



JARST



Journal of Applied Research on Science and Technology

Volume 20 Issue 2 July-December 2021

ISSN Print: 2773-9376
Online: 2773-9473

ปีที่ 20 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม-ธันวาคม 2564)

JARST
(Science and Technology)

วัตถุประสงค์

Journal of Applied Research on Science and Technology (JARST) เป็นวารสารที่เผยแพร่องค์ความรู้ และประสบการณ์ทางด้านวิชาการและวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยมีจุดหมายและวัตถุประสงค์ของวารสารวิจัยดังนี้

1. เพื่อเผยแพร่แนวความคิด งานวิจัย การพัฒนาและประเด็นสำคัญในด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
2. เพื่อกระตุ้นให้เกิดการอภิปรายทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทุกสาขาวิชา ซึ่งเป็นทั้งงานวิจัยพื้นฐานและงานวิจัยประยุกต์

ทั้งนี้วารสารวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีอยู่ในฐานข้อมูลดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Journal Citation Index Centre, TCI Centre) โดยผ่านการรับรองคุณภาพจาก TCI และจะมุ่งเน้นพัฒนาคุณภาพเพื่อเข้าสู่ฐานข้อมูลสากลต่อไป

ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์สมหมาย	ผิวสอาด	อธิการบดี
รองศาสตราจารย์กฤษณ์ชนม์	ภูมิภิตติพิชญ์	รองอธิการบดี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงศ์พิชญ์	ถ้วนภูษา	รองอธิการบดี
Prof. Sean	Danaher	Northumbria University (UK)
Prof. Hee Young	Lee	Yeungnam University (Korea)
Prof. Seiichi	Kawahara	Nagaoka University of Technology (Japan)

บรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราวุธ	อริยวิริยะนันท์	ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา
--------------------------	-----------------	--------------------------------

กองบรรณาธิการภายนอก

ศาสตราจารย์ผดุงศักดิ์	รัตนเดโช	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศาสตราจารย์ตรีทศ	เหล่าศิริหงส์ทอง	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศาสตราจารย์พิเชษฐ	ลิ้มสุวรรณ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
รองศาสตราจารย์คมสัน	มาลีสี	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ศาสตราจารย์สนอง	เอกสิทธิ์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศาสตราจารย์เภาศกรหญิงพรอนงค์	อร่ามวิทย์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศาสตราจารย์ชูกิจ	ลิมปิจำนงค์	สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ศาสตราจารย์วสกร	บัลลังก์โพธิ์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กองบรรณาธิการภายใน

รองศาสตราจารย์บุญยัง	ปลั่งกลาง	คณะวิศวกรรมศาสตร์
รองศาสตราจารย์จตุรงค์	ลังกาพินธุ์	คณะวิศวกรรมศาสตร์
รองศาสตราจารย์สรพงษ์	ภวสุปรีย์	คณะวิศวกรรมศาสตร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรี	ศรีรินทร์ฉัตร	คณะวิศวกรรมศาสตร์
รองศาสตราจารย์อมร	ไชยสัตย์	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นริศร์	บาลทิพย์	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

จัดทำโดย

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เลขที่ 39 หมู่ที่ 1 ตำบลคลองหก อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110
โทรศัพท์ 0 2549 4681 โทรสาร 0 2577 5038 และ 0 2549 4680
Website: <http://www.ird.rmutt.ac.th>

คณะผู้จัดทำ

นางสาวกชกร	ดาราพาณิชย์	สถาบันวิจัยและพัฒนา
นางสาวสรัญญา	สุวินัย	สถาบันวิจัยและพัฒนา
นางสาวฉัตรวดี	สายใยทอง	สถาบันวิจัยและพัฒนา
นางสาวณัฐวรรณ	ธรรมวิชรากร	สถาบันวิจัยและพัฒนา
นางสาวมนต์ทิชา	รัตนพันธ์	สถาบันวิจัยและพัฒนา

ออกแบบปก

นางสาวสรัญญา	สุวินัย	สถาบันวิจัยและพัฒนา
นางสาวมนต์ทิชา	รัตนพันธ์	สถาบันวิจัยและพัฒนา

จัดทำรูปเล่ม

นางสาวสรัญญา	สุวินัย	สถาบันวิจัยและพัฒนา
--------------	---------	---------------------

คำนำ

Journal of Applied Research on Science and Technology (JARST) เป็นวารสารที่ส่งเสริมงานด้านวิจัยและดำเนินงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีซึ่งอยู่ในฐานข้อมูลของศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Journal Citation Index, TCI Centre) รับผิดชอบบทความวิจัย บทความวิชาการ เปิดรับบทความทั้งเป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยครอบคลุมในสาขาวิชาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อเผยแพร่และถ่ายทอดผลงานวิจัยและวิชาการ รวมถึงแนวคิดในการพัฒนางานวิจัย เพื่อกระตุ้นให้เกิดเป็นแนวทางการอภิปรายทุกสาขาซึ่งเป็นทั้งงานวิจัยพื้นฐาน และวิจัยประยุกต์ ทั้งภายใน และภายนอกมหาวิทยาลัย

สำหรับวารสารวิจัยปีที่ 20 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม – ธันวาคม 2564) ได้รวบรวมผลงานทางวิชาการจากผลการวิจัยทั้งสิ้น จำนวน 12 บทความ ประกอบด้วยบทความจากผลงานวิจัยจากหลากหลายสาขา ซึ่งได้ผ่านการกลั่นกรองจากผู้ทรงคุณวุฒิ (peer review) ทั้งภายนอกและภายในมหาวิทยาลัย กองบรรณาธิการหวังเป็นอย่างยิ่งว่าทุกบทความจะเป็นประโยชน์และสามารถช่วยพัฒนางานวิจัยแก่ผู้ที่สนใจให้ก้าวหน้าต่อไปได้

กองบรรณาธิการ

สารบัญ

ผลของน้ำผักไชยา (<i>Cnidoscolus chayamansa</i>) เข้มข้นต่อคุณภาพของแยมกระเจียบแดงลดน้ำตาล	1
Effect of Concentrated Chaya (<i>Cnidoscolus chayamansa</i>) Vegetable Juice on Quality of Reduced Sugar Roselle Jam	
อินทิรา ลิจันทรพร, นันทชนก นันทะไชย, ปาลิตา ตั้งอนุรัตน์ และ ภูรินทร์ อัครกุลธร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี	
การศึกษาลักษณะโครงสร้างทางกายภาพและธาตุองค์ประกอบของเส้นใยผ้าในสภาวะฝังกลบด้วยดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน	12
A Study of Physiological Structure and Element Composition of Fibers at Burial with Different pH Values	
ศิริรัตน์ เรืองเกษา และ วรวัช วิชชวานิชย์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ	
Cytogenetic Analysis of the Variable Squirrel (<i>Callosciurus finlaysonii</i> Horsfield, 1824) by Conventional Staining, Ag-NOR Staining and Fluorescence in situ Hybridization Techniques	25
Sucheela Talumphai, Somkiat Khenwiset, Sukhonthip Ditcharoen and Alongkload Tanomthong Roi Et Rajabhat University	
การพัฒนาเทคนิคค้นหาพื้นที่ใบหน้าและวัตถุบริเวณดวงตาโดยใช้หลักการประมวลผลภาพ	36
Development of Facial Area and Object Detection around The Eye Technique using Image Processing	
เอกรัตน์ สุขสุคนธ์, ศุภกิตติ โสภาสพ และ จักรี ศรีนนท์ฉัตร วิทยาลัยเซาธ์อีสท์บางกอก	
Build-up Factors and Fast Neutron Properties of Some Plastic and Polymer for Shielding Materials: A Simulation	47
Sunantasak Ravangvong, Punsak Glumglomchit, Thatchapol Hudsathapun, Narawich Mitdee, Teerawatch Ngodngam, Kittisak Sriwongsa and Chumphon Khobkham Phetchaburi Rajabhat University	
Cytogenetics of Black-bearded Tomb bat (<i>Taphozous melanopogon</i>) by Conventional staining, Ag-NOR staining and Fluorescence in situ hybridization Techniques	57
Sucheela Talumphai, Sutheemon Techa-ay, Sukhonthip Ditcharoen and Alongkload Tanomthong Roi Et Rajabhat University	
การศึกษาพฤติกรรมการถ่ายเทความร้อนระหว่างปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน	70
Study of Heat Transfer Throughout the Inverse Temperature Phenomena	
นवल ไตรพันธวัช, สมศักดิ์ วงษ์ประดับไชย และ ผดุงศักดิ์ รัตนเดโช มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	
การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณไมทราจินีนในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะด้วยออนไลน์ เอส พี อี ลิควิดโครมาโตกราฟี แมสสเปกโตรเมตรี	88
Method Validation for the Quantification of Mitragynine in Blood and Urine by Using Online Solid Phase Extraction Liquid Chromatography-Mass Spectrometry	
ภัทรพร ชดช้อย มหาวิทยาลัยศิลปากร	

สารบัญ (ต่อ)

คุณภาพทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยาของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกชนิดทึบที่จำหน่ายในจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย	102
--	-----

Physical, Chemical and Microbiological Quality of Opaque-Plastic Bottled Drinking Water
Distributed in Chon Buri Province, Thailand

สุบัณฑิต นิมรรัตน์, อภิญญา จิตต์อารี และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย
มหาวิทยาลัยบูรพา

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ผลิตโดยเอนไซม์ไคตินเนสที่สกัดจากต้นอ่อนก้ามปู Antioxidant Activity of Chitooligosaccharides Produced by Chitinase Extracted from two Weeks Seedlings of <i>Samanca saman</i> (Jacq) Merr.	114
--	-----

มานะ ขาวเมฆ
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

Bitter Leaf Crude Extracts-Loaded Alginate Films as Potential Wound Dressings	124
---	-----

Patcharaporn Wutticharoenmongkol, Tittaya Thairin and Bhunnada Luthanawat
Thammasat University

การศึกษาแบบจำลองการอบแห้งชั้นบางของพริกชี้หนู The Study of Thin Layer Drying Model of Chili	137
--	-----

นพมาศ ประทุมสูตร และ ทวีเดช หมั่นภูเขียว
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์



ผลของน้ำผักไชยา (*Cnidoscolus chayamansa*) เข้มข้นต่อคุณภาพของแยมกระเจียบแดงลดน้ำตาล

Effect of Concentrated Chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) Vegetable Juice on Quality of Reduced Sugar Roselle Jam

อินทิรา ลิจันทรพร* นันทชนก นันทะไชย ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์ และ ปุรินทร์ อัครกุลธร

Intira Lichanporn*, Nanchanok Nanthachai, Palida Tanganurat and Purin Akkarakultron

สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

Division of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Thanyaburi, Pathumthani 12110, THAILAND

*Corresponding author e-mail: intira_l@rmutt.ac.th

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article history:	The Chaya leaves have been found to be an important
Received: 1 June, 2020	source of protein, β -carotene, vitamins, ascorbic acid, calcium,
Revised: 30 October, 2020	potassium and iron. It is rich in antioxidant and phenolic compound.
Accepted: 30 April, 2021	This study aims to investigate the effect of concentrated Chaya
Available online: 25 September, 2021	vegetable juice (0 (control; C2), 5, 10, 15 and 20 g on quality of
DOI: 10.14456/jarst.2021.1	Roselle jam (without pectin) and compared with control (C1; Roselle
Keywords: Chaya, titratable	jam with pectin). Roselle Jam reduced- sugar with concentrated
acidity, stability, Roselle jam	Chaya vegetable juice was evaluated for color, pH, total soluble
	solid, titratable acidity, stability and sensory properties. Roselle jam
	reduced-sugar with concentrated Chaya vegetable juice was less
	dark-red color than C2. The pH of C1 was more than jam from C2,
	5, 10, 15 and 20 g of concentrated Chaya vegetable juice. Jam
	samples showed pH ranging between 2.55-2.59. While, Roselle jam
	added with concentrated Chaya vegetable juice, C1 and C2 were
	not significantly different in total soluble solid. The total soluble
	solid of all Roselle jam ranged between 66 and 68 ^o Brix. The

titratable acidity increased with increase in concentrated Chaya vegetable juice. Addition of 10 g concentrated Chaya vegetable juice into Roselle jam showed the highest stability. The sensory score of color, odor, taste, stability of jam and overall acceptance results indicated that Roselle jam processed from 15 and 20 g of concentrated Chaya vegetable juice were generally high. However, the results showed that Roselle jams prepared from concentrated Chaya vegetable juice are still acceptable. Therefore, concentrated Chaya vegetable juice could potentially be used for replacement of the sugar in the formulated jam.

บทคัดย่อ

ผักไชยาพบว่าเป็นแหล่งที่สำคัญของโปรตีน เบต้าแคโรทีน วิตามิน กรดแอสคอร์บิก แคลเซียม โพแทสเซียม และเหล็ก ผักไชยายังมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกจำนวนมาก วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาผลของน้ำผักไชยาเข้มข้น (0 (ชุดควบคุม); C2) 5 10 15 และ 20 กรัม ต่อคุณภาพของแยมกระเจียบ (แยมที่ไม่มีเพคติน) และเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (C1; แยมกระเจียบที่มีเพคติน) แยมกระเจียบลดน้ำตาลด้วยน้ำผักไชยาเข้มข้น ประเมินจากค่าสี ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณกรด ค่าความคงตัว และการทดสอบประสาทสัมผัส พบว่าแยมกระเจียบลดน้ำตาลด้วยน้ำผักไชยาเข้มข้นมีสีแดงเข้มน้อยกว่าแยมชุดควบคุม C2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของแยมชุดควบคุม C1 มีค่ามากกว่าแยมน้ำผักไชยาเข้มข้น 5 10 15 และ 20 กรัม แยมมีค่ากรด-ด่างอยู่ในช่วง 2.55-2.59 ในขณะที่แยมกระเจียบน้ำผักไชยาเข้มข้น ชุดควบคุม C1 และ C2 ไม่มีความแตกต่างของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด โดยอยู่ในช่วง 66 และ 68 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณน้ำผักไชยาเพิ่มขึ้น ค่าความคงตัวของแยมน้ำผักไชยา 10 กรัม มีค่าสูงที่สุด คะแนนการทดสอบประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ ความคงตัวของแยม

และความชอบโดยรวมพบว่าแยมน้ำผักไชยา 15 และ 20 กรัมมีค่าสูง อย่างไรก็ตามแยมกระเจียบน้ำผักไชยาเข้มข้นยังคงได้รับการยอมรับ ดังนั้นน้ำผักไชยาเข้มข้นจึงสามารถใช้แทนน้ำตาลในสูตรแยมได้

คำสำคัญ: ผักไชยา ปริมาณกรด ความคงตัว แยมกระเจียบ

บทนำ

ผักไชยา หรือคะน้าเม็กซิกัน ผักโขมต้น หรือชายา (ภาษาสเปน Chaya) ชื่อทางพฤกษศาสตร์ : *Cnidoscolus chayamansa* ชื่อวงศ์ Euphorbiaceae เป็นไม้พุ่มที่มีอายุหลายสิบปี อยู่ในวงศ์เดียวกับยางพาราและสบู่ดำ เชื่อว่ามีถิ่นกำเนิดตามธรรมชาติในคาบสมุทรยูคาตันของประเทศเม็กซิโก มีลำต้นอวบ น้ำมียางขาว ออกมาเมื่อถูกหัก ทรงพุ่มตั้งตรง มีขนาดใหญ่ โตเร็ว สามารถสูงได้ถึง 6 เมตร ใบกว้าง มีแฉกลายใบมะละกอ ผักไชยาเป็นผักกินใบและเป็นอาหารชนิดหนึ่งของประเทศเม็กซิโก กัวเตมาลา และประเทศแถบอเมริกากลาง ผักไชยาเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน วิตามิน มีแคลเซียม และโพแทสเซียมสูง แล้วยังเป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งมีสารอาหารสูงกว่าผักใบเขียวบางชนิดถึง 2-3 เท่าอีกด้วย อย่างไรก็ตามใบไชยาดิบมีพิษ เนื่องจากมีสารกลูโคไซด์ซึ่งจะ

ปลดปล่อยสารพิษจำพวกไซยาไนด์ออกมา จึงจำเป็นต้องทำให้สุกก่อนกิน โดยใช้เวลาประมาณ 2-3 นาที ในการทำให้สุก เพื่อลดฤทธิ์ของสารที่เป็นพิษให้อยู่ในระดับปลอดภัย (1) จากรายงานของ Kulathuran Pillai และคณะ (2) พบว่าผักไชยาประกอบด้วย สารอัลคาลอยด์ คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน โปรตีน แทนนิน ฟลาโวนอยด์ กลูโคไซด์ สเตียรอยด์ และสารอื่นๆ จากรายงานของ Kuti และ Torres (3) พบว่าผักไชยามีสารอาหารพวก โปรตีน เส้นใย ธาตุเหล็ก และวิตามินสูง

แยม เป็นผลิตภัณฑ์ผลไม้ที่ทำให้มีความข้นเหนียวพอเหมาะจนสามารถเกิดลักษณะเป็นวุ้นหรือเจล (Gel) มีรสเปรี้ยวหวานหรือมีความข้นหนืดกึ่งแข็งกึ่งเหลว (4) โดยเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมรับประทานเป็นอาหารเขาร่วมกับขนมปัง เหมาะกับทุกเพศ ทุกวัย และสามารถนำมาแต่งหน้าขนมเค้กหรือไอศกรีมได้ แยมสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ ประเภทที่มีเนื้อผลไม้ทั้งหมัดไม่ต่ำกว่าร้อยละ 45 ของน้ำหนัก และประเภทที่มีเนื้อผลไม้ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 33 ของน้ำหนัก (5) น้ำตาลเป็นตัวให้ความหวานและเนื้อแก่ผลิตภัณฑ์ และช่วยให้เพคตินตกตะกอนเป็นเจล ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณเพคตินและความเป็นกรดของเนื้อหรือผลไม้ชนิดนั้น ๆ ถ้าปริมาณเพคตินมาก ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ต่อน้ำหนักของผลไม้ก็มากด้วย แต่ในทางตรงกันข้ามถ้าผลไม้ไม่มีความเป็นกรดสูง (เปรี้ยว) ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ต่อน้ำหนักผลไม้หรือน้ำผลไม้ต่ำ อย่างไรก็ตาม ปริมาณน้ำตาลทั้งในแยมและเยลลี่ไม่ควรสูงกว่า 70 °Brix (6) กรดซิตริกช่วยปรับปรุงกลิ่น รส และความเป็นกรดทำให้พอเหมาะในผลิตภัณฑ์แยม รวมทั้งยังช่วยปรับปรุงกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ (7) นอกจากนี้กรดช่วยควบคุมปฏิกิริยา Inversion ของน้ำตาลทรายให้เกิดขึ้นสม่ำเสมอในแต่ละครั้งที่ทำการผลิต กรดที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก หรือน้ำมะนาว การเติมกรดที่เหมาะสมจะช่วยให้เนื้อแยมอยู่ตัวดี และช่วยป้องกันการตกผลึกของน้ำตาล และจะเติมกรดเมื่อเคี้ยวแยมได้ที่แล้ว เพราะถ้าเติมกรดก่อนและเคี้ยวนานเกินไป กรดจะ

ทำให้เพคตินสลายตัวจนสูญเสียคุณสมบัติการอยู่ตัว (8) เพคติน (Pectin) เป็นสารประกอบของพอลิเมอร์ของโพลีแซ็กคาไรด์ ที่พบในพืชจากทำหน้าที่เป็นสารก่อสภาพเจล (Gelling agent) สารเพิ่มความเข้มข้นของของเหลว (Thickener) และสารให้ความคงตัว (Stabilizer) จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทเครื่องดื่ม น้ำผลไม้ โยเกิร์ต และแยมอย่างกว้างขวาง (9) การผลิตแยมในท้องตลาด พบว่ามีการใช้ผลไม้และผักต่าง ๆ ในการผลิตแยม เช่น แยมสับปะรด แยมสตอเบอรี่ แยมส้ม และแยมกระเจี๊ยบ เป็นต้น โดยเฉพาะแยมกระเจี๊ยบแดงซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมนำมาผลิตเครื่องดื่ม สีส้มอาหาร และยารักษาโรค มีสรรพคุณต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ช่วยลดไขมันในเส้นเลือด แก้ไอ ขับเสมหะ ลดความดันโลหิต ขับปัสสาวะ และป้องกันการเกิดนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ ในกลีบกระเจี๊ยบแดงมีสารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และมีกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดมาลิก และทาร์ทาริกให้รสชาติเปรี้ยว นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งรวมสารอาหารโดยเฉพาะแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม เหล็ก และวิตามิน เป็นต้น (10) Aleksandar และคณะ (11) ได้ศึกษาการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสของแยมรสเบอร์รี่ที่ใช้สารให้ความหวานแตกต่างกัน การลดแคลอรีเป็นกุญแจสำคัญในการลดน้ำหนักที่ประสบความสำเร็จในผู้ที่มีน้ำหนักเกิน และเป็นโรคอ้วนโดยใช้กลยุทธ์ เช่น ใช้สารให้ความหวานแคลอรีต่ำทดแทนซูโครส โดยมีจุดมุ่งหมายของงานวิจัยเพื่อกำหนดความแตกต่างทางประสาทสัมผัสระหว่างแยมรสเบอร์รี่ที่ใช้ซูโครส เปรียบเทียบกับแยมที่ใช้สารให้ความหวานอื่น ๆ (ฟรุคโตส ซอร์บิทอล และน้ำเชื่อมจาก ต้นอากาเว่) แยมที่ใช้สารให้ความหวานด้วยซอร์บิทอลได้คะแนนสูงสุดในขณะที่แยมที่ใช้ซูโครสได้คะแนนต่ำสุด งานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นว่าแยมที่ใช้สารให้ความหวานแคลอรีต่ำ เช่น ซอร์บิทอล มีการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่ดีกว่าแยมแบบดั้งเดิมที่ผลิตด้วยซูโครส การแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยสารให้ความหวานในแยมสตอเบอรี่ แยมรสเบอร์รี่

และแยมเชอร์รี่ต่อลักษณะเนื้อสัมผัส ซึ่งพบว่าน้ำตาลซูโครสยังคงเป็นน้ำตาลหลักที่ใช้ในการเตรียมแยม อย่างไรก็ตาม การบริโภคน้ำตาลซูโครสที่มากเกินไปทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ดังนั้นการเปลี่ยนสารทดแทนด้วยวิธีอื่นเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ อย่างไรก็ตามการใช้สารทดแทนซูโครสในการผลิตแยมอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเนื้อสัมผัส และรสชาติที่ทำให้ผู้บริโภคไม่พอใจ ฟรุคโตสเป็นน้ำตาลที่พบในผักและผลไม้ที่มีรสหวานและมีสมบัติใกล้เคียงกับซูโครสในการผลิตแยม อย่างไรก็ตามการใช้สูตรที่มีฟรุคโตสทำให้ค่าพลังงานลดลงร้อยละ 51 ถึงร้อยละ 68 จึงเป็นตัวเลือกสำหรับการผลิตแยมในระดับอุตสาหกรรม (12) Santanu และคณะ (13) ได้ศึกษาผลของการทดแทนสตีวียอไซด์และซูคราโลสต่อค่าสี สมบัติทางรีโอโลยี สเปกตรัม และลักษณะทางโครงสร้างของแยมมะม่วง ผลิตแยมมะม่วงแคลอรีต่ำโดยใช้สารให้ความหวาน (Stevioside และ Sucralose) แทนน้ำตาลซูโครส การผลิตแยมมะม่วงที่มีลักษณะเฉพาะด้วยการใช้ Stevioside หรือ Sucralose ร้อยละ 25 โดยพบว่าค่าดัชนีการไหล และค่าความเครียดของตัวอย่างแยมลดลงด้วยการเพิ่มขึ้นของ Stevioside หรือ Sucralose เนื่องจากการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (TSS) ค่าดัชนีการไหลเพิ่มขึ้นเมื่อค่า TSS ลดลง หมายถึงแยมมะม่วงมีลักษณะเป็นเจลเหลว ค่าความสว่าง ค่าสีเหลือง และค่าความบริสุทธิ์ของสีเพิ่มขึ้นเมื่อทดแทน Stevioside หรือ Sucralose ในแยม

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำผักโขมาทดแทนน้ำตาลซูโครสในผลิตภัณฑ์แยม ซึ่งในปัจจุบันแยมที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด ส่วนใหญ่มักใช้น้ำตาลซูโครสเป็นส่วนประกอบในการผลิต เนื่องจากน้ำตาลซูโครสเป็นวัตถุดิบที่มีราคาไม่สูงมาก แต่จะส่งผลโดยตรงต่อผู้บริโภคที่เป็นโรคเบาหวาน หรือโรคอ้วน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตแยมกระเจียบที่ใช้ผักโขมเข้มข้นแทนการใช้น้ำตาลซูโครส ซึ่งผักโขมเข้มข้นใช้นี้จะเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ เช่น วิตามินซี วิตามินดี แคลเซียม จากผักชนิดนั้น ๆ อีกทั้งยังเป็นการ

พัฒนาผลิตภัณฑ์แยมรูปแบบใหม่ ๆ เพื่อเป็นการลดปริมาณน้ำตาลในแยม ทำให้ผู้บริโภคมีทางเลือกในการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ต่อสุขภาพมากขึ้นจากคุณสมบัติต่าง ๆ ของผักโขมและความต้องการในการพัฒนาแยมกระเจียบลดน้ำตาล

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมน้ำผักเข้มข้น

นำผักโขมจากวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรพะยอม จังหวัดสระแก้ว เลือกใบที่มีสีเขียว สมบูรณ์ ไม่มีตำหนิ ทำความสะอาด นำไปต้มในน้ำอุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 นาที เพื่อลดความเป็นพิษในใบผักโขม จากนั้นนำไปคั้นน้ำในอัตราส่วนใบผักโขมต่อน้ำเท่ากับ 1:1 (w/w) วัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ($^{\circ}\text{Brix}$) เริ่มต้นของน้ำคั้นได้ 1.3 $^{\circ}\text{Brix}$ (รูปที่ 1) จากนั้นนำไปเติมในส่วนผสมของแยมในขั้นตอนต่อไป (14)



