไปอย่างขาดความสมดุล ในแต่ละวินาที สิ่งแวดล้อมของโลกถูกเติมเต็มด้วยสารก่อมลพิษในรูปแบบต่างๆ ทั้งที่เป็นอนุภาคของแข็ง ของเหลว และแก๊สพิษหลากหลายชนิด ส่งผลเสียทั้งโดยตรงและโดยอ้อมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ ตลอดจนมนุษย์บนโลก ผลที่ปรากฏชัด คือ ภาวะทุพลภาพ และการเกิดโรคภัยต่างๆ ตามมา เช่น โรคมะเร็ง พบว่า ในปี พ.ศ. 2549 มีผู้ป่วยด้วยโรคนี้เฉพาะในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีประมาณ 6 แสนกว่าราย (Cancer facts and figures, 2007) โรคไข้หวัดนก โรคเอดส์ โรคซาร์ และไข้หวัด 2009 นอกจากนี้ ยังมีโรคร้ายอื่นๆ มากมายทั้งที่อาจเป็นโรคกลับซ้ำ และโรคอุบัติใหม่ ทั้งที่มีสาเหตุมาจากสิ่งมีชีวิต เช่น แบคทีเรีย รา โปรโตซัว และที่มีสาเหตุมาจากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น สารพิษหรือแก๊สพิษ รวมทั้งพวกอนุมูลอิสระที่ส่งผลให้เกิดโรคเกี่ยวกับการเสื่อมและการบกพร่องของเซลล์ประสาท ระบบสื่อประสาทในสมอง และสภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิต เช่น หัวใจและสมอง ที่สำคัญอนุมูลอิสระสามารถทำลายสารชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่ไวต่อการถูกออกซิไดซ์ ทำให้สมบัติและการทำงานเปลี่ยนไป เกิดการบกพร่องหรือถูกทำลาย อันเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคชนิดต่างๆ (โอภา วัชระคุปต์, 2549) นอกจากนี้ การที่ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตภูมิอากาศร้อนชื้น จึงส่งผลให้เกิดการเจ็บป่วยด้วยโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียของระบบทางเดินอาหารและระบบหายใจ เป็นต้น สร้างความเสียหายอย่างมากทางด้านเศรษฐกิจ ด้านสังคม และด้านสุขภาพอนามัย จากสาเหตุที่กล่าวมา จึงเป็นแรงผลักดันให้นักวิทยาศาสตร์ในแขนงต่างๆ พยายามศึกษาค้นคว้าหาความรู้เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้อย่างจริงจัง เช่น ในปี พ.ศ. 2550 ได้มีการค้นพบสารสกัดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• จากเปลือกต้นวงศ์อบเชย

(พรรณี เด่นรุ่งเรือง, 2550) เป็นต้น

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีป่าเขตร้อน (tropical forest) มีความหลากหลายของทรัพยากรทางชีวภาพ (biological diversity resources) อุดมสมบูรณ์ด้วยพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ และแร่ธาตุ มีการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคต่างๆ มาหลายชั่วอายุคน แต่ความนิยมในการใช้สมุนไพรลดลง เมื่อมีการนำเข้าและใช้ยาเคมีสังเคราะห์ จนปัจจุบันประชาชนได้ตระหนักถึงผลข้างเคียงของยาเคมีสังเคราะห์ ทำให้สมุนไพรเป็นที่สนใจ และมีความสำคัญเพิ่มขึ้น (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547) ทั้งนี้ การพัฒนายาจากพืชสมุนไพรเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยแก้ปัญหาเศรษฐกิจของประเทศ ลดการนำเข้ายาที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ และยังเป็นการสนับสนุนนโยบายของรัฐบาลในการให้ประชาชนสามารถพึ่งตนเองได้ในทางสาธารณสุขอีกด้วย

สมุนไพรผักเม็ก *Kanchanaburi gratum* (Wight) S.W. Mitra วงศ์ Hypericaceae เป็นพืชยืนต้นชนิดหนึ่ง แตกยอดสีชมพูอ่อนในฤดูฝน มีรสฝาด นิยมรับประทานกับอาหารประเภทลาบก้อย ส่วนสรรพคุณ ใบแก้ท้องอืด จุกเสียด มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ T-lymphocytes, B- lymphocytes ต้านอนุมูลอิสระ DPPH• นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Propionibacterium acnes* (*P. acne*) และ *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ได้ดีอีกด้วย (ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชา และคณะ, 2553) จากเหตุผลดังกล่าว จึงทำให้คณะผู้วิจัยมองเห็นความสำคัญและจำเป็นที่จะต้องนำพืชสมุนไพรผักเม็กมาศึกษาวิจัยเพิ่มเติม เพื่อทราบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากอนุมูลอิสระมีความเชื่อมโยงทั้งโดยตรงและโดยอ้อมต่อการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคเบาหวาน โรคความจำเสื่อม โรคมะเร็งบางชนิด และโรคอื่นๆ นอกจากนี้ยังต้องการศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคปอดอักเสบ และโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร โดยการนำใบผักเม็กแห้งมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ แล้วนำไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH, FRAP และทดสอบการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. และ *Citrobacter* spp.

วิธีการวิจัย

การสกัดสารตัวอย่าง

นำใบผักเม็กแห้ง (เก็บในวันที่ 5 มิถุนายน 2552 บริเวณตำบลอิสาณ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์) ที่มีน้ำหนัก 300 กรัม มาทำการสกัดเย็น โดยแช่ในตัวทำละลาย hexane เป็นเวลา 3 2 และ 1 วัน แล้วนำไปกลั่นลดความดันด้วยเครื่อง rotary evaporator ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องภายในเครื่อง Dricycler Desiccator เป็นเวลา 5 วัน ส่วนการสกัดด้วยตัวละลายที่เหลือ ได้แก่ dichloromethane, ethyl acetate, methanol และ ethanol ดำเนินการทำนองเดียวกัน

วัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารสกัด

เตรียมสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยนำสารสกัดแต่ละชนิดมา 25 มิลลิกรัม ละลายด้วยเมทานอลแล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ปิเปตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีดจะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร จากนั้นนำสารละลายแต่ละตัวไปทำการ Scan หาค่าความยาวคลื่นที่สามารถให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})

การวิเคราะห์หาปริมาณ Total polyphenol

1. ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานจากกรดแกลลิก (gallic acid) เข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร โดยชั่งกรดแกลลิก จำนวน 0.0100 กรัม ละลายด้วย

น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 10-100 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วนำไปสร้างกราฟได้ผลดังรูปที่ 1

2. เตรียมสารสกัดหยาบใบผักเม็กที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร โดยชั่งสารสกัดหยาบใบผักเม็ก 0.0050 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางลงเป็น 60 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ปิเปตแต่ละความเข้มข้น มา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin- Ciocalteu reagent 2.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย sodium carbonate 2 มิลลิลิตรบ่มไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,300 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐาน (Hajimahmoodi et al., 2008) ได้ผลดังตารางที่ 3

ศึกษาความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical)

เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบและสารมาตรฐาน (ascorbic acid และ BHT) ให้มีความเข้มข้นต่างๆ แล้วปิเปตสารละลายของสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้นใส่ในขวดสีชาจำนวน 4 ขวด ขวดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 2 มิลลิลิตร ของสารละลาย 0.2 mM DPPH นำไปบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณร้อยละของการต้านอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ (Sharma et al., 2007)

ศึกษาความสามารถการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (ferric reducing/antioxidant power)

วิธี FRAP สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยการเตรียม acetate buffer pH 3.6, 10 มิลลิโมลลาร์ ของ TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) ในสารละลาย 40 มิลลิโมลลาร์ ของ HCl และ 20 มิลลิโมลลาร์ ของ ferric chloride แล้วนำมาผสมกันในสัดส่วน 10:1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) ตามลำดับ จะได้สารละลาย FRAP ซึ่งมี Fe^{3+}-TPTZ ที่จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารสกัดหยาบไปเป็น Fe^{2+}-TPTZ เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการใช้ แล้วปิเปตสารละลายของสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้นมา 180 ไมโครลิตร ใส่ในขวดสีชาสามขวดต่อหนึ่งความเข้มข้นแล้วเติม 3 มิลลิลิตร ของสารละลาย FRAP นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้ววัดค่าการดูดคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร นำค่าการดูดคลื่นแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากสารละลาย iron(II) sulfate ที่ความเข้มข้นต่างๆ (Sharma et al., 2007) ดังรูปที่ 2 และตารางที่ 6

ศึกษาความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

การทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion (Dulger , 2006) โดยนำสารสกัดหยาบแต่ละชนิดมาเตรียมเป็นความเข้มข้น 2000 1000 และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร โดยชั่งสารสกัดหยาบ 20 มิลลิกรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายของสารสกัดหยาบ ที่มีความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัม/ลิตร ปิเปตมา 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจะได้สารละลายของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร จากนั้น ปิเปตจากความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร มา 5 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร จะได้สารละลายของสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้ DMSO เป็นชุดควบคุม (control)

ผลการวิจัย

ร้อยละของสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิด

หลังจากนำใบผักเม็กแห้งที่มีน้ำหนัก 300 กรัม แช่ในตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดเป็นเวลา 3 2 และ 1 วัน แล้วนำไปทำการกลั่นลดความดันโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จนปริมาตรลดลงเหลือน้อยที่สุด แล้วเก็บไว้ในบีกเกอร์ปล่อยให้แห้ง 5 วัน หลังจากสารสกัดหยาบแห้งสนิทแล้วนำเอาบีกเกอร์ที่มีสารสกัดหยาบบรรจุอยู่ไปชั่งน้ำหนักจะทำให้ทราบน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิด ได้ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิด

สารสกัดหยาบ	น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละของสารสกัดหยาบ
Crude hexane	22.21	7.40
Crude dichloromethane	60.01	20.00
Crude ethyl acetate	80.14	26.71
Crude methanol	42.36	30.01
Crude ethanol	90.03	14.12

ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})

จากการศึกษาหาความยาวคลื่นที่สารสกัดหยาบดูดกลืนแสงสูงสุด เพื่อตรวจสอบว่า สารสกัดหยาบแต่ละชนิดจะสามารถนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้จริง โดยค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเป็นไปตามตารางที่ 2

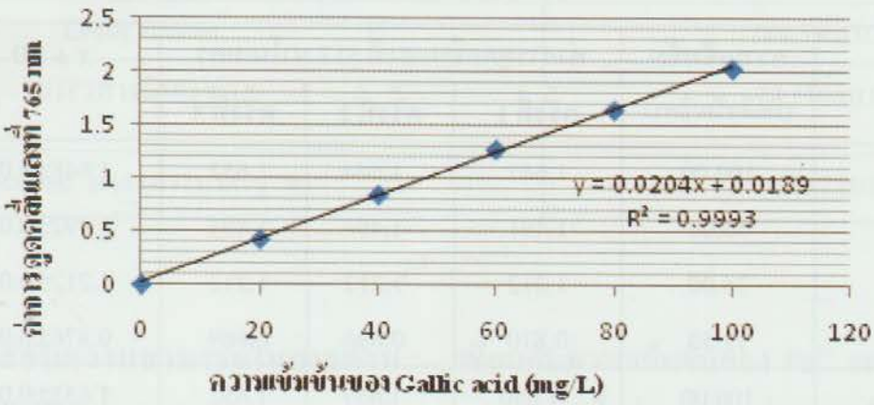
ตารางที่ 2 ผลการหาความยาวคลื่นที่สารสกัดหยาบสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุด

สารสกัดหยาบ	λ_{max} (นาโนเมตร)
Crude hexane	410
Crude dichloromethane	373
Crude ethyl acetate	320
Crude methanol	335
Crude ethanol	315

จากตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดแต่ละชนิดมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) แตกต่างกันและแตกต่างจาก λ_{max} ของสารละลาย DPPH ซึ่งมีค่าเท่ากับ 517 นาโนเมตร ดังนั้น สารสกัดทุกชนิดจึงสามารถนำไปวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH ได้

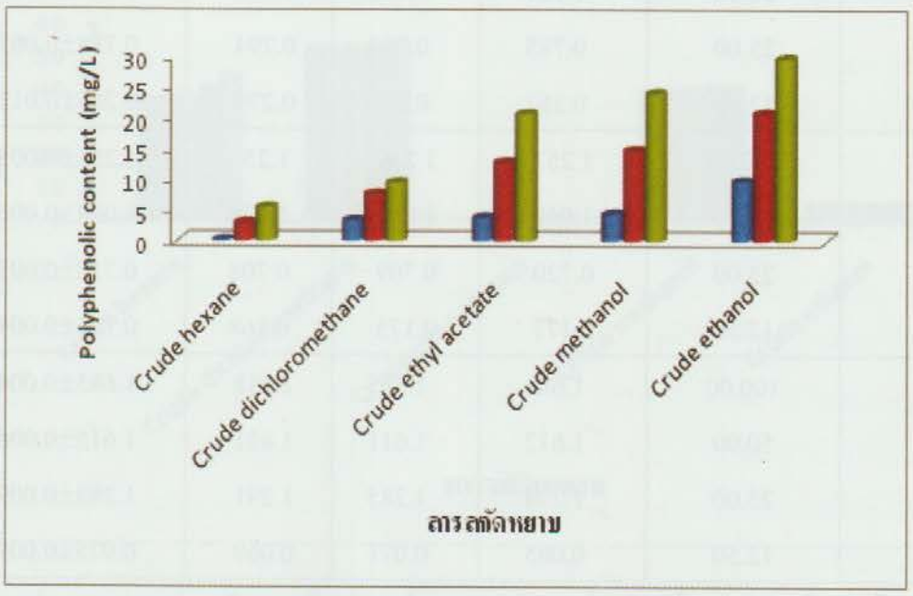
การวิเคราะห์ปริมาณของ polyphenolic content

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร มาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นกรดแกลลิก จะได้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของ polyphenolic content

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบมาเทียบกับกราฟรูปที่ 1 และจากกราฟนี้จะทำให้ทราบปริมาณของ polyphenolic content สรุปได้ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ปริมาณ polyphenolic content จากสารสกัดหยาบแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 20 60 และ 100 มิลลิกรัม/ลิตร

จากรูปที่ 2 พบว่า ตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดสามารถสกัดเอาสารกลุ่ม polyphenolic ออกมาได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยตัวทำละลายที่สกัดออกมาได้มากที่สุด คือ ethanol และรองลงมา คือ methanol

ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดโดยวิธี DPPH

จากการนำสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิด มาเตรียมเป็นความเข้มข้นต่างๆ แล้วทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร			$\bar{x} \pm SD$	% radical scavenging
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
Crude hexane	100.00	1.647	1.644	1.653	1.648±0.005	5.233
	50.00	1.491	1.494	1.491	1.492±0.002	1.046
	25.00	1.212	1.212	1.212	1.212±0.000	0.345
	12.50	0.870	0.894	0.869	0.876±0.000	0.114
Crude dichloromethane	100.00	1.650	1.657	1.652	1.653±0.004	3.499
	50.00	1.626	1.634	1.620	1.627±0.007	1.957
	25.00	1.581	1.571	1.583	1.578±0.006	1.186
	12.50	1.395	1.420	1.440	1.418±0.023	0.474
Crude ethyl acetate	100.00	1.276	1.287	1.288	1.284±0.007	81.469
	50.00	1.121	1.132	1.128	1.127±0.006	44.895
	25.00	0.785	0.786	0.794	0.788±0.005	21.189
	12.50	0.262	0.255	0.279	0.265±0.012	9.930
Crude methanol	100.00	1.257	1.259	1.250	1.255±0.005	88.223
	50.00	1.062	1.067	1.074	1.068±0.006	50.964
	25.00	0.720	0.709	0.708	0.712±0.007	26.446
	12.50	0.171	0.175	0.168	0.171±0.004	13.567
Crude ethanol	100.00	1.681	1.685	1.688	1.685±0.004	23.858
	50.00	1.612	1.611	1.621	1.615±0.006	4.154
	25.00	1.274	1.285	1.291	1.283±0.009	2.143
	12.50	0.085	0.071	0.069	0.075±0.009	0.546

จากตารางที่ 3 พบว่า สารสกัดหยาบของ methanol และ ethyl acetate มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบของ hexane, dichloromethane และ ethanol

ผลของการคำนวณหาค่า IC_{50}

นำค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมาคำนวณหาค่า IC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH• ลงได้ร้อยละ 50 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

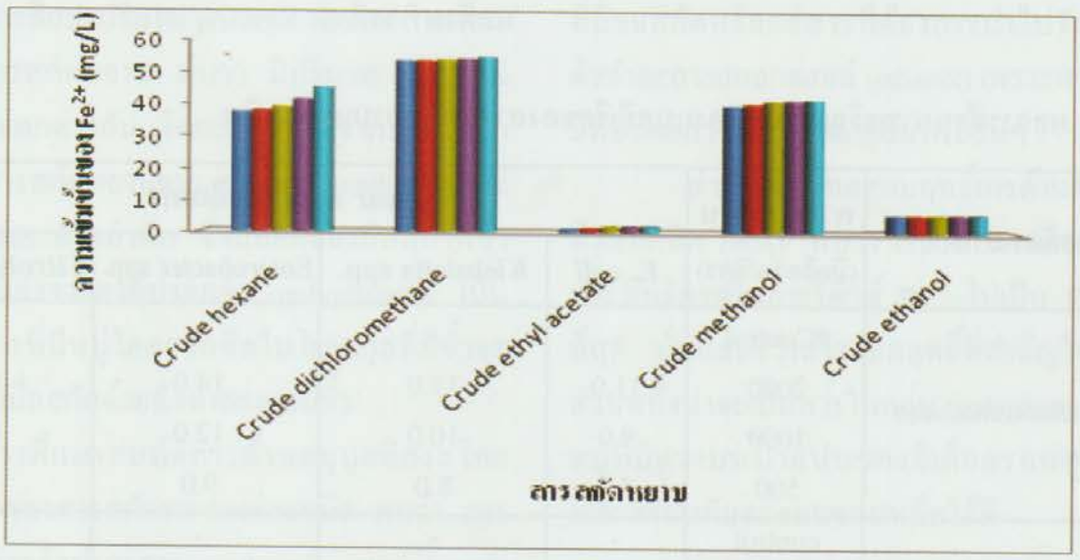
ตารางที่ 4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH•

สารสกัดหยาบ	IC_{50} (มิลลิกรัม/ลิตร)
Crude hexane	850.764±0.001
Crude dichloromethane	1495.006±0.004
Crude ethyl acetate	59.910±0.002
Crude methanol	53.019±0.005
Crude ethanol	189.520±0.002
BHT (สารมาตรฐาน)	22.310±0.003
Ascorbic acid (สารมาตรฐาน)	16.012±0.001

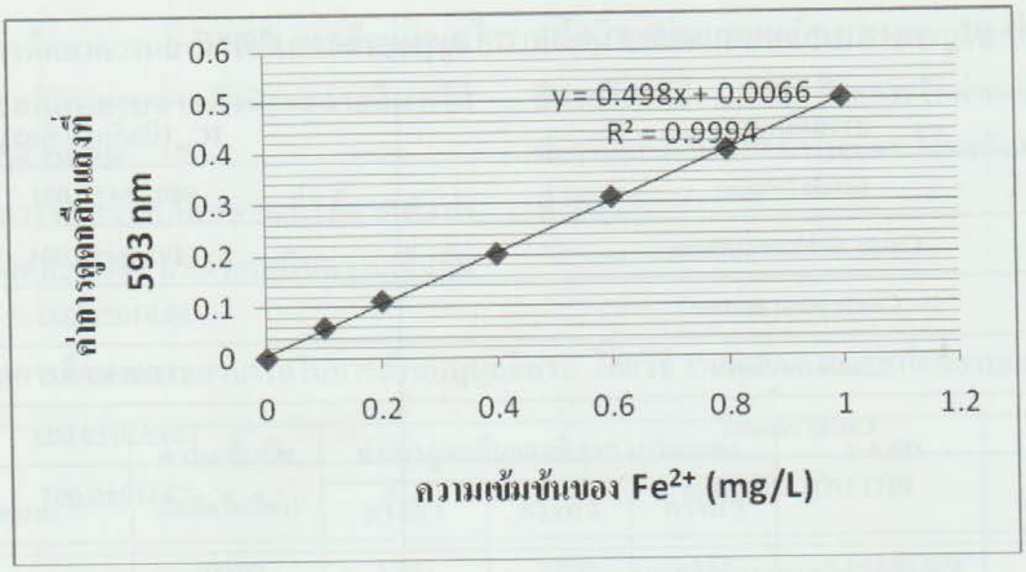
ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

หลังจากนำสารละลาย iron(II)sulphate ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานเทียบกับความเข้มข้นของ Fe^{2+} จะได้ผลดังรูปที่ 3

เมื่อคำนวณหาค่าความเข้มข้นของ Fe^{2+} ที่เกิดขึ้นจากการรีดิวซ์ Fe^{3+} ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานรูปที่ 3 ผลสรุปได้ดังรูปที่ 4



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP



รูปที่ 4 ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด

จากรูปที่ 4 พบว่า สารสกัดหยาบที่ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบของ dichloromethane ซึ่งสามารถรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้มากกว่าสารสกัดหยาบชนิดอื่นๆ

Antibacterial Activities

เมื่อนำสารสกัดหยาบมาเตรียมความเข้มข้นต่างๆ เพื่อทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. หลังจากเวลา 48 ชั่วโมง วัด clear zone จะได้ผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)	clear zone (มิลลิเมตร)			
		E. coli	*Klebsiella* spp.	*Enterobacter* spp.	*Citrobacter* spp.
Crude dichloromethane	#Control	-	-	-	-
	2000	11.0	13.0	14.0	13.0
	1000	9.0	10.0	12.0	11.0
	500	7.0	8.0	9.0	9.0
Crude ethyl acetate	control	-	-	-	-
	2000	14.0	13.0	12.0	14.0
	1000	11.0	11.0	10.0	12.0
	500	8.0	9.0	8.0	9.0
Crude methanol	control	-	-	-	-
	2000	18.0	16.0	15.0	15.0
	1000	12.0	13.0	14.0	13.0
	500	9.0	8.0	10.0	9.0

ตารางที่ 5 ผลการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด (ต่อ)

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)	clear zone (มิลลิเมตร)			
		E. coli	*Klebsiella* spp.	*Enterobacter* spp.	*Citrobacter* spp.
Crude ethanol	control	-	-	-	-
	2000	15.0	16.0	15.0	17.0
	1000	11.0	13.0	10.0	11.0
	500	8.0	9.0	8.0	9.0

*control คือ DMSO และ clear zone รายงานเป็นค่าเฉลี่ย

จากตารางที่ 5 พบว่า สารสกัดหยาบจากตัวทำละลายอินทรีย์เกือบทุกชนิดต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ ยกเว้น สารสกัดหยาบของ hexane ไม่ต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดใดๆ นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดหยาบของ ethanol และ methanol ออกฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดได้ดี

สรุปและวิจารณ์ผล

การศึกษาปริมาณ phenolic content ในแต่ละส่วนของสารสกัดหยาบ พบว่า มีปริมาณ phenolic content ที่แตกต่างกัน โดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ สารสกัดหยาบจาก ethanol methanol และ ethyl acetate ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับสภาพขั้วของสาร เนื่องจากองค์ประกอบ polyphenolic เป็นกลุ่มของสารที่มีหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลที่มีขั้วจะแยกออกมาเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายมีขั้ว

การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบแต่ละชนิด พบว่า สารสกัดหยาบจากตัวทำละลาย methanol ethyl acetate และ ethanol มีค่า IC_{50} เรียงตามลำดับดังนี้ 53.019 59.910 และ 189.520 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากตัวทำละลาย dichloromethane และ hexane แต่อยู่ในช่วงใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน BHT และ ascorbic acid นั่นแสดงว่าสารสำคัญที่สกัดออกมาด้วยตัวทำละลาย methanol ethyl acetate และ ethanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง ส่วนสารสกัดหยาบของ hexane และ dichloromethane มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ ดังนั้นถ้าต้องการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ใช้เป็นยา เป็นสารต้านการเหม็นหืนเพื่อถนอมอาหาร และเป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง ควรสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วพวก methanol ethyl acetate และ ethanol ซึ่งสอดคล้องกับภูมิปัญญาชาวบ้านที่นิยมสกัดหรือแช่สารที่ต้องการนำไปรักษาโรคในตัวทำละลายแอลกอฮอล์ (ethanol) เพราะหาได้ง่ายและมีพิษน้อยกว่าตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ

ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค FRAP พบว่า crude dichloromethane มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ได้มากที่สุด นั่นแสดงว่าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในใบผักเม็กส่วนหนึ่งน่าจะเป็นสารในกลุ่ม polyphenolic ซึ่งเป็นหมู่ที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูง จึงให้อิเล็กตรอนกับอะตอมของเหล็กได้ดี

สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค DPPH และ FRAP ที่มีความสัมพันธ์กันน้อย ทั้งนี้เป็นเพราะว่าสารสกัดหยาบที่มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้ดีอาจจะแสดงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนที่ไม่ดี (โอภา วัชระคุปต์, 2549) นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลาย

และขนาดของโมเลกุลของสารสกัดที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ (มัณฑนา ภาณุมาภรณ์, 2552) ดังนั้นการที่สารสกัดหยาบจาก methanol มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• ได้ดี เพราะมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี และโมเลกุลไม่เกะกะ (steric effect) จึงเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ได้ดี แต่มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้น้อยกว่าสารสกัดหยาบของ dichloromethane ในเทคนิค FRAP

สำหรับผลการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก็สอดคล้องกับคุณสมบัติต่างๆ ที่กล่าวข้างต้น คือ สารออกฤทธิ์ที่สกัดด้วย dichloromethane ethyl acetate methanol และ ethanol มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ยกเว้นสารสกัดหยาบจาก hexane ไม่ต้านแบคทีเรียใดๆ ที่ใช้การทดลองในครั้งนี้ ดังนั้น สารสกัดหยาบของใบผักเม็กจากตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• และมีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้ดี นอกจากนี้ ยังมีความสามารถต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *E. coli Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. ได้อีกด้วย ดังนั้นสารสกัดหยาบจากใบผักเม็กจึงน่าจะมีประโยชน์ในการรักษาโรคปอดอักเสบชุมชน(community-acquired pneumonia) (Podschun and Ullmann, 1998) โรคที่เกิดจากแบคทีเรียของระบบทางเดินอาหาร เช่น โรคอุจจาระร่วง (diarrheal disease) ถ้าเลือกตัวทำละลายในการสกัดอย่างเหมาะสม จะได้สารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การถนอมอาหารที่มีองค์ประกอบของไขมันไม่อิ่มตัวเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) พัฒนาเป็นยารักษาโรคที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคความจำเสื่อม และต้านการอักเสบ เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ที่สนับสนุนทุนวิจัยและอนุญาตให้ใช้เครื่องมือสถานที่จนทำให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ และขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิ่งแก้ว ปะติตังโข ที่กรุณาตรวจทานต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชา, เอกชัย ดำเกลี้ยง, พยุงศักดิ์ และ สุรินต๊ะ และ วสันต์ ดีล้ำ. (2553). ฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกัน ต้านออกซิเดชัน และต้านจุลชีพของสารสกัดผักพื้นบ้านและสมุนไพรอีสาน. IJPS. 5(2): 99-107.

มัณฑนา ภาณุมาภรณ์. (2552). เครื่องสำอางเพื่อความงามและสุขภาพ. กรุงเทพมหานคร: กรุงเทพเวชสาร. หน้า 80.

พรรณี เด่นรุ่งเรือง. (2550). ฤทธิ์การการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย. รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2550. สำนักงานวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้. หน้า 19-26.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). การตรวดสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โอภา วัชระคุปต์. (2549). สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พีเอสพริ้นท์. หน้า 28-34.

Cancer facts and figures. (2007). [Online] Available: http://www.cancer.org/downloads/STT/ Global_Facts_and_Figures_2007_rev2.pdf (8 พฤษภาคม 2553)

Sharma,N., K., Dey ,S. and Prasad, R. (2007). In vitro antioxidant potential evaluation of Euphorbia hirta L. Pharmacology online. 1: 91-98.

Hajimahmoodi, M., Sadegh, N., Janat ,B., Oveisi, M. R., Madani, S., Kaiyi , M., Akrami , M. R. and Ranjbar, A. M. (2008). Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of Iranian olive cultivar. Journal of Biological Science. 8(4): 779-783.

Dulger, B. (2006). Antimicrobial activity of some endemic Scrophulariaceae from Turkey. Pharmaceutical Biology. 44 (9): 672-676.

Podschun, R. and Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clinical Microbiology Reviews. 1(4):589-603.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 532-543 (2553) KKU Sci. J.38(4) 532-543 (2010)

Effect of Reducing Propylene Glycol Content on Conjugated Linoleic Acid Production from Sunflower Oil

Patcharin S. Pakdeechanuan [1*] *Aris Salaemae* [1] *and Suwaiba Odpiban* [1]

บทคัดย่อ

Conjugated linoleic acid (CLA) เป็นกรดไขมันที่มีประโยชน์ มีคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง ป้องกันการอุดตันของหลอดเลือด เพิ่มระบบภูมิคุ้มกันและลดมวลไขมัน โดยทั่วไป CLA จะเตรียมด้วยปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) ในสภาวะที่เป็นด่างโดยใช้ตัวทำละลายชนิดโพรพิลีน ไกลคอล (propylene glycol) งานวิจัยนี้ออกแบบเพื่อการลดต้นทุนการผลิตโดยศึกษาผลของการลดปริมาณโพรพิลีน ไกลคอล ต่อผลผลิตการเกิด CLA ในถังปฏิกิริยา (reactor) ขนาด 20 ลิตร ศึกษาการผลิต CLA ในอัตราส่วนของน้ำมันต่อโพรพิลีน ไกลคอล (O:P) 2 อัตราส่วน คือ 1:1 และ 2:1 เปรียบเทียบอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 3 ระดับ คือ 140 160 และ 180 องศาเซลเซียส และอัตราการกวนผสม 2 ระดับ คือ 300 และ 500 รอบต่อนาที น้ำมันเมล็ดทานตะวันที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณกรดไขมันชนิดไลโนเลอิก ร้อยละ 57.57 ผลการวิจัยพบว่า ผลผลิตของการเกิด CLA จาก O:P ทั้ง 2 อัตราส่วน แปรผันกับอุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยา การใช้อัตราการกวนผสมที่ 300 รอบต่อนาที มีปริมาณ CLA สูงกว่าการใช้อัตราการกวนผสมที่ 500 รอบต่อนาที โครงสร้างหลักของ CLA ที่ได้เป็นไอโซเมอร์ชนิด *c,t* และ *t,c* การใช้อัตราส่วน O:P, 1:1 และ 2:1 ได้ร้อยละของกลุ่มไอโซเมอร์นี้ 94.85 และ 96.38 ของไอโซเมอร์ CLA ทั้งหมด โดยมีไอโซเมอร์ ชนิด *t,t* ต่ำกว่าร้อยละ 1 ในทุกสภาวะ สภาวะที่มีการใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 80 นาที มีผลผลิตของ CLA ร้อยละ 56.14 และ 51.88 ของกรดไขมันทั้งหมด หรือมีร้อยละการเปลี่ยนไอโซเมอร์จากกรดไขมันไลโนเลอิกเริ่มต้นเป็น CLA 97.45 และ 90.12 เมื่อใช้อัตราส่วนของ O:P, 1:1 และ 2:1 ตามลำดับ ($p<0.05$).

Abstract

Conjugated linoleic acid (CLA) is known as a beneficial lipid which has been reported to have functions of anticarcinogenesis, anti-atherosclerosis, immune enhancement, and body fat reduction. Propylene

[1] Department of Food Science and Nutrition Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani, 94000

* Corresponding Author, E-mail: Patcharin.psu@gmail.com

glycol is generally used in alkaline isomerization for CLA preparation. This work was designed to lower production costs by investigating the effect of reducing propylene glycol content on CLA formation. Alkaline isomerization was carried out in a 20 L reactor using two different oil:propylene glycol; O:P ratios (1:1 and 2:1), varying reaction temperatures (140, 160 and 180°C), and stirring speeds of 300 and 500 rpm. Sunflower oil used in the experiment composed of linoleic acid (LA) 57.57%. The isomerization yield was dependent on reaction temperature and time for both O:P ratios. A higher CLA yield for every reaction temperature and time was obtained with a stirring speed of 300 rpm, rather than 500 rpm. The main CLA configuration was *c,t/t,c* isomers, of which yields of 94.85% and 96.38% of total CLA were obtained from O:P ratios of 1:1 and 2:1, respectively. At all reaction conditions, *t,t* isomers constituted less than 1% of total fatty acid. Maximum CLA yields of 56.14% and 51.88% of total fatty acid, 97.45 and 90.12% conversion of LA to CLA, were obtained from O:P ratios of 1:1 and 2:1, respectively ($p<0.05$), at a reaction temperature of 180°C for 80 min.

Keywords: Conjugated linoleic acid, Propylene glycol, Alkaline isomerization

Introduction

Conjugated linoleic acid (CLA) is a collective term describing the positional and geometrical conjugated dienoic isomers of linoleic acid. CLA has been shown to be a mutagenesis modulator, with highly effective anticarcinogenic properties that inhibit induced tumors and cancer cells in different organs of experimental animals. For instance, CLA has been tested against mouse epidermal tumors induced by 7,12-dimethylbenz(a) anthracene (DMBA) (Pariza, and Hargraves, 1985) mouse forestomach tumors induced by benzo(a) pyrene (Ha et al., 1990) and mammary tumors induced by DMBA in rats (Ip et al., 1991). CLA has also been shown to inhibit 2-amino-3-methylimidazol[4,5-f]quinoline-induced lung and large intestine carcinogenesis (Liew et al., 1995). CLA has free radical scavenging properties against DPPH stable radicals (Fagali and Catalá, 2008). In addition, it has also demonstrated other chemoprotective properties in animal models, such as inhibiting cholesterol-induced atherosclerosis (Kim and Liu, 1999; Gävino et al., 2000), reducing fat deposition (Brodie et al., 1999; Park et al., 1999) improving type II diabetes mellitus, and immunomodulating (Gnädig et al., 2001; Cho et al., 2008)

The functional properties of CLA are a result of chemical and physiological effects which are different from those of all-*cis*, nonconjugated polyunsaturated fatty acids. Bernas et al. (2003) reported that the double bonds in CLA exhibited 13C NMR signals which were identified for 20 different CLA isomers. These are *cis,cis (c,c), trans,trans (t,t), cis,trans (c,t)* and *trans,cis (t,c)* isomers of the 7,9; 8,10; 9,11; 10,12 and 11,13-C18:2 diene acids. However, in numerous research experiments only two isomers, *c9,t*11 and *t*10, c12-CLA, have been shown to have biological properties.

Alkaline isomerization of linoleic acid-containing oil in different solvents and under

different reaction conditions is the primary process used for CLA production (Berdeaux et al., 1998). These synthetic mixtures are reported to contain two major isomers, *c9,t*11-18:2 and *t*10,*c*12-18:2. Using the original method of Nichols et al. (1951), production yield of these conjugated acids was about 75%; but now a higher yield of more than 90% can be obtained using the method of Zu and Schut (1992). Diagram of the isomerization process is shown in Fig.1. Several different solvents can be used for the reaction, such as ethylene glycol, isoamyl alcohol, and ethanol (Dianóczki et al., 2004); but the most frequently reported is propylene glycol (Iowata et al., 1999; Berdeaux et al., 1998). Dianóczki et al. (2004) suggested that the volume of apolar aprotic solvent should preferably be 2 to 100 times higher than that of the oil. In the case of CLA, they concluded that amount of propylene glycol required for CLA synthesis is preferably 1.5 to 5 times the weight of the fat or oil containing linoleic acid. However, propylene glycol is the most expensive solvent used for this kind of reaction (~ 600 baht/L). For purposes of cost reduction, this study was designed to investigate the effect of propylene glycol content on CLA formation from sunflower oil. Two different ratios of oil to propylene glycol (1:1 and 2:1) were studied. The CLA profiles were analyzed by gas chromatography (GC), silver impregnated high performance liquid chromatography (HPLC), and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

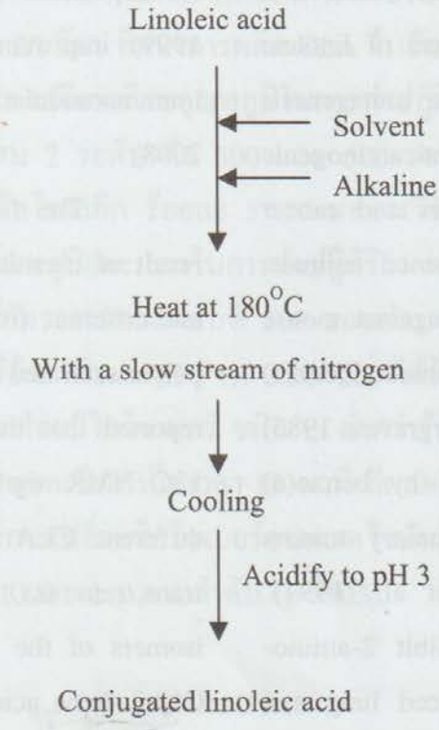


Figure 1. Partial diagram of alkaline isomerization for CLA preparation (modified from Berdeaux et al., 1998)

Materials and Methods

1. Materials

Sunflower oil was purchased from Thanakorn Vegetable Oil Product Co. Ltd. (Samutprakran, Thailand). Three standard CLA methyl ester isomers - 9*c*,11*c*; 9*c*,11*t* and 9*t*,11*t* - of 98% purity were purchased from Matreya Inc. (Pleasant Gap, PA, USA) and stored at -20 °C. A mixture of 37 fatty acid methyl ester standard was purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) and stored at -20°C. All chemicals and solvents were reagent grade, and purchased from Sigma Chemical Co. and Fisher Scientific Inc. (Pittsburgh, PA, USA).

2. CLA synthesis by alkaline isomerization

The reaction was carried out in a 20 L reactor equipped with a stirrer and heat control. Fatty acid in sunflower oil was isomerized into conjugated linoleic acid according to the method modified from that of Berdeaux et al. (1998). Two ratios of sunflower oil to propylene glycol (O:P 1:1 and 2:1), two different stirring speeds (300 and 500 rpm) and three levels of reaction temperatures (140, 160 and 180°C) were studied. For the O:P ratio of 1:1, isomerization was performed by dissolving 1.5 kg of sodium hydroxide in 3 L of propylene glycol at 120 °C; then 3 L of sunflower oil was added to the solution. For the O:P of 2:1, 2 kg of sodium hydroxide, 4 L of sunflower oil and 2 L of propylene glycol were used. The isomerized oil was sampled every 20 min for 80 min for CLA compositional analysis.

3. FAME analysis

3.1 Preparation of fatty acid methyl ester (FAME)

Approximately 50 mg of isomerized oil was placed into a 15-mL reaction tube fitted with a Teflon-lined screw cap. One mL of C17 internal standard (2.00 mg/ml in hexane) and 5 mL of 4% HCl in methanol were added and heated at 60°C for 15 min with occasional shaking. After methylation was completed, 10 mL of deionized water was added. The solution was transferred to a 40-mL centrifuge tube, and 9 mL of hexane was added for CLAME extraction. The solution was centrifuged at 3000 x g at 10 °C for 20 min; then the hexane layer was collected and dehydrated with anhydrous sodium sulfate, and analyzed by GC and HPLC.

3.2 FAME and CLA methyl ester (CLAME) analysis by GC

FAME including CLAME were analyzed using a GC model 6890N (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) equipped with a 100 m x 0.25 mm fused-silica capillary column (SP-2560, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA). Injector and detector temperatures were set at 240°C. The column temperature was kept at 75°C for 1 min; then increased at 20°C /min to 185°C and held at 185°C for 15 min; then increased at 4°C/min to 220°C and held at 220°C for 35 min. The FAME and CLAME peaks were identified by comparison with the retention times of the reference standards. Percent yield of CLA formation calculated as % of CLA/total fatty acids.

3.3 CLAME analysis by HPLC

The CLAME were analyzed with a HPLC model HP 1200 (Hewlett-Packard Inc., Palo Alto, CA, USA) equipped with a 20-μL Rheodyne

injection loop and an UV detector set at 233 nm. Two ChromSphere 5 (Chrompack International, Middelburg, Netherlands) silver-impregnated lipid analytical columns with guard column (4.6 mm i.d. x 250 mm stainless steel, 5 µm particle size) were used in series for good resolution. HPLC separation was isocratically performed with the mobile phase of 0.1% acetonitrile in hexane freshly prepared and at a flow rate of 1.0 mL/min (Sehat et al., 1999).

4. 4,4-dimethyloxazoline (DMOX) derivatives

The preparation of 4,4-dimethyloxazoline derivatives was carried out using the method of Sehat et al. (1998) . CLAME samples were collected from HPLC fractions and hydrolyzed to free fatty acids by using KOH in methanol acidified to pH 3 with HCl, and then solubilized in 10 mL of petroleum ether. The sample was then placed into a screw cap reaction tube and a threefold amount of 2-amino-2-methyl-1-propanol was added. The tube was purged with nitrogen and then heated at 170°C for 5 h. At the completion of the reaction, 10 mL of HPLC water was added. The mixture was transferred to a centrifuge tube, and 10 mL of petroleum ether was added. Two mL of saturated NaCl was added to break the emulsion. The mixture was centrifuged at 2000 x g at 10°C for 20 min. The petroleum ether layer was dried over sodium sulfate and concentrated under nitrogen gas. DMOX derivatives were analyzed by GC-MS.

5. DMOX derivatives analysis by GC-MS

DMOX derivatives were analyzed by GC-MS at Mahidol University (GC: Varian, Star 3400DX; MS: Varian, Saturn 2000; Varian Inc., Palo Alto, CA, USA) equipped with a 100 m x 0.25 mm fused-silica capillary column (SP-2560, Supelco Inc.). Injector and transfer line temperatures were held at 220°C. The column temperature was kept at 75°C for 1 min; then increased at 20°C/min to 185°C and held at 185°C for 15 min; then increased at 4°C/min to 220°C and held at 220°C for 45 min.

6. Statistical analysis

Factorial designs (2x2x3) with three replications were employed. The data were analyzed with ANOVA, and a t-test was conducted to identify differences among means.

Results and Discussion

1. Proportion of oil to propylene glycol of 1:1

Sunflower oil used for isomerization in this experiment was determined for its fatty acid profile by GC. It was composed of palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid and linolenic acid of 4.97, 2.06, 34.50, 57.57 and 0.91%, respectively. Isomerization was carried out in a 20 L stirred reactor equipped with temperature controller and two flat-blade axial-flow impellers. Sodium hydroxide was completely dissolved in propylene glycol at 120°C. The temperature was then increased to the set points at 140, 160, or 180°C according to the experimental plan. Sunflower oil was then added, and stirred at either 300 or 500 rpm. After the reactions finished, a white paste of sodium soap was obtained, which was then acidified with HCl to pH 3-3.5. This resulted in the sodium salt being completely changed into isomerized oil. At this point, the yield of liquid

isomerized oil calculated from the weight of the starting sunflower oil reached 94.61%. The starting oil used in this experiment was in the form of triacylglycerol, which differed from that used by Berdeaux et al. (1998) and Yang and Liu (2004) which was saponified into the form of free fatty acids. Therefore, one benefit of this experiment was to demonstrate the possibility of reducing some of the preparation steps, while still accomplishing isomerization equally well. However, CLA preparation using multi-steps of saponification, separation of saturated fatty acids, and purification by urea crystallization provided a high purity of CLA isomers, especially *c*9,*t*11 and *t*10,*c*12 (Yang and Liu, 2004).

Total CLA concentration in isomerized oil was determined by integration of GC peak areas. The effects of reaction temperature, stirring rate, and proportion of oil:propylene glycol (O:P) on CLA formation are shown in Table 1. At a stirring speed of 300 rpm, the formation of CLA during isomerization was greatly dependent on reaction temperature and time, which was similar to other reports (Berdeaux et al., 1998; Jung et al., 2001). Percent yield of CLA formation at a reaction time 20 min increased from 21.94 to 40.92% ($p<0.05$) when temperature was increased from 140 to 180°C. This indicated that higher energy increased the number of molecular collisions in the starting material, resulting in higher isomerization. The maximum percent yield of CLA formation was 56.14% which was obtained from the reaction at 180°C for 80 min. At this point exhibited maximum conversion percentage of LA to CLA 97.52% (data no shown). Yang and Liu (2004) reported that 150 °C was an optimal temperature for the production of *c*9,*t*11 and *t*10,*c*12 CLA isomers; however, the reaction time used was 140 min. Therefore, a reaction time longer than 80 min might increase the conversion percentage, but the number of useless t,t-CLA isomers might increase as well (Pakdeechanuan et al., 2005).

In a heterogeneous system, stirring speed usually affects the reaction, particularly in a large-scale production. Both stirring speeds (300 and 500 rpm) demonstrated a similar trend of CLA production; while an increase of CLA was due to increasing reaction time and temperature. At a stirring speed of 500 rpm, the conversion of linoleic acid to CLA increased from 19.12 to 60.38% ($p<0.05$) resulted in increase of CLA yield from 11.01% to 34.76% ($p<0.05$) (Table 1). when the reaction temperature was increased from 140 to 180°C at a reaction time of 20 min. The maximum CLA yield of 54.8% (94.64% conversion of LA to CLA) was obtained with a stirring speed of 500 rpm at a reaction temperature of 180°C for 80 min. It was obvious that stirring at 500 rpm gave a lower CLA yield at every reaction temperature and time, compared to a stirring speed of 300 rpm. However, increasing the reaction time could increase CLA yield when a speed of 500 rpm was used, similar to the trend shown with a stirring speed of 300 rpm. Bernas and Murzin (2005) reported no differences of CLA yield obtained at stirring speeds of 500-1600 rpm when the isomerization time was 3 h.

2. Proportion of oil to propylene glycol of 2:1

The reducing of propylene glycol content was aimed at cost reduction. When the solvent was used in a smaller amount (O:P = 2:1), sodium

Table 1. Effect of reaction conditions and different proportions of oil to propylene glycol on CLA content.

Reaction temperature (°C)	Stirring rate (rpm)	Proportion of oil:propylene glycol	CLA yield (% of total fatty acids)			
			Reaction time (min)			
			20	40	60	80
140	300	1:1	21.94 ± 0.06^{aCD}	25.30 ± 0.64^{bD}	29.18 ± 0.74^{cBC}	31.97 ± 0.54^{dB}
160			26.70 ± 1.64^{aE}	35.28 ± 1.62^{bF}	38.68 ± 1.66^{bE}	43.87 ± 1.65^{cE}
180			40.92 ± 1.61^{aH}	51.00 ± 1.78^{bH}	54.17 ± 1.69^{bcH}	56.14 ± 0.47^{cH}
140	500		11.01 ± 0.51^{aB}	15.89 ± 0.76^{bB}	17.80 ± 0.79^{bA}	22.72 ± 0.87^{cA}
160			21.36 ± 0.33^{aCD}	31.81 ± 1.53^{bE}	36.95 ± 1.65^{cDE}	42.71 ± 2.46^{dDE}
180			34.76 ± 0.62^{aG}	41.72 ± 0.59^{bG}	48.74 ± 0.57^{cG}	54.48 ± 0.80^{dGH}
140	300	2:1	12.06 ± 0.24^{aB}	18.86 ± 1.53^{bC}	26.46 ± 2.12^{cB}	30.16 ± 1.65^{cB}
160			22.64 ± 1.56^{aD}	28.01 ± 0.56^{bD}	34.81 ± 0.86^{cD}	40.95 ± 0.72^{dCD}
180			30.03 ± 1.67^{aF}	36.12 ± 2.30^{bF}	45.07 ± 1.61^{cF}	51.88 ± 1.51^{dG}
140	500		8.34 ± 0.83^{aA}	10.27 ± 0.56^{aA}	16.35 ± 0.85^{bA}	20.61 ± 0.70^{cA}
160			19.69 ± 1.70^{aC}	27.16 ± 0.78^{bD}	31.66 ± 1.36^{cC}	38.48 ± 0.42^{dC}
180			22.06 ± 0.90^{aCD}	33.54 ± 0.73^{bEF}	37.82 ± 0.76^{cE}	48.30 ± 1.59^{dF}

$^{a-d}$ Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

$^{A-H}$ Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Starting sunflower oil contained 57.57% of linoleic acid

Values are means ± SD of three replicate analyses

hydroxide dissolved more slowly than when O:P was 1:1, and did not completely dissolve - <5% was left when the reaction time was 80 min. However, isomerization occurred quite satisfactorily, as the results in Table 1 show. The CLA yield depended on reaction temperature and time, just as when an O:P ratio of 1:1 was used. Percent CLA yield increased from 12.06 to 30.03% ($p<0.05$) when the reaction temperature was increased from 140 to 180°C with a stirring speed of 300 rpm for 20 min.

The maximum CLA yield in this case was 51.88%, when the reaction was carried out at 180°C for 80 min with a stirring speed of 300 rpm. The fatty acid profile of isomerized oil obtained from this condition consisted of: palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid and total CLA of 4.98, 2.07, 34.56, 5.60, 0.93 and 51.88%, respectively. Compared to the previous O:P ratio of 1:1, a ratio of 2:1 had less CLA yield ($p<0.05$); this might be because of smaller amounts of hydrogen donated from propylene glycol. However, the CLA yield could possibly be increased by using a longer reaction time. Comparing between stirring speeds, a similar trend of results was obtained as previously. A stirring speed at 500 rpm resulted in a lower CLA yield than at 300 rpm, for all reaction temperatures and times.

3. Effect of isomerization conditions on CLA configuration

The maximum content of total CLA produced from both O:P ratios was obtained at reaction conditions of 180°C for 80 min and a stirring speed of 300 rpm. The configurations of CLA obtained at these conditions were identified by: analysis of HPLC chromatograms according to CLA standard (*c*9,*c*11-18:2, *c*9,*t*11-18:2 and *t*9, *t*11-18:2); analysis of DMOX derivatives by GC-MS; and using supplementary information from other references (Sehat et al., 1998; Fritsche et al., 2001). The configurations were: (1) *t*11,*t*13; (2) *t*10,*t*12; (3) *t*9,*t*11; (4) *t*8,*t*10; (5) *c*11,*t*13/*t*11,*c*13; (6) *c*10,*t*12/*t*10,*c*12; (7) *c*9,*t*11/*t*9,*c*11; (8) *c*8,*t*10/*t*8, *c*10; (9) *c*11,*c*13; (10) *c*10,*c*12; (11) *c*9,*c*11; and (12) *c*8,*c*10. Groups of c,t are reported as *c,t/t,c* because the *c,t* and *t,c* isomers could not be separated by Ag-HPLC (Mossoba et al., 1999). The proportion of individual isomers, calculated as a percentage of each isomer to total CLA, is shown in Table 2. The results showed that the quantity of *t,t* isomers, which are reported to have an adverse effect of raising LDL cholesterol, increased when reaction temperature and time increased (Figure 2). This was in agreement with the report of Yang and Liu (2004). However, the quantity of *t,t* isomers obtained from either of the O:P ratios in this study was less than 1%.

The main configuration obtained was *c,t/t,c*, a beneficial CLA isomer, which comprised 94.85% and 96.38% of total CLAs of the products from the mixing substrates with O:P ratios of 1:1 and 2:1, respectively (Figure 3). The *c*9,*t*11/*t*9,*c*11 CLA was 47.99% from a mixing proportion of 1:1, and 48.61% of total CLAs when the reaction was carried out using O:P of 2:1. The *t*10,*c*12/*c*10,*t*12 had the second-highest percentage of CLA isomers: 46.86% and 47.77% of total CLAs from O:P ratios of 1:1 and 2:1, respectively.

Table 2. CLA isomer distribution from different proportions of oil to propylene glycol carried out at 180°C 80 min, stirring speed at 300 rpm.

CLA isomers	Isomer distribution (% of total CLAs)	
	O:P = 1:1	O:P = 2:1
*t*11,*t*13	0.05±0.00	0.03±0.01
*t*10,*t*12	0.38±0.01	0.30±0.01
*t*9,*t*11	0.35±0.01	0.27±0.01
*t*8,*t*10	0.03±0.01	0.03±0.00
*t*11,*c*13/*c*11,*t*13	0.36±0.04	0.49±0.23
*t*10,*c*12/*c*10,*t*12	47.99±1.77	48.61±0.71
*c*9,*t*11/ *t*9, *c*11	46.86±0.43	47.77±0.23
*c*8,*t*10/*t*8,*c*10	0.86±0.18	0.65±0.25
*c*11,*c*13	0.04±0.01	0.03±0.01
*c*10,*c*12	1.62±0.24	1.10±0.06
*c*9,*c*11	1.42±0.04	0.75±0.06
*c*8,*c*10	0.05±0.01	0.02±0.00

Values are means ± SD of three replicate analyses

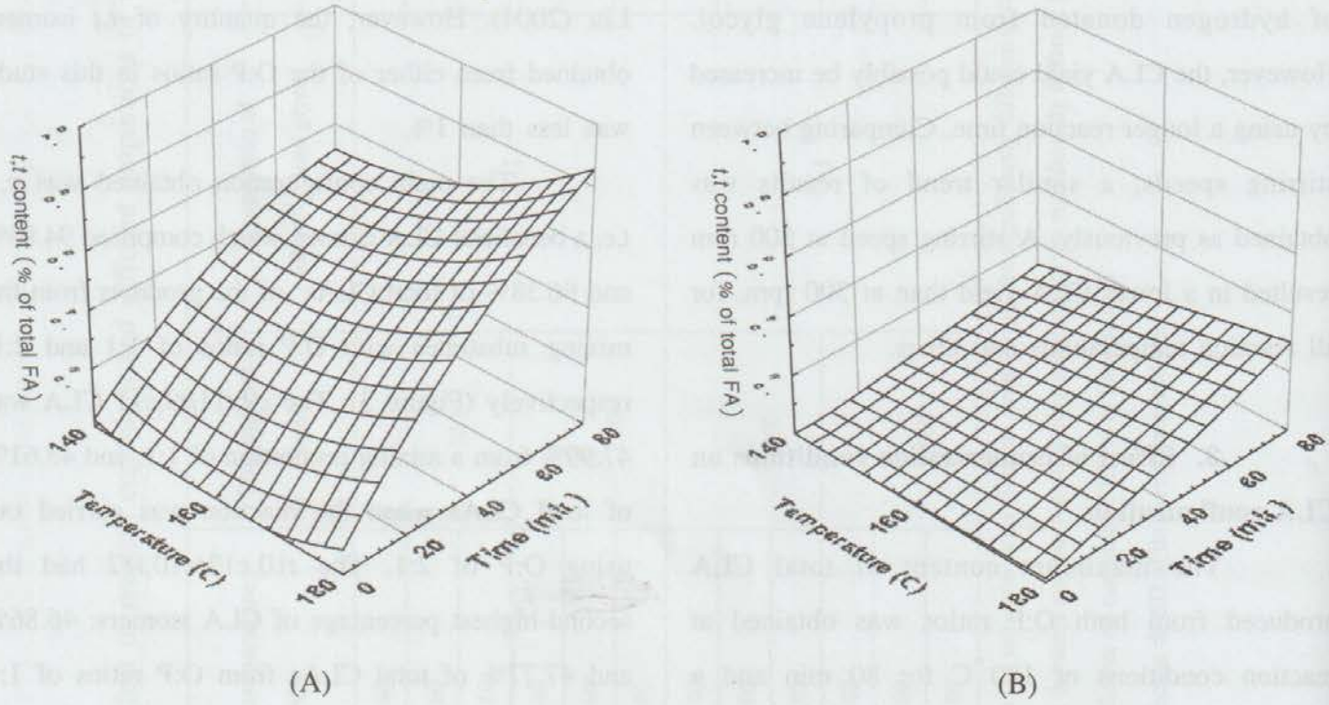


Figure 2. Concentration of *t,t* CLA isomers as a result of different proportions of oil to propylene glycol (A) 1:1 and (B) 2:1.

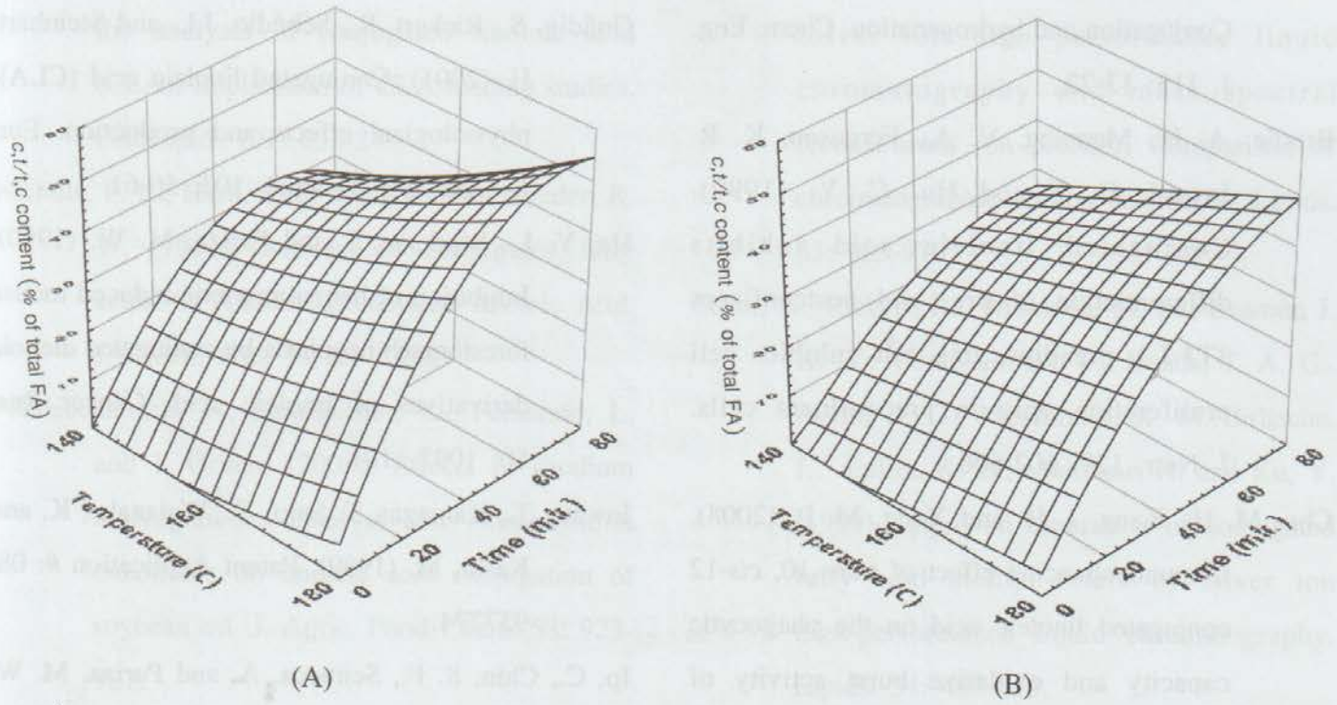


Figure 3. Concentration of *c,t/t,c* CLA isomers in isomerized oil as a result of different proportions of oil to propylene glycol (A) 1:1 and (B) 2:1.

Conclusion

Sunflower oil in the form of triacylglycerol could be a possible substrate for alkaline isomerization to produce CLA equally as good as the oil in free fatty acid form. The isomerization yield depended on reaction temperature and time, as has been observed in other reports. Different proportions of mixing substrate resulted in different % CLA yields. A ratio of oil to propylene glycol of 1:1 provided greater conversion of linoleic acid to CLA, yielding higher CLA content. However, an O:P ratio of 2:1 was more economical in terms of preparation cost. Therefore, it could be suggested that a reaction time longer than 80 min should be used to possibly increase the CLA yield of an O:P ratio of 2:1, instead of using an O:P ratio of 1:1.

Acknowledgements

This work was supported by Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani, Thailand.

References

Berdeaux, O., Voinot, L., Angioni, E., Juane´da, P. and Sébédio, J.L. (1998). A simple method of preparation of methyl *trans*-10, *cis*-12 and *cis*-9, *trans*-11-octadecadienates from methyl linoleate. J. Am. Oil Chem. Soc. 75: 1749-1755.

Bernas, A., Kumar, N., MäkArevela, P., Kul'kova, N. V., Holmbom, B., Salmi, T. and Murzin, D. Y. (2003). Isomerization of linoleic acid over supported metal catalysts. Appl. Catal. 6483: 1-19.

Bernas, A. and Murzin, D. Y. (2005). Linoleic acid isomerization on Ru/Al_2O_3 catalyst 1:

Conjugation and hydrogenation. Chem. Eng. J. 115: 13-22.

Brodie, A. E., Manning, V. A., Ferguson, K. R. Jewell, D. E and Hu, C. Y. (1999). Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and postconfluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in preconfluent cells. J. Nutr. 129: 602-606.

Cho, M. H., Kang, J. H. and Yang, M. P. (2008). Immunoenhancing effect of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid on the phagocytic capacity and oxidative burst activity of canine peripheral blood phagocytes. Res. Vet. Sci. 85: 269-278.

Dianóczki, C., Kovari, J., Novak, L. Poppe, L. and Recseg, K. (2004). Method for the preparation of conjugated linoleic acid. USPTO, Application #: 20070078274.

Fagali, N. and Catalá, A. (2008). Antioxidant activity of conjugated linoleic acid isomers, linoleic acid and its methyl ester determined by photoemission and DPPH techniques. Biophy. Chem. 137: 56-62.

Fritsche, J., Yurawecz, M. P., Pawlosky, R. Flanagan, V. P. Steinhart, H. and Ku, Y. (2001). Spectroscopic characterization of unusual conjugated linoleic acid (CLA) isomers. J. Sep. Sci. 24: 59-61.

Gävino, V. C., Gävino, G., Lablanc, M. J. and Tuchweber, B. (2000). An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure *cis*-9,*trans*-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamsters. J. Nutr. 130: 27-29.

Gnädig, S., Rickert, R., Sébédio, J.L. and Steinhart, H. (2001). Conjugated linoleic acid (CLA): physiological effects and production. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 103: 56-61.

Ha, Y. L., Storkson, J. and Pariza, M. W. (1990). Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. Cancer Res. 50: 1097-1101.

Iowata, T., Kamegai, T. Sato, Y., Watanabe, K. and Kasai, M. (1999). Patent Application #: 08/957774.

Ip, C., Chin, S. F., Scimeca, A. and Pariza, M. W. (1991). Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. Cancer Res. 51: 6118-6124.

Jung, M. O., Yoon, S. H. and Jung, M. Y. (2001). Effects of temperature and agitation rate on the formation of conjugated linoleic acid in soybean oil during hydrogenation process. J. Agric. Food Chem. 49: 3010-3016.

Kim, Y. L. and Liu, R. H. (1999). Selective increase in conjugated linoleic acid in milk fat by crystallization. J. Food Sci. 64: 792-795.

Liew, C., Schut, H.A. J., Chin, S. F., Pariza, M. W. and R. H. Dashwood. (1995). Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms. Carcinogenesis. 16: 3037-3043.

Mossoba, M. M., Kramer, J. K. G., Yurawecz, M. P., Sehat, N., Roach, J. A. G., Eulitz, K., Fretsche, J., Dugan, M. E. R and Ku, Y. (1999). Impact of novel methodologies on

the analysis of conjugated linoleic acid (CLA). Implication of CLA feeding studies. Fett/Lipid. 101: 235-243.

Nichols, P. L., Herb, S. F. and Riemenschneider, R. W. (1951). Isomers of conjugated fatty acids. I. Alkaline-isomerized linoleic acid. J. Chem. Soc. 73: 247-252.

Pakdeechanuan, P., Intarapichet, K., Fernando, L. and I. Grüen. (2005). Effects of rhodium heterogeneous catalyst and isomerization conditions on linoleic acid conjugation of soybean oil. J. Agric. Food Chem. 53: 923-927.

Pariza, M. W. and Hargraves, W. A. (1985). A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initation of mouse epidermal tumors by 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene. Carcinogenesis. 8: 591-593.

Park, Y. J., Storkson, M., Albright, K. J., Liu, W. and Pariza, M. W. (1999). Evidence that the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. Lipids. 34: 235-241.

Sehat, N., Kramer, J. K. G., Mossoba, M. M., Yurawecz, M. P., Roach, J. A. G., Eulitz, K., Morehouse, K. M. and Ku, Y. (1998). Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas chromatography, Silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. Lipids. 33: 963-970.

Sehat, N., Rickert, R., Mossoba, M. M., Kramer, J. K. G., Yurawecz, M. P., Roach, J. A. G., Adlof, R. O., Morehouse, K. M., Fritsche, J., Eulitz, K. D., Steinhart H. and Ku, Y. (1999). Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion high-performance liquid chromatography. Lipids. 34: 407-413.

Yamasaki, M., Kishihara, K., Ikeda, I., Sugano, M. and Yamada, K. (1999). A reccommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. J. Am. Oil Chem. Soc. 76: 933-938.

Yang, T. and Liu, T. (2004). Optimization of production of conjugated linoleic acid from Soybean Oil. J. Agric. Food Chem. 52: 5079-5084.

Zu, H. X. and Schut, H. A. J. (1992). Inhibition of 2-amino-3-methylimidazol[4,5-f]quinoline-DNA adduct formation in CDF mice by heat-altered derivatives of linoleic acid. Food Chem. Tox. 30: 9-16.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 544-554 (2553) KKU Sci. J.38(4) 544-554 (2010)

การใช้สาหร่ายทะเลบำบัดน้ำในบ่อเลี้ยงหอยหวานระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิด

Use of Seaweeds for Water Treatment in Spotted Babylon (*Babylonia areolata*) Culture Using a Closed Recirculating Seawater System

วรรณณี แสนทวีสุข [1] สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล [2] และ นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ [3]*

บทคัดย่อ

ศึกษาความเหมาะสมของการใช้สาหร่ายทะเลเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในการเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำหมุนเวียน โดยเปรียบเทียบการใช้สาหร่ายทะเล 2 ชนิด (สาหร่ายข้อ, *Gracilaria salicornia* และสาหร่ายช่อพริกไทย, *Caulerpa lentillifera*) และความหนาแน่นเริ่มต้นต่างกัน 3 ระดับ (390, 780 และ 1,170 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร) ทดลองเลี้ยงลูกหอยหวานขนาดความยาวเปลือกเฉลี่ย 1.32±0.01 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 0.37±0.01 กรัม ที่ความหนาแน่น 300 ตัว/ตารางเมตร และใช้ระยะเวลาการเลี้ยง 120 วัน โดยทำการทดลองอย่างละ 2 ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่า คุณภาพน้ำทะเลในบ่อเลี้ยงหอยหวาน ได้แก่ อุณหภูมิน้ำ ความนำไฟฟ้า ความเค็ม ความเป็นกรดด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำ และค่าความเป็นด่าง รวมมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกชุดการทดลอง สำหรับพารามิเตอร์ที่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้างและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ได้แก่ แอมโมเนีย (0.002-0.538 มิลลิกรัม/ลิตร) ไนไตรท์ (0.007-0.160 มิลลิกรัม/ลิตร) ไนเตรท (0.050-28.644 มิลลิกรัม/ลิตร) และฟอสเฟต (0.038-0.997 มิลลิกรัม/ลิตร) สำหรับหอยหวานที่เลี้ยงในทุกชุดการทดลองที่มีสาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทยมีอัตราการเติบโตโดยน้ำหนัก อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก อัตราการแลกเนื้อ และผลผลิตสุดท้ายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยในช่วง 1.00±0.12-1.17±0.16

[1] สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[2] ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[3] หน่วยปฏิบัติการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการทำฟาร์มเพาะฟักและการเลี้ยงหอยหวานเชิงพาณิชย์แบบครบวงจร สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

* Corresponding Author, E-mail: wannanee295@hotmail.com

กรัม/เดือน 0.35±0.02-0.40±0.02 เซนติเมตร/เดือน 1.41±0.16-1.76±0.17 และ 689.5±87.7-826.2±121.0 กรัม ตามลำดับ แต่อัตราการรอดตายเฉลี่ยของหอยหวานในทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยในช่วง 82.29±2.95-92.97±0.37% การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทย สามารถใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำในการเลี้ยงหอยหวานระบบน้ำหมุนเวียนได้

Abstract

This study was conducted to determine a feasibility of using seaweeds as water quality control in a recirculating culture system for the spotted babylon (*Babylonia areolata*). Two seaweeds, *Gracilaria salicornia* and *Caulerpa lentillifera* were used in the experiment. Three initial biomass of each species (390, 780 and 1,170 g wet weight/m^2) were prepared for each identical culturing system. Spotted babylon at an average initial shell length of 1.32±0.01 cm and body weight of 0.37±0.01 g were used with a stocking density of 300 snails/m^2. The experiment was carried out in duplicates with a period of 120 days. The results showed that seawater parameters such as water temperature, conductivity, salinity, pH, dissolved oxygen, total suspended solid and alkalinity gradually changed with no significant differences among treatments throughout the experimental period. However, ammonia (0.002-0.538 mg/L), nitrite (0.007-0.160 mg/L), nitrate (0.050-28.644 mg/L) and phosphate (0.038-0.997 mg/L) greatly changed with significant differences among seaweed and density treatments. There were no significant differences in growth rate in body weight (1.00±0.12-1.17±0.16 g/month), growth rate in shell length (0.35±0.02-0.40±0.02 cm/month), feed conversion ratio (1.41±0.16-1.76±0.17) and yield (689.5±87.7-826.2±121.0 g) of the spotted babylon cultured among all seaweed and density treatments, but there was significant differences in survival rate (82.29±2.95-92.97±0.37%) among all seaweed and density treatments. This study can be concluded that *Gracilaria salicornia* and *Caulerpa lentillifera* can be used for water quality control in a recirculating culture system for spotted babylon.

คำสำคัญ: หอยหวาน สาหร่ายทะเล ควบคุมคุณภาพน้ำ ระบบน้ำทะเลหมุนเวียน

Keyword: *Babylonia areolata*, Seaweeds, Water quality control, Recirculating seawater system

บทนำ

หอยหวาน (*Babylonia areolata*) เป็นหอยทะเลฝาเดียวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งในปัจจุบัน เนื่องจากปริมาณความต้องการที่สูงขึ้นทั้งตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ ในขณะที่ปริมาณหอยหวานจากการประมงมีแนวโน้มลดลงและไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดที่มีต้องการสูงและต่อเนื่อง การเลี้ยงหอยหวานจึงมีการขยายตัวอย่างรวดเร็วและมีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงในเชิงธุรกิจมากขึ้น ปัจจุบันการเลี้ยงหอยหวานขนาดตลาดนิยมทำการเลี้ยงในบ่อผ้าใบหรือบ่อคอนกรีต และใช้ระบบน้ำไหลผ่านตลอด (flow-through seawater system) ที่มีอัตราการไหลประมาณ 150 ลิตร/ชั่วโมง และมีการให้น้ำไหลผ่านบ่อเลี้ยงตลอด 24 ชั่วโมง หรืออย่างน้อย 12 ชั่วโมง/วัน (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์, 2545) ซึ่งการเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำไหลผ่านมีข้อจำกัดคือจำเป็นต้องอยู่ใกล้ชายฝั่งทะเลเพราะใช้น้ำปริมาณมากในการจัดการบ่อเลี้ยง เนื่องจากเมื่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงเสื่อมโทรมลงหรือทรายรองพื้นบ่อเน่าเสีย จะทำให้หอยหวานไม่กินอาหารและไม่ฝังตัวใต้พื้นทราย ซึ่งเกษตรกรแก้ปัญหาโดยการเปลี่ยนน้ำทะเลและล้างทราย

ด้วยการกวนพื้นทรายในบ่อเลี้ยงให้น้ำมีความขุ่นมากที่สุดและปล่อยน้ำทิ้งไป หลังจากนั้นนำน้ำทะเลใหม่เข้ามาทดแทนร้อยละ 100 โดยน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงจะถูกปล่อยลงสู่คลองทิ้งน้ำหรือไหลลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยตรง ไม่มีการบำบัดคุณภาพน้ำ ดังนั้นหากน้ำทิ้งมีปริมาณมากก็จะส่งผลกระทบต่อแหล่งน้ำธรรมชาติและก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำบริเวณนั้นหรือบริเวณใกล้เคียงขึ้นได้

การเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยระบบน้ำหมุนเวียนเป็นระบบเลี้ยงที่ได้รับการพัฒนาขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดปัญหาการปล่อยน้ำเสียจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม แต่ระบบที่ไม่มีการถ่ายเทน้ำออกสู่ภายนอก และใช้น้ำหมุนเวียนในระบบดังกล่าวเป็นระยะเวลานานทำให้เกิดการสะสมของปริมาณของเสียจากการขับถ่ายของสัตว์น้ำ เศษอาหารที่เหลือจากการกิน รวมทั้งซากสัตว์ที่ตายแล้ว นอกจากนี้การไม่มีการถ่ายเทน้ำออกจากระบบจะมีโอกาสเสี่ยงในการเกิดโรคระบาด โดยความรุนแรงของโรคจะเพิ่มขึ้นและทำให้สัตว์น้ำมีอัตราการตายสูงขึ้น ดังนั้น ระบบเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหมุนเวียนจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพน้ำให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการดำรงชีพของสัตว์น้ำ จากแนวความคิดที่ว่า สาหร่ายทะเลมีความสามารถในการนำสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้โดยตรง และสามารถใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากกระบวนการหายใจของสัตว์น้ำเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และปลดปล่อยออกซิเจนสู่แหล่งน้ำ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการใช้สาหร่ายทะเล 2 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายข้อ (*Gracilaria salicornia*) และสาหร่ายช่อพริกไทย (*Caulerpa lentillifera*) สำหรับควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงหอยหวานระบบน้ำหมุนเวียน เพื่อให้คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม ไม่มีการสะสมของปริมาณของเสียและสารอาหารสูงจนเป็นอันตรายต่อหอยหวาน ซึ่งวิธีการดังกล่าวจะช่วยลดอัตราการเปลี่ยนถ่ายน้ำในระบบ ลดปริมาณการใช้น้ำในการเลี้ยงและลดผลกระทบจากการปล่อยน้ำทิ้งของการเลี้ยงหอยหวานลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มผลผลิตพลอยได้ให้แก่เกษตรกร เนื่องจากสาหร่ายทะเลที่ได้จากระบบเลี้ยงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่อไปได้

วิธีดำเนินงาน

1. สถานที่วิจัย

หน่วยปฏิบัติการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีระบบการทำฟาร์มเพาะฟักและเลี้ยงหอยหวานเชิงพาณิชย์แบบครบวงจร สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตำบลหาดเจ้าสำราญ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี

2. การวางแผนการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบผลของการใช้สาหร่ายทะเล 2 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายข้อ (*Gracilaria salicornia*) และสาหร่ายช่อพริกไทย (*Caulerpa lentillifera*) ที่ระดับความหนาแน่นเริ่มต้นต่างกัน 3 ระดับ คือ 390 780 และ 1,170 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยมี 6 ชุดการทดลอง (treatment) ชุดการทดลองละ 2 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1: ใช้สาหร่ายข้อ ความหนาแน่น 390 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร

ชุดการทดลองที่ 2: ใช้สาหร่ายข้อ ความหนาแน่น 780 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร

ชุดการทดลองที่ 3: ใช้สาหร่ายข้อ ความหนาแน่น 1,170 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร

ชุดการทดลองที่ 4: ใช้สาหร่ายช่อพริกไทย ความหนาแน่น 390 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร

ชุดการทดลองที่ 5: ใช้สาหร่ายช่อพริกไทย ความหนาแน่น 780 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร

ชุดการทดลองที่ 6: ใช้สาหร่ายช่อพริกไทย ความหนาแน่น 1,170 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร

3. การเตรียมสัตว์ทดลองและพืชทดลอง

ลูกพันธุ์หอยหวาน

ใช้ลูกพันธุ์หอยหวานระยะวัยรุ่น ที่ผลิตจากฟาร์มเพาะฟักของภาคเอกชน อำเภอทับสะแก จังหวัด

ประจวบคีรีขันธ์ โดยลูกพันธุ์หอยหวานที่ใช้มีน้ำหนักและความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย 0.37±0.01 กรัม และ 1.32±0.01 เซนติเมตร ตามลำดับ

สาหร่ายทะเล

สาหร่ายข้อ ได้จากการเก็บรวบรวมจากธรรมชาติบริเวณชายฝั่งทะเลเกาะสมุย อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี และสาหร่ายช่อพริกไทยจากบ่อบำบัดน้ำทิ้งของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำของบรรจงฟาร์ม อำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทราในปริมาณที่มากพอ นำสาหร่ายทะเลทั้ง 2 ชนิดมาทำความสะอาดและกำจัดตะกอนดินหรือสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่ปนเปื้อนด้วยแปรงขนาดเล็กในน้ำทะเลที่ฆ่าเชื้อแล้ว (Yongjian et al., 2009) และอนุบาลไว้ในถังพลาสติกที่บรรจุน้ำทะเลธรรมชาติที่มิได้ผ่านการกรอง และใช้ระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอด โดยควบคุมความเค็มในช่วง 29-30 พีพีที และให้อากาศแบบฟองอากาศตลอดเวลา โดยวางถังพลาสติกไว้ใต้หลังคาพลาสติกโปร่งแสง ซึ่งจะทำให้สาหร่ายได้รับแสงและมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตามธรรมชาติ

4. การเตรียมระบบการทดลอง

การเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำหมุนเวียนในแต่ละชุดการทดลอง ประกอบด้วย 3 ส่วนแยกกัน คือ บ่อเลี้ยงหอยหวาน บ่อกรองชีวภาพ และบ่อดูดซับสารอาหาร เชื่อมต่อแต่ละบ่อด้วยท่อพีวีซีขนาด 2.5 เซนติเมตร โดยใช้บ่อพลาสติกทรงกลมขนาดความสูง 50 เซนติเมตร พื้นที่ก้นบ่อ 0.64 ตารางเมตร ความจุ 300 ลิตร การหมุนเวียนของน้ำในระบบใช้ปั๊มน้ำขนาดเล็กจำนวน 1 ตัวต่อชุดการทดลอง วันละ 20 ชั่วโมง ด้วยอัตราการไหล 525.82 ลิตร/ชั่วโมง หรือคิดเป็น 14.02 รอบ/วัน

บ่อเลี้ยงหอยหวาน (rearing unit) รองพื้นบ่อด้วยทรายละเอียดหนา 3 เซนติเมตร เพื่อให้หอยหวานฝังตัว เติมน้ำทะเลธรรมชาติที่มิได้ผ่านการกรองลงบ่อเลี้ยงให้มีระดับความสูง 40 เซนติเมตร (ปริมาตร 250 ลิตร) การเติมอากาศ (aeration) ใช้การให้อากาศแบบฟองอากาศด้วยหัวทรายขนาดใหญ่บริเวณกลางบ่อ และให้อากาศวันละ 20 ชั่วโมง ปล่อยลูกพันธุ์หอยหวานลงในเลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 300 ตัว/ตารางเมตร โดยบ่อเลี้ยงหอยหวานจะอยู่ภายในโรงเรือนที่มีหลังคาเพื่อควบคุมแสง ความร้อน และป้องกันน้ำฝน

บ่อกรองชีวภาพ (biological unit) ปูพื้นบ่อด้วยเปลือกหอยขนาดเล็ก (0.5-1.0 เซนติเมตร) หนาประมาณ 5 เซนติเมตร และปูทับด้วยเปลือกหอยนางรมขนาดใหญ่ (3.0-5.0 เซนติเมตร) หนาประมาณ 5 เซนติเมตร โดยระดับความลึกของน้ำในบ่อและการให้อากาศภายในบ่อกระทำเช่นเดียวกับบ่อเลี้ยงหอยหวาน และอยู่ภายในโรงเรือนเดียวกัน

บ่อดูดซับสารอาหาร (absorber unit) นำสาหร่ายทะเลทั้ง 2 ชนิด ที่เตรียมไว้มาเลี้ยงในบ่อตามความหนาแน่นที่กำหนดไว้ในแต่ละชุดการทดลอง โดยนำสาหร่ายใส่ในตะกร้าพลาสติกแล้วนำตะกร้าผูกแขวนราวไม้ในบ่อเลี้ยงที่ความสูงประมาณ 30 เซนติเมตรจากพื้นบ่อ โดยระดับความสูงของน้ำในบ่อและการให้อากาศภายในบ่อกระทำเช่นเดียวกับในบ่อเลี้ยงหอยหวาน และอยู่ภายในโรงเรือนเดียวกัน ยกเว้นหลังคาเป็นแบบโปร่งแสง

5. การเลี้ยงหอยหวาน

อาหารที่ใช้เลี้ยงหอยหวาน คือ เนื้อปลาข้างเหลือง (*Selaroides leptolepis*) โดยการให้อาหารแบบให้หอยกินจนอิ่ม (satiation feeding) และให้กระจายทั่วบ่อเลี้ยงเพื่อให้หอยหวานสามารถได้รับอาหารอย่างทั่วถึง ให้อาหารเป็นประจำทุกวันๆ ละ 1 ครั้ง ในช่วงเวลา 09.00-11.00 น. และเก็บเศษอาหารที่เหลือออกเมื่อหอยหยุดกิน บันทึกน้ำหนักของอาหารก่อนการให้อาหารและอาหารที่เหลือ เพื่อคำนวณปริมาณอาหารที่หอยกินในแต่ละวัน และปรับปริมาณอาหารให้สมดุลกับน้ำหนักหอยที่เพิ่มขึ้นเป็นประจำทุก 15 วัน

6. การจัดการระบบเลี้ยงและการเปลี่ยนถ่ายน้ำทะเล

ทำการกวนพื้นทรายในบ่อเลี้ยงหอยหวานเพื่อให้เกิดการฟุ้งกระจายของตะกอนและไหลไปสู่บ่อกรองชีวภาพเป็นประจำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง โดยไม่มี

การเปลี่ยนถ่ายน้ำทะเลในระบบตลอดระยะเวลาการทดลอง แต่มีการเติมน้ำจืดเพื่อปรับความเค็มให้คงที่ทุกสัปดาห์

7. การเก็บตัวอย่างน้ำทะเลและวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำในระบบเลี้ยง

เก็บตัวอย่างน้ำทะเลในบ่อเลี้ยงหอยหวาน ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของน้ำทะเลในระบบเลี้ยงของแต่ละชุดการทดลอง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำก่อนเริ่มการทดลอง หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำทุกๆ 7 วัน และทำการวิเคราะห์ตามวิธีการในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของคุณภาพน้ำและวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	Portable Multi-Parameter Meter Model YSI # 63
ความนำไฟฟ้า (มิลลิซีเมนส์/เซนติเมตร)	Portable Multi-Parameter Meter Model YSI # 63
ความเค็ม (พีพีที)	Portable Multi-Parameter Meter Model YSI # 63
ความเป็นกรด-ด่าง	pH meter (YSI pH10)
ออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร)	DO meter (Model YSI 52)
ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มิลลิกรัม/ลิตร)	วิธีทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 ^{0}C (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2543)
ความเป็นด่าง (มิลลิกรัม/ลิตร)	Titration method (Strickland and Parsons, 1972)
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (มิลลิกรัม/ลิตร)	Modified indophenol blue method (Strickland and Parsons, 1972)
ไนไตรท์-ไนโตรเจน (มิลลิกรัม/ลิตร)	Modified Griess-Ilosvay diazotization method (Strickland and Parsons, 1972)
ไนเตรท-ไนโตรเจน (มิลลิกรัม/ลิตร)	Cadmium reduction method (Strickland and Parsons, 1972)
ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/ลิตร)	Ascorbic acid method (Strickland and Parsons, 1972)

8. การศึกษาการเติบโตและผลผลิตของสัตว์ทดลองและพืชทดลอง

ทำการศึกษาการเติบโตของสัตว์ทดลองและพืชทดลองเป็นประจำทุก 15 วัน ตลอดระยะการทดลอง ดังนี้

การศึกษาการเติบโตและผลผลิตของหอยหวาน ศึกษาการเติบโตของหอยหวาน โดยการชั่งน้ำหนักหอยทั้งตัว (total body weight) และวัดความยาวเปลือก (total shell length) เพื่อคำนวณอัตราการเติบโตของหอยหวาน รวมทั้งบันทึกจำนวนหอยที่ตายเมื่อสิ้นสุดการทดลองชั่งน้ำหนักผลผลิตสุดท้าย (total yield) และประเมินผลการเติบโตของหอยหวาน

การศึกษาการเติบโตและผลผลิตของสาหร่ายทะเล ศึกษาการเติบโตของสาหร่ายทะเล โดยนำตะกร้าสาหร่ายทะเลขึ้นจากบ่อ วางทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้สาหร่ายสะเด็ดน้ำ ชั่งน้ำหนัก และนำสาหร่ายทะเลกลับลงสู่บ่อเช่นเดิม หาอัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง โดยใช้สูตรในงานวิจัยของ Lobban and Harrison (1994) อ้างโดย Troell et al. (1997)

$$SGR = (100 \times \ln(N_t/N_0))/t$$

เมื่อ SGR คือ อัตราการเติบโตจำเพาะ (% ต่อวัน),
N_0 คือ น้ำหนักเปียกเริ่มต้น (กรัม)
N_t คือ น้ำหนักเปียกที่เวลา t (กรัม),
t คือ ระยะเวลา (จำนวนวัน)

ผลการวิจัย

1. คุณภาพน้ำทะเล

คุณภาพน้ำทะเลในบ่อทดลองเลี้ยงหอยหวานระบบน้ำหมุนเวียนที่ใช้สาหร่าย 2 ชนิด (สาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทย) และความหนาแน่น 3 ระดับ (390 780 และ 1,170 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร) เป็นเวลา 4 เดือน แสดงในตารางที่ 2 ผลการศึกษาพบว่า อุณหภูมิน้ำทะเล ความนำไฟฟ้า ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด และค่าความเป็นด่างรวมของน้ำทะเลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายไม่มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) ต่อพารามิเตอร์คุณภาพน้ำดังกล่าว โดยอุณหภูมิน้ำทะเล ความนำไฟฟ้า ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด และค่าความเป็นด่างรวมของน้ำทะเลมีค่าในช่วง 26.2-28.5 องศาเซลเซียส 46.05-49.30 มิลลิซีเมนส์/เซนติเมตร 29.8-32.1 พีพีที 7.60-8.30, 5.1-7.7 มิลลิกรัม/ลิตร 25.333-74.500 มิลลิกรัม/ลิตร และ 50.5-120.0 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ สำหรับค่าปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท และฟอสเฟตในบ่อทดลองเลี้ยงหอยหวานพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายมีปฏิสัมพันธ์ต่อปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท และฟอสเฟต โดยแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท และฟอสเฟตมีค่าในช่วง 0.002-0.538 มิลลิกรัม/ลิตร 0.007-0.160 มิลลิกรัม/ลิตร 0.050-28.644 มิลลิกรัม/ลิตร และ 0.038-0.997 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

2. หอยหวาน

พารามิเตอร์การเติบโตของหอยหวานในบ่อทดลองระบบน้ำหมุนเวียนที่ใช้สาหร่าย 2 ชนิด (สาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทย) และความหนาแน่น 3 ระดับ (390 780 และ 1,170 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร) แสดงในตารางที่ 3 ผลการศึกษาพบว่า อัตราการเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และผลผลิตสุดท้ายของหอยหวานไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อพารามิเตอร์การเติบโตดังกล่าวของหอยหวาน อัตราการเติบโตโดยน้ำหนัก อัตราการแลกเนื้อ และผลผลิตสุดท้ายของหอยหวานมีค่าเฉลี่ยในช่วง 1.00 ± 0.12-1.17 ± 0.16 กรัม/เดือน 1.41 ± 0.16-1.76 ± 0.17 และ 689.5 ± 87.7-826.2 ± 121.0 กรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม อัตราการรอดตายของหอยหวานในทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายมีปฏิสัมพันธ์ต่ออัตราการรอดตายของหอยหวาน โดยอัตราการรอดตายเฉลี่ยของหอยหวานในช่วงร้อยละ 82.29 ± 2.95-92.97 ± 0.37

3. สาหร่ายทะเล

อัตราการเติบโตจำเพาะและผลผลิตของสาหร่ายทะเลในบ่อทดลองระบบน้ำหมุนเวียนที่ใช้สาหร่าย 2 ชนิด (สาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทย) และความหนาแน่น 3 ระดับ (390 780 และ 1,170 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร) แสดงในตารางที่ 4 ผลการศึกษาพบว่า อัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายทะเลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างชุดการทดลองชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายทะเล และชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายมีปฏิสัมพันธ์ต่ออัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายทะเล โดยอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทยมีค่าเฉลี่ยในช่วงร้อยละ 0.44 ± 0.04-0.61 ± 0.10 และร้อยละ 1.70 ± 0.12-2.58 ± 0.09 ต่อวัน ตามลำดับ และอัตราการเติบโตจำเพาะของสาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทยที่ความหนาแน่น 390 กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร มีค่าสูงสุด (0.61 และ 2.58 ร้อยละต่อวัน ตามลำดับ)