รูปที่ 1 ผักโขม และน้ำคั้น

2. ศึกษาผลของน้ำผักโขมเข้มข้นต่อคุณภาพของแยมกระเจียบแดง

นำน้ำผักโขมที่ได้จากการเตรียมขั้นต้นมาแทนที่น้ำตาลในสูตรแยม และไม่ใช้เพคตินในสิ่งทดลองที่ 2-6 ดังตารางที่ 1 เนื่องจากขั้นตอนการทดลองเบื้องต้นพบว่า การเติมเพคตินร่วมกับน้ำผักโขมทำให้แยมแข็งตัวมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผักโขมอาจมีเพคตินในปริมาณมากจึงทำให้เกิดเจลมีลักษณะแข็ง ดังนั้นในการทดลองจึงตัดเพคตินออกในสิ่งทดลองที่ 2-6 วางแผนการ

ทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD)

โดยมี 6 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลองมี 3 ซ้ำ ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม
 เพคติน 4 กรัม ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 0 กรัม (ชุดควบคุม; C1)

สิ่งทดลองที่ 2 ปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม
 ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 0 กรัม (ชุดควบคุม; C2)

สิ่งทดลองที่ 3 ปริมาณน้ำตาลซูโครส 285 กรัม
 ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 5 กรัม

สิ่งทดลองที่ 4 ปริมาณน้ำตาลซูโครส 280 กรัม
 ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 10 กรัม

สิ่งทดลองที่ 5 ปริมาณน้ำตาลซูโครส 275 กรัม
 ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 15 กรัม

สิ่งทดลองที่ 6 ปริมาณน้ำตาลซูโครส 270 กรัม
 ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 20 กรัม

ตารางที่ 1 ปริมาณส่วนประกอบในการทำแยม (15)

ปริมาณ	สิ่งทดลอง					
ส่วนประกอบ (กรัม)	1(C1)*	2(C2)**	3	4	5	6
เนื้อกระเจี๊ยบ	500	500	500	500	500	500
น้ำตาลซูโครส	290	290	285	280	275	270
น้ำผักไชยาเข้มข้น	0	0	5	10	15	20
เพคติน	4	-	-	-	-	-
กรดซิตริก	3	3	3	3	3	3

* C1 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม เพคติน 4 กรัม ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 0 กรัม

** C2 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม ปริมาณน้ำผักไชยาเข้มข้น 0 กรัม

3. การผลิตแยมกระเจี๊ยบ

นำกระเจี๊ยบแห้ง (กระเจี๊ยบ:น้ำ = 1:20) ต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นอาหาร ประมาณ 15 วินาที (กระเจี๊ยบเข้มข้น) นำส่วนผสมกระเจี๊ยบเข้มข้น กับน้ำตาลซูโครส (ชุดควบคุม) หรือน้ำตาลซูโครสผสมน้ำผักไชยาเข้มข้น คนให้ส่วนผสมเข้ากัน ด้วยไฟอ่อน (สัดส่วนตามสูตร) พร้อมคนตลอดเวลา จนมีอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส ค่อย ๆ เติมส่วนผสมของน้ำตาลและเพคติน (แบ่งน้ำตาลในสูตรมาบางส่วนเพื่อผสมเพคติน) พร้อมทั้งคนตลอดเวลา เคี่ยวจนได้อุณหภูมิ 104-105 องศาเซลเซียส จับเวลา 7-10 นาที วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่น้อยกว่า 65 °Brix เติมสารละลายกรดซิตริกทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ 85±1 องศาเซลเซียส บรรจุขวดพร้อมปิดด้วยฝาชนิดเกลียวมีขอบยางกันอากาศเข้า หล่อเย็นจนถึงอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

เก็บที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 24 ชั่วโมง (15,16) ก่อนนำมาวิเคราะห์คุณภาพ

4. วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส

1) การวัดค่าความคงตัว ด้วยเครื่อง Bostwick consistometer

2) การวัดค่าสี ค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) ด้วยเครื่องวัดสี Minolta Color Reader CR-10

3) การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ด้วยเครื่อง Hand refractometer

4) การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter

5) การตรวจสอบหาร้อยละของกรดทั้งหมดด้วยวิธีการไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล (17)

6) วิถีประเมินทางประสาทสัมผัสแยมกระเจี๊ยบ

การประเมินคุณภาพของแยม ด้วยวิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น ความหวาน ความคงตัวของเจล และความชอบโดยรวม จำนวน 50 คน โดยการใช้แบบทดสอบให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point Hedonic Scaling) (1 หมายถึงไม่ชอบที่สุด 9 หมายถึงชอบมากที่สุด) วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's

New Multiple Range Test; DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติร้อยละ 95

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำเสนอข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปแปรรูป SPSS Version

ตารางที่ 2 ค่าสีของผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบในชุดควบคุม (C1) และแยมที่มีปริมาณน้ำผักโขม 0 (C2) 5 10 15 และ 20 กรัม

ปริมาณน้ำผักโขม (กรัม)	ค่าสี		
	L* ^{ns}	a*	b*
0 (C1)	33.96±3.06	3.84±0.34 ^{ab}	-2.78±0.24 ^d
0 (C2)	24.03±0.60	2.35±0.12 ^{bc}	0.22±0.15 ^b
5	26.14±0.58	2.65±0.10 ^{bc}	0.23±0.18 ^b
10	33.96±0.26	3.69±0.07 ^{ab}	-2.32±0.11 ^c
15	29.33±8.19	1.83±1.79 ^c	0.64±0.10 ^a
20	26.84±1.32	4.57±0.15 ^a	-3.29±0.08 ^e

C1 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม เพคติน 4 กรัม ปริมาณน้ำผักโขมเข้มข้น 0 กรัม

C2 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม ปริมาณน้ำผักโขมเข้มข้น 0 กรัม

^{ns} แสดงถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

^{a-d} แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวดิ่ง ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบในชุดควบคุม (C1) และแยมที่มีปริมาณน้ำผักโขม 0 (C2) 5 10 15 และ 20 กรัม

ปริมาณน้ำผักโขม (กรัม)	คุณสมบัติทางเคมี			
	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix) ^{ns}	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดซิตริก)	ค่าความคงตัว (เซนติเมตร/นาทีก)
0 (C1)	2.59±0.00 ^a	66.66±0.57	5.13±0.40 ^d	0.50±0.00 ^d
0 (C2)	2.56±0.01 ^{bc}	68.00±0.58	6.61±0.40 ^c	0.22±0.01 ^e
5	2.57±0.00 ^b	67.33±1.15	6.76±0.40 ^c	0.25±0.00 ^e
10	2.56±0.01 ^{bc}	67.66±0.00	9.33±0.80 ^b	1.53±0.57 ^a
15	2.55±0.00 ^c	66.00±0.57	8.63±0.40 ^b	1.26±0.57 ^b
20	2.57±0.00 ^b	66.33±1.15	10.73±0.80 ^a	0.73±0.57 ^c

C1 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม เพคติน 4 กรัม ปริมาณน้ำผักโขมเข้มข้น 0 กรัม

C2 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม ปริมาณน้ำผักโขมเข้มข้น 0 กรัม

^{ns} แสดงถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

^{a-d} แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวดิ่ง ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบ ในชุดควบคุม (C1) และแยมที่มีปริมาณน้ำผักโขม 0(C2) 5 10 15 และ 20 กรัม จากผู้ทดสอบจำนวน 50 คน

ปริมาณน้ำผักโขม (กรัม)	คุณภาพทางประสาทสัมผัส				
	สี	กลิ่น	ความหวาน ^{ns}	ความคงตัวของเจล	ความชอบโดยรวม
0 (C1)	5.74±1.44 ^b	5.62±1.18 ^b	6.24±1.02	5.82±1.14 ^c	5.90±1.05 ^c
0 (C2)	6.68±1.94 ^a	6.15±1.18 ^b	6.30±1.21	6.35±1.24 ^b	6.50±1.19 ^b
5	6.78±1.29 ^a	6.16±1.34 ^b	6.34±1.09	6.46±1.21 ^{ab}	6.70±1.36 ^b
10	6.66±1.39 ^a	6.02±1.36 ^b	6.32±1.46	6.36±1.10 ^b	6.64±1.27 ^b
15	6.78±1.57 ^a	6.80±1.21 ^a	6.82±1.22	6.96±1.08 ^a	7.28±1.33 ^a
20	6.78±1.11 ^a	6.84±1.21 ^a	6.80±1.27	6.82±0.94 ^a	7.24±1.07 ^a

C1 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม เพคติน 4 กรัม ปริมาณน้ำผักโขมเข้มข้น 0 กรัม

C2 แสดงถึงสูตรแยมชุดควบคุมที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 290 กรัม ปริมาณน้ำผักโขมเข้มข้น 0 กรัม

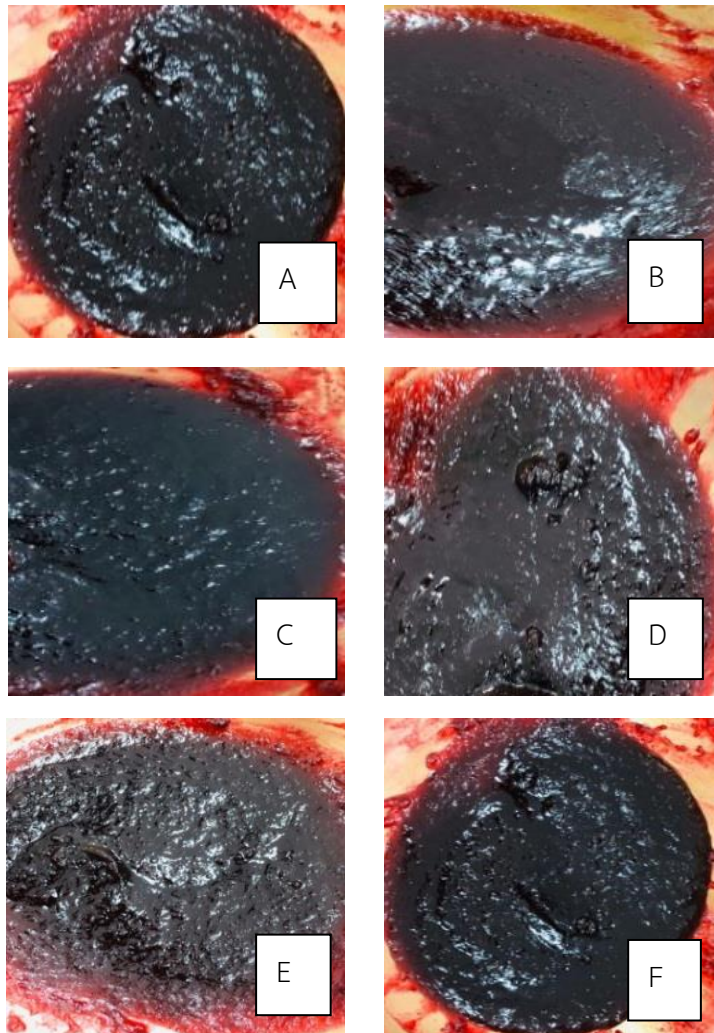
^{ns} แสดงถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

^{a-d} แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยในแนวดิ่ง ($P \leq 0.05$)

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

แยมกระเจียบที่ใช้น้ำผักโขมทดแทนน้ำตาลซูโครสมีลักษณะดังรูปที่ 2 สีของแยมกระเจียบมีสีม่วงแดงในทุกสิ่งทดลองทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลีบเลี้ยงและกลีบรองดอกของกระเจียบแดงมีสารสีแดงจำพวกแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) จึงทำให้มีสีม่วงแดง (18) และจากการวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบพบว่าปริมาณน้ำผักโขมไม่มีผลต่อค่าความสว่าง (L*) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 24.03-33.96 แต่มีผลกับค่าความเป็นสีแดง (a*) โดยเฉพาะเมื่อเติมน้ำผักโขมปริมาณ 20 กรัม มีค่าสีแดงมากที่สุดเท่ากับ 4.57 อย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากน้ำผักโขมมีสีเขียวเข้มเมื่อผสมกับเนื้อกระเจียบที่มีสีแดงจึงมีสีแดงเข้มขึ้นเมื่อวัดค่าสีแดงจึงมีค่าสูงกว่าสิ่งทดลองอื่น รองลงมาคือแยมกระเจียบผสมน้ำผักโขม 0 (C1) และ 10 กรัม มีค่าสีแดงเท่ากับ 3.84 และ 3.69 ส่วนแยมกระเจียบผสมน้ำผักโขม 5 และ 15 กรัม รวมทั้งชุดควบคุม C2 มีค่าสีแดงน้อยกว่าซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.65 1.83 และ 2.35 ตามลำดับ และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ของผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบผสมน้ำผักโขม 15 กรัม มีค่าสีเหลืองมากที่สุดเท่ากับ 0.64 ในขณะที่แยมกระเจียบผสมน้ำผักโขม 20 กรัม มีค่าสีเหลืองน้อยสุดเท่ากับ -3.29 (ตารางที่ 2)



รูปที่ 2 ลักษณะสีของแยมกระเจี๊ยบทั้ง 6 สูตร แยมชุดควบคุม (C1; A) แยมที่มีปริมาณน้ำผักไชยา 0(C2; B) 5 กรัม (C) 10 กรัม (D) 15 กรัม (E) และ 20 กรัม (F)

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์แยมกระเจี๊ยบทุกสิ่งทดลอง ดังตารางที่ 3 พบว่าค่าความเป็นกรดต่างของแยมกระเจี๊ยบอยู่ในช่วง 2.55-2.59 โดยการเพิ่มปริมาณน้ำผักไชยาส่งผลให้ค่าความเป็นกรดต่างลดลง ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐานของแยมที่ระบุไว้ที่ 2.8-3.5 (4) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากส่วนของเนื้อกระเจี๊ยบที่มีความเปรี้ยวและจากงานวิจัยของ Sriboonthai (19) ได้วัดค่าความเป็นกรดต่างของกลีบเลี้ยงกระเจี๊ยบสีแดงเข้มอยู่ในช่วง 2.98-3.07 ดังนั้นจึงส่งผลต่อการผลิตแยมซึ่งในการทดลองนี้วัดค่าได้ต่ำกว่ามาตรฐานการผลิตแยม ตามมาตรฐานการผลิตแยม ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ในช่วง 65.50-67.75

°Brix (4) จากการทดลองพบว่าน้ำผักไชยาไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดซึ่งผลิตภัณฑ์แยมกระเจี๊ยบอยู่ในช่วง 66.00-68.00°Brix ปริมาณกรดทั้งหมดของผลิตภัณฑ์แยมกระเจี๊ยบที่ผสมน้ำผักไชยา 20 กรัม มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 10.73 รองลงมาคือแยมกระเจี๊ยบที่ผสมน้ำผักไชยา 10 15 และ 5 กรัม ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 9.33 8.63 และ 6.76 ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดของแยมกระเจี๊ยบที่ผสมน้ำผักไชยา 0 กรัม (C1) และ C2 มีค่าต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 5.13 และ 6.61 มีรายงานการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในผักไชยาจำนวน 100 กรัมพบว่ามีปริมาณกรดแอสคอร์บิกถึง 164 มิลลิกรัม

(20) ทั้งนี้อาจเป็นสาเหตุให้ปริมาณกรดทั้งหมดของแยมกระเจียบสูงเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำผักไชยา โดยปริมาณกรดทั้งหมดมีค่าสูงกว่ามาตรฐานการผลิต (0.89-0.97) และแตกต่างจากงานวิจัยของ Ngampeerapong (21) ได้ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบแดงลดน้ำตาลโดยค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และค่าร้อยละปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริกพบว่าผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบแดงมีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.61 ในทุกสูตรซึ่งมีค่าต่ำกว่างานวิจัยนี้ที่มีปริมาณกรดที่ไต่เตาะได้อยู่ในช่วงร้อยละ 5.13-10.73 ทั้งนี้จากการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำกระเจียบเข้มข้นได้ 3 °Brix เมื่อรวมกับน้ำคั้นของผักไชยาที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นจึงส่งผลต่อปริมาณกรดทั้งหมดที่วัดได้มีปริมาณสูงกว่ามาตรฐานของแยมจากการวัดค่าความคงตัวของแยมกระเจียบที่ผสมน้ำผักไชยา 10 และ 15 กรัม มีค่าความคงตัวโดยวัดจากระยะทางการไหลสูงกว่าแยมกระเจียบที่ผสมน้ำผักไชยา 20 O(C1) 5 กรัม และ C2 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการลดปริมาณน้ำตาลในแยมลงทำให้โครงสร้างของเจลไม่แข็งแรง เกิดเจลที่นิ่มหรือมีความหนืดต่ำ โดยบทบาทของน้ำตาลในแยมจะทำหน้าที่ช่วยให้เกิดเจลด้วยการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับเพคติน ซึ่งน้ำตาลมีหมู่ไฮดรอกซิลจึงเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำทำให้หมู่ไฮดรอกซิลของเพคตินเป็นอิสระจึงเกิดพันธะกับโมเลกุลอื่นได้ (21) โดยความแข็งแรงของร่างแหมีผลมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลและสภาพความเป็นกรด หากความแข็งแรงของน้ำตาลในแยมสูงจะช่วยคูดน้ำออกจากโมเลกุลของเพคตินทำให้เพคตินละลายได้น้อยลง เพคตินจึงเกิดเป็นร่างแหทำให้เจลแข็งแรงขึ้น (22) อย่างไรก็ตามค่าความคงตัวของแยมกระเจียบก็ยังคงต่ำกว่าแยมสับปะรดที่ค่าความคงตัวโดยระยะทางการไหลที่ผู้ชิมคิดว่าพอเหมาะจะอยู่ในช่วง 2.3 ถึง 3.44 เซนติเมตรใน 1 นาที (23) ทั้งนี้ลักษณะของเนื้อแยมอาจแตกต่างกันไปตามผลไม้ที่ใช้ในการผลิตแยมซึ่งส่งผลต่อค่าความคงตัวของแยมแต่ละชนิดได้

จากการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์แยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา ดังตารางที่ 4 พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนด้านสีของแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยามากกว่าแยมกระเจียบที่ไม่ผสมน้ำผักไชยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยให้คะแนนด้านสีของแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยาทั้ง 5 10 15 และ 20 กรัม ไม่แตกต่างกัน ในด้านกลิ่นพบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 15 และ 20 กรัม มากที่สุด ในขณะที่แยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 0(C1) C2 5 และ 10 กรัม มีคะแนนต่ำไม่แตกต่างกัน แยมกระเจียบในทุกสูตรไม่มีความแตกต่างในด้านความหวาน ส่วนค่าความคงตัวของเจล พบว่าแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 15 และ 20 กรัมมีค่าสูงกว่าแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 5 และ 10 กรัม ส่วนแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 0(C1) กรัม มีค่าความคงตัวต่ำสุด จากการทดสอบความชอบโดยรวมพบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนสูงในแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 15 และ 20 กรัม มากกว่าแยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 5 10 กรัม และ C2 ในขณะที่แยมกระเจียบผสมน้ำผักไชยา 0(C1) กรัม ผู้ทดสอบให้คะแนนน้อยสุด

สรุปผล

จากการศึกษาผลของน้ำผักไชยาเข้มข้นต่อคุณภาพของแยมกระเจียบแดงพบว่าแยมกระเจียบที่ผสมน้ำผักไชยา 15 และ 20 กรัม มีคะแนนด้านสี กลิ่น ความคงตัวของเจล และความชอบโดยรวมมากที่สุด โดยมีค่าสีแดงเท่ากับ 1.83 และ 4.57 ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 2.55 และ 2.57 ปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 8.63 และ 10.73 และค่าความคงตัวโดยวัดจากระยะการไหลเท่ากับ 1.26 และ 0.73 เซนติเมตรต่อนาที

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยี การเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีที่ได้สนับสนุนเงินทุนบรยายได้ ประจำปี 2563

เอกสารอ้างอิง

1. Tanthawanich O. Mexican kale, easy to grow, easy to eat, suitable for urban people with limited space [Internet]. Bangkok: Technologychaoban; 2019 [cited 2019 Apr 09]. Availability from: https://www.technologychaoban.com/agricultural-technology/article_30468. Thai.
2. Kulathuran PK, Narayanan N, Chidambaranathan N, Jegan N. Phytochemical analysis of leaf extract of *Cnidioscolus chayamansa* McVaugh. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 2014;6(4):741-5.
3. Kuti JO, Torres ES. Potential nutritional and health benefits of tree spinach. In: J. Janick, editor. Progress in new crops. VA: ASHS Press Arlington; 1996: p. 516-20.
4. Thai community product standard. Jam. [Internet]. Bangkok: Thai industrial standards institute; 2019 [cited 2019 Apr 09]. Availability from: http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps342_47.pdf. Thai.
5. Wanniyom V. Development of passion fruit jam using passion fruit rind [master's thesis]. Chiang Mai: Chiang Mai University; 2009. Thai.
6. Ramrak M. Production of jam, jelly and marmalade [Internet]. KU-eMagazine; 2018 [cited 2018 Aug 06]. Availability from: <http://www.ku.ac.th/emagazine/december43/agri/jam.html>. Thai.
7. Sinthawalai S. Food Theory, Volume 1; Principles of Cooking. 4th ed, Bangkok: Kasetsart University; 1982. Thai.
8. Jaisan P, Klinhom J, Taimpakdee A. The test of pectin extracted from passion fruit peed in producing jam. Chiang Mai: Chiang Mai University; 1998. Thai.
9. Tornoda A, Tsuji A, Yoneyarna Y. Involvement of superoxide anion in the reaction mechanism of haernoglobin oxidation by nitrite. Journal of Biochem. 1989;193:169-79.
10. Toemwong N. [Total antioxidant, phenolic compounds and vitamin C of vegetables and herbs]. Advanced Science journal. 2008;8(1):41-8. Thai.
11. Saveski A, Stamatovska V, Pavlova V, Kalevska T, Spirovska VR. Sensory analysis of raspberry jam with different sweeteners. In: Food science, engineering and technologies-2015; 2015 Oct; Scientific works of University of Food Technologies, Plovdiv, Bulgaria. p. 294-97.
12. Vilela A, Matos S, Abraão AS, Lemos AM, Nunes F. Sucrose replacement by sweeteners in strawberry, raspberry and cherry jams: effect on the textural characteristics and sensorial profile - a chemometric approach. J Food Process. 2015;2015:1-14.
13. Santanu B, Shivhare US. Rheological, textural, microstructural, and sensory properties of sorbitol-substituted mango jam. Food Bioprocess Technol. 2013;6:1401-13.

14. Babalola JO, Alabi OO. Effect of processing methods on nutritional composition, phytochemicals, and anti-nutrient properties of chaya leaf (*Cnidoscolus aconitifolius*). *Afr J Food Sci*. 2015;9(12):560-5.
15. Nausheen H, Siddiqui IA, Omar MT, Sana M, Zafar AM. Influence of pectin concentrations on physicochemical and sensory qualities of jams. *J Pharm Pharm Sci*. 2015;4(6):68-77.
16. Lichanporn I, Nanthachai N, Tanganurat P, Singkham A, Kromnongpai P. [Effect of pectin from watermelon rind on quality of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) jam]. *Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi*. 2020;19(1):64-73. Thai.
17. AOAC. Official methods of analysis. 17th ed. Washington, D.C.: The Association of Official Analytical Chemists; 2000.
18. Hussein RM, Shahein YE, Hakim AEE, Awad HM. Biochemical and molecular characterization of three colored types of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Am J Sci*. 2010;6:726-33.
19. Sriboonthai C. Morphological characterization and secondary metabolites of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) [master's thesis]. Pathum Thani: Thammasat University; 2016. Thai.
20. Kuri-Garcia A, Chavez-Servin JL, Guzman-Maldonado SH. Phenolic profile and antioxidant capacity of *Cnidoscolus chayamansa* and *Cnidoscolus aconitifolius*: A review. *J Med Plants Res*. 2017;11(45):713-27.
21. Ngampeerapong N. Development of roselle jam product with reduced sugar [master's thesis]. Bangkok: Kasetsart University; 2014. Thai.
22. Fraeye I, Duvetter T, Doungra E, Loeyand AV, Hendrickx M. Fine-tuning the properties of pectin-calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental. *Trends Food Sci Tech*. 2010;21:219-28.
23. Silapanapaporn O. Development of pineapple jam to meet quality standard for industry [master's thesis]. Bangkok: Kasetsart University; 1990. Thai.



การศึกษาลักษณะโครงสร้างทางกายภาพและธาตุองค์ประกอบของเส้นใยผ้าในสถานะฝังกลบด้วยดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน

A Study of Physiological Structure and Element Composition of Fibers at Burial with Different pH Values

ศิริรัตน์ เรืองเกษา และ วรวัช วิชชวานิชย์*

Sirirat Ruangkasa and Woratouch Vichuwanich*

คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ อ.สามพราน จ.นครปฐม 73110

Faculty of Forensic Science, Royal Police Cadet Academy, Sam Phran, Nakhon Pathom 73110, THAILAND

*Corresponding author e-mail: woratouch_w@yahoo.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 17 September, 2020

Revised: 27 October, 2020

Accepted: 11 November, 2020

Available online: 25 September, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.2

Keywords: morphological characteristics, acidity – alkalinity, landfill

The objectives of this study were to (1) comparatively examine the physiological structure and (2) identify the element composition of both natural and synthetic fibers that had been periodically landfilled with acid and alkaline soil. Three fiber materials including cotton, silk and polyester were buried in the known pH soil at different session of time and subsequently analyzed by the Scanning Electron Microscope/Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDX). At a 30-day session: all cotton fibers revealed a shrunk and oval shape in the acid soil, while its major element composition (Carbon (C) and Oxygen (O)) were relatively equal in amount; 64.81% of C and 33.73% of O in an acidic condition and 64.82% of C and 33.73% of O in the alkalinity. Cotton fibers in the alkaline soil showed a triangle shape with more areas of torn surfaces than those in the acidity, and were comprised of 4 major elements namely C (42.21%), O (41.81%), Silicon (Si) (2.39%), and Calcium (Ca) (12.61%), while its composition in the acidic soil were C (61.57%), O (34.75%), Silicon (Si) (1.46%), and Calcium (Ca) (1.51%). Polyester fibers under the acidic landfill revealed a characteristic of

rough surface with a flattened and round edge and held more amounts of soil particles than those of the alkalinity. Interestingly, apart from its element composition base (C and O), Si was found under the acidic condition whereas Ca was prominent in the alkalinity. At the 15-day session, a minor change was observed. The resultant findings indicated that physiological structure and element composition of fibers could be identified and be a useful tool in the forensic facets while the technique used was neither destructive nor time consuming.

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยผ้าธรรมชาติจากพืชสัตว์ และเส้นใยสังเคราะห์ ที่ฝังกลบดินในสภาวะกรด-ด่างด้วยระยะเวลาแตกต่างกัน และศึกษาธาตุองค์ประกอบ ของเส้นใยธรรมชาติ และเส้นใยสังเคราะห์ ในสภาวะการฝังกลบด้วยดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างแตกต่างกัน โดยใช้ตัวอย่างเส้นใยจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ฝ้าย ไหม และพอลิเอสเตอร์ วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscope/ Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDX) ผลการวิจัย พบว่า เมื่อฝังกลบ 30 วัน เส้นใยฝ้ายมีเส้นใยเป็นรูปวงรีแบน และหดตัว ที่สภาวะกรด มีปริมาณคาร์บอนและออกซิเจนเป็นธาตุองค์ประกอบหลัก ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน คือ คาร์บอน 64.81%, ออกซิเจน 33.73% ในสภาวะกรด และคาร์บอน 64.82%, ออกซิเจน 33.73% ในสภาวะด่าง เส้นใยไหมที่สภาวะด่างมีเส้นใยเป็นรูปสามเหลี่ยม มีร่องรอยฉีกขาดบนผิวมากกว่าสภาวะกรด และมีธาตุองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน 42.21%, ออกซิเจน 41.81%, ซิลิกอน 2.39% และแคลเซียม 12.61% ที่สภาวะกรดจะพบคาร์บอน 61.57%, ออกซิเจน 34.75%, ซิลิกอน 1.46% และแคลเซียม 1.51% พอลิเอสเตอร์ในสภาวะกรดมีเส้นใยเป็นรูปทรงขอบโค้งมนและผิวขรุขระมีดินเกาะติดมากกว่าในสภาวะด่าง มีธาตุองค์ประกอบหลักก่อนการ

ฝังกลบ 2 ชนิด คือ คาร์บอนและออกซิเจน แต่เมื่อฝังกลบในดินสภาวะกรดจะพบซิลิกอนเกิดขึ้นในขณะที่สภาวะด่างจะพบแคลเซียม งานวิจัยนี้สามารถจำแนกประเภทเส้นใยได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และธาตุองค์ประกอบที่พบในเส้นใยแต่ละประเภท สามารถนำมาใช้เป็นพยานหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ เพราะไม่ทำลายวัตถุพยาน

คำสำคัญ: ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความเป็นกรด-ด่าง การฝังกลบ

บทนำ

จากอดีตถึงปัจจุบันการเกิดปัญหาอาชญากรรมในคดีฆาตกรรมมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้น เนื่องจากผู้กระทำผิดได้มีการวางแผนปิดบัง ซ่อนอำพราง และทำลายพยานหลักฐานต่าง ๆ ไว้อย่างแยบยล กว่าเจ้าหน้าที่ตำรวจจะทำการสืบสวน สอบสวน ถึงพยานหลักฐานชิ้นสำคัญกาลเวลาก็ทำให้หลักฐาน ชิ้นนั้นถูกทำลายและถูกย่อยสลายไปก่อนแล้ว เนื่องจากพยานหลักฐานเป็นหลักฐานเชิงประจักษ์ที่สำคัญยิ่งในการนำไปตรวจพิสูจน์การกระทำ ความผิดของคนร้าย เช่น ในคดีนี้เองน้ำ ที่มีการจ้างฆ่าฝังดินถึง 5 ปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2555 (1) และศพถูกค้นพบในปี พ.ศ. 2560 ซึ่งสภาพเสื้อผ้าและหลักฐานชิ้นอื่น ๆ ได้ถูกทำลายจนหมดสิ้น คดีต่อมา คือ ฆ่าฝังดินสาวทอม ที่รีสอร์

ตเมืองกาญจนบุรีในปี พ.ศ. 2559 ซึ่งยังพอมีชิ้นส่วนของเสื้อ
เสื้อผ้าหลงเหลืออยู่บ้างเพียงเล็กน้อย (2) นอกจากนี้ ยังมีคดี
แอมแก้งสายฆ่าหั่นศพน้องแอม แล้วนำไปฝังดินเพื่ออำพราง
(3) ซึ่งกลุ่มผู้กระทำความผิดนั้นได้มีการวางแผนการทำงาน
ล่วงหน้า ถือได้ว่าเป็นการเตรียมการกระทำความผิดไว้มาก่อน

จากปัญหาดังกล่าว จะเห็นได้ว่าการสืบสวนหา
ตัวผู้กระทำความผิดจะเริ่มที่การสอบปากคำพยานบุคคลและ
ค่อย ๆ สืบสวนมาถึงสถานที่ทำลายศพ ซึ่งต้องใช้ระยะ
เวลานาน เพราะผู้กระทำความผิดไม่ยอมรับสารภาพง่าย ๆ
บางครั้งกินเวลานานถึง 5-10 ปี ทำให้พยานหลักฐานถูก
ทำลายไปก่อน ซึ่งบางครั้งอาจมีการสืบสวนผิดพลาด ทำให้
จับตัวผู้ร้ายผิดคนก็ได้ นอกจากนี้การวางแผนฆ่าผู้อื่น
โดยวางแผนไว้มาก่อน และมีการอำพราง ปิดบัง ซ่อนเร้น
และทำลายหลักฐานดังกล่าวข้างต้น ทำให้การสืบสวน
สอบสวนหาพยานวัตถุเพื่อบ่งชี้ตัวผู้กระทำความผิดเป็นไปด้วย
ความยากลำบาก และหากได้พยานหลักฐานชิ้นสำคัญ
มาแล้วนั้นจะต้องทำการตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์
เพื่อหาร่องรอยของผู้กระทำความผิดจากพยานหลักฐานที่
ผู้กระทำความผิดได้มีความพยายามที่จะทำลาย ซึ่งหลักฐาน
บางชิ้นอาจจะต้องใช้เครื่องมือ ทางนิติวิทยาศาสตร์
เฉพาะด้านมาทำการตรวจ สกัด และหา DNA ของ
ผู้กระทำความผิดให้ได้ ซึ่งนิติวิทยาศาสตร์ คือ การนำความรู้
ทางวิทยาศาสตร์ทุกสาขามาประยุกต์ใช้เพื่อพิสูจน์
ข้อเท็จจริงในกระบวนการยุติธรรม ซึ่งสามารถสร้างความ
เชื่อมั่นในกระบวนการยุติธรรมได้เป็นอย่างดี เพราะ
หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงได้ ใน
ประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกา ประเทศในแถบ
ยุโรป และญี่ปุ่น นำความรู้ทางนิติวิทยาศาสตร์มาใช้ในการ
สืบสวนหาตัวคนร้ายอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะใน
ญี่ปุ่น สามารถนำนิติวิทยาศาสตร์มาใช้ในการสืบสวนจน
สามารถจับกุมคนร้ายได้ถึงร้อยละ 90 ของคดีฆาตกรรมที่
เกิดขึ้น (4)

อย่างไรก็ตาม ในการฝังทำลายหลักฐานศพก็ยัง
มีหลักฐานที่พอจะหลงเหลือให้ทำการตรวจพิสูจน์อยู่บ้าง
คือ เสื้อผ้าที่ผู้ตายสวมใส่ เนื่องจากเสื้อผ้าแต่ละชนิดใช้
ระยะเวลาในการย่อยสลายแตกต่างกัน เช่น ผ้าฝ้ายใช้
ระยะเวลา 1-5 เดือนในการย่อยสลาย เนื้อผ้าหนัง ใช้
ระยะเวลาถึง 25-40 ปี ขณะที่ผ้าขนสัตว์ใช้เวลา 1 ปี ใน
การย่อยสลาย ผ้าอ้อมเด็กใช้ระยะเวลา 500 ปี ในการ
ย่อยสลาย (5) ซึ่งยังไม่แนบรวมถึงสภาพภูมิอากาศที่เป็น
ตัวแปรสำคัญในการเร่งย่อยสลายของเสื้อผ้า

ในคดีอาญาต้องมีการพิสูจน์ความผิดจนสิ้น
ข้อสงสัย (Poof Beyond Reasonable Doubt) คือการ
แสดงให้เห็นด้วยพยานหลักฐานถึงการมีอยู่ของ
ข้อเท็จจริง โดยปราศจากข้อสงสัย ซึ่งพยานหลักฐาน
หมายถึง สิ่งใดที่สามารถจับต้องได้ตามกฎหมาย และเป็น
สิ่งที่สามารถนำเสนอในชั้นศาลเพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงได้
ตาม ป.วิอาญา มาตรา 226 แบ่งพยานหลักฐานได้ 3
ประเภท ได้แก่ พยานวัตถุ พยานเอกสาร และพยาน
บุคคล (6) ในที่นี้จะกล่าวถึงพยานวัตถุประเภทเส้นใย ซึ่ง
อาจพบได้ในคดีประทุษร้ายเกือบทุกประเภท เนื่องจาก
เส้นใยเป็นส่วนประกอบของเครื่องนุ่งห่ม วัสดุการใช้งาน
ซึ่งชิ้นส่วนหรือเศษของเสื้อผ้าเป็นพยานหลักฐานที่พบ
บ่อยในสถานที่เกิดเหตุ (7)

ความแตกต่างของเส้นใยขึ้นอยู่กับโครงสร้าง
ทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี และการเรียงตัวของ
โมเลกุล ซึ่งส่วนผสมและความแตกต่างในปัจจัยทั้งสามนี้
ทำให้เส้นใยมีสมบัติที่หลากหลายและแตกต่างกัน (8)
เส้นใยธรรมชาติเป็นเส้นใยที่ได้จากพืชเกิดจากเซลลูโลส
ยึดเกาะกันด้วยพันธะเคมีเป็นโมเลกุลใหญ่มีสูตรเป็น
(C₆H₁₀O₅)_x โมเลกุลยึดเกาะกันด้วยพันธะ C-O-C ใน
โมเลกุลเซลลูโลสจะมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) การจัดเรียง
ตัวของโมเลกุลเซลลูโลสมีความเป็น ระเบียบ
(Crystalline) ค่อนข้างมากคือ 85 - 95% และระหว่าง

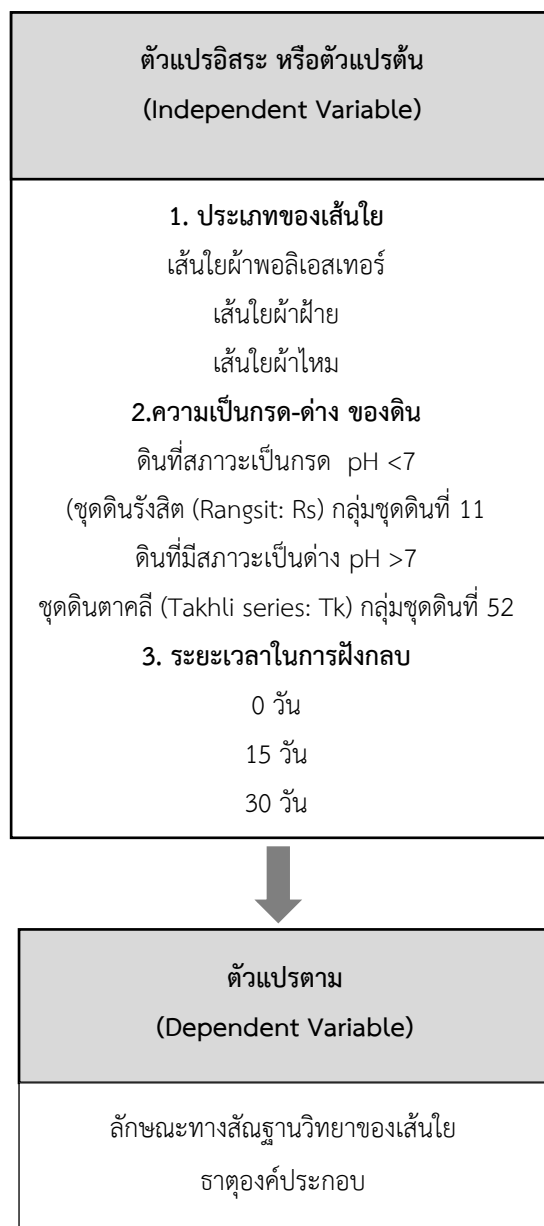
สายโมเลกุลจะการยึดจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) ในขณะที่เส้นใยสังเคราะห์เกิดจากการนำวัตถุดิบที่เป็นสารเริ่มต้น เช่น เอธิลีน พรอพิลีน เบนซีน แนฟทาลีน โซลีน เป็นต้น มาทำปฏิกิริยาจนได้สารพอลิเมอร์ แล้วผ่านกระบวนการขึ้นรูปเป็นเส้นใย (9)

การศึกษาความแตกต่างของเส้นใยมีหลากหลายเทคนิค เช่น เทคนิค Fourier Transform Spectroscopy (FT-IR) และ เทคนิค X-Ray Fluorescence (XRF) เป็นต้น ซึ่ง เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ แต่เทคนิคดังกล่าวไม่สามารถจำแนกเส้นใยประเภทอะคิลิกและเส้นใยฝ้ายได้ (13) ซึ่งหนึ่งในตัวอย่างของงานวิจัยนี้คือ เส้นใยฝ้าย ผู้วิจัยจึงไม่เลือกใช้เทคนิคนี้ในการตรวจวิเคราะห์

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการย่อยสลายของเส้นใยฝ้ายที่มีความเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติทางกายภาพ การย่อยสลายจากการฝังกลบในดินที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างต่างกัน ซึ่งจะส่งผลให้เส้นใยและเส้นด้ายได้รับความเสียหาย ที่จะให้มีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของผ้าด้วยเช่นกัน ซึ่งเส้นใยหรือสิ่งทอจึงเป็นพยานหลักฐานที่มีคุณค่าในกระบวนการนิติวิทยาศาสตร์ในกรณีที่ไม่มียวัตถุพยานอื่น ๆ หลงเหลืออยู่ หรือสามารถใช้ประโยชน์วัตถุพยานอื่น ๆ ได้เพียงเล็กน้อย ผลการวิจัยครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานทางด้านการตรวจวัตถุพยานหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ ในคดีฆาตกรรมอำพรางศพ ที่สามารถตรวจหาร่องรอยของผู้กระทำผิดต่อไป

จากแนวคิดข้างต้น ผู้วิจัยทำการศึกษาคู่สมบัตินทางกายภาพของเส้นใยผ้าในสภาวะฝังกลบมีกรอบแนวคิดในการศึกษาวิจัย ดังนี้ ตัวแปรอิสระ (Independent Variable) ได้แก่ ประเภทของเส้นใย ความเป็นกรด-ด่างของดิน และระยะเวลาในการฝัง และ

ตัวแปรตาม (Dependent Variable) ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใย ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด Scanning Electron Microscope รุ่น SU 1000

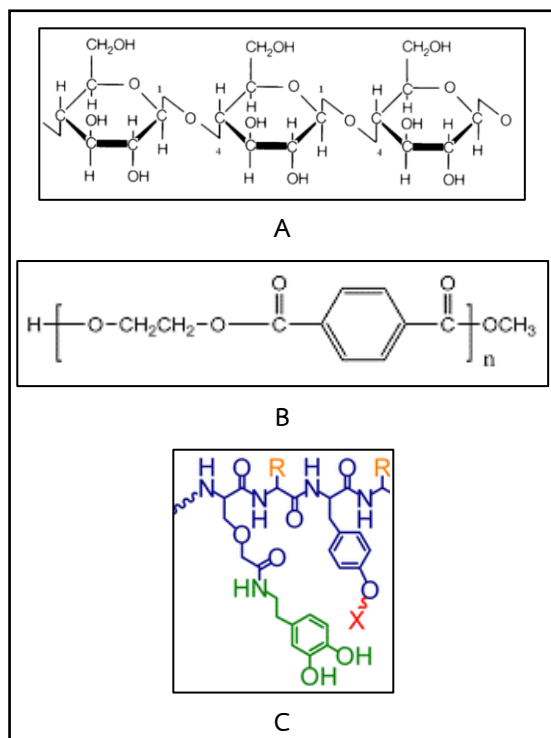
2. ชุดเอกซเรย์สเปกโตรสโคปีแบบกระจายพลังงาน (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy / EDS/EDX)

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนการวิเคราะห์ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยด้วยเทคนิค SEM/EDX มีขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่างผ้า

ตัดชิ้นผ้าตัวอย่าง ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ผ้าฝ้าย (A) ผ้าพอลิเอสเตอร์ (B) และผ้าไหม (C) ให้มีขนาด 21 ซม. x 29.7 ซม. โดยเส้นใยตัวอย่างมีลักษณะโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2



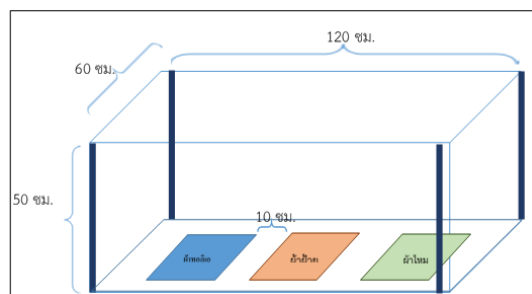
รูปที่ 2 โครงสร้างเส้นใยผ้าตัวอย่าง ผ้าฝ้าย (A) ผ้าพอลิเอสเตอร์ (B) และผ้าไหม (C)

2. การเตรียมหลุมสำหรับฝังกลบตัวอย่าง

เตรียมสถานที่ในการฝังผ้าตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด โดยการขุดหลุมขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 60 x 120 x 50 ซม. จากพื้นที่ 2 สภาวะ คือ ดินสภาวะกรด จากชุด

ดินรังสิต (Rangsit: Rs) กลุ่มชุดดินที่ 11 (สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 1) และดินสภาวะต่าง

จากชุดดินตาคลี (Takhli series: Tk) กลุ่มชุดดินที่ 52 (สถานีพัฒนาที่ดินลพบุรี) ที่มี จำนวนพื้นที่ละ 2 หลุม จากนั้นวางผ้าตัวอย่างลงในหลุม หลุมละ 3 ชิ้น โดยแต่ละชิ้นห่างกัน 10 เซนติเมตร แล้วจึงกลบดินให้มีระดับความสูงประมาณ 50 เซนติเมตร โดยฝังกลบผ้าตัวอย่างเป็นระยะเวลาที่ 15 วัน และ 30 วัน ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ภาพจำลองการฝังกลบผ้าตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความสูงขึ้นมาจากใต้ดิน 50 ซม.

3. การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างผ้าด้วยเทคนิค SEM/EDX

ก่อนนำตัวอย่างผ้ามาตรวจวิเคราะห์ SEM/EDX ต้องนำ ตัวอย่างผ้า ทั้ง 3 ชนิด โดยจำแนกเป็น ผ้า 3 ชนิด จากที่ได้ไม่ฝังกลบ และตัวอย่างผ้า 3 ชนิดที่ได้จากการฝังกลบดินในสภาวะกรด และด่าง ที่ระยะเวลา 15 วัน และ 30 วัน โดยเก็บไว้ในช่องพลาสติกมีซิปปิด-เปิด เพื่อรอการวิเคราะห์ด้วย SEM/EDX โดยไม่ต้องทำการฉาบผิวเส้นใยด้วยคาร์บอนหรือทองคำ จากนั้นทำการเตรียม stub โดยนำเทปกาวยางสองหน้าติดลงบน stub และนำตัวอย่างติดลงบน stub เมื่อติดตัวอย่างแล้วให้เก็บไว้ในกล่องเก็บ stub ที่ป้องกันสารปนเปื้อน โดยกำหนดเลขหมายตัวอย่างไว้ที่บริเวณต่าง ๆ และนำไปวิเคราะห์ด้วย SEM/EDX

4. ตรวจวิเคราะห์สภาวะดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ทดลองนำมาตรวจวิเคราะห์ และจัดบันทึก ดังนี้

- ตรวจวิเคราะห์ความเป็นกรด - ด่าง ด้วยวิธี pH meter method วัดค่า pH ด้วยเครื่องมือวัด pH meter

- ตรวจวัดความชื้น (Moisture) ด้วยวิธี Oven-drying method

- ตรวจอินทรีย์วัตถุ (OM) ด้วยวิธี Walkley and Black method

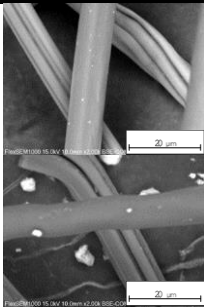
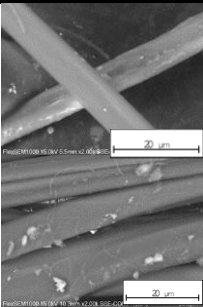
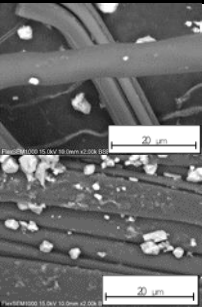
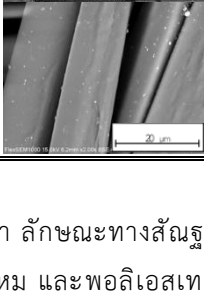
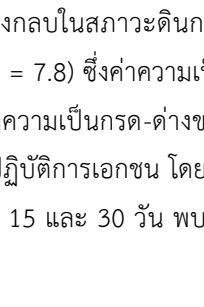
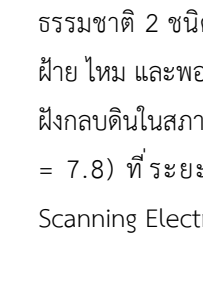
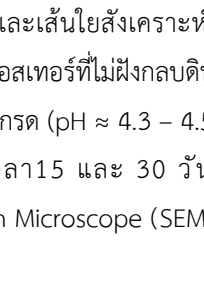
- ตรวจวิเคราะห์ธาตุ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด SEM/EDX

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ผลการทดลอง

1. ผลการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยธรรมชาติและเส้นใยสังเคราะห์ในสภาวะฝังกลบดินที่เป็นกรด และต่าง

ตารางที่ 1 ลักษณะพื้นผิวของเส้นใยตัวอย่างก่อนการฝังกลบดิน และหลังฝังกลบดินในสภาวะกรด และต่างที่ระยะเวลา 30 วัน ด้วยเทคนิค SEM/EDX

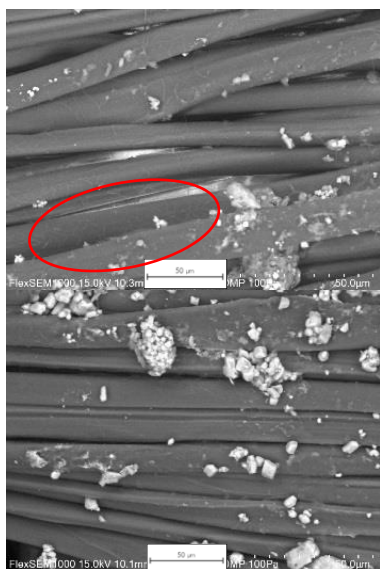
ชนิดของเส้นใย ตัวอย่าง	ลักษณะพื้นผิวเส้นใย ก่อนฝังกลบดิน (0 วัน)	ลักษณะพื้นผิวเส้นใย หลังฝังกลบดิน สภาวะกรด (30 วัน)	ลักษณะพื้นผิวเส้นใย หลังฝังกลบดิน สภาวะต่าง (30 วัน)
ฝ้าย			
ไหม			
พอลิเอสเตอร์			

จากตารางที่ 1 พบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยฝ้าย เส้นใยไหม และพอลิเอสเตอร์ ก่อนการฝังกลบ และหลังการฝังกลบในสภาวะดินกรด ($\text{pH} \approx 4.3 - 4.5$) และต่าง ($\text{pH} = 7.8$) ซึ่งค่าความเป็นกรด-ต่าง ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ต่างของดิน (soil pH meter) จากห้องปฏิบัติการเอกชน โดยใช้เวลาฝังกลบเส้นใยตัวอย่างที่ 15 และ 30 วัน พบว่า

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเส้นใยธรรมชาติ และเส้นใยสังเคราะห์ ได้แก่ ฝ้าย (Cotton) ไหม (Silk) และพอลิเอสเตอร์ (Polyester) ในสภาวะไม่ฝังกลบดินและหลังการฝังกลบที่ดินสภาวะกรด หรือชุดดินรังสิต (Rangsit: Rs) กลุ่มชุดดินที่ 11 (สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 1) และที่ดินสภาวะต่าง หรือชุดดินตากลิ (Takhli series: Tk) กลุ่มชุดดินที่ 52 (สถานีพัฒนาที่ดินลพบุรี) ที่ระยะเวลา 30 วัน ด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscope/ Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDX) (ตารางที่ 1)

เส้นใยฝ้ายมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยธรรมชาติ 2 ชนิด และเส้นใยสังเคราะห์ 1 ชนิด ได้แก่ ฝ้าย ไหม และพอลิเอสเตอร์ที่ไม่ฝังกลบดิน (0 วัน) และที่ฝังกลบดินในสภาวะกรด ($\text{pH} \approx 4.3 - 4.5$) และต่าง ($\text{pH} = 7.8$) ที่ระยะเวลา 15 และ 30 วัน ด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscope (SEM) พบว่า ก่อน

การฝังกลบด้วยดินเส้นใยฝ้ายมีลักษณะเส้นใยเป็นรูปวงรีแบน (Flat Oval) เรียงเส้นตรง และไม่เป็นระเบียบ แต่เมื่อฝังกลบด้วยดินทั้ง 2 สภาวะเส้นใยฝ้ายมีการบิดตัวและหดตัว ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยไหมมีรูปทรงเป็นรูปสามเหลี่ยม (Triangular) จากการศึกษาเส้นใยไหมก่อนการฝังกลบ เส้นใยมีการเรียงตัวตรง ไม่เป็นระเบียบ แต่พื้นผิวของเส้นใยมีความวาว และเรียบ แต่เมื่อฝังกลบด้วยดินในสภาวะกรด ($\text{pH} \approx 4.3 - 4.5$) และด่าง ($\text{pH} = 7.8$) พบว่า พื้นผิวของเส้นใยมีร่องรอยฉีกขาด และในสภาวะด่างมีดินเกาะติดบนเส้นใยมากกว่าเส้นใยที่ฝังกลบด้วยดินสภาวะกรด แสดงดังรูปที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพอลิเอสเทอร์ มีลักษณะรูปทรงแบบโค้งมน (Rounded Edges) เส้นใยมีลักษณะพื้นผิวไม่เรียบ และเมื่อฝังกลบดินในสภาวะกรดเส้นใยฝ้ายถูกเกาะติดด้วยดินเป็นจำนวนมาก ทำให้พื้นผิวของเส้นใยเรียบขึ้น ในขณะที่เส้นใยที่ถูกฝังกลบด้วยดินในสภาวะด่างมีดินเกาะอยู่น้อยมาก แต่พื้นผิวเส้นใยเกิดรอยฉีกขาดบางส่วน โดยการพิจารณาเส้นใยที่ถูกฝังกลบใช้ที่ระยะเวลา 30 วัน