ตารางที่ 2 คุณภาพน้ำทะเล (mean±SD, min-max) ในแต่ละชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลา 4 เดือน

ชนิด	ความหนาแน่น (กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร)	พารามิเตอร์คุณภาพน้ำทะเล (mean ± SD, min-max)										
		อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความนำไฟฟ้า (มิลลิซีเมนส์/เซนติเมตร)	ความเค็ม (พีพีที)	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร)	ของแข็งแขวนลอย (มิลลิกรัม/ลิตร)	ความเป็นด่าง (มิลลิกรัม/ลิตร)	แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (มิลลิกรัม/ลิตร)	ไนไตรท์-ไนโตรเจน (มิลลิกรัม/ลิตร)	ไนเตรท-ไนโตรเจน (มิลลิกรัม/ลิตร)	ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/ลิตร)
สาหร่ายข้อ	390	27.3±0.5 (26.2-28.4)	47.50±0.68 (46.06-48.95)	30.8±0.5 (29.8-31.9)	7.78±0.16 (7.63-8.30)	6.2±0.6 (5.2-7.5)	44.333±10.665 (29.083-69.000)	78.7±12.9 (68.5-120.0)	0.062±0.063^{a} (0.005-0.246)	0.046±0.028^{a} (0.007-0.118)	12.038±8.418^{e} (0.050-28.644)	0.543±0.316^{d} (0.053-0.997)
	780	27.4±0.5 (26.2-28.5)	47.83±0.74 (46.76-49.30)	31.1±0.5 (30.3-32.1)	7.78±0.16 (7.62-8.30)	6.1±0.6 (5.3-7.0)	45.634±11.291 (32.500-74.500)	72.3±17.3 (52.5-120.0)	0.091±0.104^{bc} (0.006-0.387)	0.056±0.030^{d} (0.007-0.134)	9.963±5.732^{e} (0.050-17.214)	0.450±0.265^{a} (0.053-0.785)
	1,170	27.2±0.5 (26.3-28.2)	47.79±0.62 (46.73-48.98)	31.1±0.5 (30.3-32.0)	7.77±0.15 (7.61-8.30)	6.2±0.6 (5.4-7.7)	43.255±12.825 (25.333-72.667)	74.9±16.0 (50.5-120.0)	0.092±0.124^{c} (0.006-0.538)	0.049±0.028^{c} (0.007-0.119)	11.749±7.381^{d} (0.050-22.324)	0.452±0.273^{a} (0.053-0.724)
สาหร่ายช่อพริกไทย	390	27.3±0.5 (26.2-28.4)	47.29±0.81 (46.05-48.45)	30.7±0.6 (29.9-31.5)	7.76±0.15 (7.60-8.30)	6.1±0.6 (5.2-7.4)	46.838±10.212 (34.833-70.167)	72.3±16.7 (54.5-120.0)	0.092±0.126^{c} (0.006-0.490)	0.049±0.033^{c} (0.007-0.133)	8.882±5.270^{b} (0.050-15.443)	0.523±0.299^{c} (0.053-0.898)
	780	27.4±0.5 (26.2-28.4)	47.59±0.75 (46.11-49.05)	30.9±0.5 (29.9-32.0)	7.75±0.15 (7.629-8.30)	6.1±0.6 (5.1-7.2)	46.8120±8.316 (37.250-63.333)	72.8±15.0 (60.0-120.0)	0.104±0.133^{d} (0.006-0.461)	0.060±0.037^{e} (0.007-0.160)	12.517±8.101^{f} (0.050-23.916)	0.607±0.329^{e} (0.053-0.996)
	1,170	27.3±0.5 (26.2-28.4)	47.52±0.72 (46.24-48.90)	31.0±0.5 (30.3-31.9)	7.76±0.16 (7.61-8.30)	6.2±0.6 (5.2-7.2)	43.782±11.890 (28.833-70.000)	72.4±15.3 (57.5-120.0)	0.086±0.125^{b} (0.002-0.501)	0.048±0.029^{b} (0.007-0.123)	7.700±4.444^{a} (0.050-12.897)	0.499±0.304^{b} (0.038-0.885)

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรยกที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3 พารามิเตอร์การเติบโตของหอยหวาน (mean±SD) ในบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียนที่ควบคุมคุณภาพน้ำโดยการใช้สาหร่ายทะเล 2 ชนิด และอัตราความหนาแน่น 3 ระดับ

ชนิด	ความหนาแน่น (กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร)	พารามิเตอร์การเติบโตของหอยหวาน (mean ± SD, min-max)										
		ความยาวเปลือกเริ่มต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	ความยาวเปลือกสุดท้าย (เซนติเมตร)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	ความยาวเปลือกที่เพิ่มขึ้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)	อัตราการเติบโตโดยความยาวเปลือก (เซนติเมตร/เดือน)	อัตราการเติบโตโดยน้ำหนัก (กรัม/เดือน)	อัตราการแลกเนื้อ	อัตราการรอดตาย (%)	ผลผลิตสุดท้าย (กรัม)
สาหร่ายข้อ	390	1.33±0.01	0.38±0.01	2.73±0.07	4.38±0.45	1.40±0.08	4.00±0.47	0.35±0.02	1.00±0.12	1.41±0.16	90.63±0.74^{bc}	689.5±87.7
	780	1.31±0.02	0.35±0.01	2.88±0.14	5.03±0.65	1.58±0.12	4.68±0.64	0.39±0.03	1.17±0.16	1.62±0.27	86.98±0.74^{b}	773.3±113.0
	1,170	1.33±0.01	0.37±0.01	2.89±0.16	5.02±0.65	1.57±0.16	4.66±0.66	0.39±0.04	1.16±0.16	1.52±0.21	92.97±0.37^{c}	826.2±121.0
สาหร่ายช่อพริกไทย	390	1.34±0.01	0.37±0.01	2.90±0.15	5.07±0.64	1.56±0.14	4.70±0.63	0.39±0.04	1.17±0.16	1.61±0.34	82.29±2.95^{a}	727.4±70.3
	780	1.33±0.00	0.37±0.00	2.83±0.10	4.66±0.40	1.50±0.10	4.29±0.40	0.38±0.02	1.07±0.10	1.76±0.17	88.54±0.74^{b}	721.4±73.9
	1,170	1.32±0.00	0.37±0.00	2.91±0.09	4.96±0.35	1.59±0.09	4.59±0.35	0.40±0.02	1.15±0.09	1.64±0.11	90.36±1.84^{bc}	788.9±43.8

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรยกที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4 พารามิเตอร์การเติบโตของสาหร่ายทะเล (mean±SD) ในบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียน

ชนิด	ความหนาแน่น (กรัมน้ำหนักเปียก/ตารางเมตร)	พารามิเตอร์การเติบโตของสาหร่ายทะเล (mean ± SD)			
		น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)	อัตราการเติบโตจำเพาะ (%ต่อวัน)
สาหร่ายข้อ	390	250.0±0.00	520.4±63.9	270.4±63.9[a]	0.61±0.10[a]
	780	500.0±0.00	843.5±120.2	343.5±120.2[a]	0.44±0.12[a]
	1,170	750.0±0.00	1,276.4±61.7	526.4±61.7[a]	0.44±0.04[a]
สาหร่ายช่อพริกไทย	390	250.0±0.00	5,487.6±597.2	5,237.3±596.8[b]	2.58±0.09[c]
	780	500.0±0.00	4,998.5±131.3	4,498.5±131.3[b]	1.92±0.02[b]
	1,170	750.0±0.00	5,776.9±811.0	5,026.9±811.0[b]	1.70±0.12[b]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรยกที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

บทสรุปและวิจารณ์

1. คุณภาพน้ำทะเล

คุณภาพน้ำทะเลในบ่อทดลองเลี้ยงหอยหวานระบบน้ำหมุนเวียนที่ควบคุมคุณภาพน้ำทะเลโดยการใช้สาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทยที่ความหนาแน่น 3 ระดับ พบว่า อุณหภูมิน้ำทะเล ความนำไฟฟ้า ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด และค่าความเป็นด่างรวมของน้ำทะเลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท และฟอสเฟตมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง โดยชนิดและความหนาแน่นของสาหร่ายมีปฏิสัมพันธ์ต่อพารามิเตอร์คุณภาพน้ำดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตาม คุณภาพน้ำทะเลเหล่านี้ก็ยังอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ คือ ปริมาณไนไตรท์น้อยกว่า 4.5 มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนียน้อยกว่า 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และไนเตรทน้อยกว่า 50 มิลลิกรัม/ลิตร (นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และคณะ, 2548; สรวิศ เผ่าทองศุข, 2543) ยกเว้นค่าความเป็นด่างที่มีค่าต่ำกว่า 100-120 มิลลิกรัม/ลิตร คือ มีค่าในช่วง 52.0-120 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งผลให้หอยหวานในทุกชุดการทดลองเกิดความผิดปกติของเปลือก เปลือกชั้นนอกหลุดลอก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนิคมละอองศิริวงศ์ และยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร (2546) รายงานว่าคุณภาพน้ำทะเลเหล่านี้อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ กล่าวคือ ค่าการนำไฟฟ้ามีค่าใกล้เคียง 50 มิลลิซีเมนส์/เซนติเมตร ความเค็มอยู่ในช่วง 25-35 พีพีที ความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.8-8.5 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำอยู่ในช่วง 25-80 มิลลิกรัม/ลิตร นอกจากนี้ นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และคณะ (2549) และ Krisanapuntu et al. (2006) รายงานว่า หอยหวานที่เลี้ยงในบ่อที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำน้อยและไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเลย ค่าความเป็นด่างรวมจะลดลงอย่างรวดเร็ว ภายในระยะเวลา 12-15 วัน และหอยหวานจะกินอาหารน้อยลงและมีการเจริญเติบโตลดลง โดยนิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์ (2545) เสนอแนะว่าการเลี้ยงหอยหวานระบบน้ำหมุนเวียน ควรมีการเติมปูนแคลเซียมคาร์บอเนตลงในระบบเพื่อรักษาค่าความเป็นด่างรวมให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม ไม่ต่ำกว่า 100 มิลลิกรัม/ลิตร นอกจากนี้ การศึกษาในครั้งนี้พบว่า ปริมาณสารอาหาร (แอมโมเนีย ไนเตรท และฟอสเฟต) ในชุดทดลองที่มีสาหร่ายความหนาแน่นสูงมีค่าน้อยกว่าชุดการทดลองที่มีสาหร่ายความหนาแน่นต่ำ สอดคล้องกับการศึกษาของศิริวรรณ คิดประเสริฐ (2538) รายงานว่า คุณภาพน้ำในระบบที่มีสาหร่าย

ความหนาแน่นสูงมีความสามารถในการควบคุมคุณภาพน้ำได้ดีกว่าความหนาแน่นต่ำ

2. การเติบโตของหอยหวาน

จากการศึกษาผลของการใช้สาหร่ายทะเลเป็นตัวควบคุมคุณภาพน้ำในการเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำหมุนเวียน เป็นเวลา 120 วัน พบว่า หอยหวานที่เลี้ยงในบ่อทดลองที่มีสาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทย มีอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักไม่แตกต่างกัน อัตราการเติบโตของหอยหวานในบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียนที่ควบคุมคุณภาพน้ำทะเลโดยการใช้สาหร่ายทะเลทั้งสองชนิดมีอัตราการเติบโตสูงกว่าการเลี้ยงหอยหวานในระบบน้ำหมุนเวียนของ Krisanapuntu et al. (2006) และ Chaitanawisuti et al. (2005) โดย Krisanapuntu et al. (2006) ได้ทำการศึกษาผลของการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 4 ระดับ (0 15 30 และ 60 วัน/รอบ) ในบ่อเลี้ยงหอยหวานระบบน้ำหมุนเวียน พบว่า หอยหวานมีอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักระหว่าง 0.36-0.50 กรัม/เดือน โดยมีการเติบโตโดยน้ำหนักต่ำและสูงที่สุดที่ระยะเวลาการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 0 และ 15 วัน ตามลำดับ Chaitanawisuti et al. (2005) ได้ทำการเลี้ยงหอยหวานด้วยบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียนและระบบน้ำไหลผ่านตลอด พบว่า หอยหวานมีอัตราการเติบโตโดยน้ำหนักเท่ากับ 0.66±0.7 กรัม/เดือน นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าอัตราการการเติบโตโดยน้ำหนักของหอยหวานในบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียนที่ควบคุมคุณภาพน้ำทะเลโดยการใช้สาหร่ายทะเลทั้งสองชนิดนี้ยังมีค่าใกล้เคียงกับอัตราการเติบโตของหอยหวานที่เลี้ยงในบ่อระบบน้ำไหลผ่านตลอด (1.05±0.4 กรัม/เดือน)

การรอดตายของหอยหวาน พบว่า หอยหวานมีอัตราการรอดตายในช่วงร้อยละ 82.29-92.97 โดยหอยหวานที่เลี้ยงในระบบที่ใช้สาหร่ายข้อมีอัตราการรอดตายสูงกว่าหอยหวานที่เลี้ยงในระบบที่ใช้สาหร่ายช่อพริกไทย ซึ่งหอยหวานที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียนที่ควบคุมคุณภาพน้ำโดยการใช้สาหร่ายทะเลในครั้งนี้มีอัตราการรอดตายสูงกว่าบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียนที่ใช้ระยะเวลาการเปลี่ยนถ่ายน้ำต่างกัน (ร้อยละ 65.83-87.39) (Krisanapuntu et al., 2006) แต่มีอัตราการรอดตายต่ำกว่าหอยหวานที่เลี้ยงในบ่อเลี้ยงระบบน้ำหมุนเวียนที่ใช้ตัวกรองชีวภาพ (ร้อยละ 92.0) (Chaitanawisuti et al., 2005)

อัตราการแลกเนื้อของหอยหวานที่เลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียนที่มีการใช้สาหร่ายทะเลเป็นตัวควบคุมคุณภาพน้ำพบว่า หอยหวานมีอัตราการแลกเนื้อในช่วง 1.41-1.76 โดยหอยหวานที่เลี้ยงในระบบที่มีสาหร่ายข้อมีอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่าหอยหวานที่เลี้ยงในระบบที่มีสาหร่ายช่อพริกไทย ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และคณะ (2549) ที่เลี้ยงหอยหวานระยะวัยรุ่นในบ่อผ้าใบระบบน้ำทะเลหมุนเวียนแบบกึ่งปิดที่มีระยะการเปลี่ยนถ่ายน้ำทะเลร้อยละ 100 ทุก 7 15 และ 21 วัน และให้ปลาข้างเหลืองเป็นอาหาร มีอัตราการแลกเนื้อ 1.65 1.67 และ 1.76 ตามลำดับ

3. การเติบโตของสาหร่าย

การเติบโตของสาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทยที่ใช้เป็นตัวควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงหอยหวานด้วยระบบน้ำหมุนเวียน พบว่า สาหร่ายมีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง เนื่องจากหอยหวานมีการเติบโตมากขึ้น ปริมาณอาหารที่ให้มากขึ้น ของเสียจากอาหารที่ให้หอยหวาน และหอยหวานขนาดใหญ่จะมีการขับถ่ายในปริมาณที่สูงขึ้น ก่อให้เกิดการสะสมปริมาณสารอินทรีย์และสารอาหารในปริมาณมากขึ้นเช่นกัน ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารอย่างดีสำหรับสาหร่าย และส่งผลให้สาหร่ายมีการเติบโตเร็ว พิชัย อ่อนจันทร์ (2549) รายงานว่า สาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่เลี้ยงร่วมกับปลากะพงขาวมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในบ่อเพียงชนิดเดียว นิสราภรณ์ ภักดีพันธ์ และจิรเวฐน์ เพ็ชร์สุทธิ์ (2551) รายงานว่า สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติผสมกับน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติอย่างเดียว นอกจากนี้ผลการ

ศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Larned (1998) รายงานว่า อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria salicornia* สาหร่าย *Caulerpa racemosa* และสาหร่าย *Caulerpa sertularioides* ในแหล่งที่มีปริมาณแอมโมเนียสูงกว่าจะเจริญเติบโตได้ดีกว่า เช่นเดียวกับการศึกษาของ Wallentinus (1984) รายงานว่าสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่บริเวณทะเลบอลติกจะมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้น

โดยภาพรวมสามารถสรุปได้ว่า การเลี้ยงหอยหวานขนาดตลาดด้วยบ่อเลี้ยงระบบน้ำทะเลหมุนเวียนที่มีการควบคุมคุณภาพน้ำทะเลโดยการใช้สาหร่ายข้อและสาหร่ายช่อพริกไทยมีความเป็นไปได้ในการพัฒนาการเลี้ยงหอยหวานขนาดตลาดระบบน้ำหมุนเวียนในการผลิตเชิงพาณิชย์ เนื่องจากคุณภาพน้ำในระบบเลี้ยงอยู่ในเกณฑ์เหมาะสมต่อการเติบโตและดำรงชีวิตของหอยหวาน นอกจากนี้ ผลผลิตสาหร่ายทะเลทั้งสองชนิดซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้มีปริมาณค่อนข้างสูง สามารถนำมาใช้ประโยชน์ เช่น เป็นอาหารของมนุษย์และหอยเป๋าฮื้อได้

เอกสารอ้างอิง

นิคม ละอองศิริวงศ์ และยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร. (2546). วิธีวิเคราะห์น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. (พิมพ์ครั้งที่ 1). สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา.

นิสราภรณ์ ภักดีพันธ์ และจิรเวฐน์ เพ็ชร์สุทธิ์. (2551). การเจริญเติบโตของสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh) โดยใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง. วารสารวิจัยรามคำแหง. ปีที่ 11: 31-46.

นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ อนุตร กฤษณะพันธุ์ วรรณณี แสนทวีสุข และ สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล. (2548). การศึกษาผลผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของการเลี้ยงหอยหวานระยะวัยรุ่นถึงขนาดตลาดในบ่อดินด้วยวิธีการเลี้ยงแบบต่างๆ. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ทุนวิจัยเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมว่าด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประจำปี 2546. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ อนุตร กฤษณะพันธุ์ วรรณณี แสนทวีสุข และ สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล. (2549). การวิจัย พัฒนา และถ่ายทอดเทคโนโลยีกระบวนการผลิตที่โรงเพาะฟักฟาร์มเลี้ยง และธุรกิจต่อเนื่องของสัตว์ทะเลเศรษฐกิจ : หอยหวาน (*Babylonia areolata*) แบบบูรณาการ สำหรับการพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะและเลี้ยงหอยหวานเชิงพาณิชย์แบบครบวงจรในประเทศไทย. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ทุนวิจัยประเภทบูรณาการประจำปี 2548. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์. (2545). คู่มือการเพาะเลี้ยงหอยหวาน หลักการและแนวปฏิบัติ. หนังสือในโครงการจัดพิมพ์เผยแพร่รายงานการวิจัย ลำดับที่ 8. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิชัย อ่อนจันทร์. (2549). ผลกระทบของการเลี้ยงสาหร่ายทะเลร่วมกับปลากะพงขาวที่มีต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายวุ้น *Gracilaria fisheri* (Xia et Abbott) Abbott, Zhang & Xia. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศน์. (2543). คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: บริษัท แซน. อี 68 แลบ จำกัด.

ศิริวรรณ คิดประเสริฐ. (2538). การใช้สาหร่ายทะเลช่วยลดปริมาณสารประกอบไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญา

มหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง โครงการวิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สรวิศ เผ่าทองศุข. (2543). สาหร่าย: ศักยภาพการวิจัยและพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายในประเทศไทย. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

Chaitanawisuti, N., Krisanapuntu, S. and Natsukari, Y. (2005). Growth of hatchery-reared juvenile spotted Babylon (*Babylonia areolata* link 1807) to marketable size at four stocking densities in flow-through and recirculating seawater system. Aquaculture International. 13: 233-239.

Krisanapuntu, S., Chaitawisuti, N., Santhaweesuk, W. and Natsukari, Y. (2006). Effects of water exchange regimes on growth, survival and shell normality of hatchery reared juvenile spotted babylon (*Babylonia areolata* Link 1807) in a recirculating seawater system. Aquaculture International. 14: 587-594.

Larned, S. T. (1998). Nitrogen- versus phosphorus-limited growth and sources of nutrients for coral reef macroalgae. Marine Biology. 132: 409-421.

Strickland, J. D. H. and Parsons, T.R. (1972). A Practical Handbook of Seawater Analysis. 2nd ed. Fisheries Research Board of Canada. Ottawa.

Troell, M. et al. (1997). Integrated marine cultivation of Gracilaria chilensis (Graciliariales, Rhodophyta) and salmon cages for reduced environmental impact and increased economic output. Aquaculture. 156: 45-51.

Wallentinus, I. (1984). Comparisons of nutrient uptake rates for Baltic macroalgae with different thallus morphologies. Marine Biology. 80: 215-225.

Yongjian, X., Wei, W. and Jianguang, F. (2009). Effects of salinity, light and temperature on growth rates of two species of Gracilaria (Rhodophyta). Chiness Journal of Oceanology and Limnology. 27: 350-355.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 555-571 (2553) KKU Sci. J.38(4) 555-571 (2010)

ผลของแสงอัลตราไวโอเลตต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริก

Effects of Ultraviolet Light on Shelf-life Extending of Chili Paste Products

อรรณพ ทัศนอุดม [1] และ วรรณภา สระพินครบุรี [1]*

บทคัดย่อ

น้ำพริกที่ผลิตจากกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรส่วนใหญ่ผลิตขึ้นยังมีคุณภาพไม่ตรงตามที่มาตรฐานกำหนด โดยพบว่ายังมีค่า a_w ปริมาณความชื้น และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์สูง ทำให้ผลิตภัณฑ์มีระยะเวลาในการวางจำหน่ายสั้น ซึ่งปัญหาหลักที่พบนั้นเกิดจากจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแสงยูวีในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์น้ำพริก และเพื่อเปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาระหว่างผลิตภัณฑ์น้ำพริกที่ผ่าน และไม่ผ่านการสัมผัสแสงยูวีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) โดยใช้หลอดยูวีซีขนาด 18 วัตต์ ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร ที่สามารถผลิตแสงยูวีที่มีความเข้มแสงเท่ากับ 7270 ไมโครวัตต์/ตารางเซนติเมตร ระยะห่างระหว่างหลอดยูวีและพื้นที่ใช้งานเท่ากับ 40 และระยะเวลาการสัมผัสแสงยูวีของน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w สูง และน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำ ที่ 150 นาที เป็นสภาวะการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม โดยสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นลงได้ 1-2 log cfu/g (ร้อยละ 90-99) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w สูงจากเดิม 7 วัน ได้เป็น 21 วัน ส่วนน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำสามารถเก็บรักษาได้นาน 30 วัน โดยผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า การใช้แสงยูวีสัมผัสกับตัวอย่างน้ำพริกไม่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส ($p>0.05$)

Abstract

Chili paste products produced by The Wife's Household Association (TWHA) did not meet requirement of food standard qualities due to it contained high water activity, high moisture content, increasing of microorganism count. These products were stored on market-shelf in a short period of time.

[1] สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จ.พิษณุโลก 65000

* Corresponding Author, E-mail : unnop_tas@hotmail.com

The major problem of spoiled chili paste products was the growth of microorganisms. The objectives of this research were to study efficacy of UV disinfection in order to inactivated microorganism in chili paste products and to compared on extending shelf-life of chili paste products between UV irradiation and control samples at room temperature for 3 months storage duration. UV-C lamps (18 watt) provided a wavelength of 253.7 nm with an average intensity of 7270 $\mu W/cm^2$ were used in this study. The optimal condition to reduce microorganism of 2 groups of chili paste products (high and low water activity) was to expose foodstuff to UV in a distance of 40 centimeters for 150 min. At this condition, total microorganisms were 1-2 log cfu/g (90-99 %) reduced when they were compared to control samples. The shelf-life of chili paste products with high water activity (a_w) exposed to UV was extended from 7 days to 21 days, while chili paste products with low water activity exposed to UV had longer shelf-life for 30 days when they were compared to control samples. The mean sensory scores of chili paste products exposed to UV were not significantly different ($p>0.05$) compared to control.

คำสำคัญ: น้ำพริก แสงอัลตราไวโอเลต การยืดอายุการเก็บรักษา

Keywords: Chili paste, Ultraviolet light, Shelf-life extending

บทนำ

ผลิตภัณฑ์น้ำพริกเป็นกลุ่มอาหารที่มีความชื้นและค่า a_w กว้าง (ธีรพร กงบังเกิด, 2546) ทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีอายุการเก็บรักษาที่แตกต่างกันออกไป แต่ส่วนใหญ่จะมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 1-2 สัปดาห์เท่านั้น (ถาวร อรัญญพงษ์ไพศาล และคณะ, 2547) การเปลี่ยนแปลงสภาพทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยาที่แตกต่างกันของส่วนประกอบของน้ำพริกแต่ละประเภท เป็นสาเหตุทำให้อายุการเก็บรักษาน้ำพริกแตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำพริกชุมชนโดยศูนย์ประสานงานพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์สุขภาพชุมชน ปี 2546 พบว่าตัวอย่างน้ำพริกร้อยละ 81.67 มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เกินมาตรฐานและมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 1 สัปดาห์ (รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล และคณะ, 2549) การเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์น้ำพริกนั้นมีสาเหตุหลักจากเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงมีความพยายามในการนำวิธีการต่างๆ มาใช้ลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำพริกให้นานขึ้น เช่น การใช้ความร้อนในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์หลังการบรรจุ (อรรณพ ทัศนอุดม และคณะ, 2552) การใช้หลักการปฏิบัติที่ดี (GMP) ร่วมกับการใช้ความร้อนระดับพาสเจอไรส์ (จิรวัฒน์ กันต์เกรียงวงศ์ และคณะ, 2549) หรือการนำสมุนไพรชนิดต่างๆ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มาใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตน้ำพริก (เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และคณะ, 2550) นอกจากการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนแล้วการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำพริกยังอาจทำได้โดยการชะลอ หรือยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำพริก เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำร่วมกับสารกันเสีย (preservative)ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำพริกกุ้งสามรส (ถาวร อรัญญพงษ์ไพศาล และคณะ, 2547) รวมถึงการพัฒนากระบวนการผลิต และการนำบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ มาใช้ร่วมกันเพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (ชิดชม ฮิรางะ และคณะ, 2549) นอกจากวิธีการดังกล่าวข้างต้นยังพบว่าแสงอัลตราไวโอเลต (UV-C) สามารถนำมาใช้ลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ โดยแสงยูวีซีที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร. มีพลังงานสูงเพียงพอต่อการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *Staphylococcus aureus* และ *E. coli*

ในอาหารพวกเนื้อสัตว์ ปลา และไข่ (เนตรนภิส, 2546) ผลการศึกษาของ Hijnen et al. (2006) พบว่า รังสียูวียังสามารถทำลายเชื้อรา พาราไซต์ สาหร่าย และโปรตัวซัวได้ โดยพบว่ารังสีที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร สามารถทำลาย oocystes ของเชื้อ *Crystosporidium parvum* ในน้ำดื่มซึ่งเป็นตัวพาหะของโรค Crystoporiodiosis ได้ถึงร้อยละ 99.9 ของจำนวนเชื้อเริ่มต้น และจากรายงานของ Erkan et al. (2001) พบว่า การใช้แสงยูวีซีกับชิ้นบวบแผ่น (slices) นาน 10 และ 20 นาที แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 5 หรือ 10 องศาเซลเซียส สามารถลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการเสื่อมเสียที่เนื้อเยื่อของผลบวบที่หั่นเป็นแผ่นได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการนำแสงยูวีมาใช้ในการแปรรูปอาหารมากขึ้น เนื่องจากกระบวนการดังกล่าวไม่ทำให้เกิดความร้อน (non-thermal process) จึงไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพแก่ผลิตภัณฑ์ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538) ดังนั้นการนำแสงยูวีมาใช้ลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริกโดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเดิมของน้ำพริก

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแสงยูวีในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์น้ำพริก และเปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาของ ผลิตภัณฑ์น้ำพริก ระหว่างผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่าน และผ่านการสัมผัสแสงยูวี

วิธีการดำเนินการ

ตัวอย่าง และอุปกรณ์

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ น้ำพริกปลาย่าง (กลุ่มวิสาหกิจชุมชนพันธกิจน้ำพริกแม่มานิต ต.แม่ระกา อ.วังทอง จ.พิษณุโลก) น้ำพริกแกงเผ็ด (กลุ่มน้ำพริกแม่บ้าน หมู่ 4 ต.ไผ่ขอดอน อ.เมือง จ.พิษณุโลก) น้ำพริกแกงส้ม (กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร ต.โคกสลุด อ.บางกระทุ่ม จ.พิษณุโลก) และน้ำพริกลาบ (กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรบ้านคลองมะแพลบ ต.ศรีภิรมย์ อ.พรหมพิราม จ.พิษณุโลก) หลอดยูวีขนาด 18 วัตต์ (253.7 นาโนเมตร รุ่น G20T8 ยี่ห้อ NARWAR) และตู้ลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแสงยูวีขนาด 94x60x70 เซนติเมตร (กว้างxลึกxสูง)

1. การตรวจสอบคุณลักษณะเบื้องต้นของตัวอย่างน้ำพริก

ทำการตรวจสอบคุณลักษณะของตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด โดยทำการเก็บตัวอย่างจากกลุ่มเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการ จากนั้นจึงนำตัวอย่างมาทำการตรวจสอบ 1) ทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสีด้วยเครื่อง Hunter Lab (รุ่น Hunter Lab Colorflex 4510 Lab ยี่ห้อ Colorflex®, สหรัฐอเมริกา) ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่า Water Activity (รุ่น Series 3 TE ยี่ห้อ Aqua Lab, สหรัฐอเมริกา) และความชื้น (AOAC., 2000 : chapter 37.1.10) 2) ทางเคมี ได้แก่ ค่าเพอร์ออกไซด์ (AOAC., 2000: chapter 41.1.16) ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (รุ่น PB-10 ยี่ห้อ Sartorius, เยอรมัน) กรดแลคติก (AOAC., 2000 : chapter 37.1.37) โปรตีน (AOAC., 2000 : chapter 4.2.09) ไขมัน (AOAC., 2000 : chapter 4.5.01) เยื่อใย (AOAC., 2000 : chapter 4.6.02) เถ้า (AOAC., 2000 : chapter 37.1.18) และคาร์โบไฮเดรต 3) ทางจุลชีววิทยา ได้แก่ จำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด เชื้อยีสต์และรา เชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย และเชื้อโคลิฟอร์มและอีโคไล (Downes and Ito, 2001) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar, DRBC agar, MRS agar และ EMB agar (Merck, Germany) ตามลำดับ

2. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของตัวอย่างน้ำพริก

นำตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด มาเตรียมลงในถาดสแตนเลดขนาด 32x47x2 เซนติเมตร (กว้างxยาวxสูง) น้ำหนักน้ำพริกต่อถาดเท่ากับ 10 กิโลกรัม นำตัวอย่างดังกล่าวมาศึกษาการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแสงยูวีโดยแปรระยะห่างระหว่างหลอดยูวีและพื้นที่ใช้งาน 4 ระดับด้วยกัน คือ ที่ 30 40 50 และ 60

เซนติเมตร และใช้เวลาในการสัมผัสแสงยูวีเป็นเวลานาน 30 60 และ 150 นาที ทำการบรรจุตัวอย่างภายในตู้ลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแสงยูวีด้วยอุปกรณ์ที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อ โดยนำตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด ทั้งที่ไม่ผ่านและผ่านการสัมผัสกับแสงยูวีบรรจุลงในขวดแก้วที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาณที่บรรจุเท่ากับ 200 กรัมต่อขวด ปิดฝาและผนึกด้วยฟิล์มย่น (shrink wrap) (รูปที่ 1) จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมด (รวม 8 ตัวอย่าง) ไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 3 เดือน โดยในระหว่างการเก็บรักษาทำการตรวจวัดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ ค่าสีด้วยเครื่อง Hunter Lab ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่า Water Activity ความชื้น ค่าเพอร์ออกไซด์ ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter กรดแลคติก จำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด เชื้อยีสต์และรา และเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย ซึ่งในเดือนแรกจะทำการตรวจในวันที่ 0 1 3 5 7 14 21 และ 28 ของเดือน ในเดือนที่ 2 ทำการตรวจในวันที่ 10 20 และ 30 ของเดือน ส่วนในเดือนที่ 3 จะทำการตรวจในทุกๆ วันที่ 15 ของเดือน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำพริกทั้ง 4 ชนิดในคุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวมด้วยวิธี 9 Point Hedonic Rating Scale ที่ระดับคะแนน 1 - 9 คะแนน ด้วยผู้ทดสอบจำนวนทั้งสิ้น 30 คน (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547) ซึ่งแต่ละชนิดของน้ำพริกจะใช้ผู้ทดสอบชิมที่เป็นสมาชิกภายในกลุ่มแปรรูปน้ำพริกตามแต่ละชนิดของน้ำพริกที่กลุ่มของตนเองเป็นผู้ผลิต ซึ่งผู้ทดสอบชิมดังกล่าวค่อนข้างมีความคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์เป็นอย่างดี โดยทำการเสิร์ฟตัวอย่างน้ำพริกแต่ละชนิดปริมาณ 5 กรัม แก่ผู้ทดสอบชิม โดยตัวอย่างน้ำพริกที่เสิร์ฟนั้นไม่มีการนำไปปรุงผสมกับส่วนประกอบใด และไม่เสิร์ฟตัวอย่างกับข้าวสวย หรือผักชนิดต่างๆ จากนั้นนำผลคะแนนที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติต่อไป ทั้งนี้ในผลิตภัณฑ์น้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w สูง (น้ำพริกแกงเผ็ด และน้ำพริกแกงส้ม) ที่นำมาทำการทดสอบจะประกอบด้วยน้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่ และน้ำพริกที่ทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 14 และ 21 วัน ตามลำดับ ส่วนกลุ่มน้ำพริกที่มีค่า a_w ต่ำ (น้ำพริกปลาย่าง และน้ำพริกลาบ)

(a) ตัวอย่างน้ำพริกที่ไม่ผ่านการสัมผัสกับแสงยูวี

(b) ตัวอย่างน้ำพริกที่ผ่านการสัมผัสกับแสงยูวี

รูปที่ 1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำพริกปลาย่าง น้ำพริกแกงเผ็ด น้ำพริกแกงส้ม และน้ำพริกลาบ (ซ้ายไปขวา) ที่ไม่ผ่านและผ่านการสัมผัสกับแสงยูวีก่อนบรรจุลงในขวดแก้ว (a และ b ตามลำดับ)

จะใช้น้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่ และน้ำพริกที่ทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 10 20 และ 30 วัน ตามลำดับ มาใช้เป็นตัวอย่างในการทดสอบ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองโดยวิธี Least Significant Difference Test (LSD) (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2547)

ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบคุณลักษณะเบื้องต้นของตัวอย่างน้ำพริก

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำพริกจากกลุ่มเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการ (รูปที่ 2) พบว่าน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด มีสี และความเข้มของสีที่แตกต่างกัน และมีกลิ่นรสที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว โดยน้ำพริกที่มีสีเข้ม (คล้ำ) มากที่สุด คือ น้ำพริกปลาย่าง รองลงมาคือ น้ำพริกลาบ ส่วนน้ำพริกแกงเผ็ด และน้ำพริกแกงส้มพบว่า มีสีส้มแดงที่ใกล้เคียงกัน

ผลการศึกษาพบว่าน้ำพริกแต่ละชนิดจะมีลักษณะทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) ตัวอย่างเช่นค่าสีซึ่งวัดในรูปของค่า L*, ค่า a* และค่า b* โดยพบว่าน้ำพริกทั้ง 4 ตัวอย่างมีความแตกต่างกันซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 13.5-31.4, 15.4-30.6 และ 18.3-37.9 ตามลำดับ และพบว่า ค่า L* ของน้ำพริกปลาย่างมีค่าต่ำที่สุด (13.5) จึงส่งผลให้น้ำพริกปลาย่างมีสีที่เข้ม (ดำคล้ำ) กว่าในตัวอย่างน้ำพริกอื่น ๆ ส่วนค่า a* และค่า b* ของน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด ที่พบว่ามีค่าเป็นบวก (+) แสดงให้เห็นว่าน้ำพริกทั้ง 4 ชนิดจะมีโทนสีออกไปทางสีแดง และสีเหลือง ตามลำดับ ส่วนค่า a_w ของน้ำพริกทั้ง 4 ตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 0.79-0.93 ในขณะที่ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรตพบอยู่ในช่วงร้อยละ 33.53-64.62, 4.25-8.40, 0.20-7.24, 10.98-17.45,

(a) ตัวอย่างน้ำพริกปลาย่าง

(b) ตัวอย่างน้ำพริกแกงเผ็ด

(c) ตัวอย่างน้ำพริกแกงส้ม

(d) ตัวอย่างน้ำพริกลาบ

รูปที่ 2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำพริกทั้ง 4 ชนิด (a-d)

4.51-11.23 และ 20.69-43.28 ตามลำดับ ส่วนค่า pH และปริมาณกรดแลคติกพบอยู่ในช่วงร้อยละ 5.2-5.3 และ 0.018-0.028 ตามลำดับ และไม่สามารถตรวจพบค่าเพอร์ออกไซด์ได้ในน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด และจากผลการศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่าตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อยีสต์และราในจำนวนสูง โดยทั้งนี้พบว่า 3 ใน 4 ชนิดของตัวอย่างน้ำพริกมีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด และทั้ง 4 ชนิดของตัวอย่างน้ำพริกมีจำนวนเชื้อยีสต์และราสูงเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด ในขณะที่พบเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียในปริมาณสูงเช่นกัน แต่ทั้งนี้ไม่พบว่ามีการเจริญของเชื้อโคลิฟอร์มและอีโคไลในตัวอย่างน้ำพริก ดังนั้นจึงควรที่จะมีมาตรการหรือนำวิธีการที่เหมาะสมมาใช้เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์น้ำพริก

ตารางที่ 1 คุณลักษณะเบื้องต้นของตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด

พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัด	ตัวอย่างน้ำพริก			
	ปลาย่าง	แกงเผ็ด	แกงส้ม	ลาบ
ค่า L*	13.5 ±0.7	31.0 ±0.1	31.4 ±0.3	22.2 ±0.7
ค่า a*	20.2 ±0.0	30.6 ±0.6	26.1 ±0.7	15.4 ±0.0
ค่า b*	18.3 ±0.9	37.9 ±0.1	31.8 ±1.1	24.1 ±0.3
ค่าเพอร์ออกไซด์ (mg equilibrium/kg sample)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
ค่า pH	5.2 ±0.0	5.2 ±0.1	5.3 ±0.2	5.3 ±0.1
ค่า a_w	0.79 ±0.01	0.93 ±0.01	0.91 ±0.01	0.92 ±0.00
กรดแลคติก (%)	0.022 ±0.000	0.021 ±0.002	0.018 ±0.006	0.028 ±0.009
ความชื้น (%)	33.53 ±0.77	64.62 ±0.82	63.08 ±1.63	51.05 ±0.91
โปรตีน (%)	8.40 ±0.40	4.51 ±0.11	4.50 ±0.25	4.25 ±0.05
ไขมัน (%)	1.07 ±0.12	0.20 ±0.10	0.72 ±0.55	7.24 ±0.66
เยื่อใย (%)	12.11 ±0.70	10.98 ±0.45	12.02 ±0.23	17.45 ±0.83
เถ้า (%)	11.23 ±0.02	7.85 ±0.16	11.01 ±0.40	4.51 ±0.13
คาร์โบไฮเดรต (%)	43.28 ±1.43	23.11 ±0.86	20.69 ±2.83	31.79 ±1.46
เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (log cfu/g)	3.48 ±0.11	4.16 ±0.09	4.75 ±0.31	5.18 ±0.12
เชื้อยีสต์และรา (log cfu/g)	2.91 ±0.03	2.41 ±0.86	2.59 ±0.57	2.26 ±0.61
เชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย (log cfu/g)	3.31 ±0.26	3.84 ±0.37	4.95 ±0.10	5.31 ±0.04
เชื้อโคลิฟอร์มและอีโคไล (MPN/g)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

ในการศึกษาครั้งนี้สามารถแบ่งกลุ่มน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด ออกเป็น 2 กลุ่ม ตามเกณฑ์ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ได้แก่ กลุ่มน้ำพริกที่มีค่า a_w สูง (น้ำพริกแกงเผ็ด และน้ำพริกแกงส้ม) โดยต้องมีค่า a_w ไม่เกิน 0.85 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ก, 2546) และกลุ่มน้ำพริกที่มีค่า a_w ต่ำ (น้ำพริกปลาย่าง และน้ำพริกลาบ) โดยมีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.60-0.65 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ข, 2546; 2547) ซึ่งค่า a_w เป็นปัจจัยสำคัญในการคาดคะเนอายุการเก็บอาหาร และเป็นตัวชี้บ่งถึงความปลอดภัยของอาหาร โดยทำหน้าที่ควบคุมการอยู่รอด การเจริญ และการสร้างสารพิษของ

จุลินทรีย์ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่ม มีค่า a_w ไม่เป็นไปตามที่มาตรฐานกำหนด

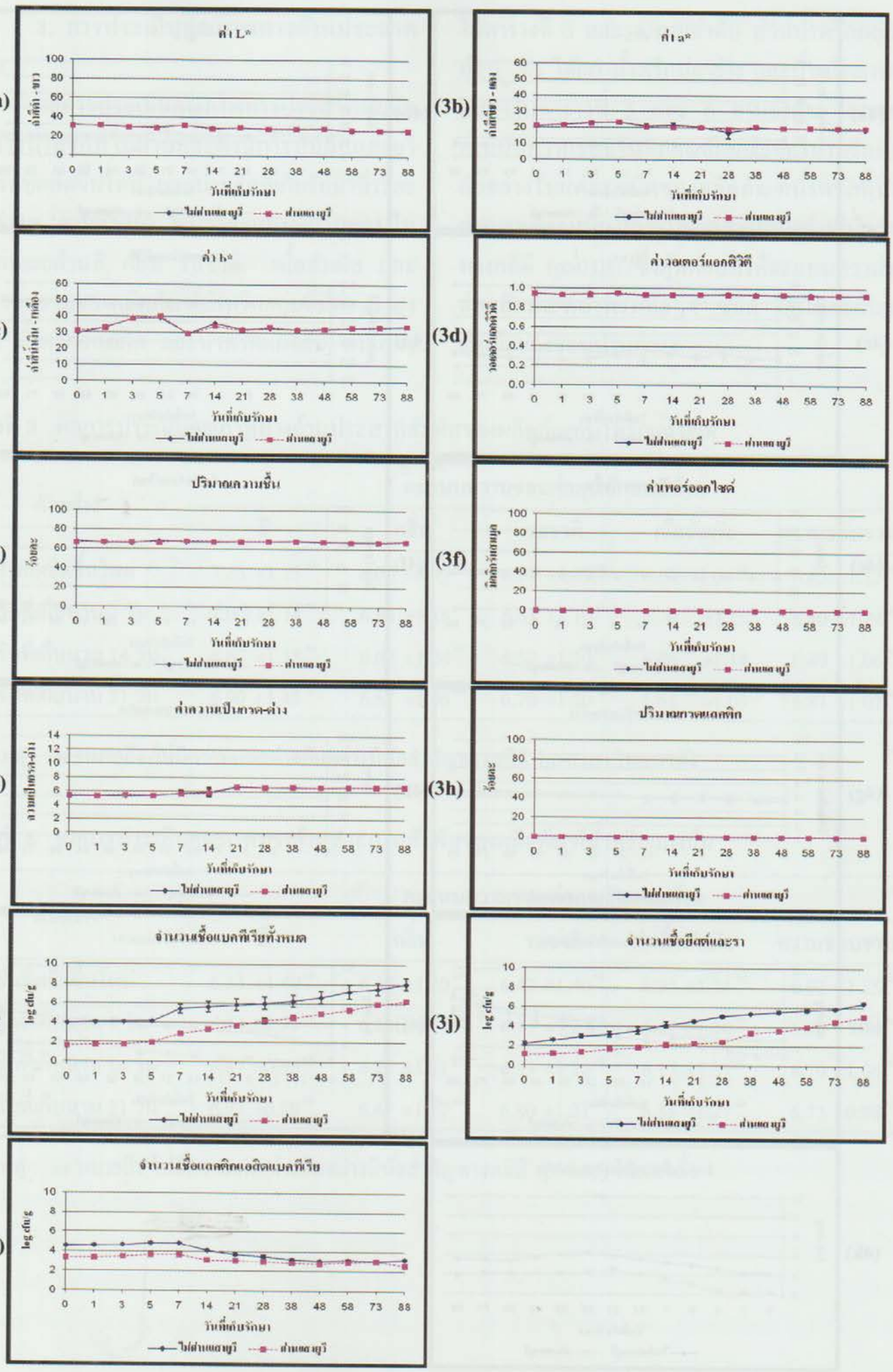
2. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของตัวอย่างน้ำพริก

ตู้ลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแสงยูวีที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีพื้นที่ใช้งานขนาด 55x90 เซนติเมตร (กว้างxยาว) หรือเท่ากับ 4,950 ตารางเซนติเมตร ใช้ระบบไฟฟ้าแบบ single phase (220 โวลท์) ประกอบด้วยหลอดยูวีขนาด 18 วัตต์ จำนวน 2 หลอด ที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร สามารถผลิตแสงยูวีที่มีความเข้มแสงได้เท่ากับ 7270 ไมโครวัตต์/ตารางเซนติเมตร จากการศึกษาโดยแปรระยะห่างระหว่างหลอดยูวีและพื้นที่ใช้งาน 4 ระดับด้วยกัน คือ ที่ 30 40 50 และ 60 เซนติเมตร และใช้เวลาในการสัมผัสแสงยูวีเป็นเวลานาน 30 60 และ 150 นาที (ตารางที่ 2) พบว่าการใช้แสงยูวีสัมผัสกับตัวอย่างน้ำพริกเป็นเวลานาน 150 นาที ที่ระยะห่างระหว่างหลอดยูวีและพื้นที่ใช้งานเท่ากับ 40 เซนติเมตร สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นทุกกลุ่มในน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่มลงได้ 1-2 log cfu/g (ร้อยละ 90-99) ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการให้แสงยูวีสัมผัสกับตัวอย่างน้ำพริก (150 นาที) ที่สภาวะดังกล่าวนี้เพียงพอต่อการลดอุณหภูมิของตัวอย่างก่อนการบรรจุ นอกจากนี้ผลการศึกษายังพบว่าตัวอย่างน้ำพริกทั้งในกลุ่มที่มีค่า a_w สูงและต่ำ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 90 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (35 องศาเซลเซียส) โดยการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของตัวอย่างน้ำพริกแกงเผ็ดที่ไม่สัมผัส และสัมผัสแสงยูวี (กลุ่มที่มีค่า a_w สูง) ดังแสดงในรูปที่ 3 ส่วนการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของตัวอย่างน้ำพริกปลาย่าง (กลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำ) ดังแสดงในรูปที่ 4 ซึ่งพบว่าน้ำพริกในกลุ่มที่มีค่า a_w สูง โดยธรรมชาติแล้วจะไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานเกินกว่า 3-5 วันที่อุณหภูมิห้อง ทั้งนี้เนื่องจากมีความชื้น และมีค่า a_w สูงกว่าที่มาตรฐานกำหนด จึงเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ประกอบกับในกระบวนการผลิตนั้นไม่มีขั้นตอนของการให้ความร้อนเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนน้ำพริกในกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำนั้น จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าตัวอย่างที่นำมาใช้ในการศึกษาจะมีอายุการเก็บรักษานาน 2 สัปดาห์เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากน้ำพริกดังกล่าวนี้มีค่า a_w สูงเกินกว่าที่มาตรฐานกำหนดไว้มาก (สูงกว่า 0.3 ของที่มาตรฐานกำหนด) เนื่องจากกลุ่มเกษตรกรไม่มีการควบคุมกระบวนการผลิตในแต่ละครั้ง ทั้งในส่วนของอุณหภูมิ และระยะเวลาการให้ความร้อนแต่อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้แสงยูวีสัมผัสกับน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่มในสภาวะที่เหมาะสม (ระยะห่างระหว่างหลอดยูวี และระยะเวลาที่สัมผัสแสง) สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นลงได้ และส่งผลให้อายุการเก็บรักษาของน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่ม ที่อุณหภูมิห้องยาวนานขึ้น โดยพบว่าน้ำพริกในกลุ่มที่มีค่า a_w สูง และน้ำพริกในกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำ จะสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นานประมาณ 21 และ 30 วัน ตามลำดับ โดยกำหนดให้ควบคุม คือ น้ำพริกที่ไม่ได้สัมผัสยูวี 1) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวีนาน 30 นาที ที่ระยะ 30 เซนติเมตร 2) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 60 นาที ที่ระยะ 30 เซนติเมตร 3) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 150 นาที ที่ระยะ 30 เซนติเมตร 4) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 30 นาที ที่ระยะ 40 เซนติเมตร 5) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 60 นาที ที่ระยะ 40 เซนติเมตร 6) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 150 นาที ที่ระยะ 40 เซนติเมตร 7) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 30 นาที ที่ระยะ 50 เซนติเมตร 8) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 60 นาที ที่ระยะ 50 เซนติเมตร 9) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 150 นาที ที่ระยะ 50 เซนติเมตร 10) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 30 นาที ที่ระยะ 60 เซนติเมตร 11) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 60 นาที ที่ระยะ 60 เซนติเมตร 12) คือ น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวี นาน 150 นาที ที่ระยะ 60 เซนติเมตร

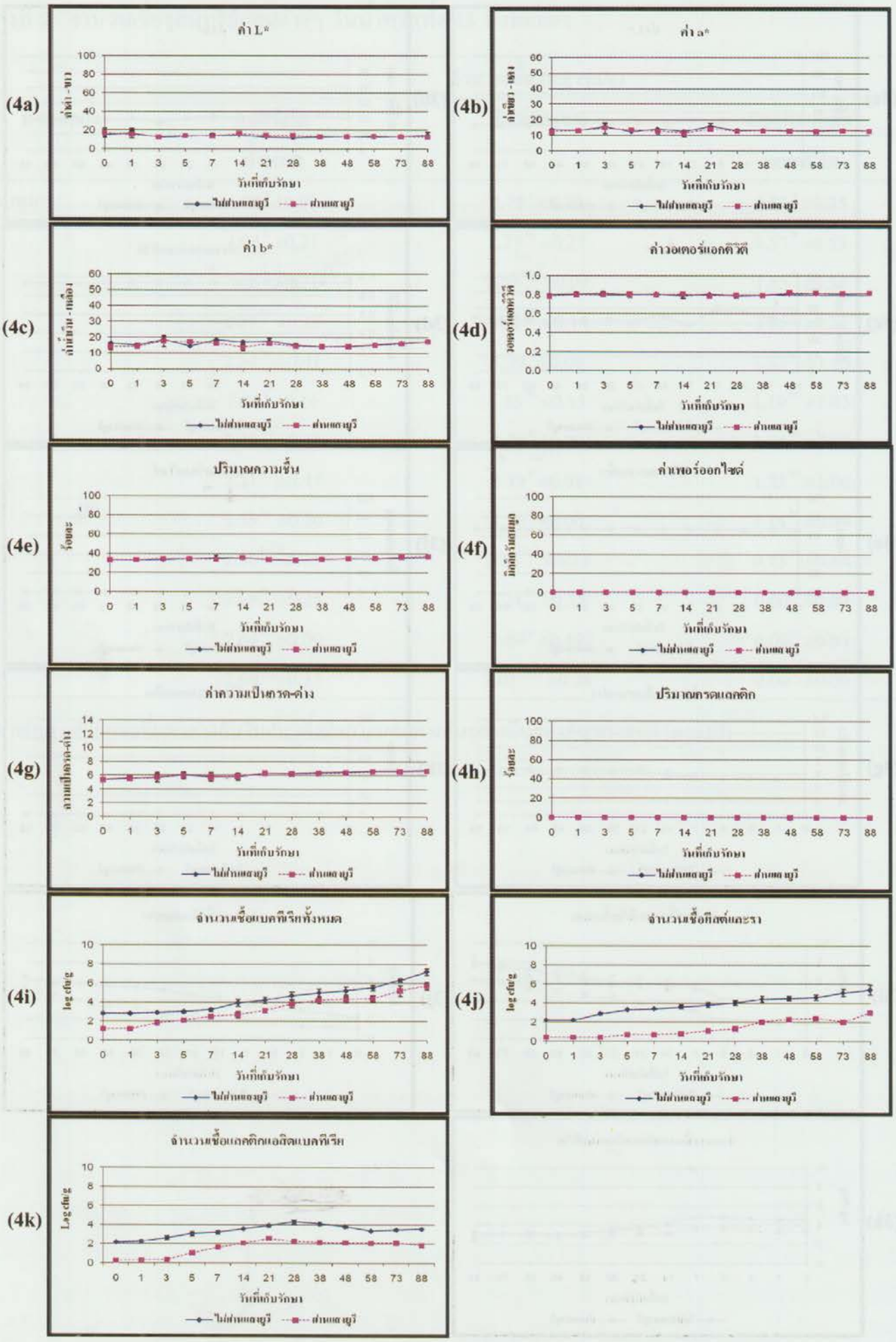
ตารางที่ 2 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ในน้ำพริกทั้ง 13 สิ่งทดลอง

สิ่งทดลอง	จำนวนเชื้อ (log cfu/g)		
	แบคทีเรียทั้งหมด	ยีสต์และรา	แลคติกแอสิดแบคทีเรีย
ควบคุม	$4.98^{a} \pm 0.97$	$2.77^{a} \pm 0.20$	$2.83^{a} \pm 0.25$
1	$3.04^{b} \pm 0.21$	$2.27^{bc} \pm 0.27$	$1.57^{b} \pm 0.53$
2	$3.08^{b} \pm 0.31$	$2.09^{bcd} \pm 0.09$	$1.85^{b} \pm 0.36$
3	$2.67^{bc} \pm 0.28$	$1.94^{cde} \pm 0.14$	$1.85^{b} \pm 0.23$
4	$2.54^{bc} \pm 0.41$	$1.70^{e} \pm 0.00$	$1.32^{bc} \pm 1.15$
5	$2.05^{c} \pm 0.16$	$1.85^{de} \pm 0.13$	$1.19^{bc} \pm 1.03$
6	$2.44^{bc} \pm 0.39$	$1.70^{e} \pm 0.00$	$1.04^{bc} \pm 0.90$
7	$2.51^{bc} \pm 0.47$	$2.39^{b} \pm 0.08$	$1.23^{bc} \pm 1.06$
8	$2.39^{bc} \pm 0.26$	$1.70^{e} \pm 0.00$	$1.14^{bc} \pm 0.99$
9	$2.50^{bc} \pm 0.35$	$2.15^{bcd} \pm 0.13$	$0.73^{bc} \pm 0.64$
10	$2.69^{bc} \pm 0.25$	$2.24^{bc} \pm 0.22$	$0.00^{c} \pm 0.00$
11	$2.64^{bc} \pm 0.09$	$1.69^{e} \pm 0.49$	$0.00^{c} \pm 0.00$
12	$2.69^{bc} \pm 0.33$	$2.05^{bcde} \pm 0.28$	$0.00^{c} \pm 0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำพริกแกงเผ็ดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน (3a-3k)



รูปที่ 4 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำพริกปลาย่างระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน (4a-4k)

3. การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสระหว่างน้ำพริกที่ไม่ผ่านและผ่านการสัมผัสแสงยูวี (น้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่ และน้ำพริกที่เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ ตามลำดับ) พบว่าคะแนนความชอบในคุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวมของผลิตภัณฑ์น้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w สูง ได้แก่ น้ำพริกแกงเผ็ด และน้ำพริกแกงส้ม ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4 ตามลำดับ ส่วนน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำ ได้แก่ น้ำพริกปลาย่าง และน้ำพริกลาบ ดังแสดงในตารางที่ 5 และ 6 ตามลำดับ โดยพบว่าคะแนนความชอบในทุกคุณลักษณะของน้ำพริกทั้ง 4 ตัวอย่างในแต่ละชนิดของผลิตภัณฑ์น้ำพริกที่นำมาทำการทดสอบนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกทั้ง 4 ชนิด อยู่ในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง

ตารางที่ 3 ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงเผ็ด

ตัวอย่าง	คะแนนความชอบต่อคุณลักษณะด้าน				
	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
น้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่	7.23 ±1.25^{ns}	6.70 ±0.99^{ns}	6.77 ±0.97^{ns}	6.60 ±1.04^{ns}	6.63 ±1.13^{ns}
น้ำพริกที่เก็บนาน 7 วัน	7.00 ±1.14^{ns}	6.83 ±1.18^{ns}	6.63 ±1.10^{ns}	6.70^{ns} ±1.15	6.80 ±1.24^{ns}
น้ำพริกที่เก็บนาน 14 วัน	6.67 ±1.18^{ns}	6.67 ±1.24^{ns}	6.57 ±1.30^{ns}	6.46^{ns} ±1.14	6.80 ±1.06^{ns}
น้ำพริกที่เก็บนาน 21 วัน	6.90 ±1.45^{ns}	6.67 ±1.06^{ns}	6.70 ±1.30^{ns}	6.67^{ns} ±1.03	6.87 ±1.07^{ns}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในแนวตั้ง

ตารางที่ 4 ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงส้ม

ตัวอย่าง	คะแนนความชอบต่อคุณลักษณะด้าน				
	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
น้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่	6.53 ±1.40^{ns}	6.50 ±1.20^{ns}	6.47 ±1.40^{ns}	6.33 ±1.21^{ns}	6.63 ±1.25^{ns}
น้ำพริกที่เก็บนาน 7 วัน	6.83 ±0.99^{ns}	6.83 ±1.17^{ns}	6.73 ±1.23^{ns}	6.47 ±1.20^{ns}	6.80 ±1.24^{ns}
น้ำพริกที่เก็บนาน 14 วัน	6.87 ±0.93^{ns}	6.73 ±1.11^{ns}	6.53 ±1.22^{ns}	6.17 ±1.37^{ns}	6.70 ±1.06^{ns}
น้ำพริกที่เก็บนาน 21 วัน	6.97 ±0.89^{ns}	6.47 ±1.17^{ns}	6.80 ±1.21^{ns}	6.33 ±1.27^{ns}	6.73 ±0.98^{ns}

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในแนวตั้ง

ตารางที่ 5 ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำพริกปลาย่าง

ตัวอย่าง	คะแนนความชอบต่อคุณลักษณะด้าน				
	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
น้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่	7.23 ±0.94 ns	7.03 ±1.03 ns	7.37 ±1.16 ns	7.30 ±1.12 ns	7.50 ±0.97 ns
น้ำพริกที่เก็บนาน 10 วัน	7.23 ±0.86 ns	7.03 ±1.13 ns	7.27 ±1.14 ns	7.00 ±1.29 ns	7.30 ±1.05 ns
น้ำพริกที่เก็บนาน 20 วัน	7.30 ±0.99 ns	6.77 ±1.25 ns	7.27 ±1.28 ns	7.13 ±1.25 ns	7.33 ±1.15 ns
น้ำพริกที่เก็บนาน 30 วัน	6.90 ±0.92 ns	6.93 ±1.08 ns	7.10 ±1.27 ns	7.13 ±0.97 ns	7.27 ±1.05 ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในแนวตั้ง

ตารางที่ 6 ผลการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำพริกลาบ

ตัวอย่าง	คะแนนความชอบต่อคุณลักษณะด้าน				
	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
น้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่	6.90 ±1.09 ns	7.00 ±1.01 ns	6.70 ±0.95 ns	6.50 ±0.93 ns	7.07 ±0.83 ns
น้ำพริกที่เก็บนาน 10 วัน	6.93 ±0.98 ns	6.90 ±0.96 ns	6.53 ±1.07 ns	6.67 ±1.18 ns	6.93 ±1.08 ns
น้ำพริกที่เก็บนาน 20 วัน	7.00 ±1.13 ns	6.73 ±0.08 ns	6.80 ±1.16 ns	6.57 ±1.19 ns	7.03 ±1.33 ns
น้ำพริกที่เก็บนาน 30 วัน	7.23 ±0.94 ns	6.93 ±1.41 ns	6.63 ±1.03 ns	6.34 ±1.19 ns	7.03 ±1.19 ns

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในแนวตั้ง

อภิปรายผล

1. การตรวจสอบคุณลักษณะเบื้องต้นของตัวอย่างน้ำพริก

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด นั้นมีคุณลักษณะที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิต รวมถึงกระบวนการในที่ใช้การผลิต ซึ่งจะส่งผลต่อกลิ่น รสชาติ และการยอมรับของผู้บริโภคด้วย (เสาวลักษณ์ และคณะ, 2550) แต่อย่างไรก็ตามเพื่อให้ผู้บริโภคได้บริโภคผลิตภัณฑ์น้ำพริกที่มีความปลอดภัยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมจึงได้มีการกำหนด และวางมาตรฐานของผลิตภัณฑ์น้ำพริกชนิดต่างๆ ขึ้น ทั้งนี้ค่าที่กำหนดขึ้นมานั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมให้เกิดความปลอดภัยในการบริโภคน้ำพริกของผู้บริโภค โดยจะควบคุมในส่วนของความปลอดภัยทางด้านจุลชีววิทยาเป็นหลัก ที่สำคัญได้แก่ ค่า a_w และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ (อาจแตกต่างกันไปบ้าง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำพริก) จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่า a_w ของตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด มีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดซึ่งปกติแล้วในตัวอย่างน้ำพริกปลาย่าง และน้ำพริกแกงเผ็ดต้องมีค่า ค่า a_w ไม่เกิน 0.60 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ข, 2546) และ 0.85 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ก, 2546) ตามลำดับ ส่วนในตัวอย่างน้ำพริกแกงส้มต้องไม่เกิน 0.60 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) และในตัวอย่างน้ำพริกลาบต้องไม่เกิน 0.65 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) ดังนั้นจึงทำให้น้ำพริกทั้ง 4 ชนิด

มีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย โดยผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของชิดชม และคณะ (2547) ที่ได้ทำการศึกษาการพัฒนาคุณภาพและมาตรฐานความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำพริก โดยพบว่าค่า a_w ของตัวอย่างน้ำพริกที่ต่ำที่สุดจะอยู่ที่ 0.58 ซึ่งเชื้อราประเภททนแห้งยังสามารถอยู่รอดได้ และค่า a_w ของตัวอย่างน้ำพริกที่สูงที่สุดจะอยู่ที่ 0.96 ทำให้แบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียเจริญได้

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ข (2546) กำหนดให้น้ำพริกป่นแห้ง (มผช.130/2546) โดยหมายรวมถึงน้ำพริกปลาย่างต้องมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และจำนวนเชื้อยีสต์และราไม่เกิน $1x10^4$ และ 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่น้ำพริกแกง (มผช. 129/2546) โดยหมายรวมถึงน้ำพริกแกงเผ็ดนั้นมิได้ระบุจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องควบคุมไว้ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ก, 2546) ส่วนแกงส้มกึ่งสำเร็จรูป ซึ่งหมายรวมถึงน้ำพริกแกงส้มนั้นต้องมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และจำนวนเชื้อราไม่เกิน $1x10^4$ และ 10^2 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามลำดับ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548) และน้ำพริกลาบต้องมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และจำนวนเชื้อยีสต์และราไม่เกิน $1x10^4$ และ 10^2 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนจำนวนโคลิฟอร์มโดยวิธีเอ็มพีเอ็นต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2547) ซึ่งจากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 4 ชนิด มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์สูงเกินกว่าระดับที่มาตรฐานกำหนด ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิต และในระหว่างกระบวนการผลิตที่ไม่สามารถควบคุมปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นในขั้นต้นจึงควรต้องมีการควบคุมกระบวนการผลิตโดยนำหลักการ GMP เข้ามาใช้ในกระบวนการผลิตอย่างเคร่งครัด ตลอดจนการคัดเลือกวัตถุดิบที่มีคุณภาพที่จะนำมาใช้ในการผลิต เพื่อทำให้จำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในตัวอย่างน้ำพริกลดปริมาณลง อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างน้ำพริกโดยทั่วไปแล้วจะเป็นในกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (pathogenic microorganism) นั้นส่วนใหญ่ไม่สามารถที่จะเจริญได้ในน้ำพริก ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคจะสามารถเจริญได้ในที่ที่มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.5-7.5 เท่านั้น (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) โดยจากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำพริกในทุกตัวอย่างนั้นมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.2-5.3 ซึ่งต่ำกว่าระดับที่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคจะสามารถเจริญได้ ดังนั้นการบริโภคน้ำพริกทั้ง 4 ชนิดนี้ จึงยังคงมีความปลอดภัยจากโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) แต่อย่างไรก็ตามจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบดังกล่าวจะส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นหากต้องการยืดอายุการเก็บรักษาจึงต้องมีการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนให้น้อยลง

2. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของตัวอย่างน้ำพริก

การที่น้ำพริกที่สัมผัสแสงยูวีสามารถเก็บรักษาได้นานขึ้นที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากแสงยูวีจะทำให้เกิดความเสียหายกับองค์ประกอบทางเคมีของสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecules) ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการ metabolisms และมีผลต่อสารพันธุกรรมของเซลล์จุลินทรีย์ ได้แก่ โปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก และพอลิแซกคาไรด์บางชนิด เช่น ไกลโคเจน สตาร์ช และเซลลูโลส โดยความเสียหายอาจเกิดได้จากปฏิกิริยาทางตรงของรังสีหรือทางอ้อมซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพหรือเคมีเชิงฟิสิกส์ การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแสงยูวีเกิดขึ้นโดยพลังงานจะทำลายโครงสร้างผนังเซลล์ภายนอกก่อน และเข้าสู่ DNA ของเซลล์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง DNA เป็นผลทำให้เกิดการผิดพลาดในการแปรสัญญาณรหัส และทำให้เซลล์ตายลงในที่สุด โดยทั่วไปแล้วแสงยูวี

จะกระทำต่อโครงสร้างสารโมเลกุลใหญ่ได้ 2 แบบ คือ (1) การแตกหักของโมเลกุล (degradation) ทำให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง มีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายกับโมเลกุลเดิม แต่ความสามารถในการทำหน้าที่เปลี่ยนไปโดยรังสีจะทำลายพันธะเคมีและถ่ายเทให้พลังงาน ณ จุดนั้น ไปตามสายโมเลกุล จนกระทั่งถึงพันธะไฮโดรเจนที่มีการแตกหักที่สุด และ (2) การเชื่อมข้ามต่อกันของโมเลกุลสายยาวอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงแบบ intra - หรือ inter-molecular cross linking ซึ่งถ้าเชื่อมต่อกันมากขึ้นจะมีผลให้โมเลกุลนั้นไม่สามารถทำหน้าที่ตามปกติต่อไปได้ (เนตรนภิส, 2546) การที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีเกิดขึ้น ทั้งนี้โดยส่วนหนึ่งเกิดจากความร้อนที่เกิดจากอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษาโดยจะส่งผลให้โมเลกุลของน้ำแยกออกและเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันของสารประกอบคาร์บอนได้เป็นสารสีแดง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) จึงส่งผลให้น้ำพริกที่เก็บเป็นระยะเวลานานจึงมีสีคล้ำขึ้น ส่วนการเปลี่ยนแปลงของค่า a_w นั้น เกิดจากการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น โดยจุลินทรีย์จะใช้สารอาหารที่มีอยู่ในน้ำพริกในกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งผลจากปฏิกิริยาดังกล่าวจะทำให้ได้น้ำและสารเมตาบอไลซ์ชนิดต่างๆ ออกมา (Jay, 1992) ในขณะที่ค่าเพอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่เกิดขึ้นกับผลิตภัณฑ์น้ำพริก คือ การเหม็นหืน (rancidity) โดยการเหม็นหืนนี้มักเกิดกับอาหารจำพวกไขมันและน้ำมัน รวมทั้งอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากการเกิดออกซิเดชั่น (oxidative rancidity) ปฏิกิริยานี้เกิดจากการที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวรับออกซิเจนเข้าไปเกิดเป็นเพอร์ออกไซด์ (peroxide) ซึ่งจะสลายตัวต่อไปเป็นสารที่ระเหยง่ายมีกลิ่นเหม็นหืน และมักจะทำให้วิตามินที่ละลายได้ในไขมันถูกทำลายด้วย (พรพล รมย์นุกูล, 2545) จากผลการศึกษา ครั้งนี้เบื้องต้นไม่สามารถตรวจพบค่าเพอร์ออกไซด์ ในตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่ม ตลอดการเก็บรักษานาน 3 เดือน โดยเฉพาะในกลุ่มน้ำพริกที่มีค่า a_w ต่ำ ซึ่งมีการผัดกับน้ำมันในกระบวนการผลิต เนื่องจากตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่มนั้นมีปริมาณไขมันหรือน้ำมันน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณส่วนผสมทั้งหมด โดยเมื่อไขมันหรือน้ำมันที่เป็นสารตั้งต้นมีปริมาณน้อย จึงมีโอกาสทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างไขมันหรือน้ำมันกับออกซิเจนซึ่งเป็นสาเหตุของการเหม็นหืนได้น้อยลงด้วย ทั้งนี้โดยทั่วไปแล้วมาตรฐานของค่าเพอร์ออกไซด์ที่สามารถตรวจพบในอาหารต้องไม่เกินระดับที่กำหนดไว้ คือ 0-12 มิลลิกรัมสมมูล เมื่อใช้น้ำหนักตัวอย่างในการวิเคราะห์ 2.0-5.0 กรัม (IUPAC, 1992) ในขณะที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำพริกชุมชน กระทรวงอุตสาหกรรม (2546) กำหนดให้น้ำพริกต้องมีค่า pH ตั้งแต่ 3 ขึ้นไป แต่ต้องไม่เกิน 7 ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของผลิตภัณฑ์น้ำพริก ความชอบ ท้องถิ่นที่ทำการผลิต และผู้บริโภคผลิตภัณฑ์น้ำพริก โดยจากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งมีสาเหตุจากการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มยีสต์และราที่จำเป็นต้องใช้กรดในการเจริญเพื่อไปเมตาบอไลท์สับสเตรทต่างๆ (Jay, 1992) และพบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อยีสต์และราในตัวอย่างน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่ม มีจำนวนเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเช่นเดียวกัน เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถนำสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำพริกมาใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียนั้นเป็นจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่สามารถเจริญและผลิตกรดแลคติกออกมา โดยสามารถใช้เป็นจุลินทรีย์ที่บอกถึงการเสื่อมเสียของอาหาร (index indicator or marker) บางประเภทได้ (Jay, 1992) ซึ่งพบว่ามีจำนวนเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อยีสต์และรา แต่มีอัตราการเพิ่มจำนวนที่ต่ำกว่า อย่างไรก็ตามเชื้อกลุ่มนี้ไม่ได้ระบุจำนวนที่ต้องควบคุมไว้ในผลิตภัณฑ์น้ำพริก แต่พบว่าการเพิ่มของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะสวนทางกับคุณภาพ และอายุการเก็บรักษาของอาหารโดยทั่วไป คือ อาหารจะมีอายุการเก็บที่สั้นลง

(วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกุล, 2539)

แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าตัวอย่างน้ำพริกที่ผลิตจากกลุ่มเกษตรกรต่างๆ ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ยังมีคุณภาพไม่เป็นไปตามเกณฑ์ที่มาตรฐานกำหนดทั้งในส่วนของค่า a_w ปริมาณความชื้น รวมไปถึงจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ โดยพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นสูงกว่าที่มาตรฐานกำหนดไว้ ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้เองที่เป็นตัวเสริมให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำพริกทั้ง 4 ชนิด สั้นลงกว่าที่ควรจะเป็น โดยทางกลุ่มผู้ผลิตเองควรต้องหาแนวทางในการลดการปนเปื้อนของเชื้อเริ่มต้นซึ่งมาจากตัววัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ตลอดจนอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต โดยควรนำหลักปฏิบัติที่ดีในการผลิต (GMP) มาใช้ (สุวิมล กีรติพิบูล, 2545)

3. การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

จากผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้แสงยูวีสัมผัสกับตัวอย่างน้ำพริกไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์น้ำพริก ทั้งในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ซึ่งผู้ทดสอบชิมไม่สามารถที่จะแยกแยะถึงความแตกต่างที่เกิดขึ้นได้ในแต่ละคุณลักษณะที่นำมาทำการทดสอบ ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนในระดับที่ประสาทสัมผัสของมนุษย์จะสามารถแยกความแตกต่างได้ (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2545) โดยพบว่าตัวอย่างน้ำพริกที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 21 วัน (น้ำพริกแกงเผ็ดและน้ำพริกแกงส้ม) และ 30 วัน (น้ำพริกปลาย่างและน้ำพริกลาบ) นั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำพริกที่ผลิตขึ้นใหม่ กล่าวคือ น้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w สูง นั้นสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้เป็นระยะเวลานาน 21 วัน ส่วนน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้เป็นระยะเวลานาน 30 วัน โดยผู้ทดสอบไม่สามารถรู้สึกได้ถึงความแตกต่างของคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ

สรุปผล

การใช้แสงยูวีสัมผัสกับตัวอย่างน้ำพริกเป็นเวลานาน 150 นาที ที่ระยะห่างระหว่างหลอดยูวีและพื้นที่ใช้งานเท่ากับ 40 เซนติเมตร มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในตัวอย่างน้ำพริกทั้งในกลุ่มที่มีค่า a_w สูง และในกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำ โดยสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำพริกทั้ง 2 กลุ่มลงได้ 1-2 log cfu/g ทั้งนี้อัตราการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์นั้นมีความคงที่ไม่ขึ้นอยู่กับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในตัวอย่างน้ำพริกทุกตัวอย่างที่ทำการสุ่มเก็บเพื่อนำมาตรวจสอบในแต่ละครั้งนั้นมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง โดยพบจำนวนเชื้ออยู่ในช่วงตั้งแต่ 2-6 log cfu/g (ขึ้นอยู่กับกลุ่มของจุลินทรีย์) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มเกษตรกรยังขาดการควบคุมกระบวนการผลิตที่ดี ส่วนผลการเปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำพริกระหว่างผลิตภัณฑ์น้ำพริกที่ผ่าน และไม่ผ่านการสัมผัสแสงยูวีนั้น พบว่าน้ำพริกที่ผ่านการสัมผัสแสงยูวีนั้นจะสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (35 องศาเซลเซียส) ได้เป็นระยะเวลานานกว่าน้ำพริกที่ไม่ผ่านการสัมผัสแสงยูวี โดยพบว่าน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w สูง นั้นสามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานาน 21 วัน ส่วนน้ำพริกกลุ่มที่มีค่า a_w ต่ำ สามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานาน 30 วัน ซึ่งผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสระหว่างน้ำพริกที่ผ่านการสัมผัส และไม่สัมผัสแสงอัตราไวโอเลต พบว่าการใช้แสงอัลตราไวโอเลตสัมผัสกับผลิตภัณฑ์น้ำพริกทั้ง 4 ชนิด (ชนิดละ 4 ตัวอย่าง) ไม่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อคุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวม โดยผู้ทดสอบไม่รู้สึกได้ถึงความแตกต่างของคุณลักษณะด้านต่างๆ ดังนั้นจึงสามารถใช้แสงยูวีเพื่อลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์น้ำพริกได้ ส่วนผลต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริกนั้นจะให้ผลเป็นที่น่าพอใจก็ต่อเมื่อสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในตัวอย่างทั้งที่ปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบ และที่ปนเปื้อนในกระบวนการผลิตให้ลดลงอยู่ในระดับที่

มาตรฐานกำหนด รวมถึงการควบคุมความชื้น และค่า a_w ซึ่งแนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าวอันดับแรก คือ การปรับปรุงกระบวนการผลิตเดิมของกลุ่มเกษตรผู้ผลิตน้ำพริกโดยนำหลัก GMP เข้ามาใช้ในการควบคุมการผลิตอย่างเคร่งครัด ทั้งนี้การควบคุมค่าดังกล่าวให้อยู่ในระดับที่มาตรฐานกำหนดจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ยาวนานขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากภารกิจโครงการและประสานงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2552

เอกสารอ้างอิง

จิรวัฒน์ กันต์เกรียงวงศ์ วรพจน์ สุนทรสุข และประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์. (2549). การพัฒนากระบวนการขยายอายุ การเก็บรักษาน้ำพริกหนุ่ม. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37(2) พิเศษ: 134-137.

ชิดชม ฮิรางะ วราภา มหากาญจนกุล สิริพร สธนเสาวภาคย์ และสุขเกษม สิทธิพจน์. (2547). การพัฒนาคุณภาพและมาตรฐานความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำพริกในโครงการหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

ชิดชม ฮิรางะ สุขเกษม สิทธิพจน์ สิริพร สธนเสาวภาคย์ และวราภา มหากาญจนกุล. (2549). การพัฒนากระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์น้ำพริกแกงไทยสำเร็จรูป.สืบค้นจาก :http://research.ifrpd.ku.ac.th/index.php?option=content&task=view&id=1686. 6 กันยายน 2552.

ถาวร อรัญญพงษ์ไพศาล ถิรวรรธน์ ปัญญวุฒิ และอรัญ หันพงศ์กิตติกูล. (2547). โครงงานการยืดอายุการเก็บน้ำพริกกุ้งสามรส. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ธีรพร กงบังเกิด. (2546). จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

นิธิยา รัตนาปนนท์. (2545). เคมีอาหาร. กรุงเทพ ฯ: โอเดียนสโตร์.

เนตรนภิส วัฒนสุชาติ. (2546). คลื่นรังสี ยูวี มีประโยชน์ต่อเทคโนโลยีอาหารอย่างไร. วารสารอาหาร. 33(1): 15-21.

ปราณี อ่านเปรื่อง. (2547). หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพ ฯ.

พรพล รมย์นุกูล. (2545). การถนอมอาหาร. กรุงเทพ ฯ: โอเดียนสโตร์.

ไพโรจน์ วิริยจารี. (2545). การประเมินทางประสาทสัมผัส. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล หม่อมหลวงสุมาลย์ สาระยา ยุวดี วงษ์กระจ่าง นงลักษณ์ เรืองวิเศษ และวงศ์สถิต ฉั่วกุล. (2549). การศึกษาวัตถุกันเสียจากสมุนไพรเพื่อยืดอายุผลิตภัณฑ์น้ำพริกชุมชน. วารสารอาหารและยา. 13(2): 34-45.

วราวุฒิ ครูส่ง. (2538). จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพ ฯ:โอเอสพริ้นติ้งเฮาส์.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. (2539). จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). จุลชีววิทยาทางอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัย

ธรรมศาสตร์.

สุวิมล กีรติพิบูล. (2545). การควบคุมจุลินทรีย์ในโรงงานอุตสาหกรรม เล่ม 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ก. (2546). มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกแกง. มผช. 129/2546.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ข. (2546). มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกป่นแห้ง. มผช. 130/2546.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2547). มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนพริกลาบ. มผช. 493/2547.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2548). มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนแกงส้มกึ่งสำเร็จรูป. มผช. 733/2548.

เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ สุพิชญา จันทะชุม และเถวียน บัวตุ่ม. (2550). น้ำพริกสมุนไพรไทยสำเร็จรูป มอ. งานวิจัยเพื่อชุมชนสู่อุตสาหกรรม, คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยงขลานครินทร์, สงขลา.

อรรณพ ทัศนอุดม วรรณภา สระพินครบุรี และสุริยาพร นิพรรัมย์. (2552). การปรับปรุงกระบวนการผลิตเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำพริก. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร. 17(2): 136-144.

AOAC. (2000). Association of official Analytical Chemists. Official method of Analysis. 17th ed. AOAC international. USA: Galthersbury Maryland. pp. 2087-2417.

Downes, F. P. and Ito, K. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed. Washington D.C: American Public Health Association.

Erkan, M., Wang, C. Y. and Krizek, D. T. (2001). UV-C Irradiation Reduces Microbial Populations and Deterioration in *Cucurbita pepo* Fruit Tissue. Environmental and E xperimental Botany. 45 (1): 1-9.

Hijnen, W. A. M., Beerendonk, E. F. and Medema, G. J. (2006). Inactivation Cerdit of UV for Virus, Bacteria and Protozoan (oo) Cysts in Water : A Review. Water Research. 40 (1) : 3-22.

IUPAC. (1992). Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Vegetable Oils and Fats by HPLC. In Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives, 7th ed.; IUPAC App. Chem. Commission on Oils Fats and Derivatives; Paquot, C., Hautfeenne, A., Eds.; Blackwell Scientific: Oxford, U.K., 1992; Method 2432.

Jay, J. M. (1992). Modern Food Microbiology. 4th ed. New York: Chapman and Hall.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 572-581 (2553) KKU Sci. J.38(4) 572-581 (2010)

การเตรียมพอลิเมอร์โครงสร้างร่างแหแบบกึ่งสอดไขว้ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ

Preparation of Semi-Interpenetrating Polymer Network of Modified Chitosan and Natural Rubber

จุฬารัตน์ นามเพ็ง [1] สิทธิพงษ์ อำนวยพานิชย์ [1] และ ไชยวัฒน์ รักสกุลพิวัฒน์ [1]*

บทคัดย่อ

วัสดุผสมที่มีโครงสร้างร่างแหพอลิเมอร์แบบกึ่งสอดไขว้ (semi-IPN) ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ เตรียมในลักษณะรูปแบบลำดับขั้น โดยการกราฟต์ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต (DMAEMA) บนสายโซ่โมเลกุลไคโตซาน ศึกษาน้ำหนักโมเลกุลและปริมาณมอนอเมอร์ที่มีต่อร้อยละการกราฟต์ ทำการเชื่อมขวางโมเลกุลของไคโตซานโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์ (GA) เป็นสารเชื่อมขวาง และศึกษาผลของปริมาณสารเชื่อมขวางที่มีต่อระดับการเชื่อมขวาง จากสเปกตรัม FTIR ของฟิล์ม Semi-IPN แสดงพีคสำคัญของยางธรรมชาติที่ตำแหน่ง 836 ซม.$^{-1}$ ของพันธะ C=CH พีค C=O ของไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตที่ตำแหน่ง 1724 ซม.$^{-1}$ พีคที่ตำแหน่ง 1662 ซม.$^{-1}$ และ 1559 ซม.$^{-1}$ ของพันธะเอไมด์ในไคโตซาน ซึ่งเป็นตำแหน่งใกล้เคียงกับการเกิดการเชื่อมขวางโมเลกุลของไคโตซานด้วยกลูตารัลดีไฮด์ (N=C, 1654 ซม.$^{-1}$) ศึกษาสมบัติเชิงความร้อนของวัสดุ Semi-IPN ด้วยเทคนิค DSC แสดงอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของยางธรรมชาติที่อุณหภูมิ -61 องศาเซลเซียส แต่ไม่พบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของไคโตซาน

Abstract

Semi-interpenetrating polymer network (Semi-IPN) of modified chitosan and natural rubber (NR) was prepared by a sequential method. In this present, dimethylaminoethyl methacrylate (DMAEMA) was grafted onto chitosan. The effect of molecular weigh of chitosan and amounts of monomer on grafting percentage were investigated. Chitosan was crosslinked using glutaraldehyde (GA) as a crosslinking agent. In addition, the crosslinking agent concentrations were varied. An FTIR spectrum of Semi-IPN film showed

[1] ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

* Corresponding Author, E-mail: charuk@kku.ac.th

the important peak at 836 cm^{-1}, which corresponds to the stretching C=CH of NR. The peak at 1724 cm^{-1} attribute to the C=O of DMAEMA. The significant peak at 1662 cm^{-1} and 1559 cm^{-1} corresponds to the amide groups of chitosan. The characteristic band of crosslinked chitosan, N=C (1654 cm^{-1}) is near the band of amide groups. Thermal properties of Semi-IPN were studied by Differential scanning calorimetry (DSC). It was found that glass transition temperature (T_g) of NR occurs at -61°C but the T_g of chitosan did not see.