รูปที่ 4 ลักษณะเส้นใยไหมที่ฝังกลบดินสภาวะกรด (ซ้าย) และสภาวะด่าง (ขวา)

2. ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยธรรมชาติและเส้นใยสังเคราะห์ที่ฝังกลบดินในสภาวะกรดและด่าง

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของเส้นใยตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ฝ้าย ไหม และ พอลิเอสเทอร์ ที่ไม่ฝังกลบดิน หลังฝังกลบดินในสภาวะกรด ($\text{pH} \approx 4.3 - 4.5$) และหลังฝังกลบดินในสภาวะด่าง ($\text{pH} 7 - 8$) ด้วยเทคนิค EDX (ตารางที่ 4) พบว่า เส้นใยฝ้ายที่ไม่ฝังกลบดิน มีธาตุองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $67.15\% \pm 0.69$ และออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $32.77\% \pm 0.76$ เส้นใยฝ้ายหลังฝังกลบในดินสภาวะกรด มีธาตุองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $64.81\% \pm 3.40$ และออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $33.73\% \pm 2.69$ และหลังฝังกลบในดินสภาวะด่าง มีธาตุองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $64.82\% \pm 1.82$ และออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $33.73\% \pm 1.81$

เส้นใยไหมที่ไม่ฝังกลบดิน พบว่า มีธาตุองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $59.25\% \pm 0.97$ ออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $37.82\% \pm 0.84$ และแคลเซียม (Ca) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $2.06\% \pm 0.50$ เส้นใยไหมที่ฝังกลบดินสภาวะกรดพบว่ามีธาตุองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $61.57\% \pm 2.07$ ออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $34.75\% \pm 1.86$ ซิลิกอน (Si) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $1.46\% \pm 0.22$ และแคลเซียม (Ca) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $1.51\% \pm 0.46$ และเส้นใยไหมที่ฝังกลบดินสภาวะด่าง พบว่า มีธาตุองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $42.21\% \pm 3.91$ ออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $41.81\% \pm 2.41$ ซิลิกอน (Si) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $2.39\% \pm 0.43$ และแคลเซียม (Ca) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $12.61\% \pm 1.32$ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเส้นใยไหมหลังฝังกลบดินในรูปที่ 4 จะเห็นว่าสภาวะด่าง

มีดินยัดเกาะเป็นจำนวนมาก ทำให้ปริมาณธาตุ Si และ Ca มีปริมาณมากกว่าในสภาวะกรด

เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพอลิเอสเทอร์ที่ไม่ฝังกลบดินด้วยเทคนิค EDX พบว่ามีธาตุองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $62.59\% \pm 5.56$ และออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $37.24\% \pm 5.36$ พอลิเอสเทอร์ที่ฝังกลบดินกรด พบว่ามีธาตุองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $48.89\% \pm 3.66$ ออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $38.37\% \pm 1.27$ และซิลิกอน (Si) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $3.33\% \pm 0.34$ พอลิเอสเทอร์ที่ฝังกลบดินต่าง พบว่ามีธาตุองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $54.08\% \pm 4.22$ ออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $40.59\% \pm 3.19$ และแคลเซียม (Ca) ปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $2.81\% \pm 0.99$ จะเห็นได้ว่าพอลิเอสเทอร์หลังฝังกลบด้วยดินกรด (ดินจากธัญบุรี) มีปริมาณธาตุ Si เกิดขึ้นเนื่องจากพบ Si เป็นธาตุองค์ประกอบที่อยู่ในดินชนิดดังกล่าว ดังแสดงในตารางที่ 2 ในส่วนที่ฝังกลบด้วยดินต่าง (ดินจากลพบุรี) แม้ว่าจะมีปริมาณ Si เป็นธาตุองค์ประกอบในดินเช่นกัน แต่ในสภาวะต่างมีดินยัดเกาะที่เส้นใยน้อยกว่าในสภาวะกรด อีกทั้งยังมีปริมาณ Ca เป็นธาตุองค์ประกอบที่มากกว่า ดังแสดงในตารางที่ 3

จากการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของดินจากธัญบุรี ซึ่งมีสภาวะดินเป็นกรด ($\text{pH} \approx 4.3 - 4.5$) ด้วยวิธี EDX พบว่ามีธาตุองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) ออกซิเจน (O) อลูมิเนียม (Al) และซิลิกอน (Si) (ตารางที่ 2)

จากการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของดินจากลพบุรี ซึ่งมีสภาวะดินเป็นด่าง ($\text{pH} \approx 7 - 8$) ด้วยวิธี EDX พบว่ามีธาตุองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด ได้แก่ คาร์บอน (C) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $21.00\% \pm 7.97$ ออกซิเจน (O) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $38.88\% \pm 4.75$ ซิลิกอน (Si) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $10.42\% \pm 6.28$ และ

แคลเซียม (Ca) มีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ $26.08\% \pm 12.55$ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของดินจากธัญบุรี (ดินกรด $\text{pH} \approx 4.3 - 4.5$)

ธาตุ	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%)			
	ตำแหน่งที่ 1	ตำแหน่งที่ 2	ตำแหน่งที่ 3	Mean $\pm$ S.D.
C	16.48	18.02	16.77	17.09% ± 0.82
O	45.19	44.53	43.69	44.47% ± 0.75
Al	10.04	12.3	11.42	11.25% ± 1.14
Si	25.05	22.35	21.81	23.07% ± 1.74

ตารางที่ 3 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของดินจากลพบุรี (ดินด่าง $\text{pH} \approx 7 - 8$)

ธาตุ	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%)			
	ตำแหน่งที่ 1	ตำแหน่งที่ 2	ตำแหน่งที่ 3	Mean $\pm$ S.D.
C	15.88	16.95	30.18	21.00% ± 7.97
O	44.14	37.60	34.91	38.88% ± 4.75
Si	7.93	5.77	17.57	10.42% ± 6.28
Ca	28.43	37.29	12.53	26.08% ± 12.55

อภิปรายผล

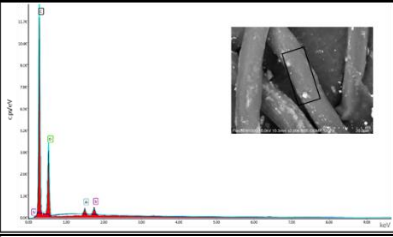
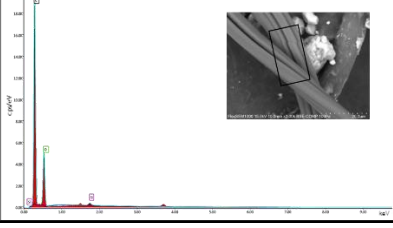
การตรวจลักษณะโครงสร้างของเส้นใยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์สามารถทำได้หลายวิธีที่ไม่ทำลายวัตถุพยาน เช่น Polarized Light Microscopy (PLM) และ Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDX) โดยเส้นใยนั้นจัดเป็นวัตถุพยานชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ในสถานที่เกิดเหตุ ซึ่งถือว่ามีความสำคัญกับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์เป็นอย่างมาก ดังนั้นการตรวจเปรียบเทียบ

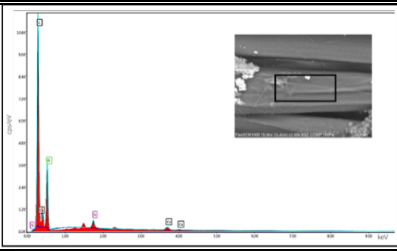
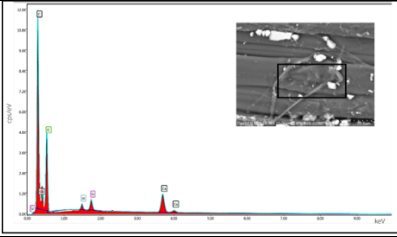
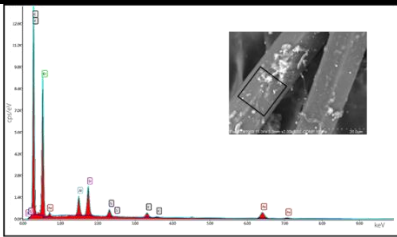
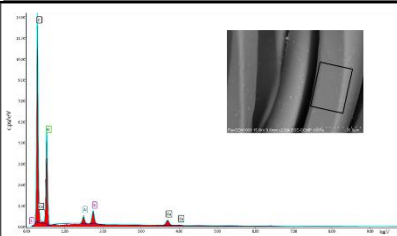
คุณลักษณะต่าง ๆ ของเส้นใยจึงมีความจำเป็นที่ต้องใช้ตัวอย่างที่อยู่ในสภาพสมบูรณ์ และการตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์สามารถใช้ตรวจสอบความแตกต่างของรูปร่างเส้นใย ประเภทเส้นใยธรรมชาติหรือเส้นใยสังเคราะห์ ลักษณะการหักทอ รวมทั้งธาตุองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยแต่ละชนิด จึงสามารถนำไปใช้ในการจำแนกชนิดของเส้นใยออกจากกันได้ (14)

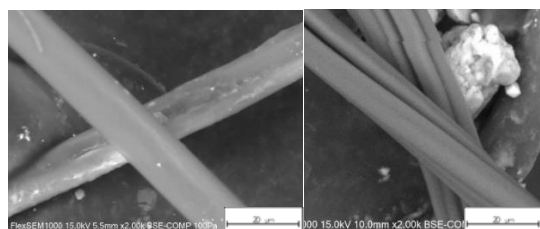
ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยธรรมชาติและเส้นใยสังเคราะห์ที่ฝังกลบในสภาวะดินกรดและต่างที่ระยะเวลาแตกต่างกัน ด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscope with Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDX) ผลการวิจัย พบว่า เส้นใยฝ้ายก่อนการฝังกลบมีลักษณะรูปร่างเป็น Flat Oval มีลักษณะคล้ายผ้าที่บิดเป็นเกลียวเล็กน้อย ตัวอย่างผ้ามีความหนาแน่น และฟู เมื่อนำเส้นใยฝ้ายก่อนการฝังกลบมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

พบว่าเส้นใยฝ้ายมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของ คาร์บอน (C) เท่ากับ $67.15\% \pm 0.69$ และออกซิเจน (O) เท่ากับ $32.77\% \pm 0.76$ เมื่อนำผ้าไป ฝังกลบดินในสภาวะกรด ที่ระยะเวลา 15 และ 30 วัน พบว่าลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเกิดการกัดกร่อนทำให้เส้นใยเกิดการเสื่อมสภาพ และหดตัว เมื่อเทียบกับผ้าฝ้ายที่ฝังกลบดินในสภาวะต่างที่ระยะเวลาเท่ากัน ดังแสดงในรูปที่ 5 และพบว่าเส้นใยฝ้ายที่ฝังกลบดินในสภาวะกรดมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของ คาร์บอน (C) เท่ากับ $64.81\% \pm 3.40$ และออกซิเจน (O) เท่ากับ $33.73\% \pm 2.69$ ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของเส้นใยฝ้ายที่ฝังกลบดินในสภาวะต่าง มีคาร์บอน (C) $64.82\% \pm 1.82$ และออกซิเจน (O) $33.73\% \pm 1.81$ ทำให้เห็นว่าเมื่อนำผ้าไปฝังดินแล้วธาตุองค์ประกอบหลักของผ้าจะมีปริมาณลดลง

ตารางที่ 4 ปริมาณธาตุองค์ประกอบ (Wt%) ของเส้นใยก่อนการฝังกลบ และหลังฝังกลบด้วยดินในสภาวะกรดและต่างที่ระยะเวลา 30 วัน ด้วยเทคนิค SEM/EDX

ชนิดของ เส้นใย	สภาวะ ดิน	สเปกตรัมของธาตุองค์ประกอบ	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%)			
			C	O	Si	Ca
ฝ้าย	กรด		60.89	36.83	-	-
	ต่าง		65.63	33.78	-	-

ชนิดของเส้นใย	สภาวะดิน	สเปกตรัมของธาตุองค์ประกอบ	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%)			
			C	O	Si	Ca
ไหม	กรด		59.95	36.40	1.61	2.05
	ด่าง		46.73	39.06	2.02	11.09
พอลิเอสเทอร์	กรด		47.63	37.24	3.57	-
	ด่าง		53.29	40.22	-	2.81



A

B

รูปที่ 5 ลักษณะโครงสร้างของเส้นใยฝ้าย A เส้นใยฝ้ายในสภาวะฝักกลบดินกรด B เส้นใยฝ้ายในสภาวะฝักกลบดินด่าง

เส้นใยไหมมีลักษณะรูปทรงเป็นแบบ Triangular ตัวอย่างเส้นใยไหมมีความแบน และมีเส้นใยที่บางและเล็ก เมื่อนำผ้ามาฝักกลบดินในสภาวะกรด และ

ด่าง พบว่า เส้นใยมีร่องรอยการฉีกขาด เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของเส้นใยไหมก่อน ฝักกลบ พบว่ามีคาร์บอน (C) $59.25\% \pm 0.97$ ออกซิเจน (O) $37.82\% \pm 0.84$ และแคลเซียม (Ca) $2.06\% \pm 0.50$ หลังฝักกลบดินในสภาวะกรด มีปริมาณคาร์บอน (C) $61.57\% \pm 0.07$ ที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นเพราะดินในสภาวะกรดมีปริมาณคาร์บอนอยู่มาก ออกซิเจน (O) $34.75\% \pm 1.86$ ซิลิกอน (Si) $1.46\% \pm 0.22$ และแคลเซียม (Ca) $1.51\% \pm 0.46$ และหลังฝักกลบดินในสภาวะด่าง พบว่ามีคาร์บอน (C) $42.21\% \pm 3.91$ ออกซิเจน (O) $41.81\% \pm 2.41$ ซิลิกอน (Si) $2.39\% \pm 0.43$ และแคลเซียม (Ca) $12.61\% \pm 1.32$ เส้นใยฝ้ายและเส้นใยไหมเป็นเส้นใย

ธรรมชาติ มีความแข็งแรงทนทานน้อย เมื่อถูกฝังกลบด้วยดินที่มีความชื้น และความเป็นกรด-ด่างจึงทำให้เกิดความเสื่อมสภาพของเส้นใย (11)

พอลิเอสเตอร์ มีลักษณะรูปทรงเป็นแบบ Rounded Edges ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับเส้นใยไหม แต่ลักษณะผ้าแตกต่างกัน พอลิเอสเตอร์จะมีความมันเงา และโครงสร้างเรียงตัวเป็นระเบียบ แต่พื้นผิวขรุขระ จะเสื่อมสภาพได้ในสภาวะต่าง เมื่อนำผ้าพอลิเอสเตอร์มาฝังกลบดินในสภาวะกรดและด่าง พบว่า โครงสร้างของเส้นใยเกิดร่องรอยการฉีกขาดในสภาวะต่างมากกว่าในสภาวะกรด จากนั้นนำผ้านำก่อนฝังกลบมาวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) พบว่ามี คาร์บอน (C) 62.59% $\pm$ 5.56 และออกซิเจน (O) 37.24% $\pm$ 5.36 เปรียบเทียบกับปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ของเส้นใยหลังฝังกลบดินในสภาวะกรด มีคาร์บอน (C) 48.89% $\pm$ 3.66 ออกซิเจน (O) 38.37% $\pm$ 1.27 และซิลิกอน (Si) 3.33% $\pm$ 0.34 และปริมาณองค์ประกอบทาง

เคมี (Wt%) ของเส้นใยหลังฝังกลบดินในสภาวะต่าง พบว่ามีคาร์บอน (C) 54.08% $\pm$ 4.22 ออกซิเจน (O) 40.59% $\pm$ 3.19 และแคลเซียม (Ca) 2.81% $\pm$ 0.99 โดยปริมาณที่ลดลงขององค์ประกอบทางเคมี (Wt%) ในตัวอย่างเส้นใยทั้ง 3 ชนิด แสดงให้เห็นในตารางที่ 5 โดยเทียบกับปริมาณเริ่มต้น ผู้วิจัยวิเคราะห์ว่าที่ลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย หรือไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเลยนั้น อาจเกิดจากระยะเวลาในการฝังกลบที่น้อยเกินไป และการไม่มีสิ่งกระตุ้นให้เกิดการย่อยสลายของเศษผ้า เพราะจากสถิติมาตรฐานที่ฝังกลบศพนั้น สิ่งกระตุ้นสำคัญนอกเหนือจากความเป็นกรด และด่างของดินแล้วนั้น ยังมีจุลินทรีย์และแก๊สจากร่างการศพที่สามารถย่อยสลายเศษผ้าได้อีกด้วย และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีข้างต้น พบว่า เส้นใยแต่ละชนิดมีธาตุองค์ประกอบที่แตกต่างกัน และมีปริมาณของธาตุองค์ประกอบในสภาวะต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณที่ลดลงขององค์ประกอบทางเคมี (Wt%)

ชนิดของเส้นใย		ฝ้าย	ไหม	พอลิเอสเตอร์
ก่อนฝัง	C	67.15	59.25	62.59
	O	32.77	37.82	37.24
	Ca	-	2.06	-
	Si	-	-	-
ฝังกลบดินกรด	C	64.81	61.57	48.89
	O	33.73	34.75	38.37
	Ca	-	1.51	-
	Si	-	1.46	3.33
หลังฝังกลบดินด่าง	C	64.82	42.21	54.08
	O	33.73	41.81	40.59
	Ca	-	12.61	2.81
	Si	-	2.39	-
ลดลง	C	2.34	17.04	8.51
	O	0.96	3.07	3.33
	Ca	0	0.55	0
	Si	0	1.46	0

สรุปผล

จากผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยด้วยเทคนิค SEM/EDX สรุปได้ว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นใยธรรมชาติมีลักษณะเฉพาะตัว มีการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ ลักษณะโครงสร้างแตกต่างกัน และมีสมบัติการดูดซับที่ต่างกัน โดยสังเกตได้จากการยืดเกาะของดินในสภาวะกรด-ด่าง ในขณะที่เส้นใยสังเคราะห์เกิดจากสารเคมีโมเลกุลขนาดเล็ก และใช้สารเคมีที่แตกต่างกันแต่มีกระบวนการผลิตคล้ายคลึงกัน จึงทำให้โครงสร้างของเส้นใยสังเคราะห์มีความคล้ายคลึงกันและมีความเป็นระเบียบ (12) ผู้วิจัยวิเคราะห์ว่าลักษณะโครงสร้างของเส้นใยฝ้ายมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด เพราะมีความแข็งแรงทนทานน้อย สำหรับการเปลี่ยนแปลงในสภาวะต่างมากที่สุด คือ เส้นใยพอลิเอสเตอร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 1 และสถานีพัฒนาที่ดินลพบุรีที่ให้ความอนุเคราะห์เรื่องดินและให้ความรู้เกี่ยวกับดิน

เอกสารอ้างอิง

1. One place ends! Including news of murder, murder, camouflage and surrender mystery [Internet]. Thai Rath newspaper. 2017 [cited 2020 Jan 1]. Available from: <https://www.thairath.co.th/news/crime/963495>. Thai.
2. Tom's mother's murder case, burial at Kan Resort Petition the court for compensation of 6 million [Internet]. Kom Chad Luek newspaper. 2017 [cited 2020 Jan 1]. Available from: <https://www.komchadluek.net/news/crime/282103>. Thai.
3. Nong Nam was buried for 5 years [Internet]. Daily News; 2560 [cited 2020 Jan 1]. Available from: <https://www.dailynews.co.th/crime/608313>. Thai.
4. Sinloya P. [The development of forensic science proces model for criminal investigation in three southern border provinces of thailand]. Suan Dusit Graduate School Academic Journal. 2015;11:43-53. Thai.
5. Degradation period [Internet]. Khon Kaen: Public Relations Office; 2017 [cited 2020 Jan 2]. Available from: https://region1.prd.go.th/ewt_news.php?nid=29244. Thai.
6. Suebpongsiri S. Forensic Evidence. Teaching documents for the course 510690. Nakhon Pathom: Police Cadet School; 2008. Thai.
7. Chamsuwanwong A. Forensic science 2 for crime investigation. 4th ed. Bangkok: TCG Printing; 2009. Thai.
8. Udomkitdecha W. Fiber Science. 1st ed. Bangkok: Printing House of Chulalongkorn University; 1999. Thai.
9. Kaewpraek S. Knowledge of fabrics and fibers. 1st ed. Bangkok: Ramkhamhaeng University; 1997. Thai.
10. Mahacharoen T. [The classification of natural and synthetic fibers in Thailand for forensic purpose by using surface and elemental analysis from scanning electron

- microscope/energy dispersive x-ray spectroscopy]. *CRMA Journal*. 2020;18:32-46. Thai.
11. Tepdacha W. A study of physical and mechanical properties of fabrics within burial conditions [master's thesis]. Nakhon Pathom: Silpakorn University; 2013. Thai.
 12. Phalathip P. The adsorption of heavy metal using modified synthetic fiber [master's thesis] . Nakhon Ratchasima: Suranaree University of Technology; 2016. Thai.
 13. Ampruk J. Forensic analyses natural and synthetic fibers using FT-IR spectroscopy [master's thesis]. Nakhon Pathom: Silpakorn University; 2012. Thai.
 14. Krishnaveni A. Non-destructive Analysis of Trace Textile Fiber Evidence Via Room Temperature Fluorescence Spectroscopy. Doctoral Dissertation. Orlando: University of Central Florida; 2013.
 15. Chinaworn W. Gunshot residue analysis by SEM/EDX [master's thesis]. Nakhon Pathom: Silpakorn University; 2004. Thai.
 16. Srisawang N., Ngerchuklin P., Chaiyasat A., Chaiyasat P. [Polymer microcapsules encapsulating photocatalyst nanoparticles for dye treatment in wastewater]. *Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi*. 2020;19(2):1-16. Thai.



Cytogenetic Analysis of the Variable Squirrel (*Callosciurus finlaysonii* Horsfield, 1824) by Conventional Staining, Ag-NOR Staining and Fluorescence in situ Hybridization Techniques

Sucheela Talumphai^{1*}, Somkiat Khenwiset², Sukhonthip Ditcharoen² and Alongkload Tanomthong²

¹Faculty of Liberal Arts and Science, Department of Science and Technology, Roi Et Rajabhat University, Roi Et 45120, THAILAND

²Department of Major Biology, Faculty of Science, Khonkhaen University, Khon Kaen 40002, THAILAND

*Corresponding author e-mail: aor_sucheela@hotmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 19 April, 2021

Revised: 30 April, 2021

Accepted: 9 June, 2021

Available online: 27 September, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.3

Keywords: *Callosciurus*

finlaysonii, Karyotype,

Ideogram, NOR-banding, FISH

Variable Squirrel belong to the genus *Callosciurus* which has several color patterns as well as and difficult to classify from other species. Cytogenetics is the study of chromosomal features as useful tool on taxonomic and evolutionary studies of squirrel. Moreover, there are scarcely records of cytogenetics of this squirrel. Therefore, the purpose of the present study are to establish karyotype and ideogram, to investigate the NOR site and the pattern of microsatellite sequence (GC)₁₅ and (CGG)₁₀ using convention staining, Ag-NOR staining, and fluorescence in situ hybridization techniques. The result showed that the diploid chromosome (2n) of *C. finlaysonii* was 40, the fundamental number was 74 in both sexes, and the sex determination was XY sex-determination system. The karyotype was composed of 4 large metacentric, 8 large submetacentric, 8 large acrocentric, 2 medium submetacentric, 2 medium acrocentric, 2 medium telocentric, 4 small metacentric, 2 small submetacentric, 2 small acrocentric and 4 small telocentric chromosomes. X chromosome was medium metacentric and Y chromosome was small metacentric chromosomes. NOR's were located on

chromosome pairs 14, and microsatellite (GC)₁₅ and (CGG)₁₀ repeats were highly scattered of all chromosome pairs throughout whole genome. This result was able to study evolutionary of squirrel's chromosome compare with the ancestors. The karyotype formula was $2n(40) = L^m_4 + L^{sm}_8 + L^a_8 + M^{sm}_2 + M^a_2 + M^t_2 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_4 + \text{sex chromosome}$. This cytogenetic data provides useful basic information for further study on the comparison of evolutionary relationship and cytotaxonomy in the genus *Callosciurus*.

INTRODUCTION

Around the world, including Thailand, there are many different types of mammals. Squirrels are one of the most common mammals. In the Rodentia Order, the Sciuridae family can be divided into 2 subfamilies: Pteromyinae and Sciurinae. Squirrels are wild animals that can be seen easily for example, it can be found in forest areas and population distribution throughout Thailand, especially *Callosciurus finlaysonii* is a fairly versatile squirrel (1). *C. finlaysonii* is a squirrel native to Thailand, Myanmar, Laos, Cambodia and Vietnam. It has been introduced to Italy (2) The *C. finlaysonii* belong to the Sciurinae and have 13 subspecies (3). It has big eyes, large upper and lower teeth like each pair, and have hair covering the entire body. In general, the color of the coat can be found in a wide variety. For example, whole body cream color, cream color on the abdomen and there are other parts in black color (4). Cytogenetics is the study of traits properties and behavior of chromosomes during the dividing

body cells for growth, or mitosis and gamete meiosis division, including study of factors affecting chromosomal changes (5). Currently, it is reported that squirrels of the genus *Callosciurus* have chromosomes 38-40 (6) and colored squirrels (*C. finlaysonii*) have 40 chromosomes. (7). Although *C. finlaysonii* are abundant in Thailand, the cytogenetics are studied and some of the information was reported but relatively little. Therefore, the objectives of this research are to study chromosomes, nucleolar organizer region (NOR), karyotype, ideogram and the microsatellite (GC)₁₅, and (CGG)₁₀ patterns that remarkably presented on the *C. finlaysonii* chromosomes. The study moves forward our understanding of both the karyotype evolution mechanisms and speciation in the genus *Callosciurus*, and increases the knowledge available for implementation of polyploidy manipulation, hybridization, sex control, and other potential genetic improvements in the future.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection

Samples of 3 male and 3 female squirrels were collected by placing a mousetrap cage on a tree at the junction between SC03 and SC07 buildings, Khon Kaen University, Thailand.

Chromosome preparation, Giemsa's staining and AgNORs banding technique

Metaphase chromosomes were directly prepared in vivo as following (8) and (9). Subsequently, chromosomes were stained with 20% Giemsa solution and 50% silver nitrate for Ag-NOR banding (10).