คำสำคัญ : โครงสร้างร่างแหพอลิเมอร์แบบกึ่งสอดไขว้ ไคโตซาน ยางธรรมชาติ
Keywords : Semi-IPN, Chitosan, Natural rubber

บทนำ

โครงร่างแหพอลิเมอร์แบบกึ่งสอดไขว้ (semi-interpenetrating polymer network, semi-IPN) เป็นวิธีการผสมพอลิเมอร์สองชนิดโดยพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งเกิดการเชื่อมขวางกระจายอยู่ในพอลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งที่ไม่เกิดการเชื่อมขวาง โดยไม่เกิดพันธะเคมีระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ต่างชนิดกัน ซึ่งสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมของพอลิเมอร์แต่ ละชนิด อัตราส่วนการผสม และปริมาณสารที่ใช้เชื่อมขวาง (Klempner et al., 1991) ตัวอย่างพอลิเมอร์ผสมที่มีโครงร่างแหพอลิเมอร์แบบกึ่งสอดไขว้ได้แก่ ยางธรรมชาติและพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ ยางธรรมชาติและไคโตซาน เป็นต้น

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ ชื่อทางเคมีคือ poly[β-(1-4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranoses] สามารถเตรียมได้จากไคติน โดยพบในเปลือกกุ้ง เปลือกปู ไคโตซานมีหมู่ไฮดรอกซิลและอะมิโนบนสายโซ่จึงสามารถดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเคมีได้หลากหลาย เช่น การกราฟต์โคพอลิเมอร์ไรเซชันกับมอนอเมอร์ชนิดต่างๆ เช่น อะไคลิก ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต และเมทิลเมทราคริเลต เป็นต้น ซึ่งการกราฟต์เป็นวิธีการปรับปรุงสมบัติของไคโตซานให้เพิ่มมากขึ้น เช่น ความสามารถในการต่อต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (antibacterial) การละลายน้ำ (water solubility) และการย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradable) (รัดเกล้า ภูติวรนาถ, 2539) ส่วนยางธรรมชาติถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ชื่อทางเคมีคือ ซิส-1,4-พอลิไอโซพรีน (cis-1,4-polyisoprene) คุณสมบัติที่โดดเด่นคือ มีสถานะอสัณฐานที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากมีค่าอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้ว (glass transition temperature) หรือ T_g ที่ต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง (-73 องศาเซลเซียส) ทำให้มีความยืดหยุ่นสูง ต้านทานต่อแรงดึงเพราะสามารถเกิดผลึกได้เมื่อได้รับแรงดึง การเกิดความร้อนต่ำ (พงษ์ธร แซ่อุย, 2548)

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการนำพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดมาผสมกันแบบร่างแหพอลิเมอร์กึ่งสอดไขว้ (semi-IPN) เนื่องจากการผสมกันโดยตรงจะทำให้เกิดการผสมได้ไม่ดีเพราะสารทั้งสองมีความเป็นขั้วต่างกันมาก กล่าวคือ ไคโตซานมีความเป็นขั้วสูง ขณะที่ยางธรรมชาติมีความเป็นขั้วต่ำ การปรับปรุงความเป็นขั้วของไคโตซานให้ลดลงโดยการกราฟต์ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตบนสายโซ่ไคโตซานทำให้สามารถผสมกับยางธรรมชาติได้ดีขึ้น แล้วจึงเชื่อมขวางโมเลกุลไคโตซานด้วยกลูตารัลดีไฮด์ ทำการศึกษาโครงสร้างทางเคมีและสมบัติเชิงความร้อน ซึ่งวัสดุชนิดใหม่ที่ได้จะแสดงสมบัติเด่นของวัสดุทั้งสอง คือ สามารถยืดหยุ่นได้ดี แข็งแรง มีการเกิดความร้อนต่ำ และกันเชื้อราได้ ซึ่งสามารถนำไปใช้ได้ทั้งในสถานะที่เป็นลาเท็กซ์ และของแข็ง วัสดุชนิดใหม่ที่เตรียมได้น่าจะเหมาะกับการนำไปผลิตท่อที่สามารถกันเชื้อราได้ กาวที่ยึดติดพื้นผิว แผ่นฟิล์มบำบัดน้ำเสีย ถุงมือยาง เป็นต้น

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

สารเคมี

ไคโตซาน (chitosan) ชนิด น้ำหนักโมเลกุลต่ำ (viscosity < 200 mPa.s) น้ำหนักโมเลกุลปานกลาง (viscosity 200-400 mPa.s) น้ำหนักโมเลกุลสูง (viscosity > 400 mPa.s); 1% Acetic acid ใช้อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในการทดสอบ จากบริษัท Fluka น้ำยางธรรมชาติข้นชนิดแอมโมเนียสูง (natural rubber, NR) ซึ่งมีปริมาณเนื้อยางแห้งประมาณร้อยละ 60 จากบริษัท ไทยฮั้วยางพารา สาขาสกลนคร มอนอเมอร์ที่ใช้ คือ ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต (dimethylaminoethyl methacylate, DMAEMA) จากบริษัท Aldrich ตัวริเริ่มปฏิกิริยาแบบแตกตัวด้วยความร้อนที่ใช้คือ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (potassium persulfate) จากบริษัท Aldrich สารเชื่อมขวางโมเลกุลที่ใช้คือ กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) จากบริษัท Fluka อะซิโตน (Acetone) และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide) จากบริษัท Carlo Erba สารลดแรงตึงผิวที่ใช้คือ ไตรตัน เอ็กซ์-100 (triton X-100) จากบริษัท Aldrich

วิธีการทดลอง

การสังเคราะห์กราฟต์โคพอลิเมอร์ของไคโตซาน และไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต (Chitosan-g-PDMAEMA)

ละลายไคโตซาน 1.0 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร กวนต่อเนื่องจนได้สารละลายใส ค่อยๆ หยดมอนอเมอร์ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต (15 30 45 และ 60 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมตัวริเริ่มปฏิกิริยาโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.1 กรัม ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไนโตรเจน นำกราฟต์โคพอลิเมอร์ที่ได้ทำเป็นแผ่นฟิล์มโดยเทลงบนแผ่นพลาสติกใส จากนั้นอบให้แห้งภายใต้สุญญากาศ

การศึกษาการเชื่อมขวางโมเลกุลของไคโตซานด้วยกลูตารัลดีไฮด์

ละลายไคโตซาน 1.0 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร กวนต่อเนื่องจนได้สารละลายใส จากนั้นเติมกลูตารัลดีไฮด์ (10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไนโตรเจน

การเตรียมวัสดุผสม semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ

การเตรียมวัสดุ semi-IPN ของยางธรรมชาติและไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลางที่ดัดแปรโดยการกราฟต์ด้วยมอนอเมอร์ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต 45 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ปรับความเป็นกรด-เบสสารละลายที่ได้ให้อยู่ในช่วงประมาณ pH 6 โดยใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และเติมสารลดแรงตึงผิว (triton X-100) แล้วจึงนำไปผสมกับน้ำ ยางธรรมชาติ จากนั้นเติมกลูตารัลดีไฮด์ปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไนโตรเจน จากนั้นขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยการอบให้แห้งภายใต้สุญญากาศ

การตรวจสอบกราฟต์โคพอลิเมอร์ของไคโตซานและไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต

นำฟิล์มพอลิเมอร์ที่เตรียมได้ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนไปสกัดเอาโฮโมพอลิเมอร์ออกโดยวิธี soxhlet extraction โดยมีอะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ใช้เวลาสกัด 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำของแข็งที่เหลือไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันต่ำ แล้วชั่งน้ำหนักกราฟต์โคพอลิเมอร์ เพื่อนำไปคำนวณร้อยละการกราฟต์ (% grafting) (สมการที่ 1)

$$\% \text{ Grafting} = \frac{W_2 - W_1 \times 100}{W1} \quad (1)$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักของไคโตซาน และ W_2 คือ น้ำหนักของกราฟต์โคพอลิเมอร์

การพิสูจน์ลักษณะของกราฟต์โคพอลิเมอร์และวัสดุ Semi-IPN

การตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) นำฟิล์มของพอลิเมอร์ที่ผ่านการสกัดโฮโมพอลิเมอร์ส่วนที่ไม่เกิดการกราฟต์แล้ว ไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วย FTIR รุ่น spectrum one FTIR spectrometer ที่ผลิตโดยบริษัท Perkin Elmer ที่เลขคลื่น 450 ถึง 4000 ซม.$^{-1}$

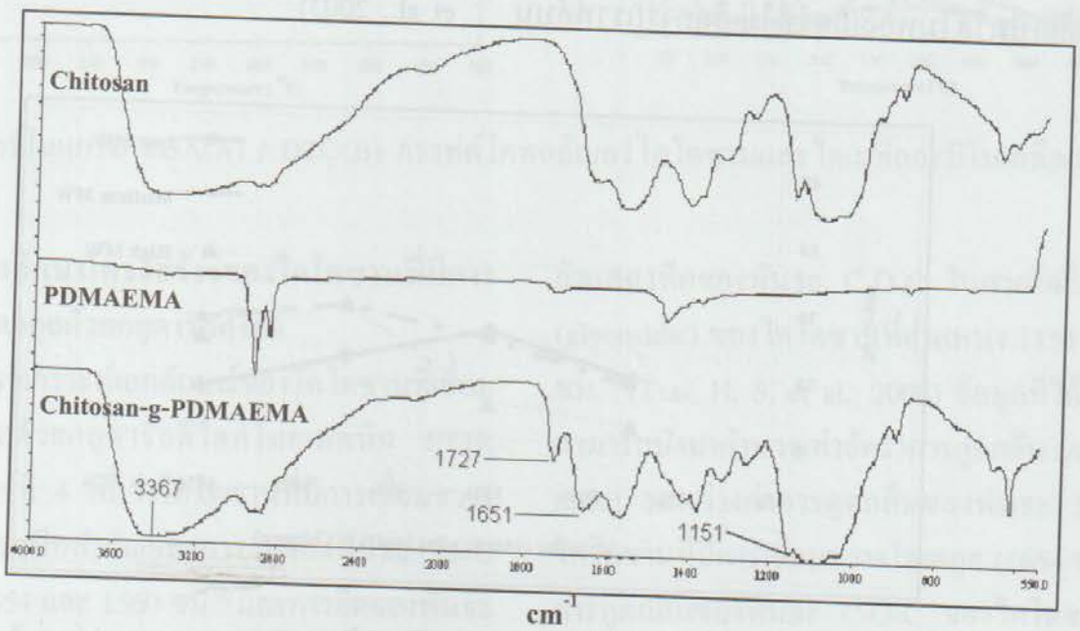
การศึกษาสมบัติเชิงความร้อนด้วยเทคนิค TGA/DTG นำกราฟต์โคพอลิเมอร์ที่เตรียมได้ ทดสอบสมบัติทางความร้อนด้วยเครื่อง TGA รุ่น Pyris diamond TGA/DTG โดยใช้ alumina pan และอัตราการเพิ่มความร้อน 10 องศาเซลเซียส/นาที ที่ช่วงอุณหภูมิ 50-500 องศาเซลเซียส ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน

การศึกษาคุณสมบัติเชิงความร้อนด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณความร้อนแบบส่องกราดเชิงอนุพันธ์ นำวัสดุที่เตรียมได้ไปทดสอบสมบัติทางความร้อนด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) รุ่น Pyris 1 ที่อุณหภูมิ -80 - 250 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราการเพิ่มความร้อน 20 องศาเซลเซียส/นาที ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของกราฟต์โคพอลิเมอร์

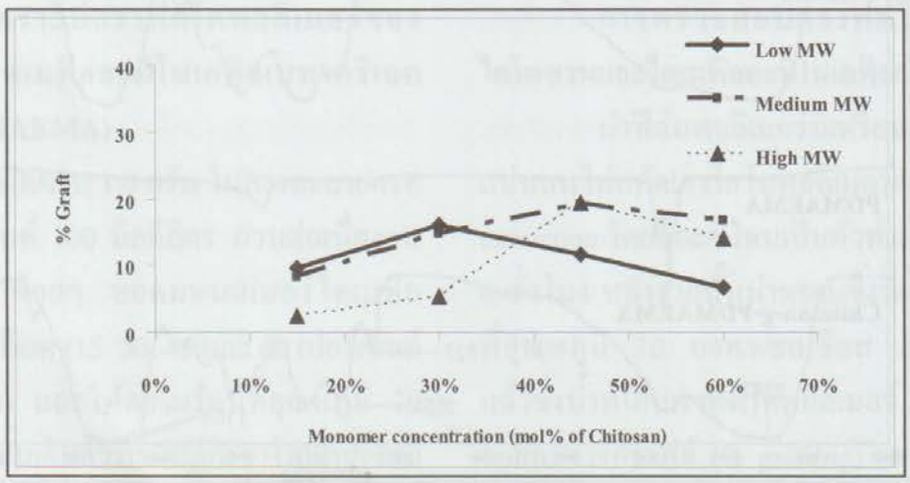
การศึกษาโครงสร้างเคมีของกราฟต์โคพอลิเมอร์ ระหว่างไคโตซานและไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตด้วยเทคนิค FTIR แสดงในรูปที่ 1 พบว่ากราฟต์โคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้ปรากฏพีคการดูดกลืนการยืดของพันธะ C=O ที่ 1727 ซม.$^{-1}$ ของหมู่เอสเทอร์ในพอลิไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต และปรากฏพีคของพันธะเอไมด์ในไคโตซานที่ตำแหน่ง 1651 และ 1563 ซม.$^{-1}$ และการยืดของพันธะ C-O-C ที่ตำแหน่ง 1151 ซม.$^{-1}$ ซึ่งเป็นการยืนยันการเกิดกราฟต์โคพอลิเมอร์ระหว่างไคโตซานและไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต (Zhang et al., 2003)



รูปที่ 1 อินฟราเรดสเปกตรัมของไคโตซาน พอลิไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตและกราฟต์โคพอลิเมอร์

ผลของปริมาณมอนอเมอร์และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่อร้อยละการกราฟต์ของโคพอลิเมอร์

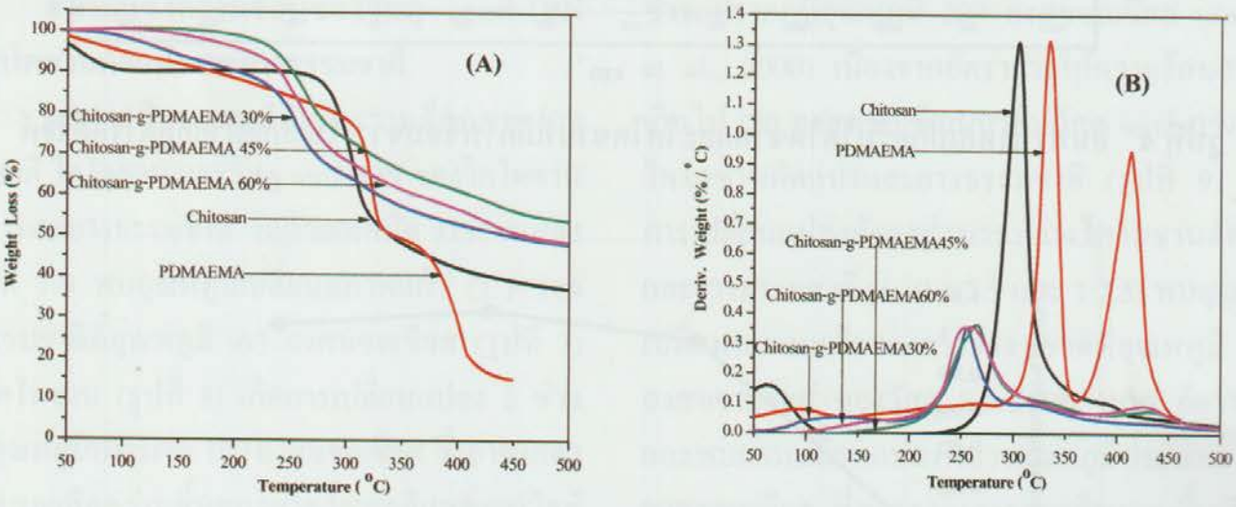
ผลของปริมาณมอนอเมอร์และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่อร้อยละการกราฟต์ของโคพอลิเมอร์ของไคโตซานและไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต แสดงในรูปที่ 2 พบว่าผลของปริมาณมอนอเมอร์ต่อร้อยละการกราฟต์ของโคพอลิเมอร์มีลักษณะคล้ายกันในทุกๆ ชนิดของไคโตซาน ซึ่งเมื่อปริมาณมอนอเมอร์เพิ่มขึ้นร้อยละการกราฟต์เพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึงค่าสูงสุด จากนั้นร้อยละการกราฟต์ลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณมอนอเมอร์ต่อไป เนื่องจากปริมาณมอนอเมอร์มากทำให้สายโซ่โมเลกุลไคโตซานส่วนใหญ่เกิดปฏิกิริยากับมอนอเมอร์ ในขณะที่การเพิ่มปริมาณไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตมอนอเมอร์ทำให้ปริมาณพอลิไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตที่ไม่เกิดปฏิกิริยาการกราฟต์โคพอลิเมอร์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะโมเลกุลไคโตซานมีจุดว่องไวจำกัด การเพิ่มปริมาณมอนอเมอร์มากขึ้นจึงทำให้โอกาสที่ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตจะทำปฏิกิริยากันเองเกิดเป็นโฮโมพอลิเมอร์ที่ไม่เกิดการกราฟต์บนสายโซ่โมเลกุลไคโตซานมีโอกาสมากขึ้น ทำให้ร้อยละการกราฟต์ลดลงเมื่อปริมาณมอนอเมอร์สูง ส่วนผลของน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานต่อร้อยละการกราฟต์ของโคพอลิเมอร์พบว่าที่ความเข้มข้นของมอนอเมอร์ต่ำ (15 และ 30 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน) ไคโตซาน น้ำหนักโมเลกุลต่ำแสดงร้อยละการกราฟต์ใกล้เคียงกับไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลางซึ่งสูงกว่าไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นมอนอเมอร์อีก (45 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน) ไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลปานกลางและโมเลกุลสูงแสดงร้อยละการกราฟต์เพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียง และเมื่อปริมาณมอนอเมอร์เพิ่มขึ้นเป็น 60 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน ไคโตซานทั้ง 3 ชนิด มีค่าร้อยละการกราฟต์ลดลงเช่นเดียวกัน จะเห็นว่าไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูงแสดงร้อยละการกราฟต์สูงเนื่องจากมีความยาวของสายโซ่มากกว่าส่งผลให้สายโซ่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ จึงทำให้มอนอเมอร์มีโอกาสที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับสายโซ่ไคโตซานที่จุดว่องไว (active site) ได้มากขึ้น ทำให้เกิดการกราฟต์โคพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น (Prashanth et al., 2003)



รูปที่ 2 ผลของน้ำหนักโมเลกุลและปริมาณมอนเมอร์ที่มีต่อร้อยละการกราฟต์ของไคโตซาน

สมบัติเชิงความร้อนของกราฟต์โคพอลิเมอร์

สมบัติเชิงความร้อนกราฟต์โคพอลิเมอร์ของไคโตซานและไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต ไคโตซานและไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต แสดงในรูปที่ 3 จะเห็นว่าไคโตซานมีการลดลงของน้ำหนัก 2 ช่วง คือ ที่อุณหภูมิ 62.1 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นส่วนของน้ำที่ดูดซับอยู่ในพื้นผิวและรูพรุนของไคโตซาน และที่อุณหภูมิ 304 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการสลายตัวของสายโซ่หลักของไคโตซาน และพอลิไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตมีการลดลงของน้ำหนักสูงสุดที่อุณหภูมิ 321 องศาเซลเซียส และ 403.5 องศาเซลเซียส สำหรับกราฟต์โคพอลิเมอร์ พบว่ามีการสลายตัว 3 ช่วง คือที่อุณหภูมิประมาณ 112 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการระเหยของน้ำและที่อุณหภูมิ 252-260 องศาเซลเซียส และ 431 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการสลายตัวของไคโตซานที่กราฟต์ด้วยไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต จะเห็นว่าอุณหภูมิการลดลงของน้ำหนักสูงสุดของกราฟต์โคพอลิเมอร์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับไคโตซานและพอลิไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต ทั้งนี้เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนบางส่วนของไคโตซานลดลงเนื่องจากถูกกราฟต์ด้วยไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตภายในโครงสร้างของสายโซ่โมเลกุล (Antonio et al., 2008) ทำให้ความแข็งแรงของโครงสร้างลดลง

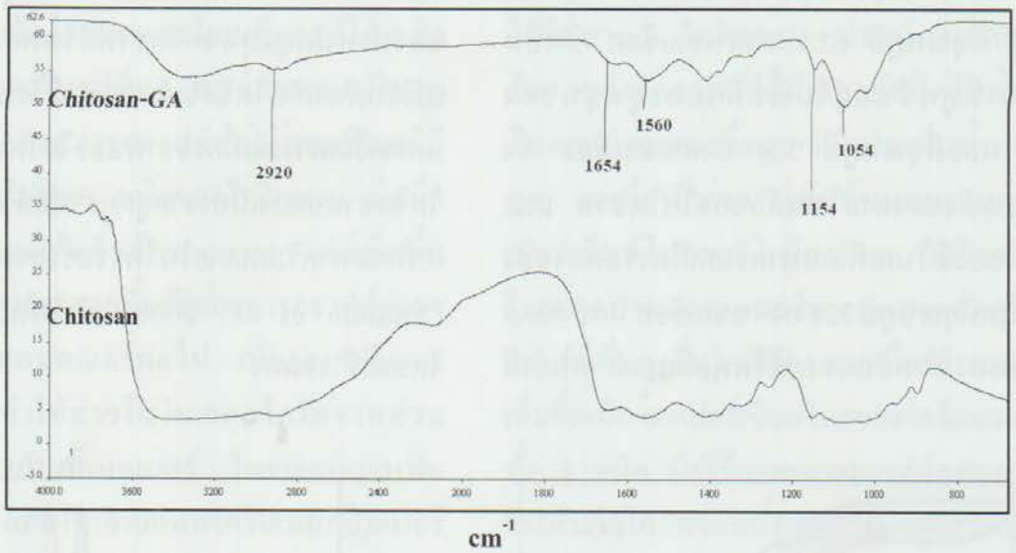


รูปที่ 3 เทอร์โมแกรม TGA(A) / DTG(B) กราฟต์โคพอลิเมอร์ไคโตซานและไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต

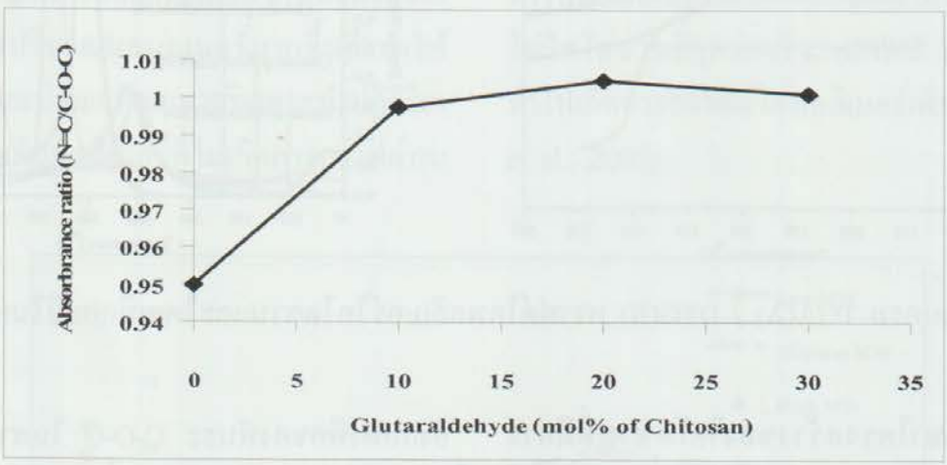
การศึกษาโครงสร้างของไคโตซานที่มีการเชื่อมขวางโมเลกุลด้วยกลูตารัลดีไฮด์

การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของไคโตซานที่เชื่อมขวางโมเลกุลด้วยกลูตารัลดีไฮด์โดยเทคนิค FTIR แสดงผลดังรูปที่ 4 พบว่าไคโตซานที่มีการเชื่อมขวางโมเลกุลปรากฏพีคสำคัญของการงอของพันธะ N=C ที่ตำแหน่ง 1654 และ 1560 ซม.$^{-1}$ และการยืดของพันธะ C-H ที่ตำแหน่ง 2920 ซม.$^{-1}$ ซึ่งค่านี้เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับไคโตซานที่ไม่มีการเชื่อมขวางโมเลกุล ซึ่งแสดงพีคของพันธะเอไมด์ที่ตำแหน่งใกล้เคียงกับการเชื่อมขวาง (1651 และ 1559 ซม.$^{-1}$) นอกจากนั้นยังแสดงพีคของพันธะ C-O-C ในสายโซ่ไกลโคซิดิก (glycosidic) ของไคโตซานที่ตำแหน่ง 1154 และ 1054 ซม.$^{-1}$ (Tsai, H. S. et al., 2008) ข้อมูลที่ได้จาก FTIR สามารถนำมาคำนวณค่าอัตราการดูดกลืน (Absorbance ratio) ระหว่างค่าการดูดกลืนของพันธะ N=C ของไคโตซานที่มีการเชื่อมขวางโมเลกุล (1654 ซม.$^{-1}$) และการดูดกลืนของพันธะ C-O-C ของไคโตซาน (1154 ซม.$^{-1}$) (แสดงผลในรูปที่ 5) ค่าที่ได้สัมพันธ์กับระดับการเชื่อมขวางโมเลกุลของไคโตซาน พบว่าเมื่อปริมาณกลูตารัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นระดับการเชื่อมขวางโมเลกุลเพิ่มขึ้นและระดับการเชื่อมขวางสูงสุดเมื่อใช้กลูตารัลดีไฮด์

20 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน การเพิ่มปริมาณกลูตารัลดีไฮด์ต่อไป ทำให้ระดับการเชื่อมขวางไม่เปลี่ยนแปลงมากที่เป็นเช่นนี้เพราะจำนวนหมู่ $-NH_2$ ของไคโตซานที่ทำปฏิกิริยากับกลูตารัลดีไฮด์มีจำนวนจำกัด ดังนั้นเมื่อปริมาณกลูตารัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นจึงไม่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ $-NH_2$ ได้ส่งผลให้ระดับการเชื่อมขวางคงที่



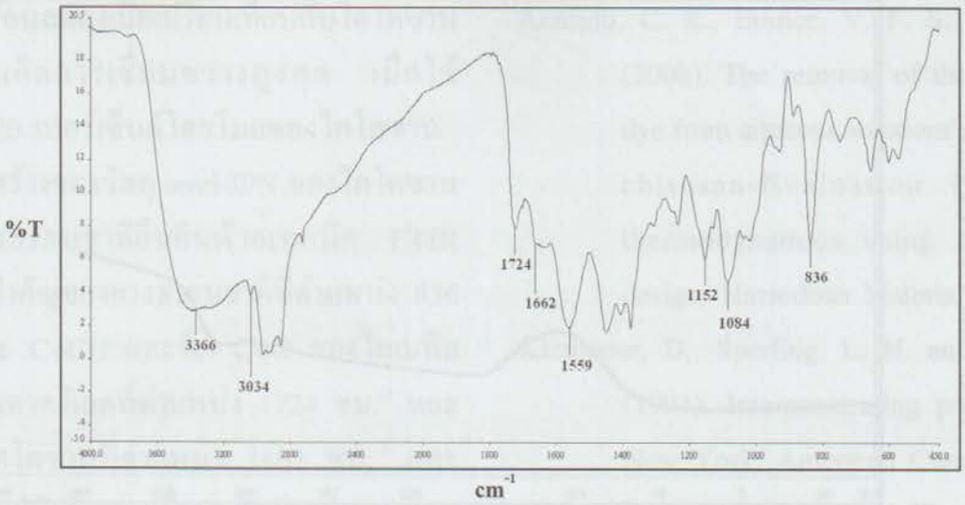
รูปที่ 4 อินฟราเรดสเปกตรัมไคโตซานและไคโตซานที่มีการเชื่อมขวางโมเลกุลด้วยกลูตารัลดีไฮด์



รูปที่ 5 ผลของปริมาณกลูตารัลดีไฮด์ที่มีต่อการเชื่อมขวางโมเลกุลไคโตซาน

การศึกษาโครงสร้างทางเคมีวัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ

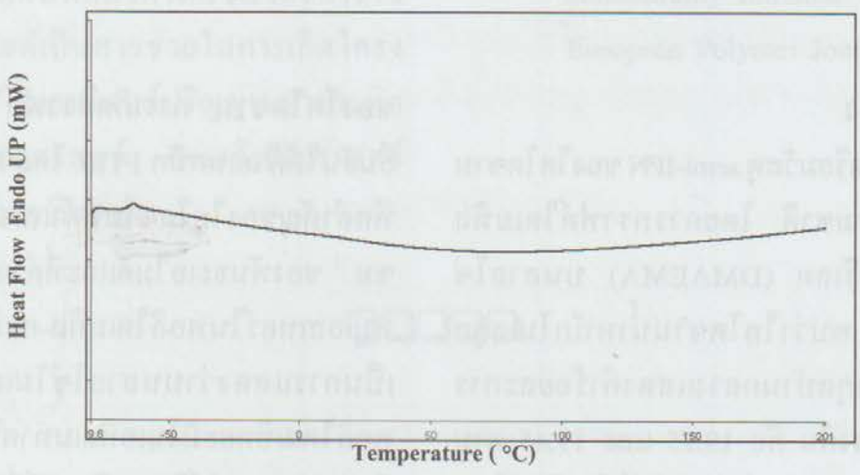
โครงสร้างทางเคมีของวัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ ศึกษาด้วยเทคนิค FTIR ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 6 ปรากฏพีคสำคัญของยางธรรมชาติที่ 836 ซม.$^{-1}$ เป็นการงอของพันธะ C=CH และการยืดของพันธะ C=C ที่ 3034 ซม.$^{-1}$ พีคสำคัญของไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลตที่ตำแหน่ง 1724 ซม.$^{-1}$ ของพันธะ C=O และปรากฏพีคสำคัญของไคโตซานที่ตำแหน่ง 3366 ซม.$^{-1}$ เป็นของพันธะ -OH และพีคที่ตำแหน่ง 1662 และ 1559 ซม.$^{-1}$ ของพันธะเอไมด์ในไคโตซาน (Wiyong, K. et al., 2005; Prashanth, K. et al., 2003)



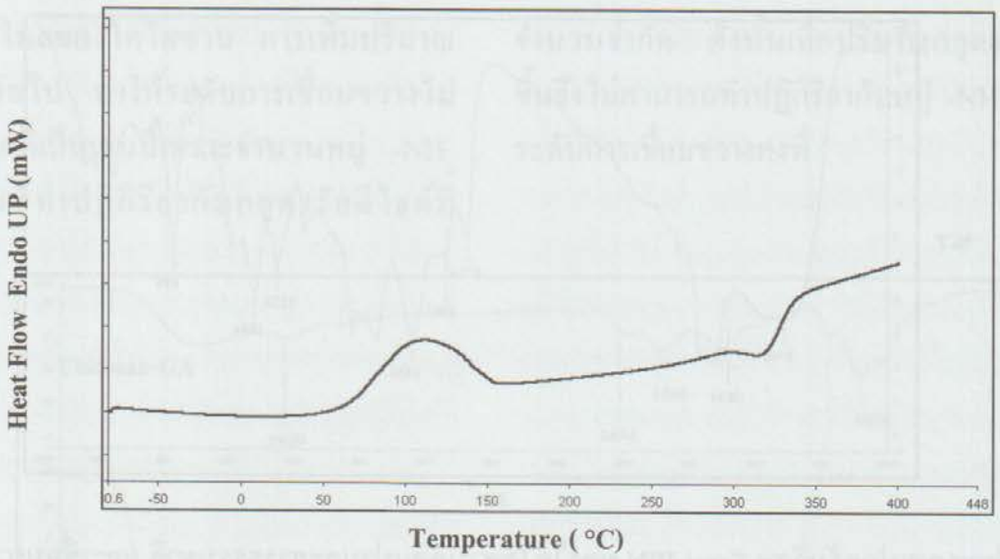
รูปที่ 6 อินฟราเรดสเปกตรัมวัสดุ Semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ และเชื่อมขวางโมเลกุลด้วยกลูตารัลดีไฮด์ 20 เปอร์เซ็นต์โมลของไคโตซาน

สมบัติเชิงความร้อนของวัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ

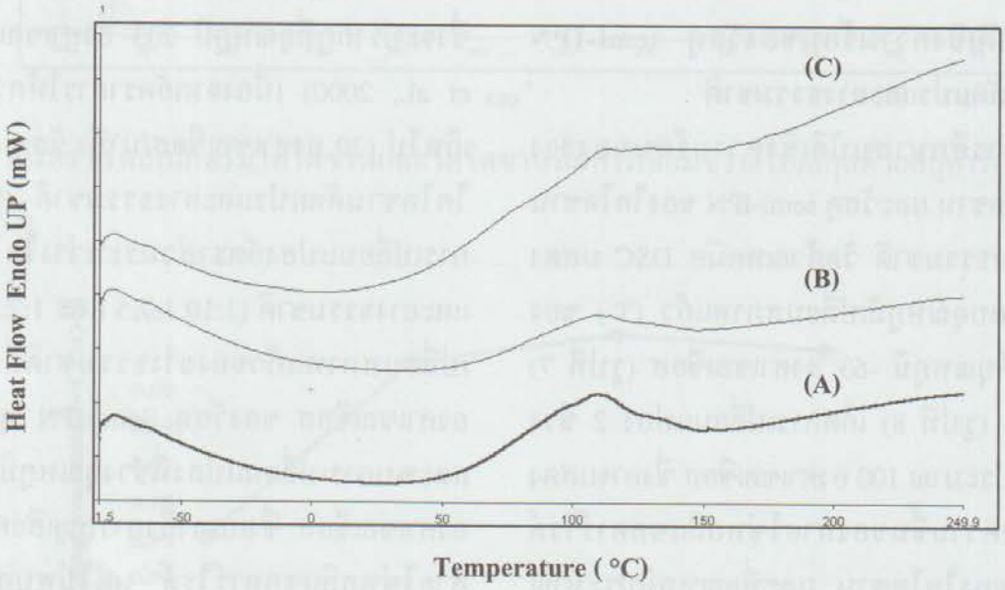
ผลการศึกษาสมบัติเชิงความร้อนของยางธรรมชาติ ไคโตซาน และวัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ วัดด้วยเทคนิค DSC แสดงในรูปที่ 7-9 พบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้ว (T_g) ของยางธรรมชาติที่อุณหภูมิ -63 องศาเซลเซียส (รูปที่ 7) และไคโตซาน (รูปที่ 8) เกิดการเปลี่ยนแปลง 2 ช่วง คือ ที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจแสดงถึงการสูญเสียความชื้นของสายโซ่พอลิแซคคาร์ไรด์ในโครงสร้างของไคโตซาน และที่อุณหภูมิประมาณ 308 องศาเซลเซียสแสดงการสลายตัวของไคโตซาน แต่ไม่พบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของไคโตซาน ซึ่งจะปรากฏที่อุณหภูมิ 203 องศาเซลเซียส (Sakurai et al., 2000) เนื่องจากอัตราการให้ความร้อนอาจสูงเกินไป (20 องศาเซลเซียส/นาที) วัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ (รูปที่ 9) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนระหว่างไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ (1:10 1:7.5 และ 1:2.5) พบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของยางธรรมชาติที่อุณหภูมิ -61 องศาเซลเซียส ของวัสดุ Semi-IPN ทุกๆ อัตราส่วน และพบการเปลี่ยนแปลงที่ช่วงอุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงถึงการสูญเสียความชื้นภายในสายโซ่พอลิแซคคาร์ไรด์ แต่ไม่พบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของไคโตซาน



รูปที่ 7 เทอร์โมแกรม DSC ของยางธรรมชาติ



รูปที่ 8 เทอร์โมแกรม DSC ของไคโตซาน



รูปที่ 9 เทอร์โมแกรม DSC วัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ (A) semi-IPN 1:10 (B) semi-IPN 1:7.5 และ (C) semi-IPN 1:2.5

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เตรียมวัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติ โดยการกราฟต์ไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต (DMAEMA) บนสายโซ่โมเลกุลไคโตซาน พบว่าไคโตซานน้ำหนักโมเลกุลสูงและน้ำหนักโมเลกุลปานกลางแสดงค่าร้อยละการกราฟต์สูงสุดใกล้เคียงกัน คือ 19.25 และ 19.45 ตามลำดับ ที่ปริมาณ มอนอเมอร์ 45 เปอร์เซ็นต์โดยโมลของไคโตซาน การเกิดกราฟต์โคพอลิเมอร์สามารถยืนยันได้ด้วยเทคนิค FTIR โดย FTIR สเปกตรัมแสดงพีคสำคัญของไคโตซานที่ตำแหน่ง 1651 และ 1563 ซม.$^{-1}$ ของพันธะเอไมด์และที่ตำแหน่ง 1727 ซม$^{-1}$ ของหมู่เอสเทอร์ในพอลิไดเมทิล-อะมิโนเอทิลเมทาคริเลต เป็นการแสดงว่าบนสายโซ่โมเลกุลของไคโตซานมีพอลิไดเมทิลอะมิโนเอทิลเมทาคริเลต สมบัติเชิงความร้อนของกราฟต์โคพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้มีความ

เสถียรต่อความร้อนลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับไคโตซาน และไคโตซานเกิดการเชื่อมขวางสูงสุด เมื่อใช้กลูตารัลดีไฮด์ 20 เปอร์เซ็นต์โดยโมลของไคโตซาน

โครงสร้างของวัสดุ semi-IPN ของไคโตซานดัดแปรและยางธรรมชาติยืนยันด้วยเทคนิค FTIR โดยปรากฏพีคสำคัญของยางธรรมชาติที่ตำแหน่ง 836 ซม.$^{-1}$ ของพันธะ C=CH และพีค C=O ของไดเมทิลอะมิโนเอทิล เมทาคริเลตที่ตำแหน่ง 1724 ซม.$^{-1}$ และพีคสำคัญของไคโตซานที่ตำแหน่ง 1662 ซม.$^{-1}$ และ 1559 ซม.$^{-1}$ สมบัติเชิงความร้อนของวัสดุ semi-IPN พบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของส่วนยางธรรมชาติที่อุณหภูมิ -61 องศาเซลเซียส ซึ่งเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับยางธรรมชาติ (-63 องศาเซลเซียส) แต่ไม่พบอุณหภูมิเปลี่ยนสภาพแก้วของไคโตซาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สำหรับทุนสนับสนุนการวิจัย และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

พงษ์ธร แซ่อุย. (2548). ยาง : ชนิด สมบัติ และการใช้งาน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (เอ็มเทค).

รัดเกล้า ภูติวรนาถ. (2539). การทำให้เกิดโครงร่างตาข่ายของแผ่นฟิล์มไคโตแซนโดยการใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารช่วยในการเกิดโครงร่างตาข่าย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Antonio, C. R., Eunice, V. F. S. and Roy, B. E. (2008). The removal of the indigo carmine dye from aqueous solutions using crosslinked chitosan-Evaluation of adsorption thermodynamics using a full factorial design. Hazardous Materials. 153: 566-574.

Klempner, D., Sperling, L. H. and Utracki, L. A. (1991). Interpenetrating polymer networks. New York: American Chemical Society.

Prashanth, K. Harish, V. and Tharannathan, R. N. (2003). Studies on graft copolymerization of chitosan with synthetic monomers. Carbohydrate Polymer. 54: 343-351.

Sakurai, K., Maegawa, T. and Takahashi, T. (2000). Glass transition temperature of chitosan and miscibility of chitosan/poly(N-vinyl pyrrolidone) blends. Polymer. 41: 7051-7056.

Wiyong, K., Robert G. G. and Suda, K. (2005). Modification of natural rubber by grafting with hydrophilic vinyl monomers. Macromolecular Chemistry and Physic. 206: 2450-2460.

Zhang, J., Yuan, Y., Shen, J. and Lin, S. (2003). Synthesis and characterization of chitosan grafted poly (*N,N*-dimethyl-N-methacryloxyethyl-*N*-(3-sulfopropyl) ammonium) initiated by ceric (IV) ion. European Polymer Journal. 39: 847-850.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 582-592 (2553) KKU Sci. J.38(4) 582-592 (2010)

ลักษณะสมบัติของขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเพื่อนำไปใช้ในการเกษตร

Characteristics of Composted Solid Waste from Landfill for Agricultural Uses

อุษณีย์ อุยะเสถียร [1] จตุพร ไชยนิรมิตกุล [1] พชรมณฑ์ สิงหะไกรวรรณ [1] และ เมธาวี รจิตวัฒนา [1]*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบ เพื่อความเหมาะสมในการใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตร โดยเก็บตัวอย่างจากหลุมฝังกลบสามแห่ง ได้แก่ หลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี ซึ่งถูกฝังกลบมาแล้วเป็นเวลา 7 4 และ 5 ปี ตามลำดับ ในการศึกษานี้ได้วิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก (แคดเมียม โครเมียม ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และ สังกะสี) คุณสมบัติในการใช้เป็นปุ๋ย (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม พีเอช ค่าการนำไฟฟ้า อินทรีย์คาร์บอน และอินทรียวัตถุ) ตลอดจนทดสอบการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของพืช ผลการศึกษาพบว่า ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึงและเทศบาลเมืองแสนสุข ไม่เหมาะสมกับการใช้เป็นปุ๋ยเพราะมีธาตุอาหารและปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ แต่อย่างไรก็ตามสามารถนำไปใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินได้ เพราะมีปริมาณโลหะหนักต่ำ ส่วนตัวอย่างจากเทศบาลเมืองสระบุรีมีธาตุอาหารส่วนใหญ่ค่อนข้างมาก แต่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักบางชนิดเช่น แคดเมียม ทองแดง ตะกั่วและสังกะสี ค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A) และจีน การนำไปใช้จึงต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ ไม่ควรนำไปใช้กับพืชที่ใช้บริโภค และถ้าจะใช้ซ้ำๆ ควรมีการติดตามตรวจสอบโลหะหนักในดินอย่างสม่ำเสมอ

Abstract

The study was conducted to investigate characteristics of composted solid waste from landfills for evaluation of the suitability in agricultural uses. Samples were taken from three landfills, namely Ban Bueng

[1] คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

* Corresponding Author, E-mail: enuuy@mahidol.ac.th

Municipality's landfill, Saen Suk Municipality's landfill and Saraburi Municipality's landfill. Heavy metal contents (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn) and fertilizing properties (N, P, K, pH, electrical conductivity, organic carbon, and organic matter) of composted solid waste were analyzed. Seed germination test and plant growth test were also carried out in this study. The results indicated that samples from Ban Bueng and Saen Suk Municipality's landfills were not suitable to use as fertilizer because of low nutrients and organic matter contents. However, they could be used as soil amendment because they contained low concentrations of heavy metals. On the other hand, sample from Saraburi Municipality's landfill contained high amounts of nutrients, but quite high level of heavy metals such as Cd, Cu, Pb and Zn when compared with Canadian (Category A) and Chinese compost standards. For this reason, it could be used restrictedly for growing non-food crops with periodic monitoring of soil quality if it is used repeatedly.