Chromosome checking

Twenty metaphases of each specimen were selected and photographed. The length of the short arm chromosome (Ls) and the long arm chromosome (Ll) were measured from 20 perfect metaphase plates of each sex, while the length of the total arm chromosome (LT) was calculated ($LT = Ls + Ll$). The relative length (RL), the centromeric index (CI), and standard deviation (SD) of RL and CI were estimated. The CI ($q/p + q$) between 0.50-0.59, 0.60-0.69, 0.70-0.89, and 0.90-1.00 are described as metacentric (m), submetacentric (sm), acrocentric (a), and telocentric (t) chromosomes, respectively. The fundamental number (NF) was obtained by assigning a value of 2 to the m, sm and a chromosomes and 1 to the t chromosomes. All data were used in karyotyping and diagramming (11).

Fluorescence in situ hybridization (FISH)

FISH was performed on metaphase chromosome spreads with specific probes bind to the target DNA location (12). Both rDNA probes were directly labeled with the Nick-translation Labeling Kit (Jena Bioscience, Jena, Germany), using the fluorescent labels Atto488 (18S rDNA) and Atto550 (5S rDNA), according to the manufacturer's manual (13). The using of microsatellites $d(GC)_{15}$, and $d(CGG)_{10}$ probes described by (14) was followed with slight modifications. Sequences were directly labeled with Cy3 at 5' terminals during synthesis by Sigma (St. Louis, MO, USA). FISH was performed on mitotic chromosome spreads (15) under highly stringent conditions, as previously reported. The evaluation was carried out on an epifluorescence microscope Olympus BX50 (Olympus Corporation, Ishikawa, Japan).

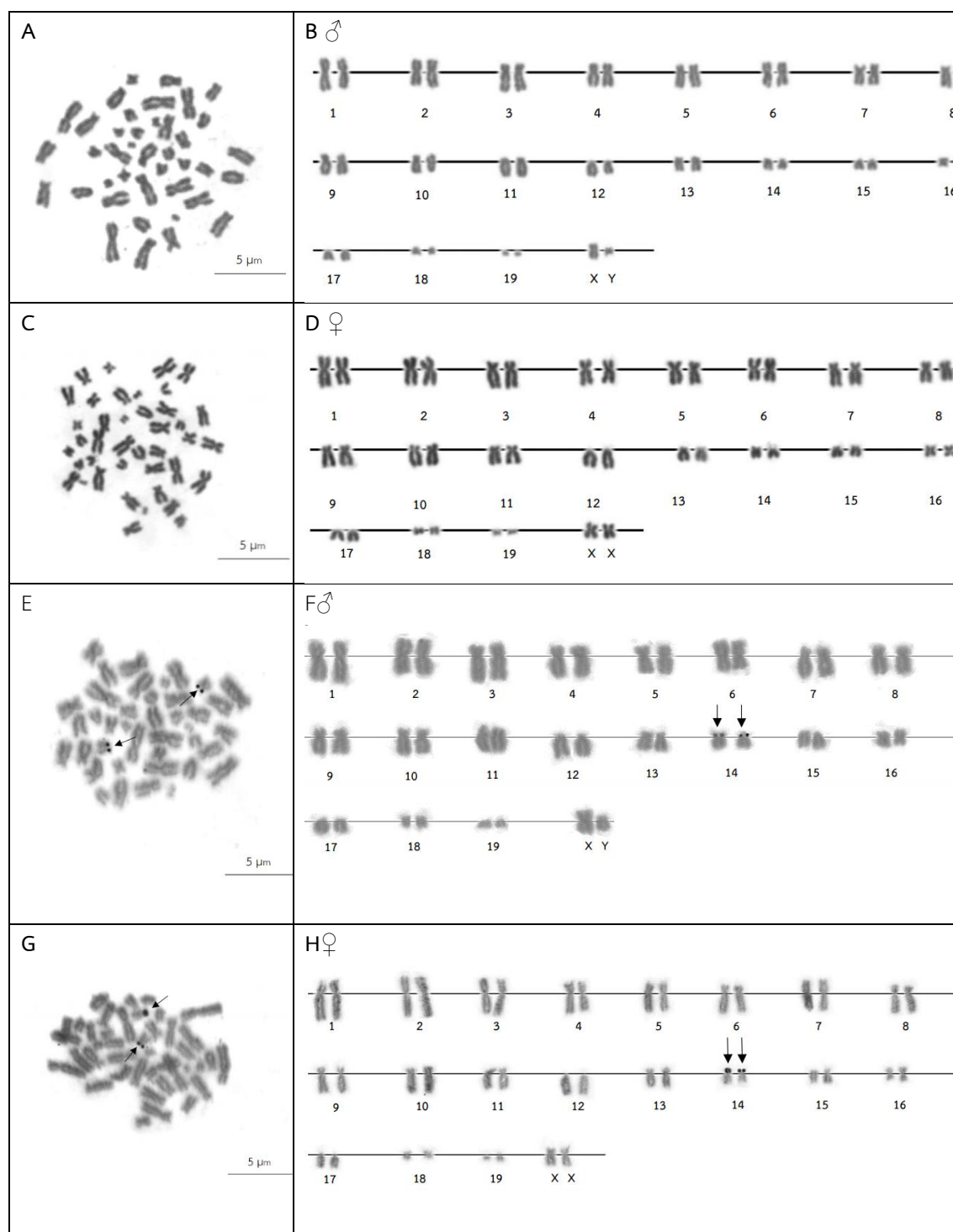


Figure 1 Metaphase chromosome plates and karyotypes of male (A-B and E-F) and female (C-D and G-H), squirrel (*Callosciurus finlaysonii* Horsfield, 1824), $2n=40$ by conventional straining (A-D) and Ag-NOR banding (E-H) technique. Scale bars indicate 5 μm . The arrows indicate nucleolar organizer regions (NOR)

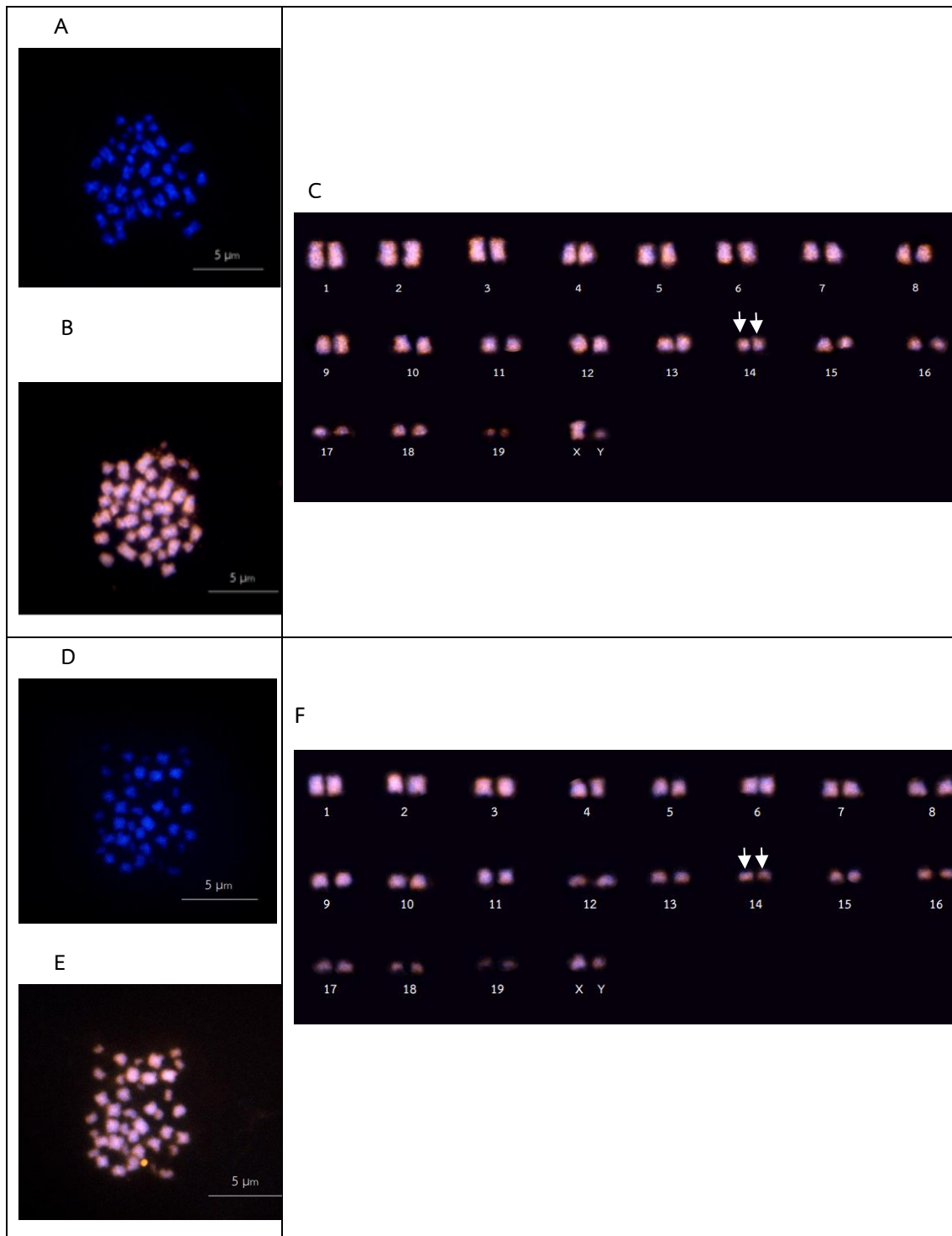


Figure 2 Karyotype of squirrel (*Callosciurus finlaysonii* Horsfield, 1824) $2n=40$ (C, F) arranged from chromosomes after double-fluorescence in situ hybridization (FISH) with 5S rDNA (red) and 18S rDNA (green) probes (A-C), FISH with d(GC)₁₅, (A-B) FISH with d(CGG)₁₀ (D-F). Bars indicate 5 µm. The arrows indicate probe signals

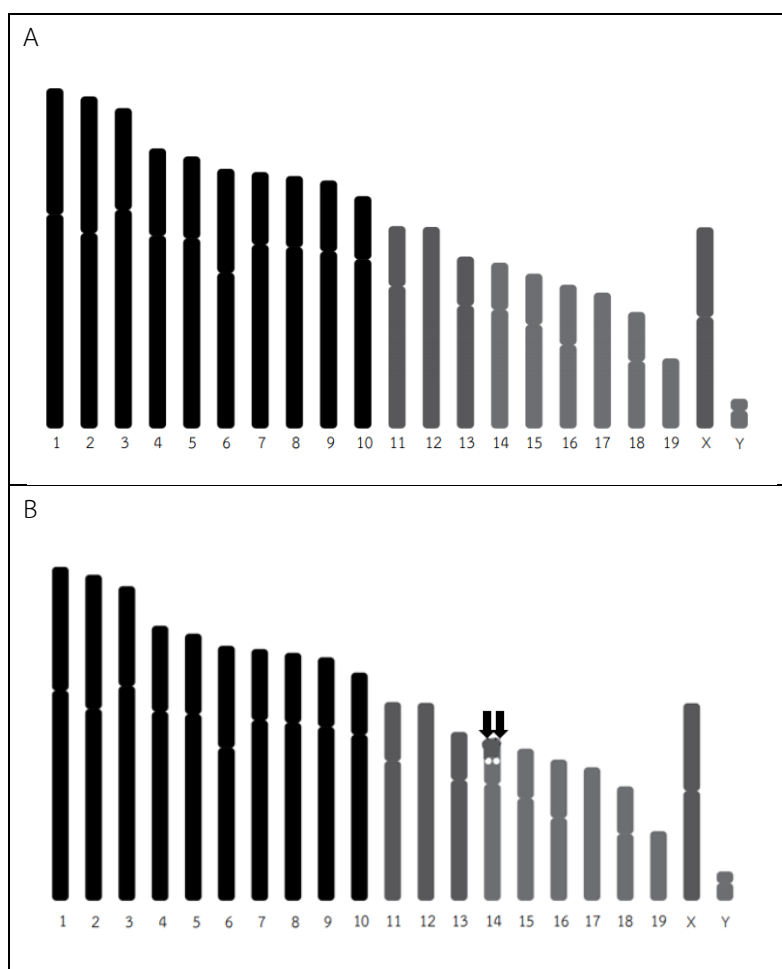


Figure 3 Idiograms of the squirrel (*Callosciurus finlaysonii* Horsfield, 1824), representing the haploid set (n) by conventional staining (A) and Ag-NOR banding techniques (B). Arrows indicate NOR site.

Table 1 Cytogenetics review in the genus *Callosciurus*

Species	2n	NF	Karyotype	Sex system	NOR	Locality	Reference
<i>C. finlaysonii</i>	40	78	8m+4sm+20a+6t	X(m), Y(m)	-	Thailand	Tanomtong <i>et al.</i> , (2009)
<i>C. finlaysonii</i>	42	74	12m+20sm+6a	X(sm), Y(sm)	-	Thailand	Usa pasuk (2010)
<i>C. finlaysonii</i>	40	-	12m+20sm+6a	X, Y	-	Malaysia Philippines Indonesia	Nedler <i>et al.</i> , (1975)
<i>C. finlaysonii</i>	40	-	8m+4sm+20a+6t	X(m), Y(m)	-	Thailand	Pinthong <i>et al.</i> , (2016)

Species	2n	NF	Karyotype	Sex system	NOR	Locality	Reference
<i>C. erythraeus</i>	40		12m+14sm+6a+6t	X, Y	-	Thailand	Pinthong <i>et al.</i> , (2016)
<i>C. caniceps</i>	40		12m+8sm+14a+6t	X, Y	-	Thailand	Pinthong <i>et al.</i> , (2016)
<i>C. caniceps</i>	40	68	-	X, Y	16	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. flavimanus</i>	40	72	-	X, Y	15	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. erythraeus</i>	40	70	-	X, Y	15	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. nigrovittatus</i>	40	70		X, Y	16	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. notatus</i>	40	68		X, Y	16	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. prevostii</i>	40	70		X, Y	16	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. erythraeus</i>	40	-		X, Y	-	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. prevostii</i>	40	-		X, Y	-	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)
<i>C. albescens</i>	38	-		X, Y	-	ASEAN countries	Oshida and Yoshida, (1999)

Remarks: 2n = diploid chromosome number, NF = fundamental number, NOR = nucleolar organizer regions, m = metacentric chromosome, sm = submetacentric chromosome, a = acrocentric chromosome and t = telocentric chromosome

Table 2 Means of the short arm length (Ls), long arm length (LL) and total arm length of chromosomes (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL and CI of 20 metaphase cells of the male and female (*Callosciurus finlaysonii*), 2n=40

Chro. pair	LS	LL	LT	RL±SD	CI±SD	Chro. Size	Chro. Type
1	1.540	2.613	4.154	1.732 ± 0.278	0.631 ± 0.040	Large	Submetacentric
2	1.669	2.385	4.054	1.704 ± 0.297	0.583 ± 0.019	Large	Metacentric
3	1.243	2.669	3.912	1.642 ± 0.292	0.674 ± 0.047	Large	Submetacentric
4	1.066	2.353	3.419	1.445 ± 0.229	0.678 ± 0.051	Large	Submetacentric

Chro. pair	LS	LL	LT	RL±SD	CL±SD	Chro. Size	Chro. Type
5	1.001	2.320	3.321	1.387 ± 0.210	0.696 ± 0.051	Large	Submetacentric
6	1.261	1.874	3.135	1.330 ± 0.234	0.591 ± 0.048	Large	Metacentric
7	0.886	2.244	3.131	1.309 ± 0.196	0.715 ± 0.040	Large	Acrocentric
8	0.869	2.213	3.081	1.289 ± 0.203	0.716 ± 0.039	Large	Acrocentric
9	0.866	2.161	3.027	1.261 ± 0.209	0.714 ± 0.031	Large	Acrocentric
10	0.772	2.064	2.835	1.191 ± 0.209	0.722 ± 0.028	Large	Acrocentric
11	0.734	1.736	2.470	1.065 ± 0.231	0.695 ± 0.050	medium	Submetacentric
12	0.000	2.460	2.460	1.025 ± 0.221	1.000 ± 0.000	medium	Telocentric
13	0.599	1.499	2.098	0.877 ± 0.161	0.711 ± 0.028	medium	acrocentric
*14	0.575	1.449	2.025	0.847 ± 0.144	0.713 ± 0.019	small	acrocentric
15	0.616	1.273	1.889	0.781 ± 0.163	0.680 ± 0.050	small	Submetacentric
16	0.726	1.028	1.754	0.739 ± 0.121	0.580 ± 0.034	small	Metacentric
17	0.000	1.658	1.658	0.6914 ± 0.1175	1.000 ± 0.000	small	Telocentric
18	0.592	0.829	1.420	0.598 ± 0.104	0.576 ± 0.026	small	Metacentric
19	0.000	0.864	0.864	0.360 ± 0.063	1.000 ± 0.000	small	Telocentric
X	1.092	1.364	2.456	0.996 ± 0.368	0.578 ± 0.034	medium	Metacentric
Y	0.146	0.216	0.361	0.156 ± 0.166	0.578 ± 0.021	small	Metacentric

Remarks: Chro.: Chromosome, *: NOR-bearing chromosome

RESULTS AND DISCUSSION

Diploid chromosome number (2n), fundamental number (NF) and karyotype of Callosciurus finlaysonii

The model diploid number of *C. finlaysonii* was $2n = 40$ chromosomes and the fundamental number was 74 (NF = 74) in both male and female. The sex determination system was XY with the karyotype formula $2n (40) = L^m_4 + L^{sm}_8 + L^a_8 + M^{sm}_2 + M^a_2 + M^t_2 + S^m_4 + S^{sm}_2 + S^a_2 + S^t_4 + \text{Sex Chromosome}$.

Chromosome type and size of C. finlaysonii

The karyotype was composed of 4 large metacentric, 8 large submetacentric, 8 large acrocentric, 2 medium submetacentric, 2 medium acrocentric, 2 medium telocentric, 2 small metacentric, 2 small submetacentric, 2 small acrocentric and 4 small telocentric chromosomes. The X chromosome was medium metacentric and Y chromosome was small metacentric chromosomes (Figure 1). All parameters of chromosome are shown in Table 2.

Chromosome marker of *C. finlaysonii*

The determination of a chromosome marker for this species was firstly obtained by Ag-NOR staining. The nucleolar organizer regions (NORs) were mapped to interstitial small acrocentric of the short arm of the chromosome pairs 14. (Figure 3).

Patterns of microsatellite $d(GC)_{15}$ and $d(CGG)_{10}$ repeats in *C. finlaysonii*

The mapping of microsatellite repeats on the chromosomes of *C. finlaysonii* showed that $(GC)_{15}$ and $(CGG)_{10}$ signals were observed on all chromosome pairs. These signals were distributed throughout the whole chromosomes. (Figure 2. A-F).

Idiograms of *C. finlaysonii* chromosomes

All previous chromosomal studied results were summarized (Table 1). The idiograms presenting shapes, sizes and probe signals on the chromosomes of *C. finlaysonii* are shown in Figure 3.

CONCLUSION

The result showed that the diploid chromosome (2n) of *C. finlaysonii* was 40, the fundamental number was 74 in both sexes, and the sex determination was XY sex-determination system. The karyotype was composed of 4 large metacentric, 8 large submetacentric, 8 large acrocentric, 2 medium submetacentric, 2 medium acrocentric, 2 medium telocentric, 4 small metacentric, 2 small submetacentric, 2 small acrocentric and 4 small telocentric chromosomes.

X chromosome was medium metacentric and Y chromosome was small metacentric chromosomes. Which the study results are consistent with the research of (20) and from the analysis of the chromosome type in each rod, it was found that there are types of chromosomes 4, 5, 11, 15 different from the research of (22). It has been reported that the chromosome rods are acrocentric type, respectively but the results this research we are found submetacentric type. Which in this research paper used a total of 15 cells and in this research used 20 cells or it may be variation at the subspecies level. (16). The determination of a chromosome marker for this species was firstly obtained by Ag-NOR staining. The nucleolar organizer regions (NORs) were mapped to interstitial small acrocentric of the short arm of the chromosome pairs 14. This is consistent with the research of (16). It was reported was found on the short arm of the acrocentric type chromosome. The 14 pair of acrocentric can be used as a chromosome marker of variable squirrel because, It has a different position than squirrels of the genus *Callosciurus*, as reported in research by (17). As reported in the research of (18), *Callosciurus caniceus*, *C. flavimanus*, *C. erythraeus*, *C. nigrovittatus*, *C. notatus*, *C. prevostii* had the NOR position on the chromosome pair 16, 15, 15, 16, 16, and 16, respectively. The reason why variable squirrels in the same genus have different NOR positions may be caused by a change in the shape of chromosome translocation, which is the fracture and connection of an ancestor chromosome to form a living organism (19).

In summary, although variable squirrel are abundant in Thailand. And studies of cytogenetics some of the information on others is reported relatively litter. Which the data obtained from the study can lead to information for use in the classification or study of the chromosomal evolution of variable squirrel in the future.

ACKNOWLEDGEMENT

Major Biology, Department of Science and Technology, Faculty of Liberal Arts and Science Roi Et Rajabhat University, Roi Et. and Department of Biology, Faculty of Science, Khonkhaen University, Khon Kaen.

REFERENCES

1. Gálvez F, Symonová R, Kovařík A. Evolutionary trends in animal ribosomal DNA loci: Introduction to a new online database. *Chromosoma*. 2018;127:141-50.
2. Bertolino S, Currado I, Mazzoglio PJ, Amori G. Native and alien squirrels in Italy. *Hystrix J Mamm*. 2000;11:49-58.
3. Schulz-Schaeffer J. History of Cytogenetics In: *Cytogenetics*. Springer: New York; 1980.
4. Tanomtong A, Khunsook S, Jantarat S, Supanuam P, Kenthao A, Kaewsri S. Standardized karyotype and idiogram of the variable Squirrel, *Callosciurus finlaysoni bocourti* (MILNE-EDWARDS, 1867) by conventional staining technique. *Journal of Wildlife in Thailand*. 2009;16(1):83-93.
5. Kannan TP, Zilfalil BA. Cytogenetics: Past, Present and Future. *Malaysian Journal of Medical Sciences*. 2009;16(2):4-6.
6. Tanomtong A, Supiwong W, Jearanaiprepame P, Khakhong S, Kongpironchuen C, Getlekha N. A new natural autotetraploid and chromosomal characteristics of dwarf snakehead fish, *Channa gachua* (Perciformes, Channidae) in Thailand. *Cytologia*. 2014;79(1): 15-27.
7. Supiwong W, Tanomtong A, Kenthao A, Seetapan K, Kaewsri S. Standardized karyotype and ideogram of the three-spot gourami, *Trichogaster trichopterus* (Perciformes, Belontiidae) from Thailand by conventional staining and Ag-NOR staining techniques. *The Nucleus*. 2010;53(3):103-7.
8. Supiwong W, Tanomtong A, Pinthong K, Kaewmad P, Poungnak P, Jangsuwan N. The first chromosomal characteristics of nucleolar organizer regions and karyological analysis of pink anemonefish, *Amphiprion perideraion* (Perciformes, Amphiprioninae). *Cytologia*. 2015; 80(3):271-8.
9. Kasiroek W, Indananda C, Luangoon N, Pinthong K, Supiwong W, Tanomtong A. First chromosome analysis of the Humpback cardinalfish, *Fibramia lateralis* (Perciformes, Apogonidae). *Cytologia*, 2017;82(1):9-15.
10. Chaiyasan P, Supiwong W, Saenjundaeng P, Seetapan K, Pinmongkhonkul S, Tanomtong A. A report on classical cytogenetics of highfin barb fish, *Cyclocheilichthys armatus*

- (Cypriniformes, Cyprinidae). Cytologia. 2018;83(2):149-54.
11. Tanomtong A, Supiwong W, Jearanaiprepame P, Khakhong S, Kongpironchuen C, Getlekha N. A new natural autotetraploid and chromosomal characteristics of dwarf snakehead fish, *Channa gachua* (Perciformes, Channidae) in Thailand. Cytologia. 2014;79(1):15-27.
 12. Maneechot N, Yano CF, Bertollo LAC, Getlekha N, Molina WF, Ditcharoen S, et al. Genomic organization of repetitive DNAs highlights chromosomal evolution in the genus *Clarias* (Clariidae, Siluriformes). Mol Cytogenet. 2016; 9:4.
 13. Supiwong W, Jiwyam W, Sreeputhorn K, Maneechot N, Bertollo LAC, Cioffi MB, et al. First report on classical and molecular cytogenetics of archerfish, *Toxotes chatareus* (Perciformes: Toxotidae). Nucleus. 2017; 60(3):349-59.
 14. Cioffi MB, Kejnovsky E, Bertollo LAC. The chromosomal distribution of microsatellite repeats in the genome of the wolffish *Hoplias malabaricus*, focusing on the sex chromosomes. Cytogenet Genome Res. 2011; 132:289-96.
 15. Xu D, Molina WF, Yano CF, Zhang Y, Oliveira EA, Lou B, et al. Comparative cytogenetics in three Sciaenid species (Teleostei, Perciformes): Evidence of interspecific chromosomal diversification. Mol Cytogenet. 2017;10:37.
 16. Tanomtong A, Khunsook S, Jantarat S, Supanuam P, Kenthao A, Kaewsri S. Standardized Karyotype and Idiogram of The Variable Squirrel, *Callosciurus finlaysoni bocourti* (MILNE-EDWARDS, 1867) by Conventional Staining Technique. Journal of Wildlife of Thailand. 2009;16(1):83-93.
 17. Oshida T, Yoshida MC. Chromosomal characterization and karyotypic evolution of some Asian Squirrels. Japanese Society of Zoo and Wildlife Medicine. 1999;4(2):135-41.
 18. Sochorová J, Garcia S, Gálvez F, Symonová R, Kovařík A. Evolutionary trends in animal ribosomal DNA loci: Introduction to a new online database. Chromosoma. 2018;127 (1):141-50.
 19. Pasuk U, Magtoon W, Donsakul T. Karyotypes of *Tupaia glis* (Scandentia, Tupaiidae), *Tamiops maclellandi*, *Menetes berdmorei* and *Callosciurus finlaysoni* (Rodentia, Sciuridae). SWU Sci J. 2010;26(1):73-88.
 20. Nadler CF, Hoffmann RS. Chromosomes of some Asian and South American squirrels (rodentia: Sciuridae). Experientia. 1970;26:1383-6.
 21. Pinthong K, Tanomtong A, Kaewsri S. Cytogenetic studies of some mammals in Thailand. Proceeding URU International Conference on Science and Technology. Uttaradit, Thailand: Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University. 2016;22-30.



การพัฒนาเทคนิคค้นหาพื้นที่ใบหน้าและวัตถุบริเวณดวงตาโดยใช้หลักการประมวลผลภาพ Development of Facial Area and Object Detection around The Eye Technique using Image Processing

เอกรัตน์ สุขสุคนธ์^{1*} ศุภกิตติ โสภาสพ² และ จักรี ศรีนนท์ฉัตร²

Aekkarat Suksukont^{1*}, Suppakitti Sopasoap² and Jakkree Srinonchat²

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีคอมพิวเตอร์และนวัตกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิทยาลัยเซาธ์อีสท์บางกอก
เขตบางนา กรุงเทพมหานคร 10260

²ภาควิชาวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์และโทรคมนาคม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

¹Department of Computer Technology and Innovation, Faculty of Science and Technology, Southeast Bangkok College, Bang-Na, Bangkok 10260, THAILAND

² Electronics and Telecommunication Engineering, Faculty of Engineering, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Thanyaburi, Pathumthani 12110, THAILAND

*Corresponding author e-mail: ekk_ele@hotmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 4 November, 2020

Revised: 21 April, 2021

Accepted: 3 May, 2021

Available online: 27 September, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.4

Keywords: image processing,
facial area detection, object
detection

Searching the facial area using image processing is an important step to design face recognition system. But, to detect the facial area is still problem for research in order to the shape and face feature are totally difference in each person. This research presents the development object detection technique in facial area and around eye on YCbCr with HSV color image. In the experiment, 200 images are used as the input which can be classified into two groups 1) 100 images without background pattern and 2) 100 images with background pattern. The YCbCr color model technique is then applied to all images to classify the skin color from the background. In the Cb, Cr of YCbCr and HSV color model technique provides the similar skin color of image index. The sobel edge detection technique is then used to detect the face feature. The image segmentation

technique is finally used to search the object obstruction around the eye. The experiment results show that provides the accuracy as 97% and 92% for detect the face position and detect the object obstruction around the eye respectively, in the term of the image without background pattern. Also it provides the accuracy as 87% and 83% for detect the face position and detect the object obstruction around the eye respectively, in the term of the image with background pattern. Then the only YCbCr color image. The experiment of this research show that it can increase the performance of detect the object obstruction around the eye approximately 7% in the term of image without background pattern. Moreover, in the term of image with background pattern, it can increase the performance of detect the face position and detect the object obstruction around the eye approximately 9% and 5% respectively.

บทคัดย่อ

การค้นหาลักษณะที่ใบหน้าโดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพเป็นขั้นตอนสำคัญในการออกแบบระบบการจดจำใบหน้า แต่การตรวจจับใบหน้าที่ยังเกิดโจทย์สำหรับงานวิจัย เนื่องจากรูปร่างและลักษณะของใบหน้าแต่ละคนนั้นแตกต่างกัน รวมถึงมีสิ่งแปลกปลอมบนใบหน้า ดังนั้นงานวิจัยนี้นำเสนอการพัฒนาเทคนิคการค้นหาลักษณะที่ใบหน้าและวัตถุบริเวณดวงตา โดยใช้โมเดลสี YCbCr ร่วมกับ HSV ในการทดลองนำภาพ 200 ภาพ แบ่งเป็น 1) ภาพที่พื้นหลังไม่มีวัตถุ 100 ภาพ และ 2) ภาพที่พื้นหลังมีวัตถุ 100 ภาพ ใช้เทคนิคโมเดลสี YCbCr ภาพทั้งหมด เพื่อจำแนกสีผิวออกจากพื้นหลัง ซึ่งวิธี YCbCr และ HSV ค่าข้อมูลของสี Cb, Cr จะมีความคล้ายคลึงกับจุดภาพของสีผิวทุกเชื้อชาติ จากนั้นเทคนิคโซเบลถูกนำมาใช้ในการค้นหาใบหน้า ขั้นตอนต่อไปใช้เทคนิคการแบ่งแยกภาพ เพื่อค้นหาพื้นที่บริเวณดวงตา แล้วทำการค้นหาสิ่งบดบังบริเวณดวงตา จากการทดลองพบว่า ภาพพื้นหลังที่ไม่มีวัตถุสามารถค้นหาตำแหน่งของใบหน้าได้ 97% และค้นหาวัตถุบริเวณดวงตาได้ 92%

ส่วนภาพพื้นหลังที่มีวัตถุสามารถค้นหาตำแหน่งของใบหน้าได้ 87% และค้นหาวัตถุบริเวณดวงตาได้ 83% เมื่อเปรียบเทียบกับการค้นหาพื้นที่ใบหน้าด้วยโมเดลสี YCbCr เพียงอย่างเดียววิธีข้างต้นสามารถเพิ่มความถูกต้องได้ 7% และในกรณีภาพที่พื้นหลังมีวัตถุสามารถค้นหาตำแหน่งของใบหน้าด้วยวิธีการข้างต้นสามารถเพิ่มความถูกต้องได้ 9% และยังสามารถเพิ่มความถูกต้องในการค้นหาวัตถุบริเวณดวงตาได้ 5%

คำสำคัญ: การประมวลผลสัญญาณภาพ การค้นหาพื้นที่ใบหน้า การค้นหาวัตถุ

บทนำ

ในปัจจุบันการค้นหาพื้นที่ใบหน้าที่มีการใช้งานเพิ่มขึ้นอย่างแพร่หลาย ทั้งในการตรวจสอบระบุตัวตนบุคคล และระบบที่เกี่ยวข้องกับงานด้านความปลอดภัย การค้นหาและติดตามบุคคลจากภาพที่มีอยู่ในฐานข้อมูลโดยการสื่อสารกันระหว่างผู้ใช้งานกับเครื่องคอมพิวเตอร์ทั้งในซอฟต์แวร์และฮาร์ดแวร์ แต่การค้นหาใบหน้าที่ยังเกิดปัญหาย่อยมาก เนื่องจากลักษณะรูปทรงและลักษณะของ

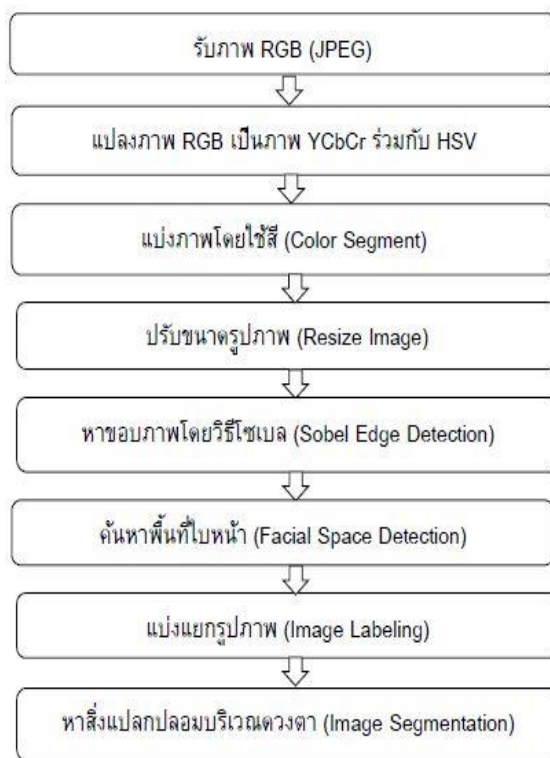
ใบหน้าแต่ละคนนั้นแตกต่างกัน การแสดงอารมณ์ออกมาทางใบหน้า เชื้อชาติ สีผิว รวมทั้งมีสิ่งแปลกปลอมบริเวณใบหน้า อาทิ การสวมใส่แว่นตา ผ้าปิดปาก ผ้าโพกศีรษะ ทำให้เกิดปัญหาในการค้นหาใบหน้าได้ สำหรับการค้นหาสิ่งแปลกปลอมบนใบหน้านั้นมีหลายวิธี จากงานวิจัยที่ได้ศึกษามีการนำเสนอวิธีการค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณใบหน้า เช่น ในงานวิจัยที่ (1) เกี่ยวข้องกับการค้นหาแว่นตาด้วยวิธีการจำแนกข้อมูลแบบ Boosting ในโมเดลโดยใช้การเรียนรู้หลาย ๆ โมเดลจำแนกประเภทในการตัดสินใจ แล้วจะใช้การถ่วงน้ำหนักเข้ามาให้แต่ละโมเดลจำแนกประเภท เพื่อกำหนดกลุ่มให้กับข้อมูลใหม่ ในงานวิจัยที่ (2) เกี่ยวข้องกับการค้นหาแว่นตาด้วยเทคนิคการแบ่งภาพออกเป็นตาราง LBP เมื่อได้ค่าฮิสโตแกรมในแต่ละตารางขึ้นมาแล้ว ใช้เทคนิคสร้างระนาบที่เหมาะสมที่สุดกับข้อมูล (SVM) ในการจำแนกแวกเตอร์ เพื่อหาตำแหน่งของแว่นตา ในงานวิจัยที่ (3) เกี่ยวข้องกับการเปรียบเทียบลักษณะของภาพกับภาพต้นฉบับ โดยใช้หลักการประมวลผลภาพเทมเพลตแมชชีน ในงานวิจัยที่ (4-5) เกี่ยวข้องกับการค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณใบหน้า โดยใช้เทคนิคการแบ่งสี RGB และ HSV ตามด้วยการแบ่งค่าสีใน YCbCr เพื่อจำแนกสีผิวออกจากพื้นหลัง จากนั้นหาขอบของสีผิวจากภาพแล้วหาตำแหน่งของใบหน้า และใช้หลักการทางคณิตศาสตร์เข้ามากำหนดรูปทรงลักษณะของใบหน้าหาบริเวณดวงตาเพื่อใช้หาขอบของแว่นตา เป็นต้น

สำหรับงานวิจัยนี้ได้นำเสนอวิธีการค้นหาพื้นที่ใบหน้าด้วยวิธีการใช้โมเดลสีแบบ YCbCr ร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV เพื่อจำแนกสีผิวออกจากภาพพื้นหลัง เพราะจากการศึกษาพบว่า โมเดลสีแบบ YCbCr ค่าข้อมูลสี Cb และ Cr จะมีความคล้ายคลึงกับจุดภาพของสีผิว ซึ่งค่าข้อมูลสี Cb และ Cr แสดงให้เห็นการกระจายค่าข้อมูลสีผิว ที่มีการครอบคลุมถึงสีผิวทุกเชื้อชาติได้อย่างชัดเจน และโมเดลสีแบบ HSV สามารถบ่งบอกค่าความบริสุทธิ์และความสว่างของสีได้อย่างละเอียด เมื่อโมเดลสีแบบ YCbCr ทำงานร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV จะทำให้มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้เทคนิคเดิม อีกทั้งพัฒนา

วิธีการค้นหาสิ่งแปลกบังบริเวณดวงตาโดยใช้เทคนิคการแบ่งแยกภาพ เพื่อค้นหาตำแหน่งบริเวณรอบดวงตา แล้วจึงทำการตรวจหาวัตถุบริเวณ เนื่องจากวิธีนี้สามารถใช้กับภาพที่เห็นพื้นที่บนใบหน้าทั้งชัดเจนและไม่ชัดเจนได้ด้วย จากนั้นนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น ๆ และนำไปประยุกต์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของระบบต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

การค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าและค้นหาวัตถุบังบริเวณดวงตานั้น ในงานวิจัยนี้จะใช้ภาพจำนวน 200 ภาพ ซึ่งประกอบด้วยภาพใบหน้าที่มีพื้นหลังแบบมีลวดลาย และแบบภาพพื้นหลังที่ไม่มีลวดลาย ดังกระบวนการวิเคราะห์ตามบล็อกไดอะแกรม ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 วิธีการดำเนินการวิจัย

การเตรียมภาพใบหน้าสำหรับทดลอง

ภาพใบหน้าที่ได้รับเข้ามาเป็นภาพสีแบบ RGB โดยแบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ ภาพใบหน้าที่มีพื้นหลังแบบไม่มีลวดลายจำนวน 100 ภาพ ดังรูปที่ 2 และภาพใบหน้าที่มี

พื้นหลังแบบมีลวดลาย จำนวน 100 ภาพ ดังรูปที่ 3



รูปที่ 2 ภาพใบหน้าที่มีพื้นหลังแบบไม่มีลวดลาย



รูปที่ 3 ภาพใบหน้าที่มีพื้นหลังแบบมีลวดลาย

การประยุกต์ใช้โมเดลสีแบบ YCbCr ร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV

ภาพที่รับเข้ามานั้นเป็นภาพสีแบบ RGB ซึ่งโมเดลสีแบบ RGB เป็นโมเดลของแสงสีที่เกิดจากการผสมกันระหว่างแม่สีหลักทั้งสามสี แต่โมเดลสี RGB นั้นค่าทั้งสามสีจะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณของแสง จึงส่งผลให้เกิดค่าความผิดพลาดมากยิ่งขึ้นสำหรับการนำไปใช้ในการประมวลผลสัญญาณภาพ ดังนั้นจึงต้องทำการแปลงโมเดลสี RGB เป็นโมเดลสีแบบ YCbCr เพื่อนำมาใช้ในการแบ่งแยกสีของพื้นที่ใบหน้าออกจากภาพพื้นหลัง จากการศึกษาพบว่า การแปลงค่าสีแบบ YCbCr ค่าระดับข้อมูลสีของ Cb และ Cr จะมีลักษณะคล้ายคลึงกับจุดภาพของสีผิว ซึ่งจะแสดงให้เห็นการกระจายค่าของข้อมูลสีผิวโดยสกัดเอาลักษณะเด่นที่ครอบคลุมถึงสีผิวทุกเชื้อชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ การแปลงรูปแบบสีจาก RGB เป็นรูปแบบสีแบบ YCbCr มีดังนี้

$$Y = (0.299 \times R) + (0.587 \times G) + (0.11 \times B) \quad (1)$$

$$Cb = (0.168736 \times R) + (0.331264 \times G) + (0.5 \times B) \quad (2)$$

$$Cr = (0.5 \times R) + (0.418688 \times G) + (0.081312 \times B) \quad (3)$$

โดยกำหนดให้ค่าของ สีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน ตามลำดับ มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 255 ขนาด 8 บิต โดยค่าสีของ Y อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0 ถึง 255 และค่าสีของ Cb และ ค่าสี Cr อยู่ในช่วงตั้งแต่ -128 ถึง 128



รูปที่ 4 ภาพสีแบบ RGB แปลงเป็นแบบ YCbCr

ในการแบ่งแยกสีนั้นจะการใช้การแปลงโมเดลสีแบบ RGB เป็นโมเดลสีแบบ HSV การคำนวณหาได้จากสมการที่ (4), (5) และ (6) ตามลำดับ ซึ่งผลหลังจากการแปลงมีลักษณะดังตัวอย่างรูปที่ 5

$$H = \begin{cases} \left(\frac{G - B}{\max - \min} \right) \times 60 & ; R = \max \\ 2 + \left(\frac{B - R}{\max - \min} \right) \times 60 & ; G = \max \\ \left(4 + \frac{R - G}{\max - \min} \right) \times 60 & ; B = \max \end{cases} \quad (4)$$

$$S = \left(\frac{\max - \min}{\max} \right) \quad (5)$$

$$V = \max \quad (6)$$

โมเดลสีแบบ RGB ค่าของแสงสีจะมีการเปลี่ยนแปลงตามปริมาณของแสง แต่โมเดลสีแบบ HSV

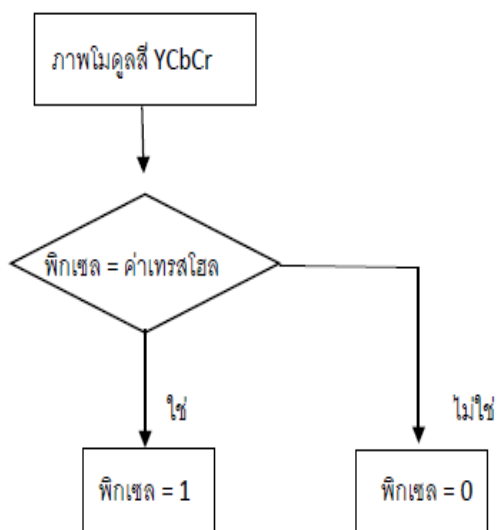
ค่าของ H และ S จะไม่เปลี่ยนแปลงตามปริมาณของแสง ทำให้มีอัตราความคงทนต่อปริมาณของระดับแสง



รูปที่ 5 ภาพสีแบบ RGB แปลงเป็นแบบ HSV

การแบ่งแยกภาพโดยใช้สี

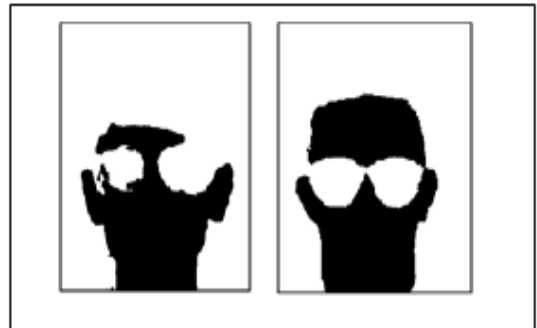
การแบ่งแยกภาพโดยใช้สี เป็นการกำจัดสิ่งที่ไม่ต้องการออกไปจากภาพ โดยการกำหนดค่าของขอบเขตระดับสีที่ต้องการโดยให้มีค่าเท่ากับ 1 และส่วนระดับสีที่ไม่ต้องการจะกำหนดค่าให้มีค่าเท่ากับ 0 โดยกำหนดค่าเทรชโฮลของสีแดงเพื่อใช้ในการแบ่งแยกสี ดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 ขั้นตอนการแบ่งแยกสีของใบหน้าโดยใช้โมเดลสีแบบ YCbCr ร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV

การนำภาพระดับสีมาทำการแปลงเป็นภาพระดับไบนารีนั้น ภาพที่ประกอบด้วยสีขาวและสีดำเป็นหลัก ถ้าพิกเซลใดมีค่าเป็น 0 หมายความว่าพิกเซลนั้นมี

สีดำ ส่วนพิกเซลใดมีค่าเป็น 1 หมายความว่าพิกเซลนั้นมีสีขาว ดังรูปที่ 7



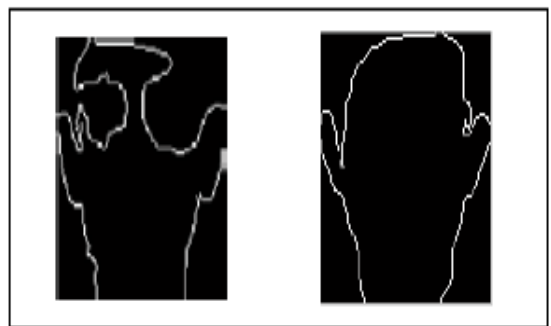
รูปที่ 7 ตัวอย่างการแบ่งภาพโดยใช้สี

การปรับขนาดของภาพ

การปรับขนาดของภาพเป็นการเลือกเฉพาะส่วนที่เป็นบริเวณใบหน้า โดยปรับขนาดของภาพให้มีขนาด 100x100 เพื่อหาเส้นขอบภาพของใบหน้าในส่วนถัดไป ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 การปรับขนาดของภาพ



รูปที่ 9 ค่าสีของพิกเซลในภาพที่ใช้ในการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า

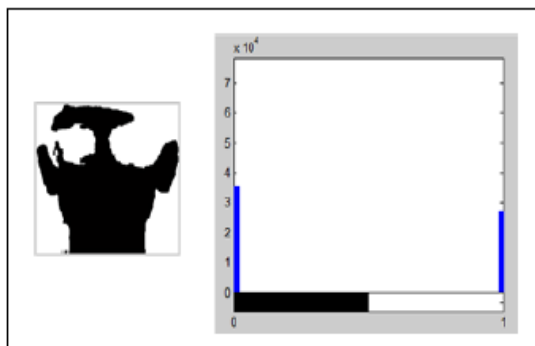
หลังจากที่ปรับขนาดภาพแล้ว ทำการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า ด้วยวิธีการใช้ค่าสีของพิกเซลจากรูปที่ถูกปรับขนาดมาแล้ว โดยกำหนดค่าสีขึ้นมาค่าหนึ่ง เพื่อใช้ในการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า ดังรูปที่ 9

การหาขอบภาพโดยใช้วิธีโซเบล

การหาขอบภาพโดยวิธีโซเบลเป็นการหาเส้นรอบวัตถุที่อยู่ในภาพ เมื่อทราบเส้นรอบของวัตถุแล้วจะสามารถคำนวณหาปริมาณของพื้นที่ (ขนาด) หรือรู้จำวัตถุนั้น ๆ ได้ โดยใช้หน้ากากเทมเพลตขนาด 3x3 จำนวนสองเทมเพลต โดยเทมเพลตแรกจะใช้หาค่าความแตกต่างในแนวนอน (X_{diff}) และเทมเพลตที่สองใช้หาค่าความแตกต่างในแนวตั้ง (Y_{diff}) ดังรูปที่ 10

$$X_{diff} = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad Y_{diff} = \begin{bmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix}$$

รูปที่ 10 หน้ากากเทมเพลตขนาด 3x3



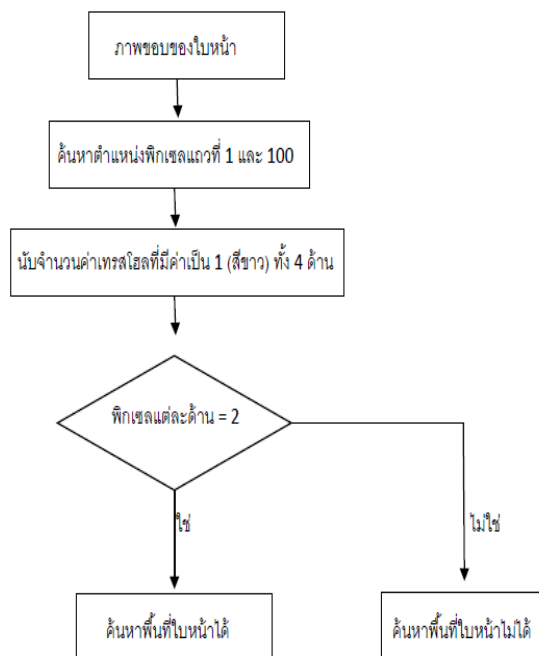
รูปที่ 11 การหาขอบภาพโดยใช้วิธีโซเบล

เหตุที่เลือกใช้หน้ากากเทมเพลตขนาด 3x3 เนื่องจากเหมาะสำหรับการหาขอบภาพที่เป็นกลุ่มสีที่ตัดกันอย่างชัดเจนโดยที่จะไม่สามารถแสดงขอบภาพที่เป็นกลุ่มสีเล็ก ๆ ดังรูปที่ 11

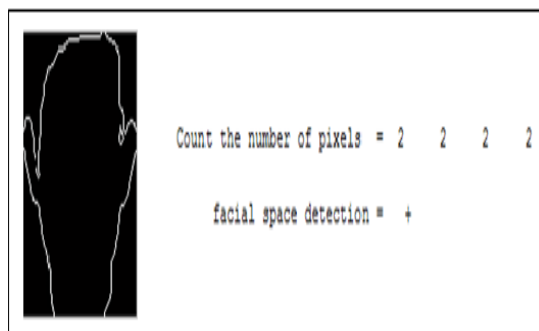
การค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า

ค่าของเทรสโฮลด์ที่มีค่าเป็น 1 (สีขาว) ของพิกเซลแถวที่ 1 กับแถวที่ 100 และคอลัมน์ที่ 1 กับคอลัมน์ที่

100 โดยหากสามารถค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าได้จะมีจำนวนของค่าเทรสโฮลด์ที่มีค่าเป็น 1 จำนวน 2 พิกเซลเท่ากันทั้ง 4 ด้าน ซึ่งแตกต่างจากภาพที่ไม่สามารถค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าได้จะมีจำนวนพิกเซลไม่เท่ากัน โดยมีแผนภาพแสดงขั้นตอนการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า ดังรูปที่ 12



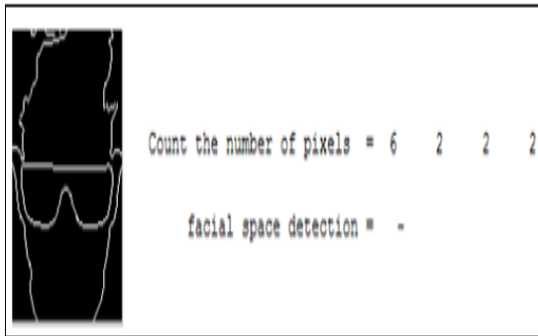
รูปที่ 12 ขั้นตอนการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า



รูปที่ 13 ผลการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าได้

หลังจากนั้นทำการกำหนดเงื่อนไข โดยหากมีจำนวนพิกเซลในแต่ละด้านเท่ากับ 2 เท่ากันทั้งสี่ด้านแสดงว่าสามารถค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าได้ ดังรูปที่ 13 แต่หากจำนวนพิกเซลในแต่ละด้านมีด้านใดด้านหนึ่งไม่

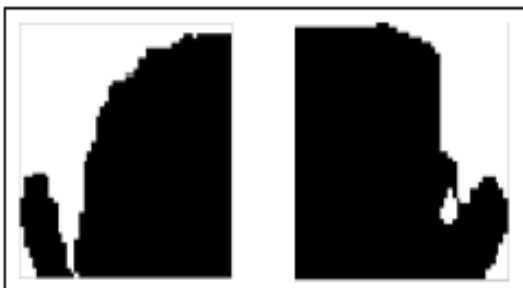
เท่ากับ 2 แสดงว่าไม่สามารถค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าได้ ดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 ผลการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าไม่ได้

การแบ่งแยกส่วนของภาพ

จากการศึกษาพบว่าตำแหน่งของดวงตาจะอยู่ในตำแหน่งด้านบนไม่เกินครึ่งหนึ่งของใบหน้า ผู้วิจัยจึงได้ทำการแบ่งครึ่งภาพของใบหน้าออกเป็น 2 ส่วน แต่ละส่วนเท่า ๆ กัน ได้แก่ ด้านบนสุดของภาพจนถึงกึ่งกลางภาพ และกึ่งกลางภาพจนถึงด้านล่างสุดของภาพ หลังจากนั้นทำการแบ่งภาพอีกครั้ง โดยนำภาพในส่วนด้านบนของใบหน้าที่ถูกแบ่งไว้แล้วนำมาแบ่งครึ่งด้านซ้ายและด้านขวาในขนาดที่เท่า ๆ กัน เนื่องจากขั้นตอนต่อไปต้องการค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตาข้างซ้ายและดวงตาข้างขวา ดังรูปที่ 15