คำสำคัญ: หลุมฝังกลบขยะ ขยะที่ย่อยสลายแล้ว โลหะหนัก คุณสมบัติในการใช้เป็นปุ๋ย การงอกของเมล็ด
Keywords: Landfill, Composted solid waste, Heavy metals, Fertilizing properties, Seed germination

บทนำ

ขยะเป็นปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่น่าเป็นห่วงปัญหาหนึ่ง เพราะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง การฝังกลบอย่างถูกหลักสุขาภิบาลเป็นที่นิยมในการกำจัดขยะ เนื่องจากเป็นระบบที่มีค่าใช้จ่ายในการลงทุนและการดูแลรักษาค่อนข้างต่ำ การจัดการไม่สลับซับซ้อน และมีความยืดหยุ่นมากในการรองรับทั้งด้านปริมาณและลักษณะของขยะ (Dijkgraaf and Vollebergh, 2004) อย่างไรก็ตามการฝังกลบยังมีข้อเสียหลายประการ เช่น เกิดกลิ่นเหม็นรบกวน เกิดการรั่วซึมของน้ำชะขยะ เป็นแหล่งกักเก็บเชื้อโรคต่างๆ และใช้พื้นที่ค่อนข้างมาก เป็นต้น (Alan, 2001; Dijkgraaf and Vollebergh, 2004)

เมื่อขยะในหลุมฝังกลบย่อยสลายจนมีความคงตัวแล้ว สามารถใช้ประโยชน์หลุมฝังกลบได้ 2 ลักษณะ คือ 1) ใช้ประโยชน์บนพื้นที่ของหลุมฝังกลบ เช่นใช้ทำสนามกอล์ฟ ศูนย์กีฬาซอฟท์บอล และสวนสาธารณะ (Mackey, 1996) และ 2) ใช้ทำหลุมฝังกลบใหม่หลังจากขุดเพื่อนำผลิตภัณฑ์ในหลุมฝังกลบขึ้นมาใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร ในรูปของวัสดุปรับปรุงดินหรือปุ๋ย หรือใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น ใช้เป็นวัสดุกลบเหมือง และถมที่ วัสดุในการก่อสร้างทางหลวง หรือวัสดุกลบทับในหลุมฝังกลบขยะ (Wei et al., 2000)

การนำดินและขยะที่ย่อยสลายแล้ว (composted solid waste) จากหลุมฝังกลบไปใช้ประโยชน์จะต้องทำการวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆได้แก่ ปริมาณโลหะหนัก คุณสมบัติในการใช้เป็นปุ๋ย การทดสอบการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของพืช เพราะการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรอาจทำให้เกิดการสะสมสารพิษเข้าสู่ระบบนิเวศได้ โดยเฉพาะโลหะหนัก (Hargreaves et al., 2008; Wei et al., 2000) ดังนั้นการศึกษานี้จึงทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางการเกษตรของขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเพื่อประเมินความเหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรที่จะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

วิธีการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี ซึ่งฝังกลบมาประมาณ 7 4 และ 5 ปี ตามลำดับ โดยขั้นแรกใช้รถเครนตักเปิดหน้าดิน

ออกก่อน เพราะด้านบนจะมีชั้นดินประมาณ 0.5 เมตร หลังจากนั้นใช้รถเครนตักขยะที่ระดับความลึกประมาณ 1.7- 3 เมตร ขึ้นมาจากหลุมฝังกลบ เก็บตัวอย่างหลุมฝังกลบละ 1 ตัวอย่าง คัดแยกขยะส่วนที่ไม่ย่อยสลายออก เช่น โลหะ แก้ว พลาสติก จากนั้นจึงนำใส่ถุงพลาสติก ผูกมัดปากถุง และนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างมาผึ่งลมจนแห้ง ขยะที่ย่อยสลายแล้วจะหลุดออกมาจากขยะอื่นๆที่ปะปนมา และมีลักษณะคล้ายดิน จากนั้นนำไปร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 12.5 มิลลิเมตร แบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1-2 มิลลิเมตร เพื่อนำไปทดสอบการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของพืช ตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งนำไปอบที่ 70 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ นำไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.42 มิลลิเมตร แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาค่าของพารามิเตอร์ต่างๆ

การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ ได้แก่ โลหะหนัก (แคดเมียม โครเมียม ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี) และคุณสมบัติในการใช้เป็นปุ๋ย (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม พีเอช ค่าการนำไฟฟ้า อินทรีย์คาร์บอน และ อินทรียวัตถุ) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

1. โลหะหนัก

สำหรับการวิเคราะห์โลหะหนัก ได้แก่ แคดเมียม โครเมียม ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี ได้ย่อยตัวอย่างด้วยกรดไนตริกและกรดไฮโดรคลอริกแล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วย atomic absorption spectrophotometer (Varian รุ่น Duo 240 FS/ 240 ZEEMAN) โดยใช้สารมาตรฐานปรับเทียบชนิด single-element standards ของ High-purity Standards

2. คุณสมบัติในการใช้เป็นปุ๋ย

ในการวิเคราะห์ไนโตรเจนใช้วิธีเจลดาห์ล (Kjeldahl method) ฟอสฟอรัสใช้วิธีวานาโดโมลิบโดฟอส-ฟอริกแอซิด โพแทสเซียมโดยย่อยตัวอย่างด้วยกรดไนตริกและกรดเปอร์คลอริก แล้วนำไปวิเคราะห์หาโพแทสเซียมด้วย atomic absorption spectrophotometer ตรวจวัดค่าพีเอชด้วย pH meter โดยใช้ตัวอย่างผสมกับน้ำที่อัตราส่วน 1 ต่อ 10 ตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้าด้วย conductivity meter โดยใช้ตัวอย่างผสมกับน้ำที่อัตราส่วน 1 ต่อ 10 ตรวจวัดค่าอินทรีย์คาร์บอนด้วยวิธี Walkley and Black ส่วนค่าอินทรียวัตถุได้จากการคำนวณ โดยมีค่า 1.724 เท่าของค่าอินทรีย์คาร์บอน

การทดสอบการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของพืช

1. การทดสอบการงอกของเมล็ด

นำตัวอย่างมาสกัดโดยใช้อัตราส่วน ตัวอย่าง 1 ส่วนต่อน้ำ 10 ส่วน จากนั้นนำน้ำสกัดมาทดสอบการงอกของเมล็ดกวางตุ้งฮ่องเต้ (เนื่องจากเป็นพืชที่งอกได้ง่ายและมีรากที่ค่อนข้างตรง) ในที่มืดที่ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทดสอบตัวอย่างละ 4 จานเพาะ ๆ ละ 10 เมล็ด ใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม และวิเคราะห์ผลที่ได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2551)

2. การทดสอบการเจริญเติบโตของพืช

ทำการปลูกข้าวโพดโดยใช้ดินผสมกับตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบ 2 อัตราส่วน ได้แก่ ดิน 1 กิโลกรัมต่อตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบ 19.23 กรัม (อัตราส่วนนี้ใช้ปุ๋ย 6 ตันต่อไร่) และดิน 0.5 กิโลกรัมต่อตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบ 0.5 กิโลกรัม ทดสอบอัตราส่วนละ 3 กระถาง โดยหยอดเมล็ดข้าวโพดกระถางละ 4 เมล็ด เมื่ออายุ 5 วัน ถอนต้นที่อ่อนแอทิ้งให้เหลือกระถางละ 2 ต้น ที่มีขนาดสม่ำเสมอ อย่าให้แห้งหรือแฉะจนเกินไปจนอายุ 14 วัน แล้ววิเคราะห์การเจริญเติบโตของต้นข้าวโพด โดยมีกระถางที่ใช้แต่ดินเป็นชุดควบคุม (กรมพัฒนาที่ดิน, 2548)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

โลหะหนัก

ผลการวิเคราะห์เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานแสดงดังตารางที่ 1

แคดเมียม ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข มีปริมาณแคดเมียม 1.47 และ 0.60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานทั้ง 4 ประเทศ ได้แก่ มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ปีพุทธศักราช 2548 ของไทย มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดาและของจีน และมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสีย (sewage sludge) ของสหรัฐอเมริกา (US EPA) แต่สำหรับตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรี มีแคดเมียมอยู่ถึง 4.09 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งเกินค่ามาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน (3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และมาตรฐานปุ๋ยหมักประเภท A, AA ของแคนาดา (3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) คาดว่าปริมาณแคดเมียมในขยะอาจมาจากขยะอิเล็กทรอนิกส์และถ่านไฟฉายที่ปนเปื้อนในหลุมฝังกลบ เนื่องจากแคดเมียมเป็นโลหะหนักที่มีพิษและสามารถดูดเข้าไปสะสมในเนื้อเยื่อพืชได้ จึงต้องระมัดระวังหรือมีข้อจำกัดในการนำมาใช้ทางการเกษตร เพื่อไม่ให้ส่งผลต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

โครเมียม ตัวอย่างทั้งสามมีปริมาณโครเมียมที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดาและของจีนอยู่มาก โดยที่ขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี มีปริมาณโครเมียม 30.17 10.05 และ 25.88 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งระดับโครเมียมในตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบทั้งสามแห่งอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยต่อการนำไปใช้ในการเกษตร

ทองแดง ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข มีทองแดงอยู่ 16.93 และ 13.41 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักประเภท A, AA ของแคนาดา (100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย (500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา (1500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) แต่สำหรับตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรี มีปริมาณทองแดง 125.68 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทยและมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา แต่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A, AA) คาดว่าทองแดงในขยะอาจมาจากขยะประเภท ผลิตภัณฑ์ทองเหลือง อุปกรณ์ไฟฟ้า และยาฆ่าแมลง เป็นต้น เมื่อนำปุ๋ยหมักที่มีทองแดงอยู่ไปใช้ในดินที่มีสภาวะเป็นด่าง ทองแดงจะถูกตรึงอยู่ในดินได้มากกว่าในกรณีที่ดินมีสภาวะเป็นกรด สำหรับพืชบางชนิด เช่น ส้ม เมื่อนำไปปลูกในดินที่มีพีเอชไม่เกิน 5 และมีปริมาณทองแดง 125 - 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ก็สามารถแสดงอาการเป็นพิษจากการได้รับทองแดงมากเกินไปได้ (มุกดา สุขสวัสดิ์, 2544)

นิกเกิล ตัวอย่างทั้งสามได้แก่ ขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี มีปริมาณนิกเกิล 20.42 7.85 และ 39.30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดค่ามาตรฐานของนิกเกิลในปุ๋ยจึงเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของต่างประเทศ ซึ่งพบว่านิกเกิลในตัวอย่างทั้งสามมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดาและมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา

ตะกั่ว ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข มีตะกั่ว 94.36 และ 55.37 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักของจีนและแคนาดา มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย และมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา แต่สำหรับตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรีมีตะกั่ว 222.71 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งเกินค่ามาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน (100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และค่ามาตรฐานปุ๋ยหมักประเภท A, AA ของแคนาดา (150 มิลลิกรัม/

ตารางที่ 1 ปริมาณโลหะหนักในขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบของเทศบาลเมืองบ้านบึงแสนสุขและสระบุรี เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

พารามิเตอร์	ตัวอย่าง			ค่ามาตรฐาน				
				แคนาดา [1]		ไทย [2]	จีน [3]	สหรัฐ [4]
	ขยะที่ย่อยสลายแล้วบ้านบึง	ขยะที่ย่อยสลายแล้วแสนสุข	ขยะที่ย่อยสลายแล้วสระบุรี	ปุ๋ยหมักประเภท A** (A, AA)	ปุ๋ยหมักประเภท B***	ปุ๋ยอินทรีย์ (พ.ศ. 2548)	ปุ๋ยหมัก (GB8172-87)	กากตะกอนน้ำเสีย (US EPA PART 503)
Cd (มก./กก.*)	1.47 ± 0.34	0.60 ± 0.27	4.09 ± 0.22	3	20	5	3	39
Cr (มก./กก.*)	30.17 ± 8.75	10.05 ± 1.67	25.88 ± 4.33	210	1060	300	300	-
Cu (มก./กก.*)	16.93 ± 0.31	13.41 ± 5.79	125.68 ± 44.27	100	757	500	-	1500
Ni (มก./กก.*)	20.42 ± 5.08	7.85 ± 1.87	39.30 ± 0.94	62	180	-	-	420
Pb (มก./กก.*)	94.36 ± 7.09	55.37 ± 19.48	222.71 ± 5.16	150	500	500	100	300
Zn (มก./กก.*)	55.44 ± 0.86	90.26 ± 17.43	801.28 ± 72.53	500	1850	-	-	2800

[1] ที่มา: Bureau de Normalization du Quebec (BNQ), the Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME),and Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), 2009

[2] ที่มา: ประกาศกรมวิชาการเกษตร, 2548 (เนื่องจากฉบับ พ.ศ. 2552 ไม่ได้กำหนดไว้)

[3] ที่มา: Department of Rural and Urban Construction and Environmental Protection, 1987 อ้างถึงใน Wei, 2000

[4] ที่มา: US EPA PART 503-standards for the use or disposal of sewage sludge, 2003

* มก./กก. น้ำหนักแห้ง

** ปุ๋ยหมักประเภท A หมายถึง ปุ๋ยหมักคุณภาพสูง ไม่จำกัดการใช้

*** ปุ๋ยหมักประเภท B หมายถึง ปุ๋ยหมักคุณภาพไม่สูง ต้องจำกัดการใช้

กิโลกรัม) แต่ยังคงผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย และมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา คาดว่าตะกั่วอาจมาจากขยะ อิเล็กโทรนิกส์ ตะกั่วบัดกรี ฟิวส์ สี พลาสติก และ สีในของเล่นเด็ก เป็นต้น

สังกะสี ขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข มีสังกะสี 55.44 และ 90.26 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A, AA) และมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา แต่สำหรับตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรีซึ่งมีสังกะสีอยู่ถึง 801.28 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แม้จะผ่านเกณฑ์มาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา แต่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักประเภท A, AA ของแคนาดา (500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) คาดว่าอาจมาจากขยะประเภทถ่านไฟฉาย ผลิตภัณฑ์ทองเหลือง สี และแผ่นเหล็กเคลือบสังกะสี เป็นต้น

สรุปได้ว่า แคดเมียม โครเมียม ทองแดง นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี ในตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานโลหะหนักในปุ๋ยอินทรีย์ปีพุทธศักราช 2548 ของไทย มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A, AA) และของจีน และมาตรฐานกากตะกอนน้ำเสียของสหรัฐอเมริกา ในขณะที่ขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรี มีปริมาณแคดเมียมและตะกั่วเกินค่ามาตรฐานปุ๋ยหมักของจีนและมีปริมาณแคดเมียม ทองแดง ตะกั่วและสังกะสีเกินค่ามาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A, AA)

คุณสมบัติในการใช้เป็นปุ๋ย

ผลการวิเคราะห์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม พีเอช ค่าการนำไฟฟ้า อินทรีย์คาร์บอน อินทรียวัตถุ และ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน แสดงในตารางที่ 2

ไนโตรเจน ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุขมีไนโตรเจน 0.08 และ ร้อยละ 0.03 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ปีพุทธศักราช 2552 ของไทย ($\geq$ ร้อยละ 1) และมาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน ($\geq$ ร้อยละ 0.5) ส่วนตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรีมีไนโตรเจนร้อยละ 0.73 ซึ่งมีค่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย แต่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน โดยทั่วไปไนโตรเจนในปุ๋ยหมักจะอยู่ในรูปสารอินทรีย์เกือบทั้งหมด มีส่วนน้อยที่อยู่ในรูปแอมโมเนียและไนเตรตที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที ไนโตรเจนที่เหลือจะค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาให้พืชได้ใช้จากการสลายตัวของปุ๋ยหมัก (ยงยุทธ โอสถสภา และคณะ, 2551)

ฟอสฟอรัส ขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข มีปริมาณฟอสฟอรัสในรูป P_2O_5 อยู่ 0.05 และร้อยละ 0.04 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานพบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย ($\geq$ ร้อยละ 0.5) และมาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน ($\geq$ ร้อยละ 0.3) แต่ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรีมีฟอสฟอรัสในรูป P_2O_5 อยู่ร้อยละ 1.14 ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทยและมาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน อย่างไรก็ตามหากนำไปใช้เป็นปุ๋ยในปริมาณมาก ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสที่มีอยู่มากอาจมีส่วนเร่งให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น (Eutrophication) ในแหล่งน้ำจืดบริเวณใกล้เคียงได้ (Sharpley et al., 1994 อ้างถึงใน Hargreaves et al., 2008)

โพแทสเซียม ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองแสนสุข มีโพแทสเซียมในรูป K_2O เพียงร้อยละ 0.35 ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย ($\geq$ ร้อยละ 0.5) ส่วนตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึงและเทศบาลเมืองสระบุรีมีโพแทสเซียมในรูป K_2O

ตารางที่ 2 คุณสมบัติในการใช้เป็นปุ๋ยของขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

พารามิเตอร์	ตัวอย่าง			ค่ามาตรฐาน			
	ขยะที่ย่อยสลายแล้ว บ้านบึง	ขยะที่ย่อยสลายแล้ว แสนสุข	ขยะที่ย่อยสลายแล้ว สระบุรี	แคนาดา [1]		ไทย [2]	จีน [3]
				ปุ๋ยหมัก ประเภท A* (A, AA)	ปุ๋ยหมัก ประเภท B**	ปุ๋ยอินทรีย์ (พ.ศ.2552)	ปุ๋ยหมัก (GB8172-87)
N (%)	0.08± 0.01	0.03± 0.01	0.73± 0.02	-	-	≥1.0	≥0.5
P_2O_5 (%)	0.05± 0.02	0.04± 0.02	1.14± 0.11	-	-	≥0.5	≥0.3
K_2O (%)	0.50± 0.14	0.35± 0.11	0.97± 0.14	-	-	≥0.5	≥1.0
พีเอช	8.03± 0.02	8.12± 0.01	7.88± 0.04	-	-	5.5 – 8.5***	6.5-8.5
ค่าการนำไฟฟ้า (เดซิซีเมนส์/เมตร)	0.956± 0.089	0.744±0.030	3.503± 0.222	-	-	≤10	-
อินทรียวัตถุ (%)	0.95± 0.05	0.35± 0.06	6.99± 0.17	≥50 (AA) ≥40 (A)	≥30	≥20	-
อัตราส่วน C/N	6.6± 0.7	7.5± 0.4	5.6± 0.3	≤25	≤25	≤20	-

[1] ที่มา: Bureau de Normalization du Quebec (BNQ), the Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME), and Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), 2009

[2] ที่มา: ประกาศกรมวิชาการเกษตร, 2552

[3] ที่มา: Department of Rural and Urban Construction and Environmental Protection, 1987 อ้างถึงใน Wei, 2000

* ปุ๋ยหมักประเภท A หมายถึง ปุ๋ยหมักคุณภาพสูง ไม่จำกัดการใช้

** ปุ๋ยหมักประเภท B หมายถึง ปุ๋ยหมักคุณภาพไม่สูง ต้องจำกัดการใช้

*** ตามมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ.2548 (เนื่องจากมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ.2552 ไม่ได้กำหนดไว้)

0.50 และร้อยละ 0.97 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย แต่ก็ยังไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน (≥ ร้อยละ 1.0)

พีเอช พีเอชของตัวอย่างอยู่ในช่วง 7.88-8.12 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับพีเอชของปุ๋ยที่ผลิตมาจากขยะชุมชน ซึ่งมีค่า 7.5-8.5 (ยงยุทธ โอสถสภา และคณะ, 2551) หากเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานแล้ว ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบทั้งสามแห่ง มีค่าพีเอชผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ปีพุทธศักราช 2548 ของไทย (5.5 - 8.5) และมาตรฐานปุ๋ยหมักของจีน (6.5 - 8.5)

ค่าการนำไฟฟ้า ขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี มีค่าการนำไฟฟ้า 0.956, 0.744 และ 3.503 เดซิซีเมนส์/เมตร ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ ของไทย (≥ 10 เดซิซีเมนส์/

เมตร) และมาตรฐานปุ๋ยหมักของอินเดียซึ่งกำหนดไว้ไม่เกิน 4 เดซิซีเมนส์/เมตร (Saha et al., 2010)

อินทรีย์คาร์บอนและอินทรียวัตถุ ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี มีค่า 0.55, 0.20 และร้อยละ 4.05 ตามลำดับ ส่วนปริมาณอินทรียวัตถุในตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี มีค่า 0.95, 0.35 และร้อยละ 6.99 ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานมาก ทั้งมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทยที่กำหนดให้ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 20 และมาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท B) ที่ต้องมีค่าไม่ต่ำกว่าร้อยละ 30

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง เทศบาลเมืองแสนสุข และเทศบาลเมืองสระบุรี มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 6.6, 7.5 และ 5.6 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ของไทย ($\geq$ 20) และมาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา ($\geq$ 25)

การทดสอบการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของพืช

การทดสอบการงอกของเมล็ด ผลการงอกสัมพัทธ์ของเมล็ดกวางตุ้งฮ่องเต้ในน้ำสกัดจากขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข มีค่า 91.0 และร้อยละ 105.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา ที่กำหนดให้อัตราการงอกของเมล็ดมากกว่าร้อยละ 90 ของชุดควบคุม หรือการงอกสัมพัทธ์มากกว่าร้อยละ 90 (BNQ, CCME, and AAFC, 2009) พบว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐาน แต่น้ำสกัดจากตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรีให้ค่าการงอกสัมพัทธ์เพียงร้อยละ 68.0 ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานข้างต้น ทั้งนี้อาจเกิดจากค่าการนำไฟฟ้าของขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรี มีค่าสูงกว่าค่าการนำไฟฟ้าของขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึง และเทศบาลเมืองแสนสุข ซึ่งทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะไปยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ (He et al., 1995 อ้างถึงใน Hargreaves et al., 2008)

ตารางที่ 3 การงอกของเมล็ดกวางตุ้งฮ่องเต้ (*Brassica campestris var.chinensis*) เมื่อเพาะในน้ำสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

	จำนวนเมล็ดที่งอก	% การงอกของเมล็ด	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	การงอกสัมพัทธ์ของเมล็ด (%)	ความยาวรากสัมพัทธ์ (%)
ชุดควบคุม (Control)	34	85.0	0.9 ± 0.4	100.0	100.0
ขยะที่ย่อยสลายแล้ว บ้านบึง	31	77.5	0.8 ± 0.3	91.0	88.9
ขยะที่ย่อยสลายแล้ว แสนสุข	36	90.0	0.9 ± 0.1	105.9	100.0
ขยะที่ย่อยสลายแล้ว สระบุรี	23	57.5	0.7 ± 0.2	68.0	77.8

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดหวาน (Zea mays L. var saccharate Bailey) กับเกณฑ์มาตรฐาน

ตัวอย่าง		ความสูงลำต้น (เซนติเมตร)						น้ำหนักสดของต้น (กรัม)					
		กระถาง 1		กระถาง 2		กระถาง 3		กระถาง 1		กระถาง 2		กระถาง 3	
ต้นที่		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
ชุดควบคุม (Control)		8.6						1.22					
มาตรฐานกำหนดว่าแตกต่างจากชุดควบคุมไม่เกิน 50%		ต้องมีความสูงระหว่าง 4.3 - 12.9						ต้องมีน้ำหนักสดระหว่าง 0.61 – 1.83					
ขยะที่ย่อยสลายแล้วบ้านบึง	อัตราส่วนที่ 1*	[10.0]	[7.5]	[6.9]	[7.2]			[1.12]	[0.77]	[1.43]	[0.73]		
	อัตราส่วนที่ 2**	(3.5)		[5.0]		[4.8]	[6.7]	(1.96)		[1.67]		[1.61]	[1.86]
ขยะที่ย่อยสลายแล้วแสนสุข	อัตราส่วนที่ 1			[6.8]						[1.68]			
	อัตราส่วนที่ 2	[9.4]		[7.5]				[1.81]		[1.44]			
ขยะที่ย่อยสลายแล้วสระบุรี	อัตราส่วนที่ 1	[11.2]	[7.9]	[9.5]	[7.9]			(3.01)	[1.23]	[1.37]	[1.72]		

* อัตราส่วนที่ 1 ใช้ดิน 1 กิโลกรัมต่อตัวอย่าง 19.23 กรัม (อัตราส่วนนี้ใช้ปุ๋ย 6 ตันต่อไร่)

** อัตราส่วนที่ 2 ใช้ดิน 0.5 กิโลกรัมต่อตัวอย่าง 0.5 กิโลกรัม

ไม่มีการงอกของเมล็ด [ ] การเจริญเติบโตผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

( ) การเจริญเติบโตต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน

การทดสอบการเจริญเติบโตของพืช การวัดความสูงของลำต้นและชั่งน้ำหนักสดของต้นข้าวโพดหวานได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 และเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดาที่กำหนดไว้ว่า พืชที่ทดสอบกับดินผสมกับปุ๋ยหมักตามอัตราส่วนที่กำหนดควรมีการเจริญเติบโตแตกต่างจากชุดควบคุมไม่เกินร้อยละ 50 (BNQ, CCME, and AAFC, 2009) ซึ่งต้นข้าวโพดหวานที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ต้องมีความสูงของลำต้นอยู่ระหว่าง 4.3 - 12.9 เซนติเมตร (ชุดควบคุมมีความสูงลำต้น 8.6 เซนติเมตร) และน้ำหนักสดมีค่าระหว่าง 0.61 - 1.83 กรัม (ชุดควบคุมมีน้ำหนักสด 1.22 กรัม) ส่วนต้นข้าวโพดที่มีค่าแตกต่างจากชุดควบคุมเกินร้อยละ 50 ถือว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

จากตารางที่ 4 เมื่อทดสอบการเจริญเติบโตโดยใช้ดินผสมกับขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึงอัตราส่วนที่ 2 พบว่าต้นข้าวโพดในกระถางที่ 1 มีความสูงไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ในขณะที่กระถางที่ 2 และ 3 ในอัตราส่วนเดียวกันแม้ต้นข้าวโพดมีความสูงผ่านเกณฑ์มาตรฐานแต่ก็ยังมีค่าต่ำ คาดว่าเป็นอาการแคระแกร็นที่เกิดจากการขาดธาตุอาหารที่จำเป็น ส่วนการทดสอบกับดินผสมกับขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรีอัตราส่วนที่ 1 ต้นข้าวโพดไม่มีอาการดังกล่าว เพราะมีธาตุอาหารอยู่มาก ทำให้มีความสูงของลำต้นและน้ำหนักสดมากกว่าชุดควบคุม และต้นข้าวโพดที่ทดสอบกับดินผสมขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบแห่งอื่น

สรุป

ตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองบ้านบึงและเทศบาลเมืองแสนสุข มีปริมาณโลหะหนักต่ำและมีปริมาณธาตุอาหารต่ำกว่า

เกณฑ์มาตรฐานของปุ๋ยอินทรีย์ของไทย มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A, AA) และของจีน จึงอาจนำไปใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินในการเกษตร ส่วนตัวอย่างขยะที่ย่อยสลายแล้วจากหลุมฝังกลบเทศบาลเมืองสระบุรีมีปริมาณธาตุอาหารสูง แต่มีปริมาณแคดเมียมและตะกั่วไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A, AA) และของจีน และมีปริมาณทองแดงและสังกะสีที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยหมักของแคนาดา (ประเภท A, AA) ดังนั้นในการนำไปใช้ประโยชน์ในการเกษตรจะต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ ไม่ควรนำไปใช้กับพืชที่ใช้บริโภค และถ้าจะใช้ซ้ำๆ ควรมีการติดตามตรวจสอบโลหะหนักในดินอย่างสม่ำเสมอ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนสนับสนุนงานวิจัยของคณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับเงินทุนสนับสนุนบางส่วนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. (2551). คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์. กรุงเทพฯ: ควิกปริ๊นท์ ออฟเซ็ท.

มุกดา สุขสวัสดิ์. (2544). ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. หน้า 220-223.

ยงยุทธ โอสถสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชวลิต ฮงประยูร. (2551). ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 219-255.

กรมพัฒนาที่ดิน.สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน. (2548). คู่มือวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า. (เล่ม 2). กรุงเทพฯ: สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน.

Alan, E. (2001). Greenhouse gas dynamics of municipal solid waste alternatives. Journal of the Air and Waste Management Association. 51: 1423-1427.

Bureau de Normalization du Quebec (BNQ), the Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME), and Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC). (2009). Support document for compost quality criteria. Retrieved August 27, 2009, from http://www.compost.org/compostqualitydoc.pdf.

Dijkgraaf, E., and Vollebergh, H. R. J. (2004). Burn or bury? A social cost comparison of final waste disposal methods. Ecological Economics. 50: 233-247.

Hargreaves, J. C., Adl, M. S., and Warman, P. R. (2008). A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. Agriculture, Ecosystems and Environment. 123: 1-14.

He, X., Logan, T., and Traina, S. (1995). Physical and chemical characteristics of selected U.S. municipal solid waste composts. Journal of Environmental Quality. 24: 543-552.

Mackey, R. E. (1996). Three end-uses for closed landfills and their impact on the geosynthetic design. Geotextiles and Geomembranes. 14: 409-424.

Saha, J. K., Panwar, N., and Singh, N. V. (2010). An assessment of municipal solid waste compost quaility produced in different cities of india in the perspective of developing quality control indices. Waste Management. 30: 192-201.

Sharpley, A., Chapra, S., Wedepohl, R., Sims, J., Daniel, T., and Reddy, K. (1994). Managing agricultural phosphorus for protection of surface waters: issues and options. Journal of Environmental Quality. 23: 437-451.

Wei, Y. S., Fan, Y. B., Wang, M. J., and Wang, J. S. (2000). Composting and compost application in China. Resources Conservation and Recycling. 30: 277-300.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 593-605 (2553) KKU Sci. J.38(4) 593-605 (2010)

แบบจำลองเชิงตัวเลขสำหรับการพาความร้อนของของไหลแบบคงตัวในโดเมนรูปสี่เหลี่ยมคางหมู

Numerical Modeling for Natural Convection of Steady Flow in a Trapezoidal Domain

มยุรี สมปุย [1] และ สุพจน์ ไวท์ยางกูร [1]*

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้นำเสนอแบบจำลองเชิงตัวเลขสำหรับการพาความร้อนแบบธรรมชาติของของไหลที่สภาวะคงตัว ภายในช่องปิดรูปสี่เหลี่ยมคางหมู เงื่อนไขขอบที่ผนังจะเป็นผนังหุ้มฉนวน ผนังที่มีอุณหภูมิคงที่ และ อุณหภูมิไม่คงที่ ซึ่งใช้ระเบียบวิธีสมาชิกจำกัด โดยใช้โปรแกรม FlexPDE 5.1.0s Student Version ในการคำนวณเชิงตัวเลข โดยที่จำนวนเรเลย์อยู่ระหว่าง 10^3 ถึง 10^7 และจำนวนเพรนดัล 0.6 ถึง 100 เพื่อเปรียบเทียบและดูพฤติกรรมการไหลของของไหล โดยใช้ภาพฟังก์ชันสายธาร ความเร็วและการกระจายอุณหภูมิของของไหลแสดงผลลัพธ์เชิงตัวเลข

Abstract

In this paper, we present the numerical modeling for natural convection of steady flow within trapezoidal enclosures. Boundary conditions are an insulated wall, a uniform temperature wall and a nonuniform temperature wall. The finite element method is used to solve the problem, The FlexPDE 5.1.0s student version is used to calculate numerically. The numerical experimentations are demonstrate consider

[1] ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

[*] Corresponding Author, E-mail: supot_wa@kku.ac.th

the Rayleigh numbers (*Ra*) from 10^3 to 10^7 and Prandtl numbers (Pr) from 0.6 to 100 to compare the behavior of fluid flows. Numerical results are illustrated by vectors, velocities and distribution of fluid temperature.

คำสำคัญ : สมการนาเวียร์-สโตกส์ วิธีสมาชิกจำกัด การพาความร้อนแบบธรรมชาติ จำนวนเรเลห์ จำนวนเพรนดัล

Keywords : Navier-Stokes equation, Finite Element Method, Natural Convection, Rayleigh Number, Prandtl numbers

บทนำ

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปัญหาการไหลของของไหลแบบพาความร้อนชนิดที่เป็นการพาความร้อนแบบธรรมชาติ (natural convection) นั่นคือ การไหลของของไหลเกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติไม่ต้องอาศัยแรงภายนอก หรือการไหลที่เกิดจากแรงลอยตัว (buoyancy force) ของของไหลภายในช่องปิด โดยกำหนดจำนวนเรเลห์ (Rayleigh number) และจำนวนเพรนดัล (Prandtl number) ที่แตกต่างเพื่อดูพฤติกรรมการไหลของของไหล เมื่อจำนวนเรย์เลห์แสดงอัตราส่วนของแรงลอยตัวเนื่องจากอุณหภูมิกับแรงความหนืดในของไหล และจำนวนเพรนดัลแสดงอัตราส่วนของการแพร่กระจายของโมเมนตัม (momentum diffusivity) กับการแพร่กระจายของพลังงานความร้อน (thermal diffusivity) ปัญหานี้มีผู้สนใจศึกษาอย่างกว้างขวาง โดยมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปัญหานี้ เช่น Sathiyamoorthy and Basak (2007) ได้ศึกษาการหาผลเฉลยเชิงตัวเลขของการพาความร้อนแบบธรรมชาติของของไหลในช่องปิดสี่เหลี่ยมจัตุรัส เมื่อพื้นผิวมีความร้อนสม่ำเสมอ โดยพิจารณาจำนวนเรย์เลห์ระหว่าง 10^3 ถึง 10^5 และจำนวนเพรนดัล 0.7 ถึง 100 Roy and Basak (2009) ศึกษาการพาความร้อนแบบธรรมชาติของของไหลในช่องปิดสี่เหลี่ยมจัตุรัส โดยใช้ระเบียบวิธีสมาชิกจำกัดในการแก้ปัญหา พิจารณาจำนวนเรย์เลห์ระหว่าง 10^3 ถึง 10^5 และจำนวนเพรนดัล 0.6 ถึง 100 มาพิจารณาลักษณะการไหลของของไหล

ระบบสมการเชิงอนุพันธ์ย่อยที่ใช้ในการคำนวณหาลักษณะการไหลแบบการพาความร้อนชนิดที่เป็นการพาความร้อนแบบธรรมชาติ คือ ระบบสมการเชิงอนุพันธ์ย่อยนาเวียร์-สโตกส์ (Navier-Stokes equations) ซึ่งประกอบด้วยสมการอนุรักษ์มวล (conservation of mass) และสมการอนุรักษ์โมเมนตัม (conservation of momentums) รวมกับแรงลอยตัวที่ต้องนำมาพิจารณาในกรณีการพาความร้อนแบบอิสระและใช้สมการอนุรักษ์พลังงาน (conservation of energy) ดังนี้ (Natarajan et al., 2008; Sathiyamoorthy et al., 2007; Basak et al., 2009)

$$\frac{\partial u}{\partial x}+\frac{\partial v}{\partial y}=0 \tag{1}$$

$$u\frac{\partial u}{\partial x}+v\frac{\partial u}{\partial y}=-\frac{1}{\rho}\frac{\partial p}{\partial x}+\nu\left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2}+\frac{\partial^2 u}{\partial y^2}\right) \tag{2}$$

$$u\frac{\partial v}{\partial x}+v\frac{\partial v}{\partial y}=-\frac{1}{\rho}\frac{\partial p}{\partial y}+\nu\left(\frac{\partial^2 v}{\partial x^2}+\frac{\partial^2 v}{\partial y^2}\right)+g\beta\left(T-T_c\right) \tag{3}$$

$$u\frac{\partial T}{\partial x}+v\frac{\partial T}{\partial y}=\alpha\left(\frac{\partial^2 T}{\partial x^2}+\frac{\partial^2 T}{\partial y^2}\right) \tag{4}$$

โดยที่

u	แทน	ความเร็วในแนวแกน x (เมตรต่อวินาที)
v	แทน	ความเร็วในแนวแกน y (เมตรต่อวินาที)
x	แทน	ระยะทางแนวนอน (เมตร)
y	แทน	ระยะทางแนวตั้ง (เมตร)
ρ	แทน	ความหนาแน่น (กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร)
p	แทน	ความดัน (นิวตันต่อตารางเมตร)
T	แทน	อุณหภูมิของของไหล (เคลวิน)
T_c	แทน	อุณหภูมิความเย็นที่ผนังด้านข้าง (เคลวิน)
α	แทน	ค่าคงที่ของการนำความร้อน (ตารางเมตรต่อวินาที)
g	แทน	อัตราการเร่งที่เกิดจากแรงดึงดูดของโลก (เมตรต่อวินาทีกำลังสอง)
β	แทน	สัมประสิทธิ์การขยายตัว (หนึ่งต่อเคลวิน)
ν	แทน	ความหนืดจลศาสตร์ (หน่วยเป็นตารางเมตรต่อวินาทีกำลังสอง)

วิธีดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ใช้ระเบียบวิธีสมาชิกจำกัดหาผลเฉลยเชิงตัวเลขของสมการการพาความร้อนของของไหลแบบธรรมชาติด้วยโปรแกรม FlexPDE 5.1.0s Student Version โดยศึกษาสมการ (1) – (4) ในรูปแบบการวิเคราะห์ตัวแปรไร้มิติ

ให้ $X=\frac{x}{L},\ Y=\frac{y}{L},\ U=\frac{uL}{\alpha},\ V=\frac{vL}{\alpha},\ P=\frac{pL^2}{\rho\alpha^2},\ \Pr=\frac{\nu}{\alpha},$

$$\theta=\frac{T-T_c}{T_h-T_c},\quad Ra=\frac{g\beta(T_h-T_c)L^3}{\nu\alpha}$$

เมื่อ T_h คือ อุณหภูมิความร้อนที่ผนังด้านล่าง

U แทน ความเร็วเริ่มต้นในแนวแกนไร้มิติ x

V แทน ความเร็วเริ่มต้นในแนวแกนไร้มิติ y

X แทน ระยะทางแนวนอนไร้มิติ x

Y แทน ระยะทางแนวนอนไร้มิติ y

L แทน ความสูงหรือความกว้างของวัตถุ

ψ แทน ฟังก์ชันการไหล

ν แทน ค่าความหนืดคิเนเมติก

θ แทน อุณหภูมิไร้มิติ

Ra แทน จำนวนเรย์เลห์

Pr แทน จำนวนเพรนดัล

P แทน ความดัน

จะได้

$$\frac{\partial U}{\partial X}+\frac{\partial V}{\partial Y}=0 \tag{5}$$

$$U\frac{\partial U}{\partial X}+V\frac{\partial U}{\partial Y}=-\frac{\partial P}{\partial X}+\Pr\left(\frac{\partial^2 U}{\partial X^2}+\frac{\partial^2 U}{\partial Y^2}\right) \tag{6}$$

$$U\frac{\partial V}{\partial X}+V\frac{\partial V}{\partial Y}=-\frac{\partial P}{\partial Y}+\Pr\left(\frac{\partial^2 V}{\partial X^2}+\frac{\partial^2 V}{\partial Y^2}\right)+Ra\Pr\theta \tag{7}$$

$$U\frac{\partial \theta}{\partial X}+V\frac{\partial \theta}{\partial Y}=\left(\frac{\partial^2 \theta}{\partial X^2}+\frac{\partial^2 \theta}{\partial Y^2}\right) \tag{8}$$

แทน $P=-\gamma\left(\frac{\partial U}{\partial X}+\frac{\partial V}{\partial Y}\right)$ (Reddy, 1993) ใน (6) และ (7) โดย γ คือ พารามิเตอร์เพนนอลตี (penalty parameter) เมื่อ $\gamma = 10^7$

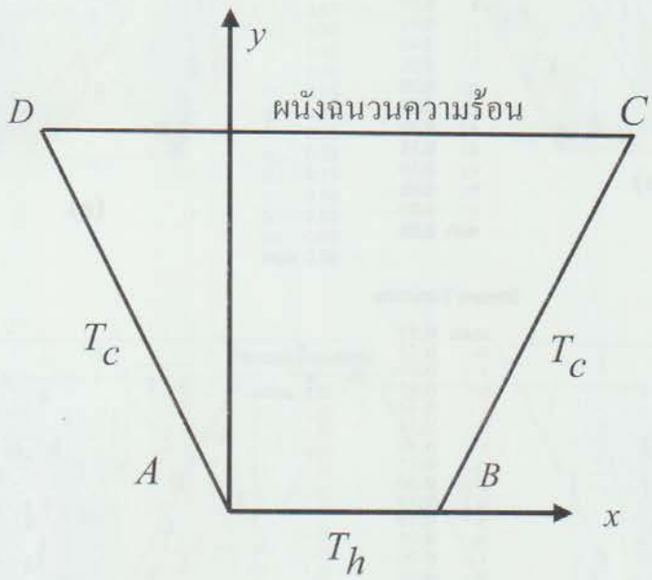
$$U\frac{\partial U}{\partial X}+V\frac{\partial U}{\partial Y} = \gamma\frac{\partial}{\partial X}\left(\frac{\partial U}{\partial X}+\frac{\partial V}{\partial Y}\right)+\Pr\left(\frac{\partial^2 U}{\partial X^2}+\frac{\partial^2 U}{\partial Y^2}\right) \tag{9}$$

$$U\frac{\partial V}{\partial X}+V\frac{\partial V}{\partial Y} = \gamma\frac{\partial}{\partial Y}\left(\frac{\partial U}{\partial X}+\frac{\partial V}{\partial Y}\right)+\Pr\left(\frac{\partial^2 V}{\partial X^2}+\frac{\partial^2 V}{\partial Y^2}\right)+Ra\Pr\theta \tag{10}$$

แทนฟังก์ชันสายธาร $U=\frac{\partial \psi}{\partial Y}$ และ $V=-\frac{\partial \psi}{\partial X}$ ใน (5)

$$\frac{\partial^2\psi}{\partial X^2}+\frac{\partial^2\psi}{\partial Y^2} = \frac{\partial U}{\partial Y}-\frac{\partial V}{\partial X} \tag{11}$$

โดเมนที่ใช้ในงานวิจัย



รูปที่ 1 โดเมนที่ศึกษารูปสี่เหลี่ยมคางหมู

โดยกำหนดเงื่อนไขขอบเขต ดังนี้

บน $AB: U=0, V=0,\ \theta=1$ หรือ $\theta=\sin(\pi X),\ \psi=0$

บน $BC: U=0, V=0,\ \theta=0,\ \psi=0$

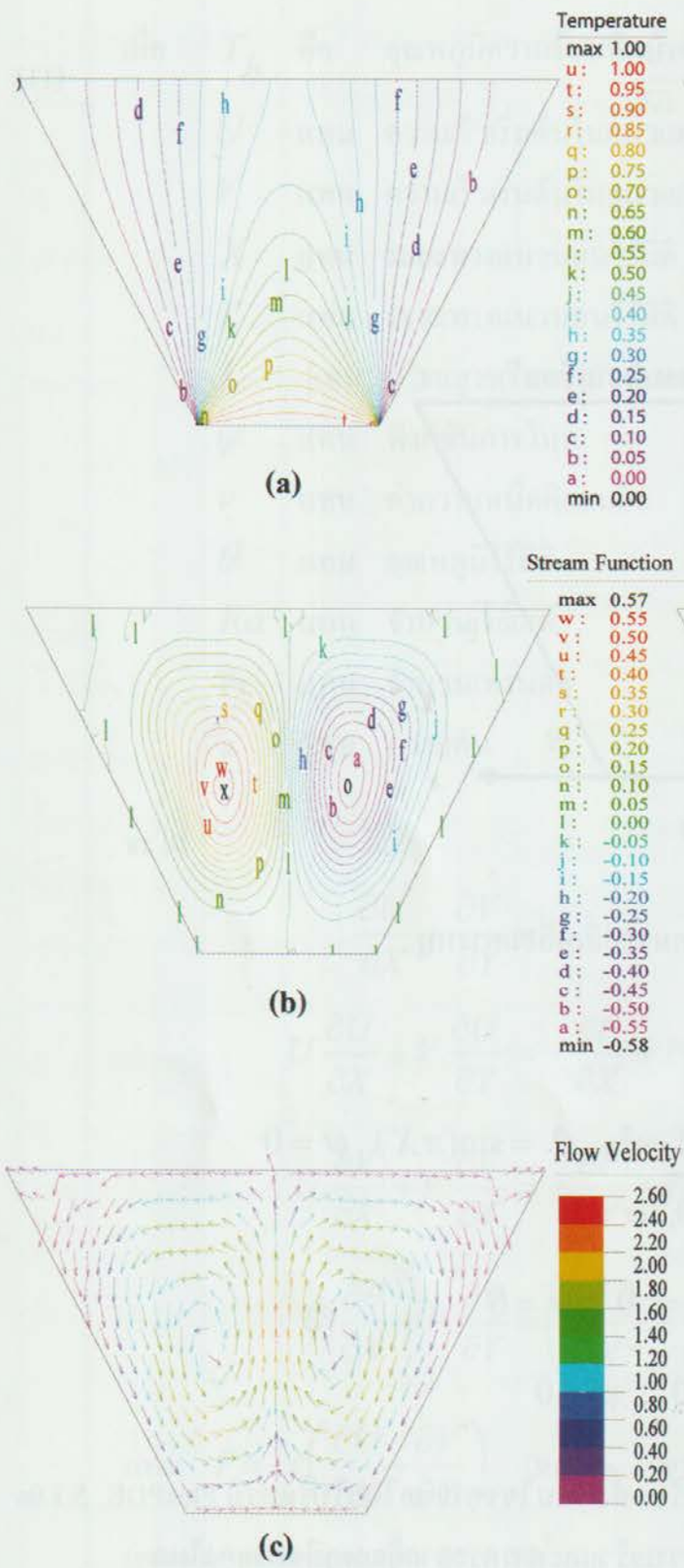
บน $CD: U=0, V=0,\ \dfrac{\partial\theta}{\partial Y}=0,\ \psi=0$

บน $AD: U=0, V=0,\ \theta=0,\ \psi=0$

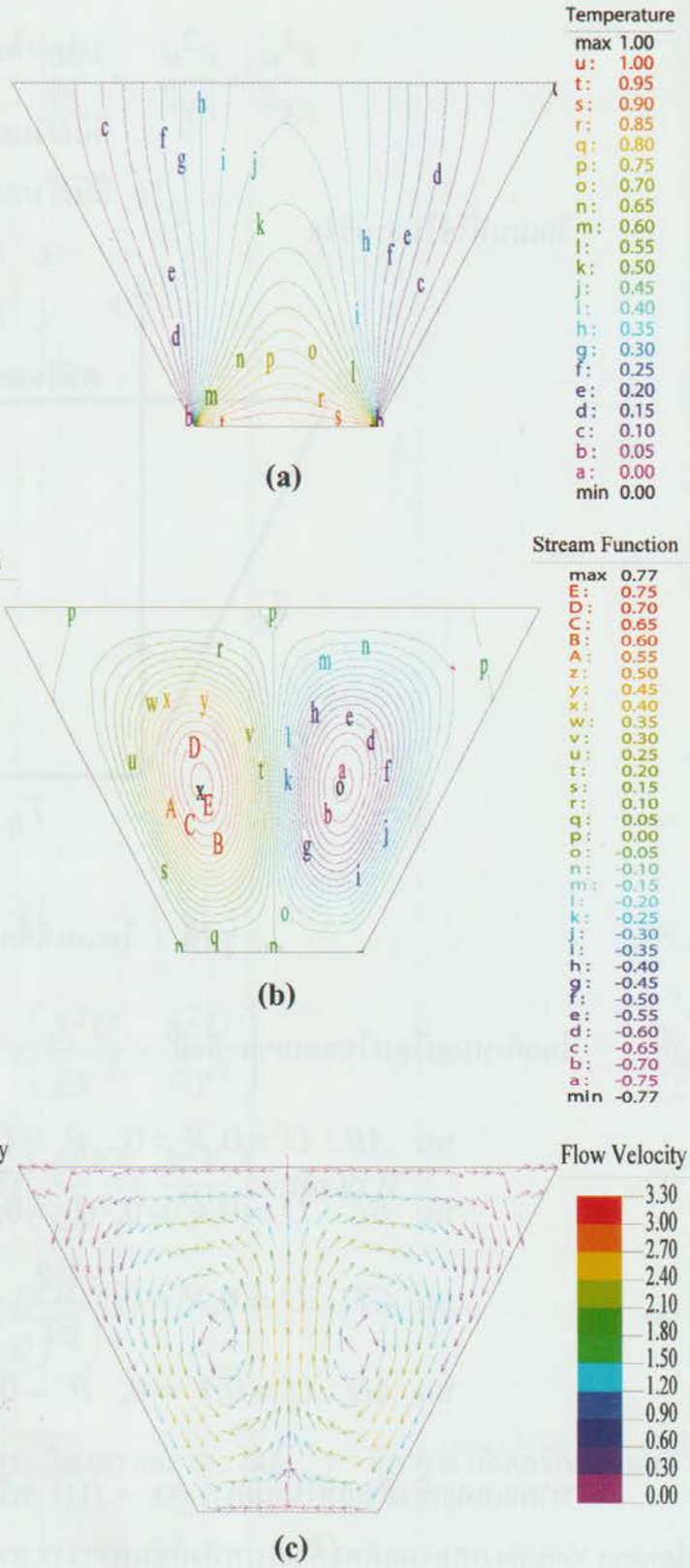
หาผลเฉลยเชิงตัวเลขในสมการ (8) – (11) พร้อมทั้งเงื่อนไขขอบเขตโดยโปรแกรม FlexPDE 5.1.0s Student Version แสดงผลลัพธ์ด้วยภาพฟังก์ชันสายธาร ความเร็วและการกระจายอุณหภูมิของของไหล