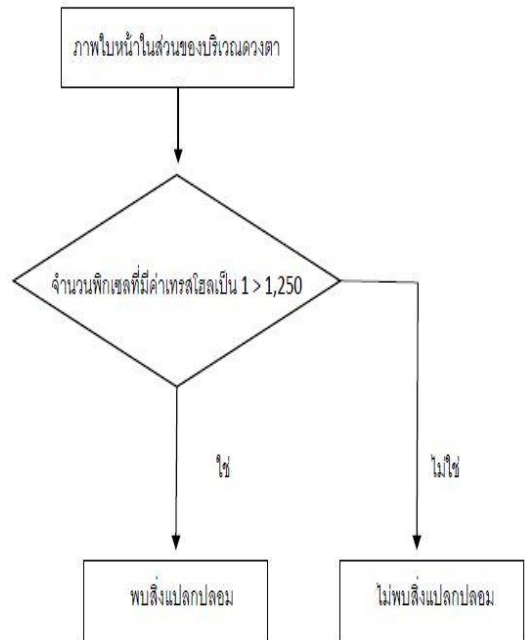


รูปที่ 15 การแบ่งแยกภาพส่วนบนของใบหน้า

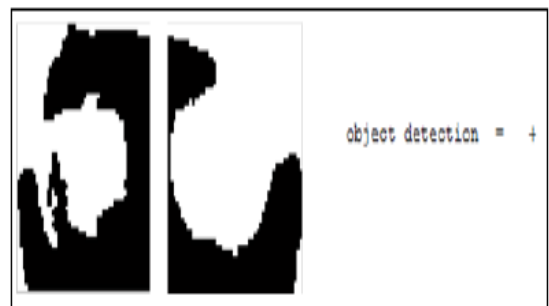
การค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตา

หลังจากที่ทำการแบ่งแยกภาพออกเป็นสองฝั่งแล้ว จะทำการค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตาคราวละด้าน โดยการกำหนดค่าจำนวนพิกเซลที่มีค่าเทรชโฮล

เท่ากับ 1 ค่าหนึ่งขึ้นมา เพื่อใช้ในการตรวจสอบหาสิ่งแปลกปลอม หลังจากนั้นจะทำการค้นหาจากภาพบริเวณดวงตาข้างซ้ายและบริเวณดวงตาข้างขวา โดยมีขั้นตอนการทำงาน ดังรูปที่ 16



รูปที่ 16 ขั้นตอนการค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตา



รูปที่ 17 ค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตาได้



รูปที่ 18 ค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตาไม่ได้

ขั้นตอนสำหรับการค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตา คือ นำภาพบริเวณดวงตาที่ได้จากขั้นตอนการแบ่งแยกภาพที่มีขนาด 50x50 พิกเซล หรือ 2,500 พิกเซล นำมาค้นหาจำนวนพิกเซลที่มีค่าเทรชโฮลเป็น 1 จากนั้นทำการนับพิกเซลที่มีค่าเป็น 1 หากมีจำนวนมากกว่า 1,250 พิกเซล แสดงว่าสามารถค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตาได้ ดังรูปที่ 17 แต่หากจำนวนพิกเซลมีค่าน้อยกว่า 1,250 พิกเซล แสดงว่าไม่สามารถค้นหาสิ่งแปลกปลอมบริเวณดวงตาได้ ดังรูปที่ 18

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

การค้นพื้นที่ใบหน้าและตรวจหาวัตถุบริเวณดวงตาโดยใช้โมเดลภาพสีแบบ YCbCr ร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV เป็นขั้นตอนสำคัญในการออกแบบระบบการจดจำใบหน้า โดยทำการทดสอบเงื่อนไขต่าง ๆ ที่ได้กำหนดไว้ รวมทั้งตรวจสอบความผิดพลาดที่เกิดขึ้น ซึ่งผลจากการทดลองนี้จะถูกนำไปใช้เพื่อพัฒนาให้มีคุณภาพและประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

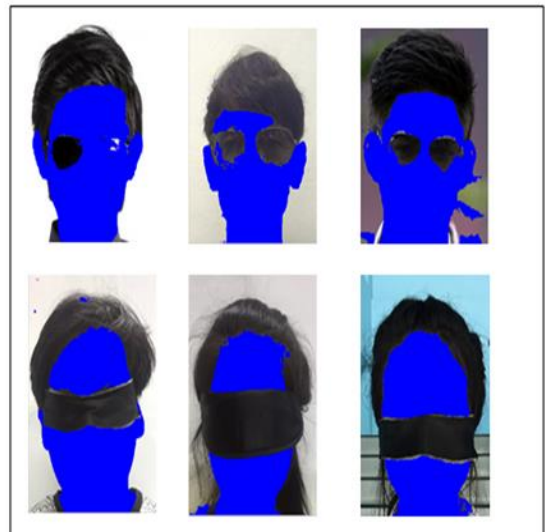
ผลจากการทดลองแปลงภาพสี RGB

การทดลองการแปลงภาพสี RGB พบว่าการใช้โมเดลสีแบบ YCbCr ร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV นั้นสำหรับภาพที่มีพื้นหลังแบบไม่มีลวดลายสามารถค้นหาตำแหน่งบริเวณใบหน้าได้ 97% ส่วนภาพที่มีพื้นหลังแบบมีลวดลายสามารถค้นหาตำแหน่งบริเวณใบหน้าได้ 87% ดังรูปที่ 19 โดยเมื่อทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ใช้โมเดลสีแบบ YCbCr นั่นคือ ภาพแบบพื้นหลังที่ไม่มีลวดลายสามารถค้นหาตำแหน่งของบริเวณใบหน้าได้เพียง 90% และภาพแบบพื้นหลังที่มีลวดลายสามารถตรวจค้นหาตำแหน่งของใบหน้าได้เพียง 78% เท่านั้น

ผลจากการทดลองค้นหาพื้นที่ของสีผิว

เมื่อนำภาพที่ได้มาทำการแบ่งแยกภาพโดยใช้สีซึ่งในงานวิจัยนี้ การแบ่งแยกภาพโดยใช้สีของใบหน้าจะสนใจเฉพาะสีของพื้นที่บริเวณใบหน้าเท่านั้น โดยโมเดลสีที่ใช้ในการแบ่งแยกสีแดงที่นิยมใช้กันมีหลายโมเดล เช่น

โมเดลสี RGB, HSV, YCbCr, HSI, Gray Scale โดยโมเดลสีแบบ RGB ค่าของสีแดง เขียว และน้ำเงิน จะแปรเปลี่ยนไปตามปริมาณของแสงทำให้ยุ่งยากในการกำหนดค่าเทรชโฮล ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงเลือกโมเดลสีแบบ YCbCr ร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV ในการค้นหาพื้นที่ของสีผิว



รูปที่ 19 การแปลงภาพสี RGB เป็น YCbCr ร่วมกับ HSV



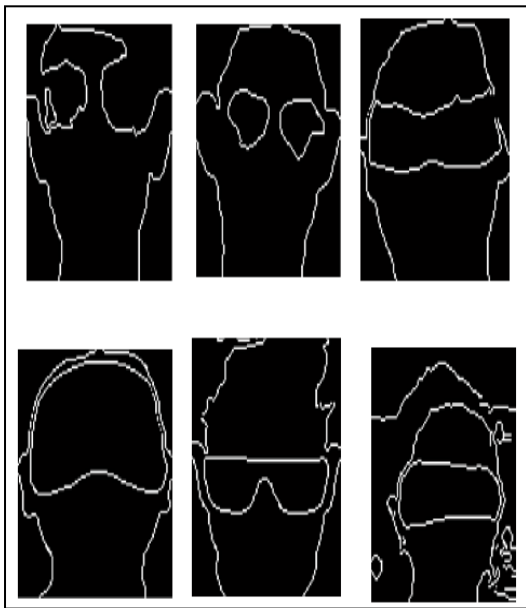
รูปที่ 20 ตัวอย่างการหาพื้นที่ของสีผิว

จากรูปที่ 20 ความผิดพลาดในการค้นหาพื้นที่ผิวเกิดจากสีของภาพพื้นหลังที่มีค่าสีที่ใกล้เคียงกับ

ลักษณะสีผิวของใบหน้า ทำให้ไม่สามารถค้นหาตำแหน่งบริเวณใบหน้าได้ แต่ถ้าหากสีของลวดลายของพื้นหลังมีความแตกต่างกับสีผิวของใบหน้าและไม่มีแสงเงาภายในภาพ จะสามารถทำการค้นหาตำแหน่งบริเวณใบหน้าได้อีกทั้งปัจจัยส่วนอื่น อาทิ สีของเส้นผม สีของสิ่งบดบังบริเวณดวงตา เป็นต้น

ผลจากการทดลองหาขอบภาพ

เมื่อรู้เส้นรอบวัตถุก็จะสามารถค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าได้ ในงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคการหาขอบภาพด้วยวิธีโซเบล ซึ่งเป็นการหาขอบภาพในลักษณะที่มีความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มแสงจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งได้อย่างชัดเจน



รูปที่ 21 ตัวอย่างการหาขอบภาพ

จากรูปที่ 21 คือ การหาขอบภาพด้วยวิธีโซเบล ซึ่งความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มแสงจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งนั้น ถ้าค่าความต่างนี้มีระดับที่มากก็จะสามารถระบุขอบภาพได้อย่างชัดเจน แต่หากค่าความแตกต่างมีระดับที่น้อยเกินไปการหาขอบภาพก็จะไม่ชัดเจนลดลงไปตามลำดับ

ผลการจากทดลองค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า

ในการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้าจะทำการแบ่งรูปออกเป็น 2 ลักษณะคือ ภาพใบหน้าที่มีพื้นหลังแบบไม่มีลวดลายและอีกลักษณะคือ ภาพใบหน้าที่มีพื้นหลังแบบมีลวดลาย ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้โปรแกรมในการตรวจนับจำนวนพิกเซลของเส้นขอบรอบ ๆ บริเวณใบหน้า ดังผลการทดลองตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการค้นหาพื้นที่บริเวณใบหน้า

ลักษณะของภาพ	ถูกต้อง	ผิดพลาด
ภาพพื้นหลังที่ไม่มีลวดลาย	97%	3%
ภาพพื้นหลังที่มีลวดลาย	87%	13%

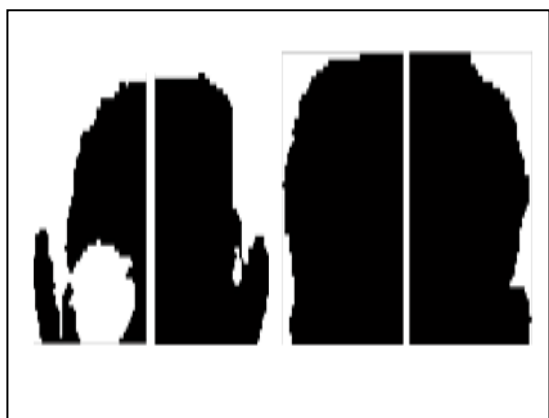
จากตารางที่ 1 พบว่าการค้นหาตำแหน่งของใบหน้าของภาพพื้นหลังที่ไม่มีลายจำนวน 100 ภาพ สามารถค้นหาตำแหน่งของใบหน้าได้จำนวน 97 ภาพ ความผิดพลาดนั้นเกิดจากค่าสีของพื้นหลังใกล้เคียงกับสีผิวของใบหน้าและเกิดจากภาพที่มีความสว่างน้อยหรือมากเกินไป ส่วนภาพที่มีพื้นหลังแบบมีลวดลายจำนวน 100 ภาพ สามารถหาตำแหน่งของใบหน้าได้จำนวน 87 ภาพ ความผิดพลาดนั้นเกิดจากค่าสีของลวดลายพื้นหลังมีความใกล้เคียงกับสีผิวของใบหน้าทำให้ไม่สามารถค้นหาตำแหน่งของใบหน้าได้ แต่หากสีของลวดลายพื้นหลังมีความแตกต่างกับสีผิวของใบหน้าและไม่มีแสงเงาเกิดขึ้นในภาพก็จะสามารถค้นหาตำแหน่งของใบหน้าได้

ผลจากการทดลองการค้นหาวัดอยู่บริเวณรอบดวงตา

เมื่อทำการแบ่งแยกภาพบริเวณใบหน้าแล้ว จะใช้ภาพใบหน้าเฉพาะในส่วนของบริเวณรอบดวงตา ทำการหาวัดอยู่รอบดวงตาด้วยเทคนิคการกำหนดค่าเทรสโวล โดยเมื่อค่าระดับของภาพสูงเกินกว่าค่าที่ตั้งไว้ ให้ทำการแสดงว่าภาพนั้นมีวัดอยู่บริเวณรอบดวงตา



รูปที่ 22 ตัวอย่างภาพที่ค้นหาวัดถูบริเวณดวงตาได้



รูปที่ 23 ตัวอย่างภาพที่ค้นหาวัดถูบริเวณดวงตาไม่ได้

จากรูปที่ 22 พบว่าภาพที่สามารถค้นหาวัดถูบริเวณดวงตาได้จะมีลักษณะที่สีของแว่นตามีสีที่ไม่ใกล้เคียงกับสีของใบหน้า ส่วนรูปที่ 23 สีของแว่นตาจะมีแสงสะท้อนมาจากแสงภายนอกหรือแว่นตามีสีใกล้เคียงกับสีของพื้นที่บริเวณใบหน้า จะได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการค้นหาวัดถูบริเวณดวงตา

ลักษณะของภาพ	ถูกต้อง	ผิดพลาด
ภาพพื้นหลังที่ไม่มีลวดลาย	92%	8%
ภาพพื้นหลังที่มีลวดลาย	83%	17%

จากตารางที่ 2 พบว่าความผิดพลาดในการค้นหาวัดถูบริเวณดวงตาเกิดมาจากค่าสีของแว่นตามีค่าใกล้เคียงกับค่าสีบริเวณใบหน้าหรืออาจมีแสงเงาตก

กระทบกับแว่นตาจึงทำให้เกิดความผิดพลาดในการทดลอง

สรุปผล

งานวิจัยนี้ได้นำเสนอการค้นหาค้นหาพื้นที่ใบหน้าด้วยโมเดลสีแบบ YCbCr ร่วมกับโมเดลสีแบบ HSV และค้นหาวัดถูบริเวณดวงตาด้วยวิธีการแบ่งแยกภาพ จากการทดลองพบว่า ภาพพื้นหลังที่ไม่มีลวดลายสามารถหาค้นตำแหน่งของใบหน้าได้ 97% และค้นหาวัดถูบริเวณดวงตาได้ 92% สำหรับภาพพื้นหลังที่มีลวดลายสามารถหาค้นตำแหน่งของใบหน้าได้ 87% และค้นหาวัดถูบริเวณรอบดวงตาได้ 83% ทั้งนี้ค่าความผิดพลาดในการค้นหาสามารถปรับปรุงด้วยการลดระดับของค่าแสงเงาของภาพต้นฉบับซึ่งอาจทำให้การค้นหาวัดถูบริเวณดวงตามีประสิทธิภาพที่มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคุณคณาจารย์ในภาควิชาวิศวกรรมอิเล็กทรอนิกส์และโทรคมนาคม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและแก้ไขปัญหาในการทำงานวิจัยนี้ และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีวิทยาลัยเซาธ์อีสท์บางกอก ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัยด้วยดีมาตลอด ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงในความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. Crowley J, Beraed F. Multi-modal tracking of faces for video communications. In: Computer society conference on computer vision and pattern recognition; June 1997; USA. p. 640-5.
2. Sopasop S, Srinonchat J. Detection technique of the obstruction area in face recognition system based on YCbCr images. In: The 8th

- conference of electrical engineering network of Rajamangala University of Technology; 26-28 May 2016; Thailand. p. 557-60.
3. Ngammongkolwong S, Janpirom C, Suksukon A, Pritsalikorn R, Semsri A, Yoonoi S. Image inspection system for electronic circuit board assembly Using Image Processing. *International journal of applied computer technology and information systems*. 2020;9(2):71-5.
 4. Dang K, Sharma S. Review and comparison of face detection algorithms. In: *The 7th international conference on cloud computing, data science and engineering- confluence*; January 2017; India, p. 629-33.
 5. Nie M, Li Y, Wang S. The facial features analysis method based on human star-structured model. In: *The 2nd international conference on information systems and computer aided education*; September 2019; China. p. 204-7.
 6. Sax D, Foulds R. Toward robust skin identification in video images. In: *Proceedings of the second international conference on automatic face and gesture recognition*; October 2002; USA. p. 379-84.
 7. Chai D, Ngan KN. Locating facial region of a head-and-shoulders color image. In: *IEEE international conference on automatic face and gesture recognition*; April 1998; Japan. p. 124-9.
 8. Wu N, Yokoyama T, Pramadihanto D, Yachida M. Face and facial feature extraction from color image. In: *IEEE international conference on automatic face and gesture recognition*; 2012; p. 345-50.
 9. Xin B. Modeling and evaluation of knitted fabric appearance based on FFT methods. In: *The 7th international conference computer science and education*; July 2012; Australia. p. 85-8.
 10. Alabbasi A, Moldoveanu F. Human face detection from images based on skin color. In: *The 18th international conference on system theory, control and computing*; October 2014; Romania. p. 532-7.
 11. Yang G, Huang TS. Human face detection in complex background. *Pattern recognition*. 2004;27(1):53-63.
 12. Kotropoulos C, Pitas I. Rule-based face detection in frontal views. *Acoustics speech and signal processing*. 2007;4(1):2537-40.
 13. Ji Y, Idrissi K. Learning from essential facial parts and local features for automatic facial expression recognition. In: *International workshop on content based multimedia indexing*; June 2010; France. p. 1-6
 14. Sakai T, Nagao M, Fujibayashi S. Line extraction and pattern detection in a photograph. 1999; 1(1):233-48.
 15. Srinonchat J, Proakam S. Tactile object recognition using low resolution image from close up image and principle component analysis and z-score. *Research journal rajamangala university of technology thanyaburi*. 2016;15(1):27-31.



Build-up Factors and Fast Neutron Properties of Some Plastic and Polymer for Shielding Materials: A Simulation

Sunantasak Ravangvong^{1*}, Punsak Glumglomchit², Thatchapol Hudsathapun², Narawich Mitdee², Teerawatch Ngodngam², Kittisak Sriwongsa^{3,4} and Chumphon Khobkham⁵

¹Division of Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi 76000, THAILAND

²Huahin Vitthayalai School, Hua-Hin, Prachuap Khiri Khan 77110, THAILAND

³Education Program in Physics, Faculty of Education, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, THAILAND

⁴The demonstration school of Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, THAILAND

⁵Faculty of Engineering, Thonburi University, Bangkok 10160, THAILAND

*Corresponding author e-mail: sunantasak.rav@mail.pbru.ac.th

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 6 November, 2020

Revised: 8 January, 2021

Accepted: 18 January, 2021

Available online: 27 September, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.5

Keywords: buildup factors, fast neutron, plastic, polymer

This work discussed the theory of radiation shielding for some plastics and polymers. There were 6 samples for this study. They were bone-equivalent plastic (B-100), polyvinyl chloride (PVC), air equivalent plastic (C-552), radio chromic dye film (nylon base), polyethylene terephthalate (mylar) and polymethyl methacrylate (PMMA). These samples were simulated in term of photon and neutron shielding behaviors. Consequently, the theoretical study were separated into 2 types for photon shielding and neutron shielding. The geometrical progression (G-P) method was used to stimulate energy absorption build-up factor (EABF) and exposure build-up factor (EBF), at photon energies ranging from 15 keV to 15 MeV and up to 40 deep penetration mean free path (mfp) for photon shielding. Moreover, fast neutron removal cross-section (Σ_R) values were estimated by partial density method. The data of the simulation were found that equivalent atomic number (Z_{eq}) polymethyl methacrylate (PMMA) had the lowest values whereas EABF and EBF values had maximum values. Furthermore,

polyvinyl chloride (PVC) had the highest equivalent atomic number (Z_{eq}) values whereas EABF and EBF values had the lowest values. The result for main interaction of photon with matter can be separated on energy regions that is photoelectric absorption (PE), Compton scattering (C) and pair production (PP) interactions. PE is main interaction at low energies ranging, C is main interaction at intermediate energies ranging and PP is main process at high energies ranging. The results indicated that polyvinyl chloride (PVC) exhibited excellent radiation shielding. Other than fast neutron removal cross-section value (Σ_R) of plastics and polymers, which estimated by partial density method, it was found that radio chromic dye film (nylon base) had the highest value. This result indicated that radio chromic dye film (nylon base) was the excellent neutron shielding material.

INTRODUCTION

Today, there are use of isotope in different sectors such as nuclear reactors, agriculture and medicine. The radiations from isotope are very dangerous not only harmful for man but include animal and environment. In the field of radiation physics, X/ γ rays and neutrons are important subject for the study on radiation shielding (1,2). Build-up factors (BFs) and fast neutron removal cross section (Σ_R) are fundamental quantity to explain shielding of X/ γ rays and neutrons, respectively. Materials used to against radiation should have high atomic number (high Z) while low atomic number (low Z) required for neutron (3).

There are many methods for simulating build-up factors like Geometrical Progression (G-P) fitting method. The American Nuclear Society used codes for computing photon energies ranging 15 keV-15 MeV up to deep penetration

40 mfp for 23 elements, one compound; water, and two mixture; air and concrete (4). Many researchers used G-P fitting method to study radiation shielding properties and reported that many materials such as inorganic scintillator, glasses, and alloy (5-7).

Plastics and polymers are long arrangement molecules and basic material used for against neutron and radiation because of low cost, low weight, friendly for environment, corrosion resistance, effective against radiation and high-Z nano- and micro-materials dispersed in polymer matrices have shown the enhancement ability in attenuating and absorbing high energy radiation (4,8-11,18). So, the authors interest to study the radiation shielding and Σ_R properties for some plastics and polymers. Radiation shielding properties were estimated and build-up factors by G-P fitting method and Σ_R properties were estimated by partial density method.

Table 1 Composition of plastics and polymers (2).

sample	code	%wt of each element							
		H	C	N	O	F	Ca	Cl	Si
Bone-equivalent plastic (B-100)	P1	0.0655	0.5370	0.0216	0.0321	0.1675	0.1766	-	-
Polyvinyl Chloride (PVC)	P2	0.0484	0.3844	-	-	-	-	0.5673	-
Air equivalent plastic (C-552)	P3	0.0247	0.5017	-	0.0046	0.4653	-	-	0.0040
Radio chromic dye film (nylon base)	P4	0.1020	0.6244	0.0989	0.1447	-	-	-	-
Polyethylene terephthalate (mylar)	P5	0.0420	0.6251	-	0.3331	-	-	-	-
Polymethyl methacrylate (PMMA)	P6	0.0806	0.5999	-	0.3197	-	-	-	-

MATERIALS AND METHODS

The chemical compositions of samples are exhibited in Table 1.

Build-up factors (BFs)

The determination of attenuation coefficient for γ -ray was made by investigating the transmitted radiation intensity I that pass through thickness x as compared to incident radiation intensity I_0 . The linear attenuation coefficient (μ) was explained from exponential Beer-Lambert's law (19):

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu x} \quad (1)$$

The build-up factors (BFs) are basically value used to design medium for radiation shielding. BFs are separated into two types, 1. energy absorption build-up factor (EABF) and 2. exposure build-up factor (EBF) which obtained by computing from Geometrical Progression (G-

P) fitting method at energies ranging 0.015-15 MeV and these values are defined by Eq. (3-4). Firstly, it is very important to know about equivalent atomic number (Z_{eq}) values as this value must lie at specific energy between Z_1 and Z_2 atomic numbers ($Z_1 < Z_{eq} < Z_2$) which obtained by Eq. (2): (12-15).

$$Z_{eq} = \frac{Z_1 (\log R_2 - \log R) + Z_2 (\log R - \log R_1)}{\log R_2 - \log R_1} \quad (2)$$

where Z_1 and Z_2 are values of atomic numbers of elements according to ratios R_1 and R_2 , respectively. R is ratio $(\mu_m)_{Compton}/(\mu_m)_{Total}$ for sample at same energy.

$$B(E, x) = 1 + (b-1)\{(K^x-1)/(K-1)\}, K \neq 1 \quad (3)$$

$$B(E, x) = 1 + (b-1)x, K = 1 \quad (4)$$

here $K(E, x)$, photon dose multiplication factor, b , build-up factor corresponding to 1 mfp which obtained by Eq. (5):

$$K(E,x) = cx^a + d \frac{\tanh\left(\frac{x}{x_k} - 2\right) - \tanh(-2)}{1 - \tanh(-2)}, \quad (5)$$

$$x \leq 40 \text{ mfp}$$

Lastly, fast neutrons removal cross sections (Σ_R) for samples can be computed using Eq. (6, 7) (16,17):

$$\Sigma_{R/\rho} = \sum_i w_i (\Sigma_{R/\rho})_i \quad (6)$$

$$\Sigma = \sum_i \rho_i (\Sigma)_{R/\rho} \quad (7)$$

where $(\Sigma_{R/\rho})_i$ and ρ_i are mass removal cross section and partial density of i^{th} element, respectively.

RESULT AND DISCUSSION

Z_{eq} of plastics and polymers for photon energy 15 keV-15 MeV are shown in Figure 1. The energy, deep penetration and samples dependency of EABF and EBF values are exhibited in Figures 2-5, respectively. The effective of Σ_R is shown graphically in Figure 6.

EABF and EBF with energy

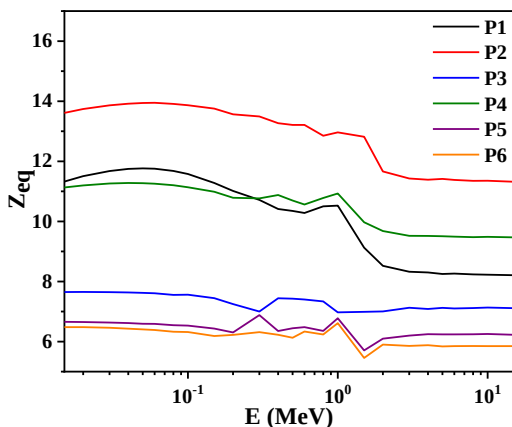


Figure 1 Z_{eq} of samples at energies ranging of 15 keV-15 MeV.

Figure 1 shows Z_{eq} for samples with energies in the range 15 keV to 15 MeV and up

to 40 deep penetration mean free path (mfp). It was found that polyvinyl chloride (PVC), P2, possesses highest Z_{eq} values. The graphs were not smooth because of K- edge absorption of Ca (4.04×10^{-3} MeV), Cl (2.82×10^{-3} MeV) and Si (1.84×10^{-3} MeV) and content of composition elements in samples as shown in Table 1.