ผลการวิจัย

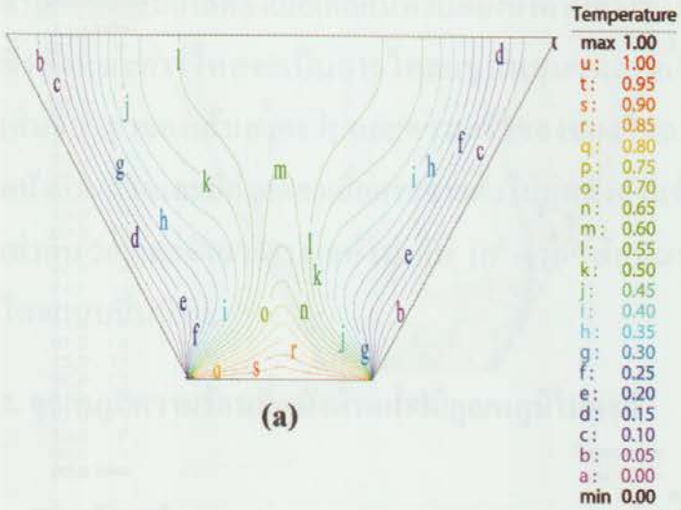
ในการวิจัยนี้เราจะวิเคราะห์ความเร็ว การกระจายอุณหภูมิ และเส้นสายธาร โดยใช้ระเบียบวิธีสมาชิกจำกัดด้วยโปรแกรม FlexPDE 5.1.0s Student Version เมื่อกำหนดจำนวนเรย์เลห์และจำนวนเพรนดัลที่แตกต่างกัน แบ่งเป็น 2 กรณี ดังนี้



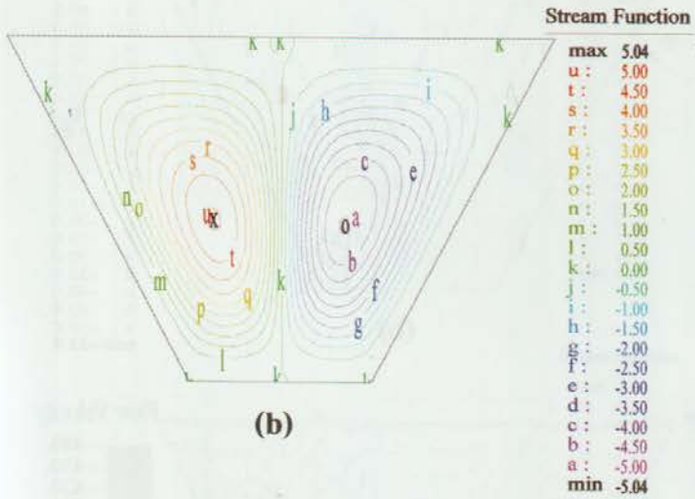
รูปที่ 2 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^3$ และ Pr = *0.6* (อุณหภูมิคงที่)



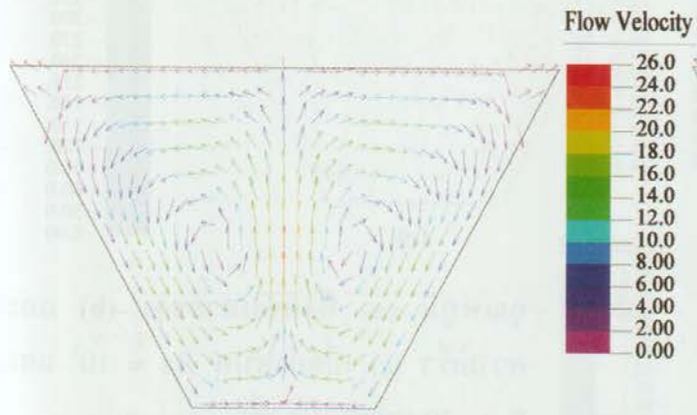
รูปที่ 3 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^3$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิคงที่)



(a)

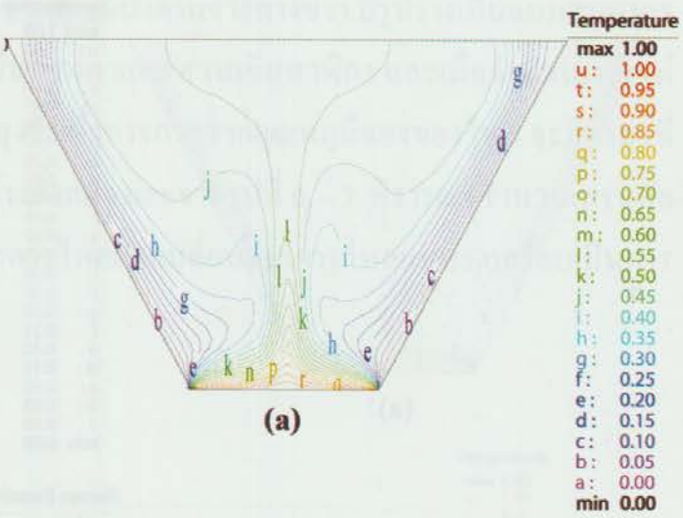


(b)

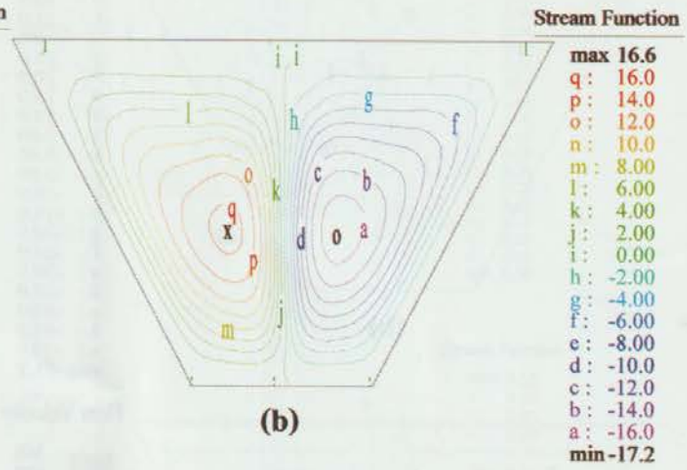


(c)

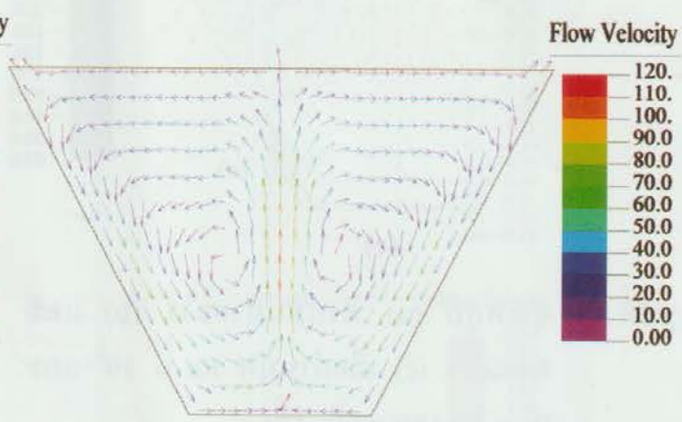
รูปที่ 4 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^4$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิคงที่)



(a)

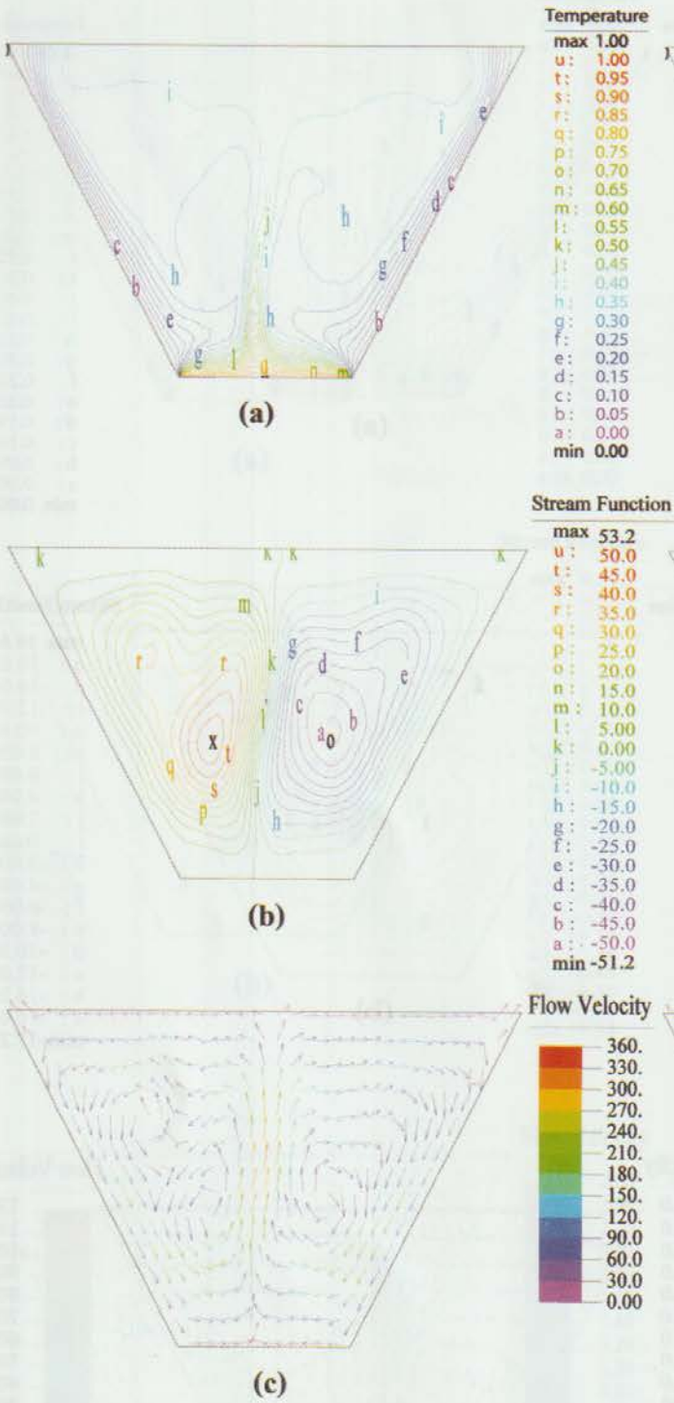


(b)

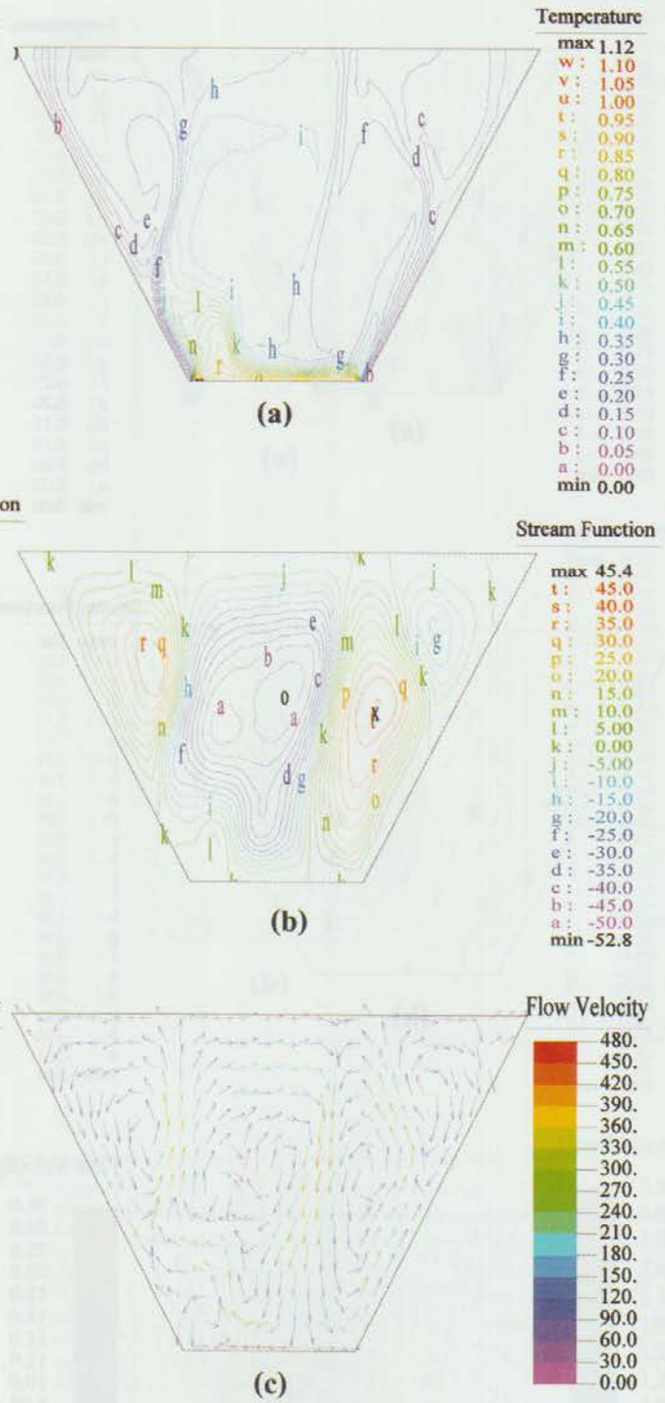


(c)

รูปที่ 5 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^5$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิคงที่)



รูปที่ 6 อุณหภูมิ (a) ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^6$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิคงที่)

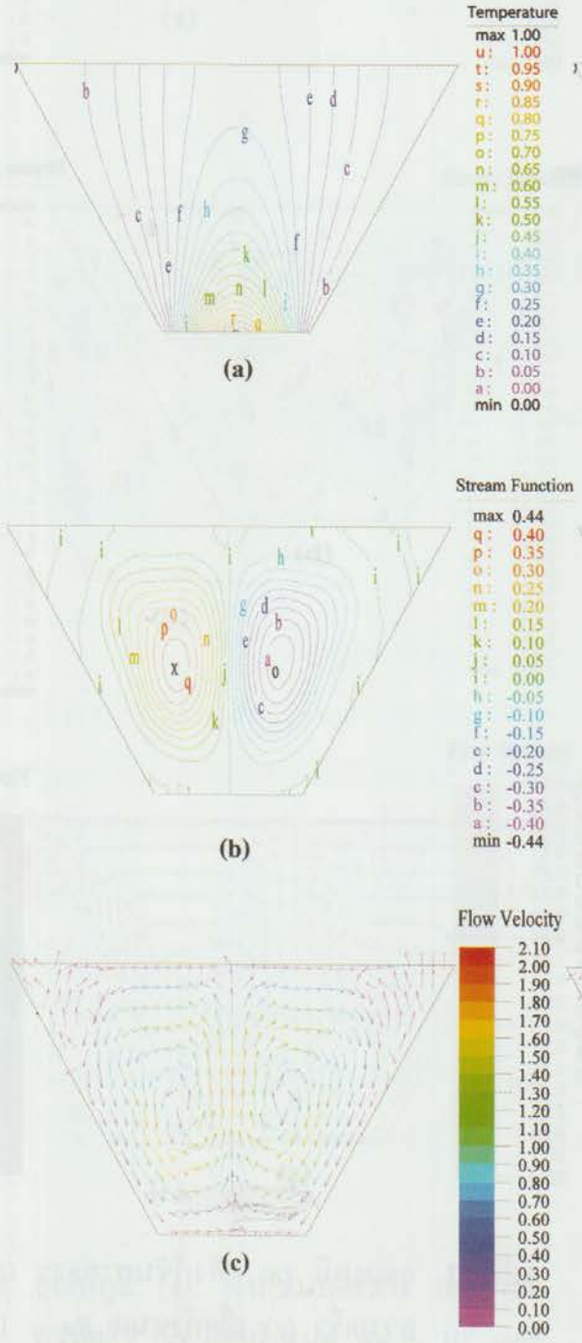


รูปที่ 7 อุณหภูมิ (a) ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^7$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิคงที่)

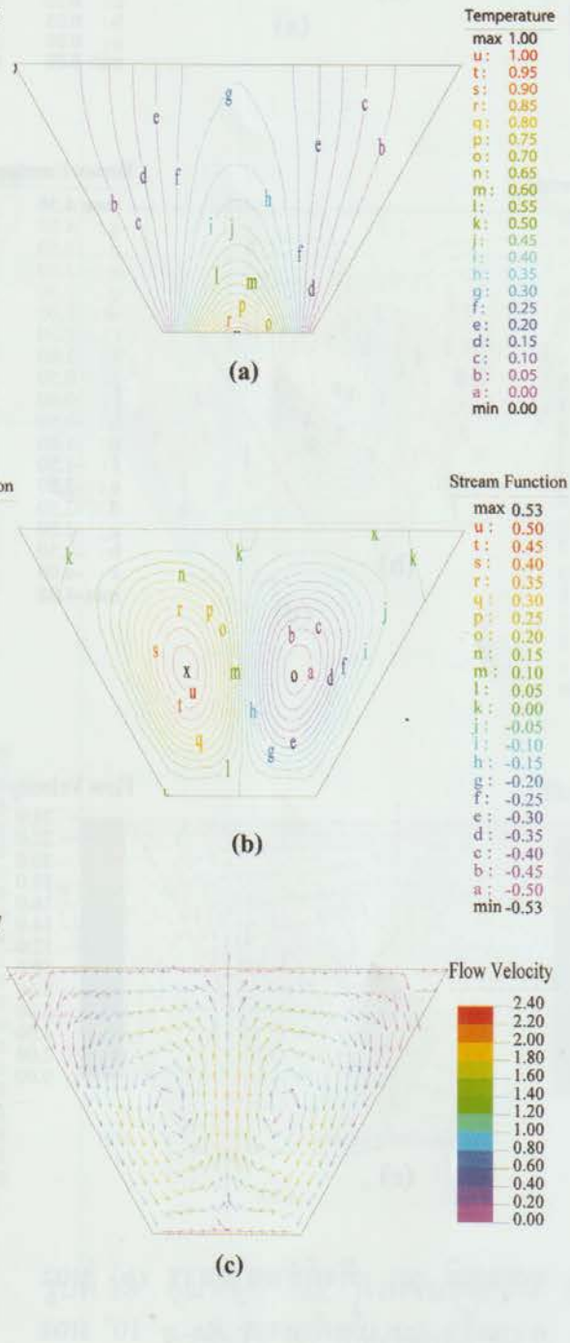
จากรูปที่ 2 – 7 เมื่อกำหนดผนังความร้อนด้านล่างเป็นผนังที่มีอุณหภูมิคงที่ ผลลัพธ์ที่ได้แสดงด้วยภาพฟังก์ชันสายธาร ความเร็วและการกระจายอุณหภูมิของของไหล รูปที่ 2 - 3 แสดงให้เห็นว่าเมื่อกำหนดจำนวนเรย์เลห์ที่เหมือนกัน จำนวนเพรนดัลที่ต่างกัน เมื่อจำนวนเพรนดัลเปลี่ยนไปมีผลให้การกระจายอุณหภูมิ เส้นสายธารและความเร็วของของไหลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย กล่าวคือ จำนวนเพรนดัลมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าของฟังก์ชันสายธาร การกระจายอุณหภูมิและความเร็วของของไหลน้อยมาก รูปที่ 3–5 นำเสนอจำนวนเพรนดัลเท่ากับ 20 และจำนวนเรย์เลห์เท่ากับ $10^3 - 10^5$ จะเห็นได้ว่า ของไหลก่อตัวขึ้นจากบริเวณการแบ่งส่วนกลางของผนัง

ด้านล่างและมีค่าลดลงเมื่อเคลื่อนที่ไปยังผนังด้านข้างทางซ้ายและผนังด้านข้างทางขวา มีรูปร่างเป็นแบบสมมาตร ซึ่งลักษณะการไหลจะเป็นการไหลแบบหมุนวนตามเข็มนาฬิกาและทวนเข็มนาฬิกา และเมื่อจำนวนเรย์เลห์เพิ่มขึ้น ค่าของเส้นสายธาร และความเร็วของของไหลสูงขึ้นซึ่งการกระจายอุณหภูมิของของไหล จะมีค่าสูงที่ผนังด้านล่างและมีค่าลดลงเมื่อกระจายตัวไปสู่ผนังด้านข้างทั้งสอง และจากรูปที่ 6 – 7 พิจารณา จำนวนเพรนดัลเท่ากับ 20 และจำนวนเรย์เลห์ เท่ากับ $10^6 - 10^7$ ลักษณะการไหลเริ่มเปลี่ยนจากการไหลแบบราบเรียบเป็นการไหลแบบปั่นป่วน

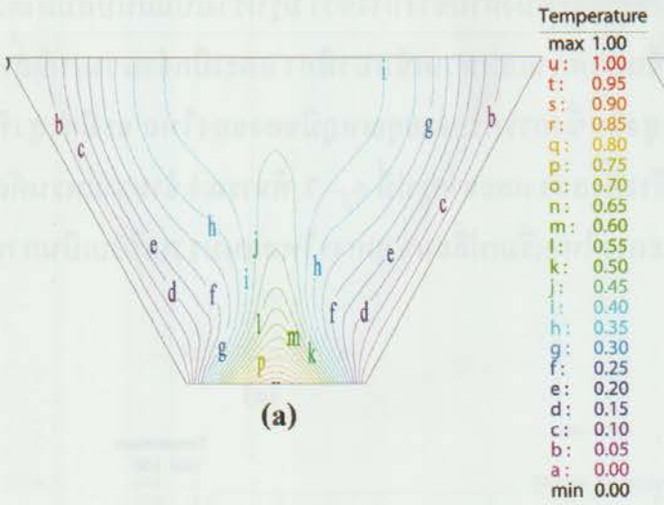
2. อุณหภูมิความร้อนที่ผนังด้านล่างมีอุณหภูมิไม่คงที่



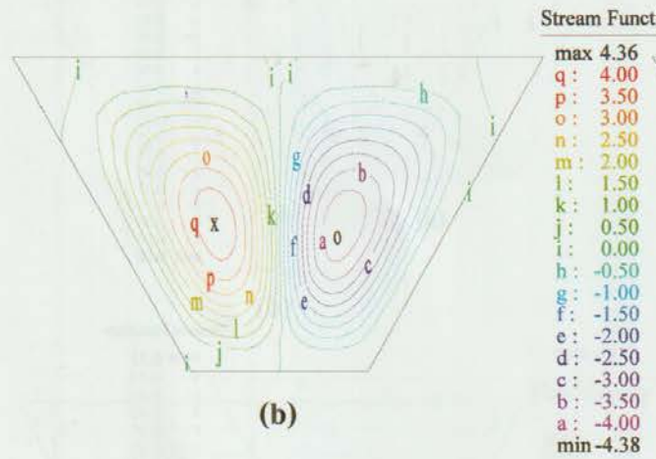
รูปที่ 8 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^3$ และ Pr = *0.6* (อุณหภูมิไม่คงที่)



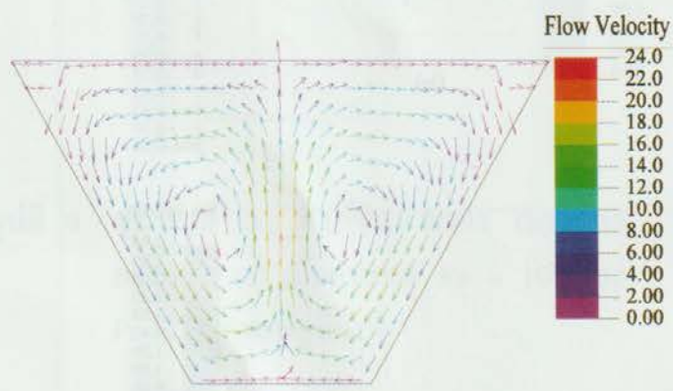
รูปที่ 9 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^3$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิไม่คงที่)



(a)

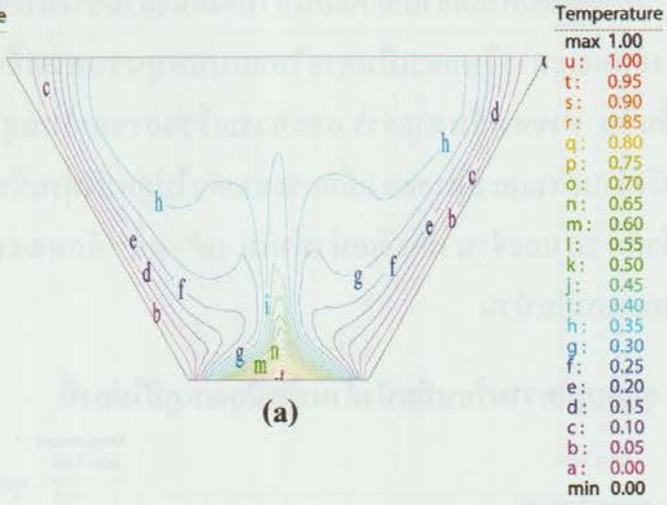


(b)

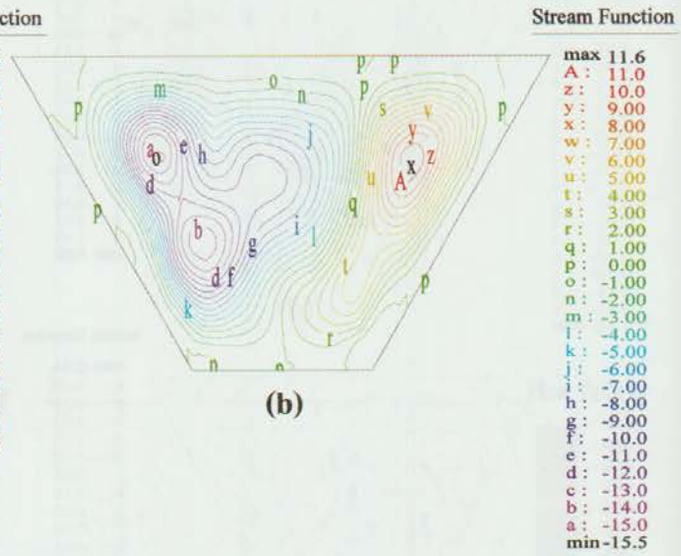


(c)

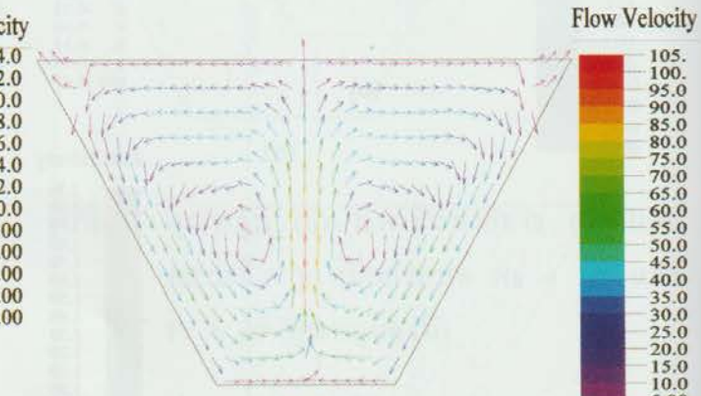
รูปที่ 10 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^4$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิไม่คงที่)



(a)

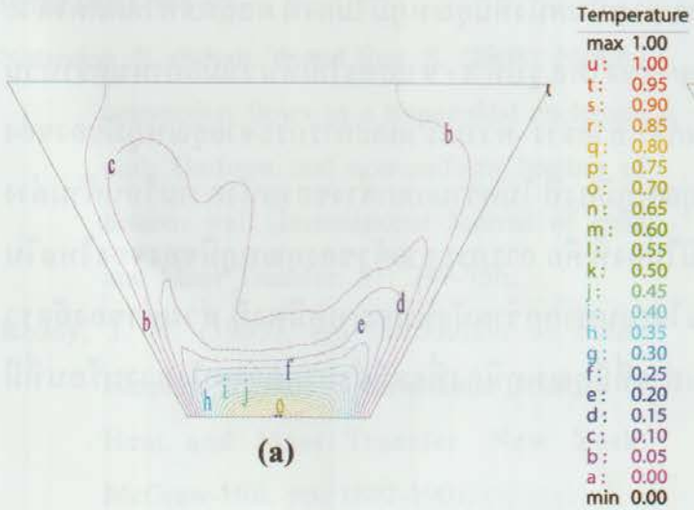


(b)

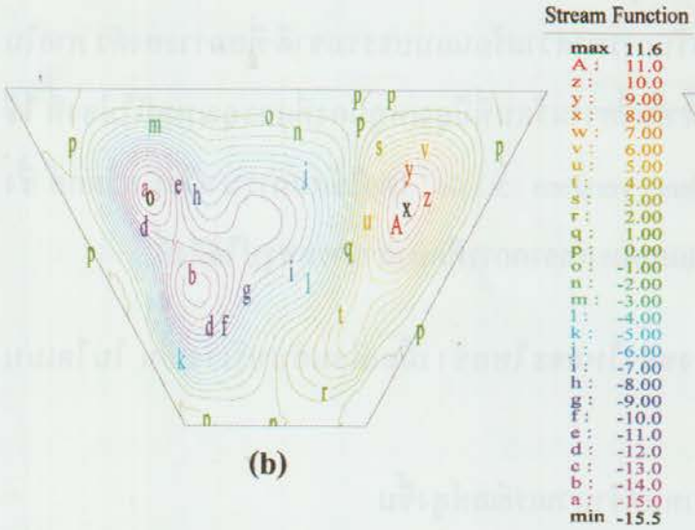


(c)

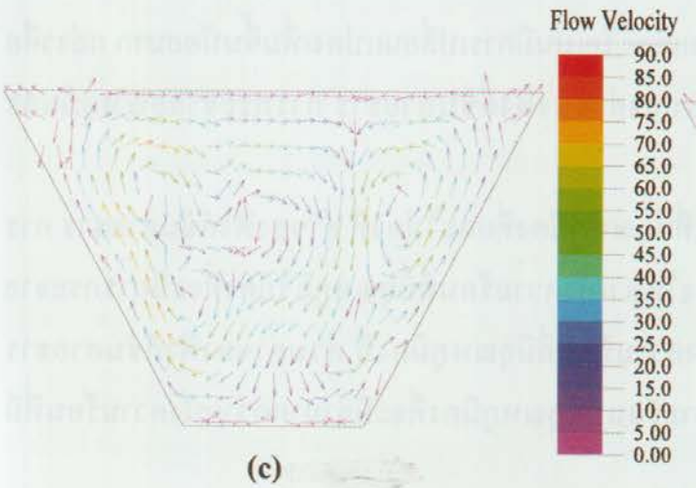
รูปที่ 11 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^5$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิไม่คงที่)



(a)

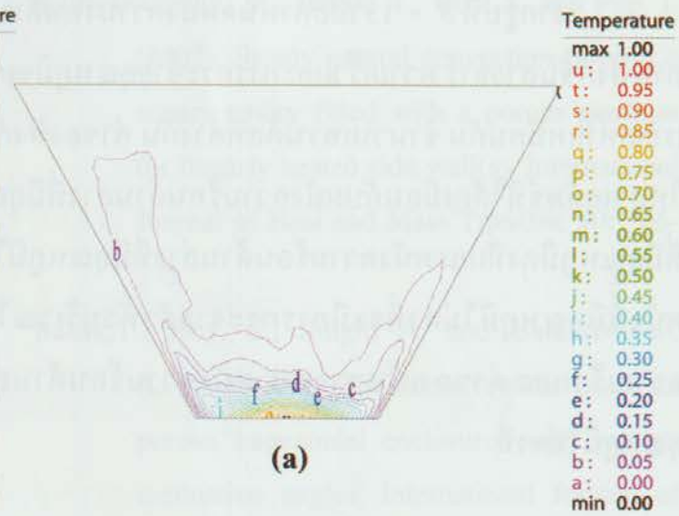


(b)

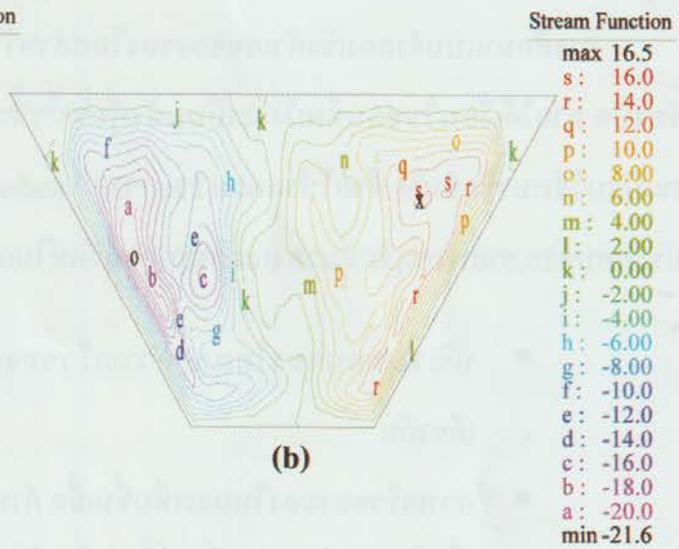


(c)

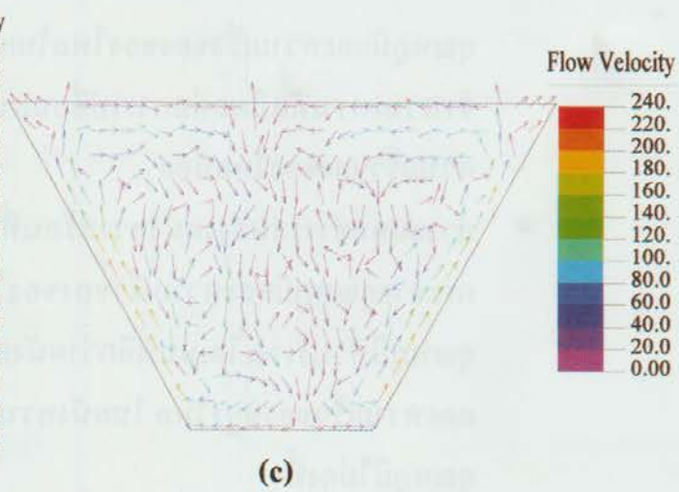
รูปที่ 12 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^6$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิไม่คงที่)



(a)



(b)



(c)

รูปที่ 13 อุณหภูมิ (a), ฟังก์ชันสายธาร (b) และความเร็ว (c) เมื่อกำหนด $Ra = 10^7$ และ Pr = *20* (อุณหภูมิไม่คงที่)

จากรูปที่ 8 - 13 เมื่อกำหนดผนังความร้อนด้านล่างเป็นผนังที่มีอุณหภูมิไม่คงที่ ผลลัพธ์ที่ได้แสดงด้วยภาพฟังก์ชันสายธาร ความเร็วและการกระจายอุณหภูมิของของไหล รูปที่ 8 - 9 แสดงให้เห็นว่าเมื่อกำหนดจำนวนเรย์เลห์ที่เหมือนกัน จำนวนเพรนดัลที่ต่างกัน ค่าของฟังก์ชันสายธาร ความเร็วและการกระจายอุณหภูมิของของไหล ผลลัพธ์ที่ได้เหมือนกับผนังความร้อนด้านล่างที่มีอุณหภูมิคงที่ ในความแตกต่างของผนังความร้อนด้านล่างที่มีอุณหภูมิคงที่และผนังความร้อนด้านล่างที่มีอุณหภูมิไม่คงที่ คือ การกระจายตัวของอุณหภูมิของของไหลในผนังที่มีอุณหภูมิไม่คงที่จะมีการกระจายตัวทั่วบริเวณโดเมนมากกว่าผนังที่มีอุณหภูมิคงที่ ส่วนค่าของอัตราความเร็วและ ค่าของเส้นสายธาร ผนังความร้อนด้านล่างที่มีอุณหภูมิคงที่จะมีค่ามากกว่าผนังความร้อนที่มีอุณหภูมิไม่คงที่

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาแบบจำลองเชิงตัวเลขของของไหลสำหรับการพาความร้อนแบบธรรมชาติ ที่สภาวะคงตัว ภายในช่องปิด ภายใต้เงื่อนไขขอบที่ผนังจะเป็นผนังหุ้มฉนวน ผนังความร้อนที่มีอุณหภูมิคงที่และอุณหภูมิไม่คงที่ ใช้ระเบียบวิธีสมาชิกจำกัด ด้วยโปรแกรม FlexPDE student versions 5.1.0s โดยใช้สมการนาเวียร์-สโตกส์ ซึ่งประกอบด้วย สมการอนุรักษ์มวล และสมการอนุรักษ์โมเมนตัม ผลจากการศึกษาสามารถสรุปได้ดังนี้

- บริเวณขอบของโดเมน ความเร็วของของไหลจะไหลช้า เมื่อเทียบกับบริเวณอื่น ในโดเมนเดียวกัน
- ความเร็วของของไหลจะเพิ่มขึ้นเมื่อ กำหนดจำนวนเรย์เลห์สูงขึ้น
- เมื่อกำหนดจำนวนเรย์เลห์ที่เท่ากัน จำนวนเพรนดัลต่างกัน ค่าของฟังก์ชันสายธาร การกระจายอุณหภูมิและความเร็วของของไหลในแต่ละโดเมนมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นน้อยมาก กล่าวคือ จำนวนเพรนดัลมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าของฟังก์ชันสายธาร การกระจายอุณหภูมิและความเร็วของของไหลน้อย
- ความแตกต่างระหว่างผนังความร้อนที่มีอุณหภูมิคงที่และไม่คงที่ ค่าของฟังก์ชันสายธาร การกระจายอุณหภูมิและความเร็วของของไหล ผนังความร้อนที่มีอุณหภูมิไม่คงที่จะมีการกระจายอุณหภูมิทั่วบริเวณโดเมนที่ดีกว่าผนังความร้อนที่มีอุณหภูมิคงที่ ส่วนค่าของฟังก์ชันสายธารและความเร็วของของไหล ในผนังความร้อนที่มีอุณหภูมิคงที่จะมีค่ามากกว่าผนังความร้อนที่มีอุณหภูมิไม่คงที่
- การไหลของของไหลภายในแต่ละโดเมนจะเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงจากการไหลแบบราบเรียบเป็นการไหลแบบปั่นป่วน เมื่อ จำนวนเรย์เลห์มีค่าระหว่าง 10^6 ถึง 10^7

เอกสารอ้างอิง

Natarajan, E., Basak, T. and Roy, S. (2008). Natural convection flows in a trapezoidal enclosure with Uniform and non-uniform heating of bottom wall. International Journal of Heat and Mass Transfer. 51: 747-756.

Reddy, J. N. (1993). An Introdution to Finite Element Method. International Journal of Heat and Mass Transfer. New York: McGraw-Hill. pp. 1892-1901.

Sathiyamoorthy, M., Basak, T., Roy, S. and Pop, I. (2007). Steady natural convection flow in a square cavity filled with a porous medium for linearly heated side wall(s). International Journal of Heat and Mass Transfer. 50: 766-775.

Basak,T., Roy, S., Singh, A. and Balakrishnan, A. R.. (2009). Naturalconvection flows in porous trapezoidal enclosures with various inclination angles. International Journal of Heat and Mass Transfer. 52: 4612-4623.

❑❑❑❑❑

ว.วิทย. มข. 38(4) 606-616 (2553) KKU Sci. J.38(4) 606-616 (2010)

การประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินาม

Binomial Approximation to the Negative Hypergeometric Distribution

กิตติมา พฤกภูษณ [1] *และ คณินทร์ ธีรภาพโอฬาร* [2*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เราใช้วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามและฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ เพื่อหาผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินาม ผลลัพธ์ของการประมาณดังกล่าวอยู่ในรูปของระยะห่างของการแปรผันรวมและขอบเขตบน นอกจากนี้เราได้ยกตัวอย่างเชิงตัวเลขบางส่วนเพื่อแสดงผลลัพธ์ของการประมาณนี้

Abstract

This paper we use Stein's method for the binomial distribution and the w-function associated with the negative hypergeometric random variable to determine a result of the binomial approximation to the negative hypergeometric distribution, in terms of the total variation distance and its upper bound. Furthermore, we also give some numerical examples to illustrate the result of this approximation.

คำสำคัญ : การแจกแจงทวินาม การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ การประมาณทวินาม วิธีของสไตน์ ฟังก์ชัน w

Keywords : Binomial distribution, Negative hypergeometric distribution, Binomial approximation, Stein's method, w-function.

[1] สาขาวิชาสถิติและคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี จ.กาญจนบุรี 71000

[2] ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131

* Corresponding Author, E-mail: kanint@buu.ac.th

บทนำ

สมมติว่ากล่องขนาดใหญ่ใบหนึ่งบรรจุลูกแก้วสีแดง R ลูก และลูกแก้วสีเขียว S ลูก สุ่มลูกแก้วครั้งละหนึ่งลูกแบบไม่ใส่คืน (without replacement) จากกล่องใบนี้จนกระทั่งได้ลูกแก้วสีแดงเป็นจำนวน r ลูก ให้ X เป็นจำนวนลูกแก้วสีเขียวที่สุ่มได้ แล้วฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็นของตัวแปรสุ่ม X สามารถเขียนได้ดังนี้

$$p_X(k) = P(X=k) = \frac{\binom{r+k-1}{k}\binom{R-r+S-k}{S-k}}{\binom{R+S}{S}},\ k=0,1,\ldots,S \tag{1.1}$$

เราจะเรียกการแจกแจงของตัวแปรสุ่ม X ว่า *การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ* (negative hypergeometric distribution) หรือบางครั้งเรียกว่า *การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกผกผัน* (inverse hypergeometric distribution) ที่มีพารามิเตอร์ R, S และ r เขียนแทนด้วย $\mathcal{NH}(R,S,r)$ โดยที่ $R,S \in \mathbb{N}$ และ $r \in \{1,\ldots,R\}$ และค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของตัวแปรสุ่ม X คือ $\mu = \frac{rS}{R+1}$ และ $\sigma^2 = \frac{rS(R+S+1)(R-r+1)}{(R+1)^2(R+2)}$ ตามลำดับ การศึกษาและการประยุกต์ของการแจกแจงนี้ เราสามารถพบได้ใน Kaigh and Lachenbruch (1982); Wang (2000); Wesolowski and Ahsanullah (2001); Cuzick (2001); Obilade (2004) และ Graz (2007) เป็นต้น

จากการทดลองสุ่มข้างต้น เราสังเกตได้ว่าถ้าการสุ่มลูกแก้วเป็นแบบใส่คืน (with replacement) ตัวแปรสุ่ม X ดังกล่าวจะมีการแจกแจงทวินามนิเสธ (negative binomial distribution) ที่มีพารามิเตอร์ r และ $\frac{S}{R+S}$ เขียนแทนด้วย $\mathcal{NB}(R,S,r)$ (บางครั้งเรียกว่าการแจกแจงปาสคาล (Pascal distribution)) ดังนั้น การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินามนิเสธจึงมีความแตกต่างกันที่รูปแบบของการสุ่มตัวอย่าง (สุ่มแบบใส่คืนและไม่ใส่คืน) แต่ในกรณีที่ R และ S มีค่าเข้าใกล้อนันต์ ($R,S \to \infty$) ในลักษณะที่ $\frac{S}{R+1}$ ลู่เข้าสู่ค่าคงตัว θ ($\frac{S}{R+1} \to \theta$) แล้วการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธจะลู่เข้าสู่การแจกแจงทวินามนิเสธที่มีพารามิเตอร์ r และ $\frac{1}{1+\theta}$ ($\mathcal{NB}(r,1/(1+\theta))$) ในทำนองเดียวกันการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธอาจจะลู่เข้าสู่การแจกแจงทวินาม (binomial distribution) ถ้าหากว่าเงื่อนไขของพารามิเตอร์สำหรับการลู่เข้าของการแจกแจงมีความเหมาะสม ดังนี้

จากสมการ (1.1) (สำหรับ $k \in \{0,1,\ldots,S\}$) เราจะได้ว่า

$$p_X(k) = \binom{S}{k}\frac{(r+k-1)!}{(r-1)!}\frac{(R-r+S-k)!}{(R-r)!}\frac{R!}{(R+S)!}$$

$$= \binom{S}{k}\frac{[(r+k-1)(r+k-2)\cdots r][(R-r+S-k)(R-r+S-k-1)\cdots(R-r+1)]}{(R+S)(R+S-1)\cdots(R+1)}$$

$$= \binom{S}{k} \frac{\dfrac{[(r+k-1)(r+k-2)\cdots r]}{R+1} \dfrac{[(R-r+S-k)(R-r+S-k-1)\cdots(R-r+1)]}{R+1}}{\dfrac{(R+S)(R+S-1)\cdots(R+1)}{R+1}}$$

$$p_X(k) = \binom{S}{k}\left(\frac{r}{R+1}\right)^k \left(\frac{R-r+1}{R+1}\right)^{S-k} \frac{\left[\left(1+\frac{k-1}{r}\right)\left(1+\frac{k-2}{r}\right)\cdots 1\right]\left[\left(1+\frac{S-k-1}{R-r+1}\right)\left(1+\frac{S-k-2}{R-r+1}\right)\cdots 1\right]}{\left(1+\frac{S-1}{R+1}\right)\left(1+\frac{S-2}{R+1}\right)\cdots 1} \quad (1.2)$$

พิจารณาสมการ (1.2) เราจะเห็นว่าถ้า R และ r มีค่าเข้าใกล้อนันต์ในลักษณะที่ $\frac{r}{R+1}$ ลู่เข้าสู่ค่าคงตัว $p = 1-q$ แล้ว $p_X(k)$ จะลู่เข้าสู่ $\binom{S}{k} p^k q^{S-k}$, $k = 0,1,\ldots,S$ นั่นคือ ถ้า $R,r \to \infty$ และ $\frac{r}{R+1} \to p = 1-q$ แล้ว $p_X(k) \to \binom{S}{k} p^k q^{S-k}$, $k = 0,1,\ldots,S$ ซึ่งเป็นการแจกแจงทวินามที่มีพารามิเตอร์ S และ p เขียนแทนด้วย $\mathcal{B}(S,p)$ จากสมการ (1.2) และด้วยเงื่อนไขของการลู่เข้าที่เหมาะสมดังกล่าว แสดงว่าเราสามารถประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินาม ถ้าหากว่าการกำหนดเงื่อนไขของพารามิเตอร์ของทั้งสองการแจกแจงมีความสอดคล้องกัน

ในงานวิจัยนี้เราต้องการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินาม และเราได้ใช้ระยะห่างของความแตกต่างรวม (total variation distance) เป็นตัววัดความถูกต้องของการประมาณนี้ แต่ในการคำนวณหาระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงสองการแจกแจง เป็นเรื่องที่ไม่อาจกระทำได้ง่าย ๆ ในหลายกรณี ดังนั้นโดยทั่วไปเราจึงใช้ขอบเขตบน (upper bound) ของระยะห่างของความแตกต่างรวมเป็นตัวประมาณและเป็นตัววัดความถูกต้องของการประมาณดังกล่าว ระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินามนิยามได้ดังนี้

$$\begin{aligned} d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,p)) &= \sup_A \left|\mathcal{NH}(R,S,r)\{A\} - \mathcal{B}(S,p)\{A\}\right| \\ &= \sup_A \left|\sum_{k\in A} p_X(k) - \sum_{k\in A}\binom{S}{k} p^k q^{S-k}\right| \end{aligned} \quad (1.3)$$

โดยที่ A เป็นเซตย่อยของ $\{0,1,\ldots,S\}$ และ $p_X(k)$ กำหนดเช่นเดียวกับ (1.1) และเครื่องมือที่เราใช้หาขอบเขตบนของ $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,p))$ คือ วิธีของสไตน์ (Stein's method) สำหรับการแจกแจงทวินามและฟังก์ชัน w (w-function) ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการหาผลลัพธ์หลักที่อยู่ในรูปของระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินามหรือ $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,p))$ และขอบเขตบนโดยใช้วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามพร้อมด้วยฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ เราควรเริ่มต้นด้วยการหารูปแบบของฟังก์ชัน w ดังกล่าว แล้วจึงสร้างบทตั้ง ที่จำเป็นสำหรับการพิสูจน์ทฤษฎีบทหลักต่อไป

1. ฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ

ให้ตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ X มีฟังก์ชันการแจกแจงความน่าจะเป็น $p_X(k)$ ที่กำหนดเช่นเดียวกับ (1.1) และ $p_X(k)>0$ สำหรับทุก $k\in\{0,1,...,S\}$ เราจะหาฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่ม X โดยใช้ความสัมพันธ์เวียนเกิดของฟังก์ชัน w ที่ Majsnerowska (1998) ได้ปรับมาจาก Cacoullos and Papathanasiou (1989) ดังนี้

$$w(k)=\frac{p_X(k-1)}{p_X(k)}w(k-1)-\frac{\mu-k}{\sigma^2}\geq 0,\ k=1,...,S \tag{2.1}$$

โดยที่ $w(0)=\frac{\mu}{\sigma^2}$ และ μ และ σ^2 แทนค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของตัวแปรสุ่ม X ตามลำดับ ดังนั้น โดยใช้ความสัมพันธ์เวียนเกิด (2.1) เราจะได้ฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ X ดังบทตั้งต่อไปนี้

บทตั้งที่ 2.1 *ให้ $w(X)$ เป็นฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ X แล้ว*

$$w(k)=\frac{(r+k)(S-k)}{(R+1)\sigma^2},\ k=0,1,...,S \tag{2.2}$$

โดยที่ $\sigma^2=\frac{rS(R+S+1)(R-r+1)}{(R+1)^2(R+2)}$

พิสูจน์ จาก (2.1) เราสามารถเขียนฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่ม X ได้เป็น

$$w(k)=\frac{rS}{(R+1)\sigma^2}+w(k-1)\frac{k(R-r+S-k+1)}{(r+k-1)(S-k+1)}-\frac{k}{\sigma^2},\ k=1,...,S \tag{2.3}$$

โดยที่ $w(0)=\frac{rS}{(R+1)\sigma^2}$ ต่อไปจะแสดงว่า (2.3) เป็นจริงสำหรับทุก $k\in\{1,...,S\}$ นั่นคือ จาก (2.3) เราจะได้

$$w(1)=\frac{rS}{(R+1)\sigma^2}+w(0)\frac{R-r+S}{rS}-\frac{1}{\sigma^2}=\frac{(r+1)(S-1)}{(R+1)\sigma^2}$$

ให้ $w(i-1)=\dfrac{(r+i-1)(S-i+1)}{(R+1)\sigma^2}$ สำหรับ $2<i\le S$ เราจะได้ว่า

$$w(i)=\frac{rS}{(R+1)\sigma^2}+w(i-1)\frac{i(R-r+S-i+1)}{(r+i-1)(S-i+1)}-\frac{i}{\sigma^2}=\frac{(r+i)(S-i)}{(R+1)\sigma^2}$$

ดังนั้น โดยวิธีอุปนัยเชิงคณิตศาสตร์ ทำให้สมการ (2.2) เป็นจริงสำหรับทุก $k\in\{0,1,\ldots,S\}$ □

รูปแบบความสัมพันธ์ต่อไปนี้เป็นคุณสมบัติที่สำคัญของฟังก์ชัน w สำหรับการหาผลลัพธ์หลัก ซึ่ง Cacoullos and Papathanasiou (1989) ได้กำหนดไว้ดังนี้

ถ้าตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มและไม่เป็นลบ (non-negative integer-valued random variable) X มี $p_X(k)>0$ สำหรับทุก k ในเซตค้ำจุนของ X (support of X) และความแปรปรวน $0<\sigma^2<\infty$ แล้ว

$$Cov(X,g(X))=\sigma^2E[w(X)\Delta g(X)] \tag{2.4}$$

สำหรับฟังก์ชัน $g:\mathbb{N}\cup\{0\}\to\mathbb{R}$ ซึ่งทำให้ $E|w(X)\Delta g(X)|<\infty$ โดยที่ $\Delta g(x)=g(x+1)-g(x)$ และเราจะสังเกตได้ว่า $E[w(X)]=1$ (โดยการกำหนด $g(x)=x$) สำหรับทุกตัวแปรสุ่มที่มีค่าจำนวนเต็มและไม่เป็นลบ X

2. วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินาม

วิธีของสไตน์ได้เริ่มต้นประมาณปี 1972 โดย Stein (1972) ได้นำเสนอวิธีทั่วไปที่มีประสิทธิภาพในการประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มที่มีความสัมพันธ์กัน (dependent random variables) ด้วยการแจกแจงปกติ (normal distribution) ต่อมา Chen (1975) ได้ปรับและพัฒนาวิธีของสไตน์แบบเดิมมาสู่การประมาณการแจกแจงของผลรวมของตัวแปรสุ่มแบร์นูลลีที่สัมพันธ์กัน (dependent Bernoulli random variables) ด้วยการแจกแจงปัวซง (Poisson distribution) และประมาณปี 1986 วิธีของสไตน์จึงได้ปรับและพัฒนามาสู่การประมาณการแจกแจงของตัวแปรสุ่มด้วยการแจกแจงทวินามโดย Stein (1986) วิธีของสไตน์เริ่มต้นด้วยสมการของสไตน์ (Stein's equation) ของแต่ละการแจกแจงที่สมนัยกัน และสมการของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินามที่มีพารามิเตอร์ $n\ge 1$ และ $p=1-q\in(0,1)$ (เมื่อกำหนดฟังก์ชัน h) นิยามโดย

$$(n-x)pg(x+1)-qxg(x)=h(x)-\mathcal{B}_{n,p}(h) \tag{2.5}$$

โดยที่ $\mathcal{B}_{n,p}(h)=\sum_{k=0}^{n}h(k)\binom{n}{k}p^kq^{n-k}$ และ g และ h เป็นฟังก์ชันค่าจริงที่มีขอบเขตนิยามบนเซต $\{0,1,\ldots,n\}$

สำหรับ $A \subseteq \{0,1,...,n\}$ ให้ $h_A : \{0,1,...,n\} \to \mathbb{R}$ เป็นฟังก์ชันที่กำหนดโดย

$$h_A(x) = \begin{cases} 1\,, x \in A \\ 0\,, x \notin A \end{cases}$$

ต่อไปเราจะพิจารณาเช่นเดียวกับ Barbour et al. (1992) หน้า 189 โดยให้ $g_A : \mathbb{N} \cup \{0\} \to \mathbb{R}$ เป็นฟังก์ชันที่สอดคล้องสมการ (2.5) โดยที่ $g_A(0) = g_A(1)$ และ $g_A(x) = g_A(n)$ สำหรับทุก $x \geq n$ ดังนั้น ผลเฉลย $g = g_A$ ของสมการ (2.5) คือ

$$g(x) = \frac{\mathcal{B}_{n,p}(h_{A \cap C_{x-1}}) - \mathcal{B}_{n,p}(h_A)\mathcal{B}_{n,p}(h_{C_{x-1}})}{x\binom{n}{x}p^x q^{n-x+1}} \tag{2.6}$$

โดยที่ $1 \leq x \leq n$ และ $C_x = \{0,...,x\}$

จากสมการ (2.6) เราสามารถสร้างบทตั้งเพื่อช่วยในการพิสูจน์ทฤษฎีบทหลักที่จะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไปได้ดังนี้

บทตั้งที่ 2.2 *ให้* $\Delta g(x) = g(x+1) - g(x)$, $A \subseteq \{0,1,...,n\}$ *และ* $x \geq 1$ *แล้วจะได้ว่า*

(1) $$\sup_{A,x} |\Delta g(x)| \leq \frac{1 - p^{n+1} - q^{n+1}}{(n+1)pq} \quad \text{(Ehm, 1991)} \tag{2.7}$$

(2) $$\sup_{A,x} |\Delta g(x)| \leq \frac{1}{xq} \quad \text{(Eichelsbacher และ Reinert, 2008)} \tag{2.8}$$

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยที่เราต้องการในงานวิจัยนี้ คือ ผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามที่อยู่ในรูปของระยะห่างของความแตกต่างรวมและขอบเขตบน ซึ่งเราสามารถหาได้โดยใช้วิธีของสไตน์สำหรับการแจกแจงทวินาม และฟังก์ชัน w ที่สัมพันธ์กับตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ และทฤษฎีบทต่อไปนี้เป็นผลลัพธ์ของการประมาณดังกล่าว

ทฤษฎีบทที่ 3.1 *ให้ X เป็นตัวแปรสุ่มไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ และให้* $n = S$ *และ* $p = \dfrac{r}{R+1}$ *แล้วจะได้ว่า*

$$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r), \mathcal{B}(S, r/(R+1))) \leq \left(1 - \left(\frac{r}{R+1}\right)^{S+1} - \left(\frac{R-r+1}{R+1}\right)^{S+1}\right)\frac{(S-1)S}{(S+1)(R+2)} \tag{3.1}$$

พิสูจน์ จากสมการ (2.5) เมื่อกำหนด $h = h_A$ $(A \subseteq \{0,1,...,S\})$, $n = S$ *และ* $p = \dfrac{r}{R+1}$ เราจะได้

$$\begin{aligned}
\mathcal{NH}(R,S,r)\{A\} - \mathcal{B}(S,r/(R+1))\{A\} &= E\left[(S-X)pg(X+1) - qXg(X)\right] \\
&= E\left[\frac{rS}{R+1}g(X+1) - pX\Delta\, g(X) - Xg(X)\right] \\
&= E\left[\mu g(X+1)\right] - pE\left[X\Delta g(X)\right] - E\left[Xg(X)\right] \\
&= E\left[\mu g(X+1)\right] - pE\left[X\Delta g(X)\right] - Cov(X, g(X)) - E\left[\mu g(X)\right] \\
&= E\left[\mu\Delta g(X)\right] - pE\left[X\Delta g(X)\right] - Cov(X, g(X)) \qquad (3.2)
\end{aligned}$$

โดยที่ g นิยามเช่นเดียวกับสมการ (2.6) และจากบทตั้งที่ 2.2 (1) เราจะได้

$$E\left|w(X)\Delta g(X)\right| \le E[w(X)]\frac{1-p^{n+1}-q^{n+1}}{(n+1)pq} \le 1$$

ดังนั้น โดยใช้ (2.4) และ (1.3) ทำให้เราสามารถเขียนสมการ (3.2) ใหม่ได้เป็น

$$\begin{aligned}
d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r), \mathcal{B}(S,r/(R+1))) &\le \left|E\left[\mu\Delta g(X)\right] - pE\left[X\Delta g(X)\right] - \sigma^2 E\left[w(X)\Delta g(X)\right]\right| \\
&= \left|E\left[\left(\mu - pX - \sigma^2 w(X)\right)\Delta g(X)\right]\right| \\
&\le E\left[\left|\mu - pX - \sigma^2 w(X)\right|\left|\Delta g(X)\right|\right] \qquad (3.3) \\
&\le \frac{1-p^{S+1}-q^{S+1}}{(S+1)pq} E\left|\mu - pX - \sigma^2 w(X)\right| \qquad (3.4)
\end{aligned}$$

โดยที่อสมการสุดท้ายได้มาจากบทตั้งที่ 2.2 (1) และโดยบทตั้งที่ 2.1 เราจะได้

$$\begin{aligned}
\mu - pk - \sigma^2 w(k) &= \frac{rS}{R+1} - \frac{rk}{R+1} - \frac{(r+k)(S-k)}{R+1} \\
&= -\frac{(S-k)k}{R+1} \\
&\le 0 \text{ สำหรับทุก } k \in \{0,1,...,S\}
\end{aligned}$$

ดังนั้น จากอสมการ (3.4) เราจะได้

$$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,r/(R+1))) \le \frac{1-p^{S+1}-q^{S+1}}{(S+1)pq}E\left[pX+\sigma^2 w(X)-\mu\right]$$

$$\le \frac{1-p^{S+1}-q^{S+1}}{(S+1)pq}\left(\sigma^2-q\mu\right) \tag{3.5}$$

แทนค่าพารามิเตอร์ p, q, μ และ σ^2 ใน (3.5) เราจะได้ผลลัพธ์ (3.1) ตามต้องการ □

บทแทรกต่อไปนี้เป็นกรณีพิเศษ $r=1$ นั่นคือ เป็นผลลัพธ์ของการประมาณ $\mathcal{NH}(R,S,1))$ ด้วย $\mathcal{B}(S,1/(R+1))$

บทแทรกที่ 3.1 *ถ้า* $r=1$ *แล้วจะได้ว่า*

$$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,1),\mathcal{B}(S,1/(R+1))) \le (S-1)\min\left\{\frac{\left(1-\left(\frac{R}{R+1}\right)^{S+1}\right)}{R+2},\frac{S}{(R+1)(R+S)}\right\} \tag{3.6}$$

พิสูจน์ จากทฤษฎีบทที่ 3.1 เมื่อ $r=1$ เราจะได้ว่า

$$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,1),\mathcal{B}(S,1/(R+1))) \le \frac{\left(1-\left(\frac{R}{R+1}\right)^{S+1}\right)(S-1)}{R+2} \tag{3.7}$$

และจากอสมการ (3.3) เมื่อแทน $r=1$ แล้วจะได้ว่า

$$\begin{aligned}
d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,1),\mathcal{B}(S,1/(R+1))) &\le E\left[\left|\frac{S-X}{R+1}-\sigma^2 w(X)\right|\left|\Delta g(X)\right|\right] \\
&= \sum_{k=0}^{S}\left|\frac{S-k}{R+1}-\sigma^2 w(k)\right|\left|\Delta g(k)\right| p_X(k) \\
&\le \sum_{k=1}^{S}\left|\frac{S-k}{R+1}-\frac{(k+1)(S-k)}{R+1}\right|\frac{1}{qk}p_X(k) \quad \text{(โดยบทตั้งที่ 2.1 และ 2.2 (2))} \\
&= \frac{1}{(R+1)q}\sum_{k=1}^{S}(S-k)p_X(k) \\
&= \frac{S\left(1-p_X(0)\right)-\mu}{(R+1)q} \\
&= \frac{(S-1)S}{(R+1)(R+S)}
\end{aligned} \tag{3.8}$$

ดังนั้น โดยอสมการ (3.7) และ (3.8) ทำให้เราได้อสมการ (3.6) □

ข้อสังเกต

จากทฤษฎีบทที่ 3.1 และบทแทรกที่ 3.1 เราสังเกตได้ว่า $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,r/(R+1))) = o(1)$ ถ้า $S = o(R)$ นั่นคือ ถ้า $\frac{S}{R}$ มีค่าน้อย (ขอบเขตบนมีค่าน้อย) จะทำให้ได้ผลการประมาณที่ดี หรืออาจกล่าวได้ว่า การแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธจะลู่เข้าสู่การแจกแจงทวินาม ถ้า $\frac{S}{R}$ มีค่าน้อย ซึ่งเราจะสังเกตได้ว่า ค่า r ไม่ได้มีผลกระทบโดยตรงต่อขอบเขตบนของทั้งสองผลลัพธ์ ยกเว้นในกรณีที่ $\frac{r}{R+1}$ มีค่าเข้าใกล้ 0 หรือ 1

ตัวอย่างเชิงตัวเลข

ตัวอย่างเชิงตัวเลขในตารางต่อไปนี้เป็นตัวอย่างบางส่วนเพื่อแสดงว่าการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามมีความเหมาะสมอย่างไร และเพื่อแสดงให้เห็นว่าขอบเขตบนสำหรับระยะห่างของความแตกต่างรวมในทฤษฎีบทที่ 3.1 สามารถวัดความถูกต้องของการประมาณได้อย่างไร

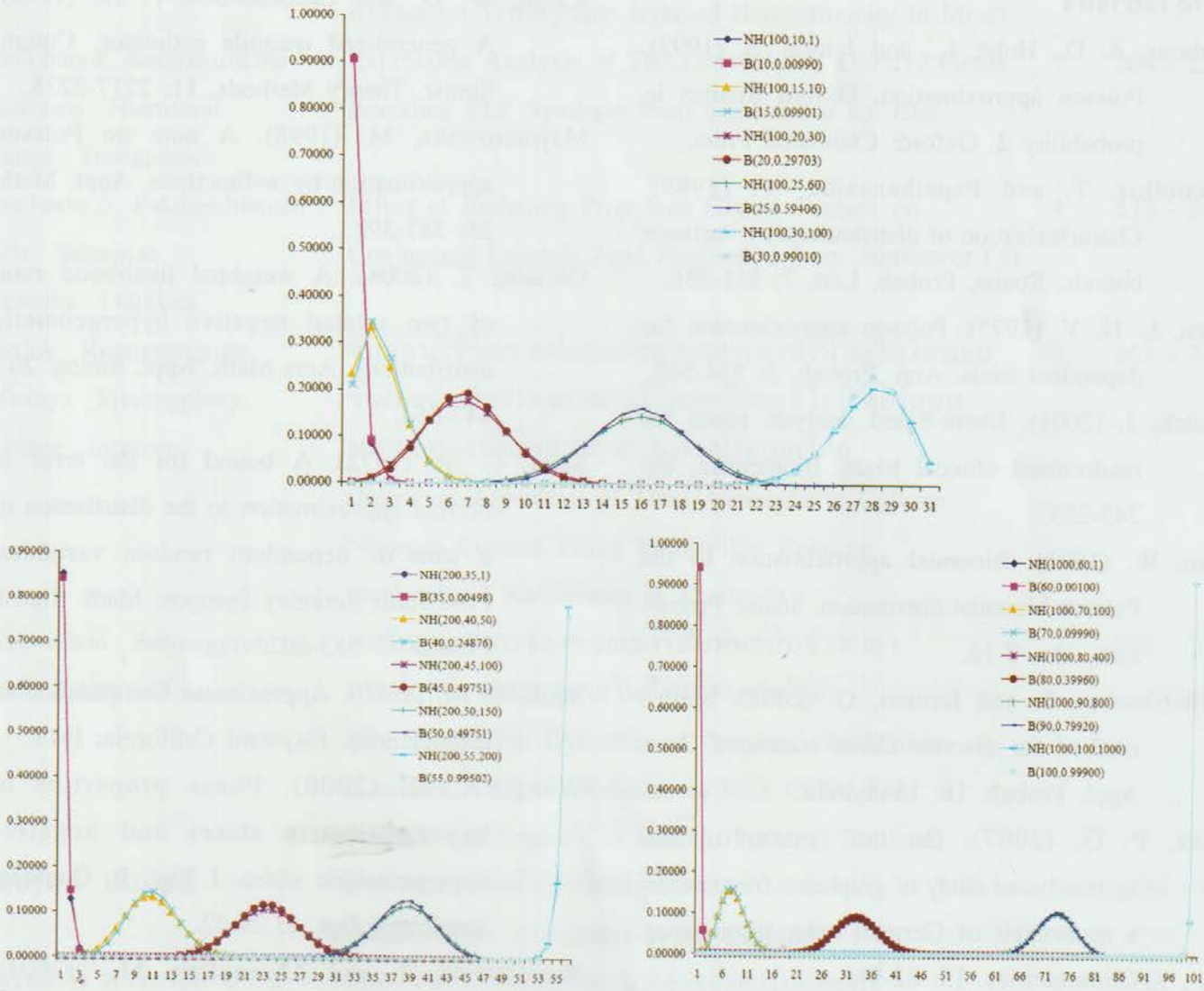
ตารางที่ 1 แสดงค่าตัวอย่างของระยะห่างของความแตกต่างรวม (d_{TV}) ระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธ และการแจงทวินามพร้อมด้วยขอบเขตบน

R	S	r	p	$d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,r/(R+1)))$	ขอบเขตบน
100	10	1	0.00990	0.00713	0.00810
100	15	10	0.09901	0.03543	0.10441
100	20	30	0.29703	0.04279	0.17730
100	25	60	0.59406	0.05343	0.22624
100	30	100	0.99010	0.04369	0.07303
200	35	1	0.00498	0.01967	0.02519
200	40	50	0.24876	0.04385	0.18836
200	45	100	0.49751	0.04846	0.21309
200	50	150	0.49751	0.05379	0.23782
200	55	200	0.99502	0.03919	0.06398
1000	60	1	0.00100	0.00306	0.00334
1000	70	100	0.09990	0.01623	0.06785
1000	80	400	0.39960	0.01864	0.07787
1000	90	800	0.79920	0.02091	0.08785
1000	100	1000	0.99900	0.00777	0.00939

จากตารางที่ 1 เราจะเห็นว่า ในกรณีที่ R มีค่าคงตัว $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,r/(R+1)))$ และขอบเขตบนจะมีค่าเพิ่ม ขึ้นเมื่อ S มีค่าเพิ่มขึ้น (ยกเว้นกรณีที่ p มีค่าเข้าใกล้ 0 หรือ 1) หรือ $d_{TV}(\mathcal{NH}(R,S,r),\mathcal{B}(S,r/(R+1)))$

และขอบเขตบนจะมีค่าลดลงและมีค่าเข้าใกล้กันมากขึ้นเมื่อ $\frac{S}{R}$ มีค่าน้อย หรือมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับข้อสังเกตข้างต้น

เพื่อแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการแจกแจงทวินามสามารถประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธได้ดีเพียงใด เราได้นำเสนอรูปกราฟ (รูปที่ 4.1) ที่แสดงค่าของฟังก์ชันความน่าจะเป็นของการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินามที่สอดคล้องกับตัวอย่างเชิงตัวเลขที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 โดยรูปบนเป็นรูปกราฟที่สอดคล้องกับค่า $R = 100$, $S = 10, 15, 20, 25, 30$ และ $r = 1, 50, 100, 150, 200$ รูปล่างซ้ายมือเป็นรูปกราฟที่สอดคล้องกับค่า $R = 200$, $S = 35, 40, 45, 50, 55$ และ $r = 1, 10, 30, 60, 100$ และรูปล่างขวามือเป็นรูปกราฟที่สอดคล้องกับค่า $R = 1000$, $S = 60, 70, 80, 90, 100$ และ $r = 1, 100, 400, 800, 1000$ ตามลำดับ จากรูปที่ 1 เราจะเห็นว่าฟังก์ชันความน่าจะเป็นของการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธจะมีค่าเข้าใกล้ฟังก์ชันความน่าจะเป็นของการแจกแจงทวินามมากขึ้น (พิจารณารูปกราฟจากบนและล่างซ้ายไปขวา) เมื่อ $\frac{S}{R}$ มีค่าน้อยหรือมีค่าลดลง และเมื่อ $p = \frac{r}{R+1}$ มีค่าเข้าใกล้ 0 หรือ 1 ซึ่งสอดคล้องกับตัวเลขในตารางที่ 1



รูปที่ 1 กราฟแสดงค่าฟังก์ชันความน่าจะเป็นของ $\mathcal{NH}(R,S,r)$ และ $\mathcal{B}(S,r/(R+1))$ สมนัยกับตัวอย่างเชิงตัวเลขในตารางที่ 1

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เราได้ผลลัพธ์ของการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินาม โดยใช้วิธีของสไตน์และฟังก์ชัน w ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งขอบเขตบนที่เราหามาได้นั้นเป็นตัวประมาณของระยะห่างของความแตกต่างรวมระหว่างการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธและการแจกแจงทวินาม และเป็นหลักเกณฑ์ทั่วไปที่สามารถนำมาใช้ในการวัดความถูกต้องของการประมาณดังกล่าว กล่าวคือ ถ้าขอบเขตบนมีค่าน้อยแสดงว่าการแจกแจงทวินามสามารถประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธได้ดี หรือแสดงว่าการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธเข้าใกล้การแจกแจงทวินามถ้าขอบเขตบนมีค่าน้อย ในทางกลับกันถ้าขอบเขตบนมีค่ามาก แสดงว่าการประมาณการแจกแจงดังกล่าวไม่มีความเหมาะสม และขอบเขตบนดังกล่าวจะมีค่ามากหรือน้อยนั้นจะขึ้นอยู่กับค่าพารามิเตอร์ของการแจกแจงที่มีความสอดคล้องกัน ซึ่งจากผลการวิจัยที่ได้เราพบว่าการประมาณการแจกแจงไฮเพอร์จีออเมตริกนิเสธด้วยการแจกแจงทวินามจะมีความเหมาะสมเมื่อ $\frac{S}{R}$ มีค่าน้อย (เข้าใกล้ 0) และ/หรือ $p = \frac{r}{R+1}$ มีค่าเข้าใกล้ 0 หรือ 1

เอกสารอ้างอิง

Barbour, A. D., Holst, L., and Janson, S. (1992). Poisson approximation. Oxford Studies in probability 2. Oxford: Clarendon Press.

Cacoullos, T. and Papathanasiou, V. (1989). Characterization of distributions by variance bounds. Statist. Probab. Lett. 7: 351-356.

Chen, L. H. Y. (1975). Poisson approximation for dependent trials. Ann. Probab. 3: 534-545.

Cuzick, J. (2001). Event-based analysis times for randomised clinical trials. Biometrika. 88: 245-253.

Ehm, W. (1991). Binomial approximation to the Poisson binomial distribution. Statist. Probab. Lett. 11: 7-16.

Eichelsbacher, P. and Reinert, G. (2008). Stein's method for discrete Gibbs measures. Ann. Appl. Probab. 18: 1588-1618.

Graz, P. G. (2007). On the systematic and system-based study of grapheme frequencies: a re-analysis of German letter frequencies. Glottometrics. 15: 82-91.

Kaigh, W. D. and Lachenbruch, P. A. (1982). A generalized quantile estimator. Comm. Statist. Theory Methods. 11: 2217-2238.

Majsnerowska, M. (1998). A note on Poisson approximation by *w*-functions. Appl. Math. 25: 387-392.

Obilade, T. (2004). A weighted likelihood ratio of two related negative hypergeomeric distributions. Acta Math. Appl. Sinica. 20 : 647-654.

Stein, C. M. (1972). A bound for the error in normal approximation to the distribution of a sum of dependent random variables. Proc.Sixth Berkeley Sympos. Math. Statist. Probab. 3: 583-602.

Stein, C. M. (1986). Approximate Computation of Expectations. Hayward California: IMS.

Wang, X. G. (2000). Phase properties of hypergeometric states and negative hypergeometric states. J. Opt. B: Quantum Semiclass. Opt. 2: 29-32.

Wesolowski, J. and Ahsanullah, M. (2001). Linearity of regression for non-adjacent weak records. Statist. Sinica. 11: 39-52.

ดัชนีนุกรมวารสารวิทยาศาสตร์ มข.
(เรียงตามชื่อผู้เขียน)
ปีที่ 38 (พ.ศ. 2553)

❑❑❑❑❑

ดัชนีนุกรมวารสารวิทยาศาสตร์ มข.
(เรียงตามชื่อเรื่อง)
ปีที่ 38 (พ.ศ. 2553)

Stang Mongkolsuk Library
Faculty of Science, Mahidol University

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ประเภทของเรื่องที่จะตีพิมพ์

1. รายงานผลการวิจัยและค้นคว้าหรือการสำรวจที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารหรือหนังสืออื่นมาก่อน

2. บทความปริทัศน์ ได้แก่ งานเขียนที่รวบรวมหรือเรียบเรียงจากเอกสารหรือหนังสือต่าง ๆ เพื่อเผยแพร่และฟื้นฟูงานด้านวิชาการระดับต่าง ๆ

3. บทความแสดงข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในด้านวิชาการ เรื่องแปล ข่าววิชาการ ย่อความจากงานวิจัยหรือหนังสือใหม่ที่น่าสนใจ

รูปแบบของการเขียนและเตรียมต้นฉบับ

1. ต้นฉบับ ต้องเป็นตัวพิมพ์ Angsana New

1.1 ชื่อเรื่อง ขนาดตัวอักษร 20 ตัวเข้ม ตำแหน่งตรงกลาง มีทั้งชื่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

1.2 ชื่อผู้เขียน ขนาดตัวอักษร 16 เอน ตำแหน่งขวาสุด และใส่หมายเลขไว้ท้ายนามสกุล เพื่อการระบุที่อยู่ด้านล่าง

1.3 หัวข้อใหญ่ในแต่ละส่วน ขนาดตัวอักษร 16 ตัวเข้ม ตำแหน่งซ้ายสุด ยกเว้น บทคัดย่อ และ Abstract อยู่ตรงกลาง หัวข้อย่อยตามความเหมาะสม

1.4 เนื้อความ ขนาดตัวอักษร 14

1.5 คำว่า รูปที่ x และตารางที่ x ขนาดตัวอักษร 14 ตัวเข้ม ส่วนข้อความบรรยายต่อท้ายตัวปกติ

1.6 ที่อยู่ ขนาดอักษร 12

1.7 ช่องห่างระหว่างบรรทัดตามมาตรฐาน

1.8 พิมพ์ลงในกระดาษขาว A4 (โรเนียวสั้น) โดยใช้กระดาษหน้าเดียว ความยาวไม่เกิน 10 หน้า ส่งต้นฉบับ 2 ชุด (ไม่ต้องส่งแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดีในขั้นตอนนี้ เมื่อได้รับแจ้งว่าได้ลงพิมพ์แล้ว ผู้เขียนส่งฉบับแก้ไข 1 ชุด พร้อมแผ่นดิสก์ หรือแผ่นซีดี)

2. ต้นฉบับ จะถูกพิจารณาโดยกองบรรณาธิการ และจะตอบรับการได้รับบทความโดยไม่ส่งต้นฉบับคืน ผู้เขียนควรจะอัดสำเนาเก็บไว้เป็นหลักฐานของตัวเอง 1 ฉบับ

3. ต้นฉบับ จะต้องมีความถูกต้องทั้งในด้านเนื้อหา และการใช้ภาษา รวมทั้งมีความสมบูรณ์ในรูปแบบพร้อมที่จะนำลงตีพิมพ์ได้

4. ชื่อเรื่อง ให้ใช้ภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ **ไม่ยาวเกินไป** และหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อโดยไม่จำเป็น

5. ชื่อผู้เขียน เขียนชื่อภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษพร้อมทั้งบอกสถานที่ทำงานให้ชัดเจน

6. เนื้อเรื่อง ใช้ได้ทั้งภาษาไทยล้วนและภาษาอังกฤษล้วน ถ้าใช้ภาษาไทย ภาษาอังกฤษที่ใช้ปนกับภาษาไทยนั้นให้พยายามแปลเป็นไทยเท่าที่จะทำได้ และให้เขียนคำเดิมกำกับในวงเล็บ การทับศัพท์ภาษาอังกฤษตลอดทั้งการเขียนตัวสะกด การันต์ ในภาษาไทยให้ใช้ตามแบบราชบัณฑิตยสถาน

ข้อแนะนำในการเขียนบทความลงวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

7. ในกรณีของบทความวิจัย **ต้องมีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ** และแบ่งเนื้อหาของบทความเป็นบทนำ วิธีดำเนินงาน ผลการวิเคราะห์ บทสรุปและวิจารณ์

8. เชิงอรรถ (footnote) ใช้เฉพาะที่จำเป็นเพื่อขยายหรือให้รายละเอียดเพิ่มเติมแก่ใจความเฉพาะตอนในบทความ

9. ตารางและภาพประกอบ คำบรรยายประกอบตารางหรือภาพประกอบควรจะสั้นและชัดเจน ถ้าเป็นภาพถ่ายให้ใช้ภาพขาว-ดำ ขนาดโปสการ์ด ภาพเขียนลายเส้นควรเขียนด้วยหมึกดำ ภาพที่เขียนต้องชัดเจนและมีขนาดที่เหมาะสม

10. เอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม แนะนำให้เขียนตามแบบที่ทางวารสารกำหนด

11. หากไม่ปฏิบัติตามข้อแนะนำในการเขียนบทความ บทความของท่านอาจไม่ได้รับการตีพิมพ์หรือตีพิมพ์ล่าช้า

ส่งต้นฉบับมาที่

กองบรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
E-mail: kku_scijournal@kku.ac.th

อภินันทนาการสำหรับผู้เขียน

เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ ผู้เขียนจะได้รับวารสารฉบับนั้น 1 เล่ม

ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและกรดไขมันของจิ้งหรีดทองลาย (*Gryllus* sp.) ที่เลี้ยงเพื่อการค้า

บรรจง เชื้อเมืองพาน[1] *วิรัช ว่องพัฒนากุล*[2] *และ ปวีณา พงษ์ดนตรี* [1*]

บทคัดย่อ

Xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

บทนำ

Xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

วิธีการ

Xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

รูปที่ 1 xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

ตารางที่ 1 xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

---

[1] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

[2] ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

[*] Corresponding Author, E-mail:

การเขียนเอกสารอ้างอิงในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เอกสารอ้างอิง (Reference) หมายถึง เอกสารหรือส่วนหนึ่งของเอกสารที่อ้างอิงถึงหรือแปลมาโดยตรง การเขียนเอกสารอ้างอิงในเนื้อหานั้น ให้ใช้ระบบชื่อและปี เช่น Williams (2001) รายงานว่า... หรือ... (Williams, 2001) การเขียนเอกสารอ้างอิงในตอนท้ายบทความนั้น ให้ใส่เฉพาะเล่มที่มีการอ้างไว้แล้วในเนื้อหาเท่านั้น หากอ้างจากเล่มภาษาไทย ต้องเขียนทั้งชื่อและนามสกุล

บรรณานุกรม (Bibliography) หมายถึง เอกสารที่ใช้อ้างถึงในลักษณะที่สรุปเป็นหลักการหรือทฤษฎีโดยมิได้อ้างอิงหรือแปลมาโดยตรง

การเขียนเอกสารอ้างอิง หรือบรรณานุกรม มีแนวทางการเขียนดังนี้

1. หนังสือ

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.) ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างถึง.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น. อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อหนังสือ. (เล่มที่). (พิมพ์ครั้งที่). เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์หรือสำนักพิมพ์. เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง.

2. เอกสารราชการ

ชื่อหน่วยราชการ. (เลขปี พ.ศ. หรือ ค.ศ.). ชื่อเรื่อง. ชื่อหนังสือ. เมืองที่พิมพ์: โรงพิมพ์ หรือสำนักพิมพ์.

3. วารสาร

ก. ภาษาไทย

ชื่อตัว นามสกุลของผู้แต่ง. (เลขปี พ.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย.

ข. ภาษาอังกฤษ

ชื่อสกุล, อักษรย่อชื่อต้น. อักษรย่อชื่อรอง. (เลขปี ค.ศ.). ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร. เล่มที่ (ฉบับที่): เลขหน้าเริ่มต้น-เลขหน้าสุดท้าย.

หมายเหตุ

1. กรณีที่เป็นเอกสารอ้างอิงจากแหล่งอื่น ๆ นอกเหนือจากที่กำหนดข้างต้น เช่น จุลสาร หนังสือพิมพ์ ฯลฯ ให้ยึดหลักการเขียนตามแบบข้างต้นโดยอนุโลม
2. กรณีที่มีผู้เขียน 2 คน ให้เขียนตามแบบของผู้เขียนคนแรก แต่ให้เติมคำว่า "และ" หรือ "and" หน้าชื่อสุดท้ายในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ
3. กรณีที่มีผู้เขียนมากกว่า 2 คนขึ้นไป ให้ใส่เฉพาะผู้แต่งชื่อแรกและใส่คำว่า "และคณะ" หรือ "et al." ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ (เฉพาะในเนื้อหาเท่านั้น)
4. ถ้าเอกสารที่ถูกอ้างอิงอยู่ในระหว่างตีพิมพ์ ให้บอกรายละเอียดมากที่สุดและใช้คำว่า "ระหว่างตีพิมพ์" หรือ "in press" ในกรณีของภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษตามลำดับ โดยวงเล็บต่อท้ายเอกสารอ้างอิงนั้น

ใบสั่งลงโฆษณา
ในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....ตำแหน่ง.....

เป็นตัวแทนของ (บริษัท/ห้างร้าน/องค์การ).....

ที่อยู่.....โทรศัพท์.....

โทรสาร..... มีความประสงค์จะลงโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.
ดังรายการต่อไปนี้

ในฉบับ (สี)

○ เต็มหน้า

○ ครึ่งหน้า

โดยข้าพเจ้าขอให้ลงโฆษณา จำนวน.....ฉบับ นับตั้งแต่ฉบับแรก ที่จะพิมพ์ในครั้งต่อไป หลังจากที่ท่านได้รับหนังสือฉบับนี้แล้ว

พร้อมกันนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งต้นฉบับเพื่อลงโฆษณา (แผ่น CD ข้อมูล) และเงินค่าโฆษณาเป็นธนาณัติ ในนาม คุณสุภาพร พิมพ์วาปี สั่งจ่าย ปท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002 เป็นจำนวนเงิน.....บาท (.....)

ลงนาม.....

(.....)

อัตราค่าโฆษณาในวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

		ลง 1 ฉบับ (บาท)	ลง 4 ฉบับ (บาท)
ในฉบับ (สี)	เต็มหน้า	1,000	3,600
	ครึ่งหน้า	500	1,800

ใบสมัครเป็นสมาชิก
วารสารวิทยาศาสตร์ มข.

เขียนที่.....

วันที่.....

เรียน บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์ มข.

ข้าพเจ้า.....

ที่อยู่.....รหัสไปรษณีย์.....

โทรศัพท์.....โทรสาร..... มีความประสงค์จะสมัคร

สมาชิก "วารสารวิทยาศาสตร์ มข." ตั้งแต่ฉบับที่.....ปีที่.....ถึงฉบับที่.....

ปีที่..... รวมทั้งสิ้น.....ฉบับ

พร้อมกันนี้ ข้าพเจ้าได้ส่งเงินค่าสมัครสมาชิก เป็นธนาณัติ ในนาม คุณสุภาพร พิมพ์วาปี สั่งจ่าย ปท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002 เป็นจำนวนเงิน

.....บาท (.....)

ลงนาม.....

(.....)

กำหนดออกของวารสารวิทยาศาสตร์ มข. และอัตราค่าสมัครสมาชิก

ปีละ 4 ฉบับ เป็นจำนวนเงิน 200 บาท

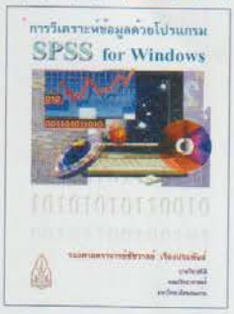
- ❖ ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม
- ❖ ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน
- ❖ ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน
- ❖ ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม

หนังสือในโครงการผลิตตำรา คณะ
มหาวิทยาลัยขอนแก่

สถิติพื้นฐาน

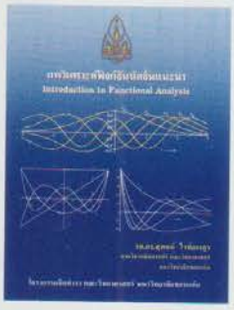
พร้อมตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม
MINITAB SPSS และ SAS

รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
พิมพ์ครั้งที่ 5 2543 • 510 หน้า
ISBN 974-675-666-4
ราคา 200 บาท



การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for Windows

รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
2544 • 620 หน้า
ISBN 974-654-608-2
ราคา 300 บาท



การวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลขั้นแนะนำ

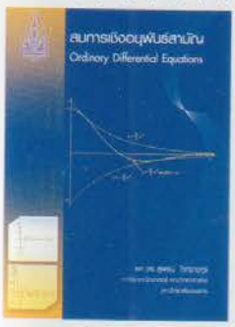
รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไวท์ยางกูร
2547 • 344 หน้า
ISBN 974-367-958-8
ราคา 200 บาท

สเปกโทรสโกปี ในการพิสูจน์โครงสร้างของสารอินทรีย์

รองศาสตราจารย์ ดร. สมเดช กนกเมธากุล
2547 • 238 หน้า
ISBN 974-435-348-1
ราคา 180 บาท

แมงป่องช้าง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดา ดาดวง
นางสาวนันทวัน เอื้อวงศ์กูล
2547 • 64 หน้า
ISBN 974-435-571-9
ราคา 160 บาท

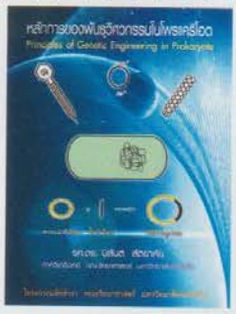


สมการเชิงอนุพันธ์สามัญ
Ordinary Differential Equations

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ ไวท์ยางกูร
2550 • 470 หน้า
ISBN 978-974-7707-55-7
ราคา 240 บาท

เคมีเฮเทอโรไซคลิกแอโรแมติก
Aromatic Heterocyclic Chemistry

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิวัฒน์ หาญวจนวงศ์
2550 • 122 หน้า
ISBN 978-974-7707-71-7
ราคา 90 บาท



หลักการของพันธุวิศวกรรมในโพรแคริโอ
Principles of Genetic Engineering in Prokaryo

รองศาสตราจารย์ ดร. นิสันต์ สัตยาศัย
2551 • 164 หน้า
ISBN 978-974-10-2673-9
ราคา 120 บาท

พอลิเมอร์และชีวโมเลกุลในสารประกอบอินทรีย์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒนา ธีรพรชัยสิทธิ
2553 • 112 หน้า
ISBN 978-616-7183-57-2
ราคา 80 บาท

เคมีอินทรีย์เบื้องต้น

รองศาสตราจารย์ ดร. ขวัญใจ กนกเมธากุล
2553 • 317 หน้า
ISBN 978-616-7183-75-6
ราคา 240 บาท

อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของพืช

รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณรัตน์ ฉวีราช
2553 • 172 หน้า
ISBN 978-616-7183-76-3
ราคา 160 บาท

เคมีโคออร์ดิเนชันของ คอปเปอร์

รองศาสตราจารย์ ดร. สุจิตรา ยังมี
2553 • 260 หน้า
ISBN 978-616-223-007-3
ราคา 200 บาท

ท่านที่สนใจหนังสือในโครงการผลิตตำรา ติดต่อสั่งซื้อได้ที่... รองศาสตราจารย์ชัชวาลย์ เรืองประพันธ์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002 โทรศัพท์/โทรสาร 0 4320-2375 E-mail: chatchav@kku.ac.th