The EABF and EBF for plastics and polymers samples with energies at fixed deep penetration are shown in Figure 2 and 3. From the figures, it can be separated into three energy regions: photoelectric absorption (PE), Compton scattering (C) and pair production (PP), respectively, as main interactions (3). PE is main interaction at low energies ranging, and BF of samples have small value in this energy ranging. While C is main interaction at intermediate energies ranging, EABF and EBF values increase rapidly with increasing photon energies for all samples. After that, EABF and EBF values decrease which PP is main process at high energies ranging. This figure presents that EABF and EBF maximum value were dependent on deep penetration and composition of plastics and polymers materials. EABF and EBF values increase until they reach maximum value and then decrease with increasing energies. That can be discussed on fundamental of partial interaction processes. At low energies ranging, EABF and EBF values are lowest because of photons were absorbed at high energy. At intermediate ranging, EBF and EABF values were largest because of photons were degraded by scattering in medium. The highest EABF and EBF values were observed at 40 mfp, deep penetration while the lowest values were shown at 1 mfp. At high energy ranging, photons were absorbed again. The sharp peak of EABF and EBF at high energy and deep penetration were occurred because of electron-positron annihilation in material and then produced

secondary photons. In really, increasing of deep penetration for medium leading to increase thickness of interacting medium as according to high equivalent atomic number as shown in Figure 1. The graphs were not continuous

because of K- edge absorption of Ca (4.04×10^{-3} MeV), Cl (2.82×10^{-3} MeV) and Si (1.84×10^{-3} MeV).

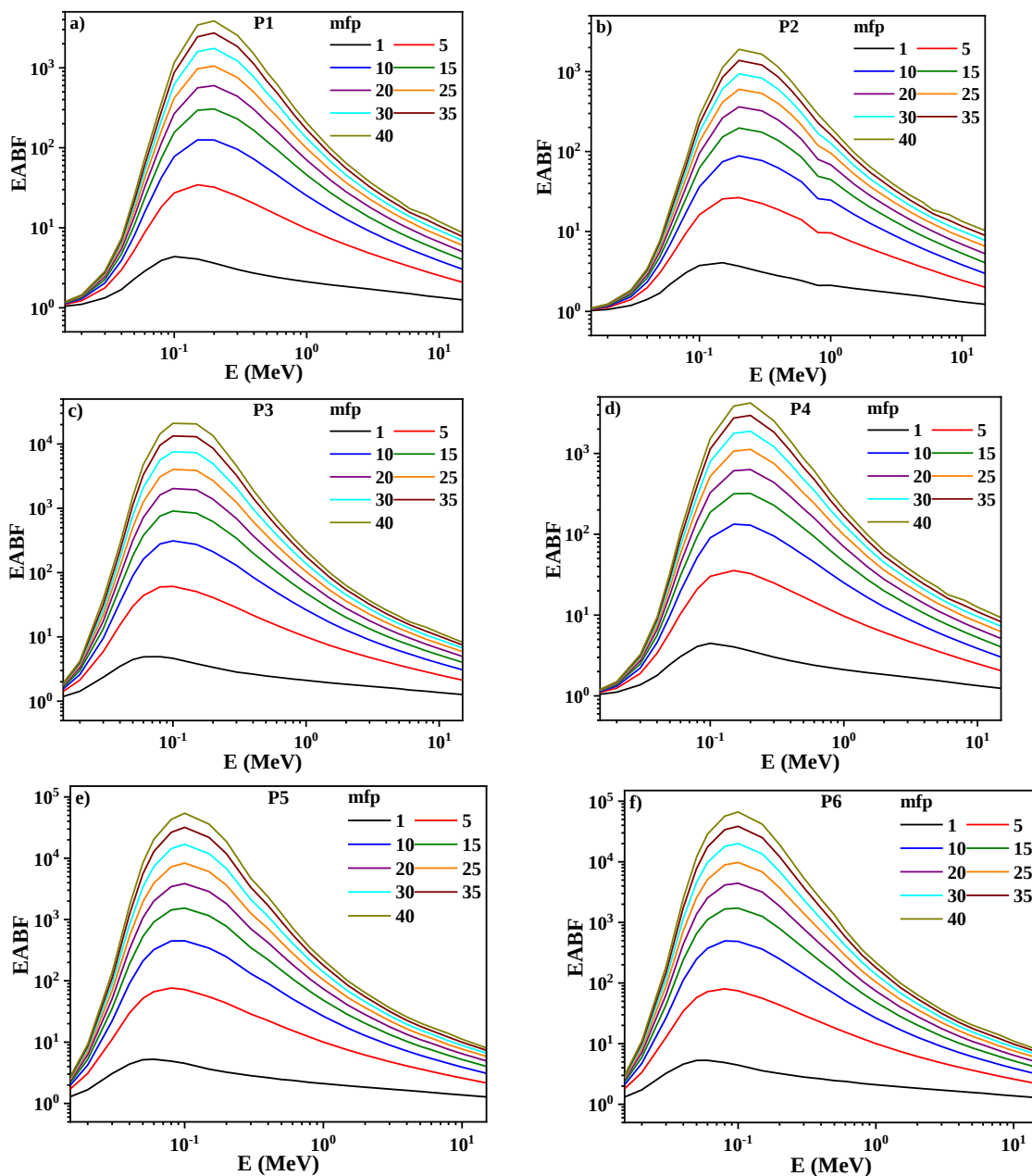


Figure 2 (a-f). EABF at energies ranging 0.015–15 MeV up to 40 mfp for samples.

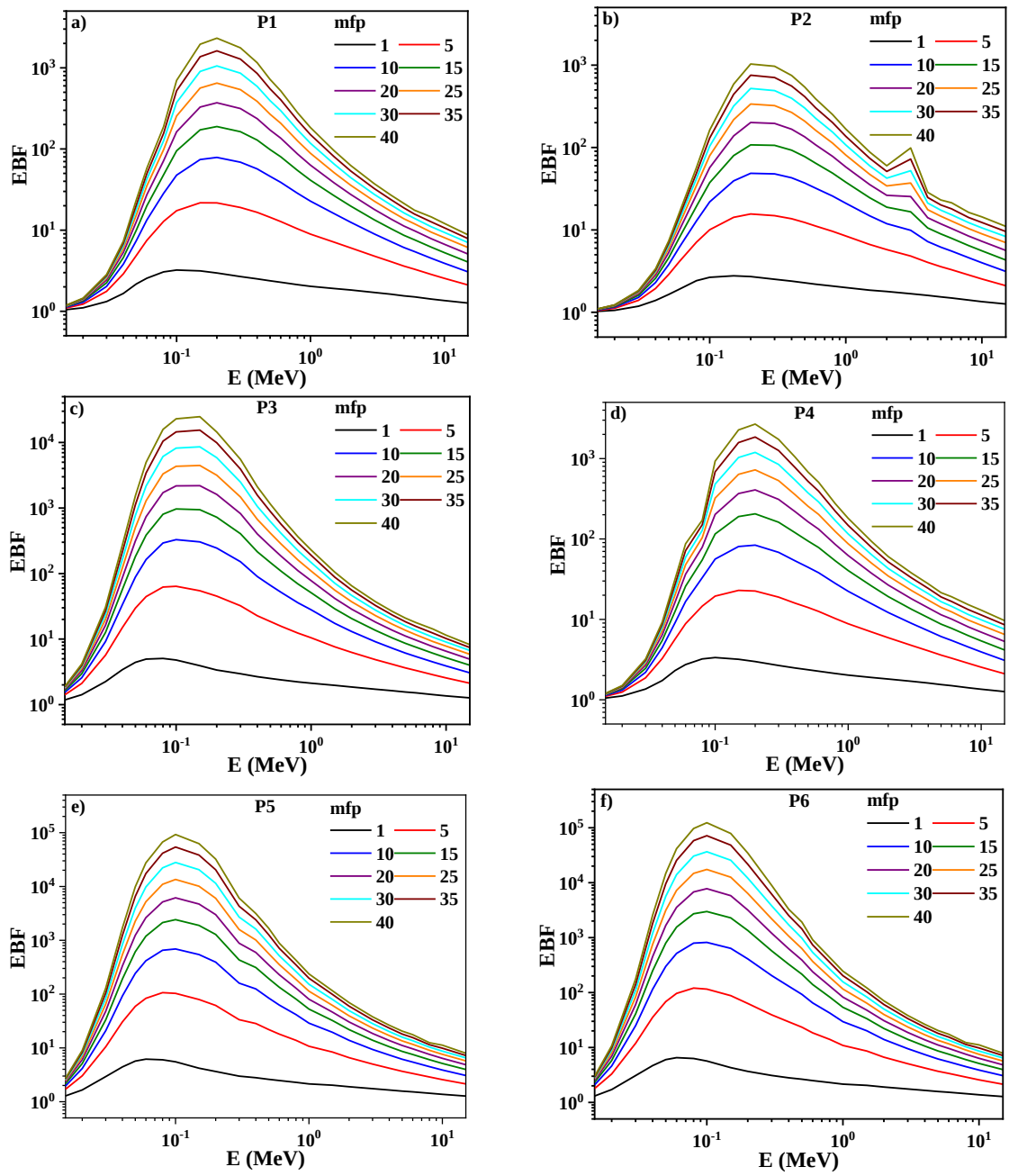


Figure 3 (a-f). EBF at energies ranging 0.015–15 MeV up to 40 mfp for samples.

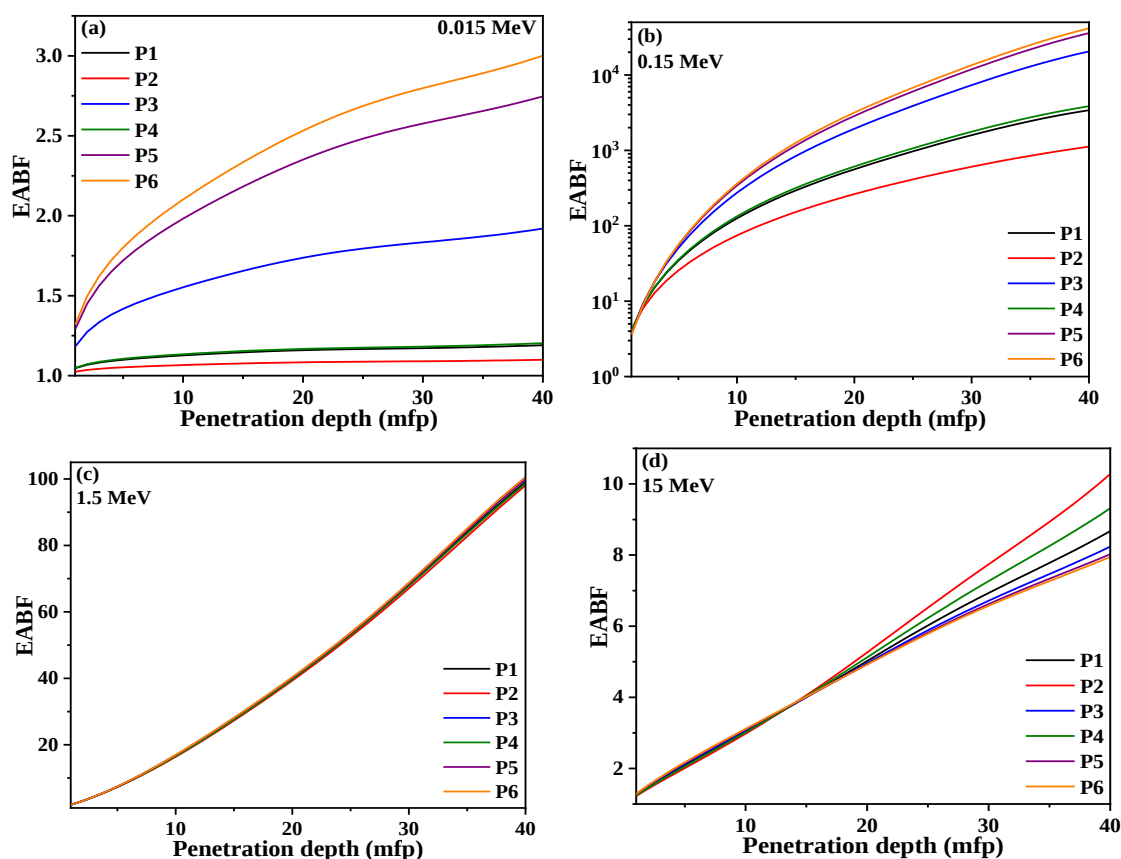


Figure 4 (a-d). EABF of samples at 0.015, 0.15, 1.5, 15 MeV up to 40 mfp.

EABF and EBF with deep penetration

EABF and EBF values of samples with deep penetration are shown in Figures 4 and 5 (a-d), respectively, at energies (0.015, 0.15, 1.5 and 15 MeV). From these figures, EABF and EBF values increase with increasing deep penetration. At 0.015, 0.15 and 1.5 MeV, EABF and EBF values of all samples varies directly with Z_{eq} and the lowest values of EABF and EBF are P2 sample. At energy 15 MeV, P6 showed highest EABF and EBF values that because of pair/triplet interaction of samples produced electron/positron pair. The rest of positrons were annihilated by electron and

generate two secondary photons at energy 0.511 MeV. Photons probability for escape through higher thickness of samples were increased, resulting in larger EABF and EBF values. Finally, the excellent radiation shielding medium, low values of buildup factors were desired.

Fast neutron removal cross-section (Σ_R)

The fast neutron removal cross-section Σ_R (cm^{-1}) value of plastics and polymers are exhibited in Figure 6. It was found that Σ_R (cm^{-1}) of radio chromic dye film (nylon base), P4, was highest. Therefore, P4 is the best neutron shielding compared with other samples.

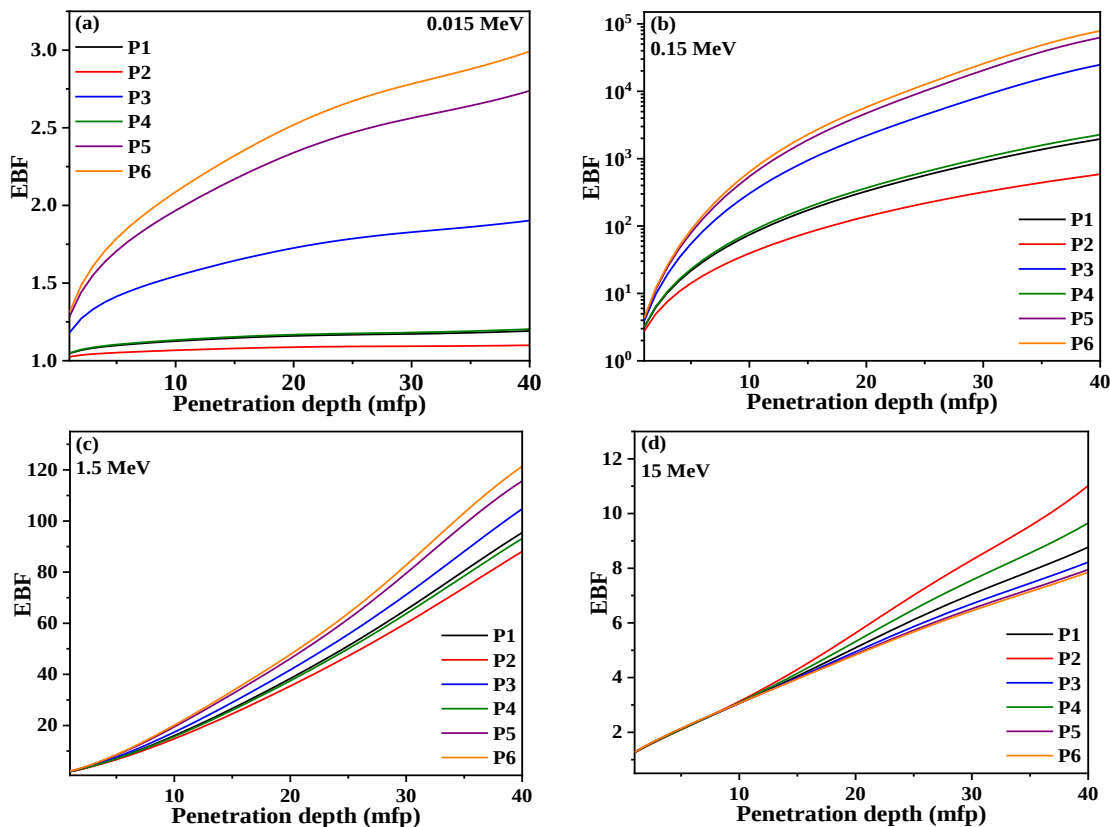


Figure 5 (a-d). EBF for samples at 0.015, 0.15, 1.5, 15 MeV up to 40 mfp.

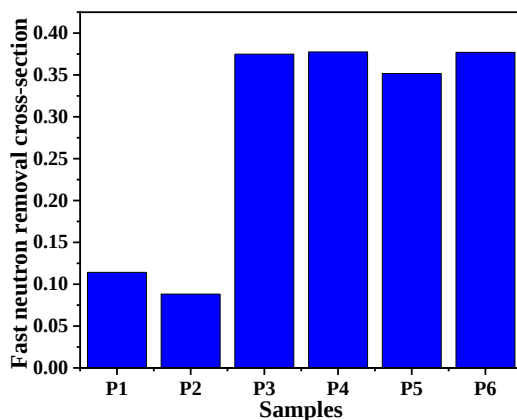


Figure 6 The effective removal cross sections for fast neutrons (Σ_R) for all samples.

CONCLUSION

From the present study, EABF and EBF values of plastic and polymer samples are maximum values at intermediate energies ranging, where Compton scattering is main interaction. Z_{eq}

for polymethyl methacrylate (PMMA: P6) has lowest values whereas EABF and EBF values have maximum, while polyvinyl chloride (PVC: P2) has highest Z_{eq} values whereas lowest for EABF and EBF values. The results exhibited that polyvinyl chloride (PVC: P2) has more shielding effectiveness

for radiation material. Finally, for neutron shielding, polymethyl methacrylate (PMMA: P6) has more shielding effectiveness.

ACKNOWLEDGEMENT

In this study, the authors would like to thank Phetchaburi Rajabhat University for its support instrument.

REFERENCES

1. Vishwanath PS, Badiger NM, Chanthima N, Kaewkhao J. Evaluation of gamma-ray exposure buildup factors and neutron shielding for bismuth borosilicate glasses. *Radiat Phys Chem.* 2014;98:14-21.
2. Gurler O, Tarim UA. Determination of Radiation Shielding Properties of Some Polymer and Plastic Materials against Gamma-Rays. *Acta Phys Pol A.* 2016;130:236-8.
3. Agar O, Kavaz E, Altunsoy EE, Kilicoglu O, Tekin HO, Sayyed MI, et al. Er_2O_3 effects on photon and neutron shielding properties of $\text{TeO}_2\text{-Li}_2\text{O-ZnO-Nb}_2\text{O}_5$ glass system. *Results Phys.* 2019;13:102277.
4. Kaur P, Devinder S, Tejbir S. Gamma rays shielding and sensing application of some rare earth doped lead-alumino-phosphate glasses. *Radiat Phys Chem.* 2018;144:336-43.
5. Issa SAM, Sayyed MI, Zaid MHM, Matori KA. A comprehensive study on gamma rays and fast neutron sensing properties of GAGOC and CMO scintillators for shielding radiation applications. *J Spectrosc.* 2017;9792816:1-9.
6. Tekin HO, Altunsoy EE, Kavaz E, Sayyed MI, Agar O, Kamislioglu M. Photon and neutron shielding performance of boron phosphate glasses for diagnostic radiology facilities. *Results Phys.* 2019;12:1457-64.
7. Vishwanath PS, Badiger NM. Gamma ray and neutron shielding properties of some alloy materials. *Ann Nucl Energy.* 2014;64:301-10.
8. Kadhim LF. Mechanical properties of high-density polyethylene/chromium trioxide under ultraviolet rays. *International Journal of Applied Engineering Research.* 2017;12(10):2517-26.
9. Mahmoud ME, El-Sharkawy RM, Allam EA, Elsaman R, El-Taher A. Fabrication and characterization of phosphotungstic acid - Copper oxide nanoparticles - Plastic waste nanocomposites for enhanced radiation-shielding. *J Alloy Compd.* 2019;803:768-77.
10. Mahmoud KA, Lacomme E, Sayyed MI, Ozpolat OF, Tashlykov OL. Investigation of the gamma ray shielding properties for polyvinyl chloride reinforced with chalcocite and hematite minerals. *Heliyon.* 2020;6:e03560.
11. Labouriau A, Robison T, Shonrock C, Simmonds S, Cox B, Pacheco A, et al. Boron filled siloxane polymers for radiation shielding. *Radiat Phys Chem.* 2018;144:288-94.
12. Sayyed MI, AlZaatreh MY, Matori KA, Sidek HAA, Zaid MHM. Comprehensive study on estimation of gamma-ray exposure buildup factors for smart polymers as a potent application in nuclear industries. *Results Phys.* 2018;9:585-92.
13. Şakar E. Determination of photon-shielding features and build-up factors of nickel-silver alloys. *Radiat Phys Chem.* 2020;172:108778.
14. Tekin HO, Kilicoglu O, Kavaz E, Altunsoy EE, Almatari M, Agar O, et al. The investigation of gamma-ray and neutron shielding parameters of $\text{Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ bioactive glasses using MCNPX code. *Results Phys.* 2019;12:1797-804.

15. Sayyed MI, Elhouichet H. Variation of energy absorption and exposure buildup factors with incident photon energy and penetration depth for boro-tellurite (B_2O_3 - TeO_2) glasses. *Radiat Phys Chem.* 2017;130:335-42
16. Dong MG, Sayyed MI, Lakshminarayana G, Ersundud MÇ, Ersundu AE, Nayare P, et al. Investigation of gamma radiation shielding properties of lithium zinc bismuth borate glasses using XCOM program and MCNP5 code. *J Non-Cryst Solids.* 2017;468:12-6.
17. Oto B, Yıldız N, Korkutb T, Kavazc E. Neutron shielding qualities and gamma ray buildup factors of concretes containing limonite ore. *Nucl Eng Des.* 2015;293:166-75
18. Da C, Ge Y, Mohamed B, Dan M. Gamma radiation shielding properties of poly (methyl methacrylate) / Bi_2O_3 composites. *Nucl Eng Technol.* 2020;52: 2613-19.
19. Ahmed SO. Development of high-performance heavy density concrete using different aggregates for gamma-ray shielding. *Prog Nucl Energ.* 2015;79:48-55.



Cytogenetics of Black-bearded Tomb bat (*Taphozous melanopogon*) by Conventional staining, Ag-NOR staining and Fluorescence in situ hybridization Techniques

Sucheela Talumphai^{1*}, Sutheemon Techa-ay², Sukhonthip Ditcharoen² and Alongkload Tanomthong²

¹Faculty of Liberal Arts and Science, Department of Science and Technology, Roi Et Rajabhat University, Roi Et 45120, THAILAND

²Department of Major Biology, Faculty of Science, Khonkhaen University, Khon Kaen 40002, THAILAND

*Corresponding author e-mail: aor_sucheela@hotmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 19 April, 2021

Revised: 21 May, 2021

Accepted: 29 July, 2021

Available online: 27 September, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.6

Keywords: Black-bearded Tomb bat, Chromosome, Cytogenetics, Karyotype

Black-bearded Tomb bat is classified as the genus of *Taphozous* and has a very similar morphology. The knowledge can provide cytogenetic information potentially useful to support on taxonomic classification. Five males and six females were collected from Mahasarakam province and Khon Kaen university, Khon Kaen province. The 20% Giemsa's and 50% silver nitrate solution, respectively were applied to stain the chromosomes. Chromosomes were prepared from bone marrow tissue. The chromosomes harvesting was investigated by hypotonic-fixation-air drying technique. Giemsa's staining, Ag-NOR staining and fluorescence in situ hybridization (FISH) staining techniques, as well as microsatellites (GC)₁₅ and (CGG)₁₀ as probes were applied. The karyotype, idiogram, position of NORs and microsatellites were performed in the present study. The results show that the diploid chromosomes number was $2n = 42$ and the fundamental number (NF) were 74 chromosomes in both female and male of *T. melanopogon*. The autosomes consisting of 8 large metacentric, 8 medium metacentric, 2 medium submetacentric, 2 medium acrocentric, 2 small metacentric, 4 small

submetacentric, 4 small acrocentric and 10 small telocentric chromosomes. The sex determination is XY, X chromosome is medium metacentric chromosomes and Y chromosome is small submetacentric chromosomes. NOR sites appeared to telomere of the short arm of the chromosome pairs 15 small acrocentric type and chromosome pairs 20 small telocentric type. The pattern of both microsatellite (GC)₁₅ and (CGG)₁₀ repeats were distributed throughout the genome as well as to all chromosomes. Karyotype formula described as $2n (42) = L^m_8 + M^m_8 + M^{sm}_2 + M^a_2 + S^m_2 + S^{sm}_4 + S^a_4 + S^t_{10} + \text{Sex Chromosome}$.

INTRODUCTION

Black-bearded Tomb bat is a common bat in Thailand. Belongs to the family Emballonuridae. There are 14 species of taphozous. it can be found in 4 species in Thailand, black-bearded tomb bat (*Tasphozous melanopogon*), long-winged tomb bat (*T. longimanus*), large-winged bat (*T. theobaldi*), naked-rumped pouched bat (*T. saccolaimus*) (1). Studies have shown that bats in this genus have the number of diploid chromosomes is between 42 and 44 rods ($2n = 42 - 44$) (2). It is estimated that the black-bearded tomb bat has similar numbers of diploids to another bat of the same genus. Karyological analysis were studied of the lesser Asiatic house bat (*Scotophilus kuhlii*) from Thailand. The results showed that the fundamental number (NF) was 52 in both male and female and the diploid chromosome number of *S. kuhlii* was $2n=36$ (3). Chromosome analysis and morphometrics of the intermediate roundleaf bat (*Hipposideros larvatus*) from Northeast Thailand were studied. The results showed that

the diploid chromosome number of *H. larvatus* was $2n=32$, and the fundamental number as 66 in both males and females (4). The karyotype was studied of *M. horsfieldii* was $2n= 44$ from Thailand. The results showed that the diploid chromosome number of *S. kuhlii* was $2n= 36$, and the fundamental number was 52 in both male and female. (5). The number of diploids was 42 rods ($2n = 42$). The karyotype were studied of *Taphozous nudiventris*, which the source of the sample is in the region of Turkey. (6). The Karyology was studied of Ten Vespertilionid Bats (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwan. The result showed three *Myotis* species (*M. formosus watasei*, *M. latirostris*, and *M. taiwanensis*) have the standard *Myotis* karyotype of $2n = 44$ with FN = 50 (7). Cytogenetics is the study of genetics through cytological methods and genetics. structure, number, function, behavior and variation of chromosomes. These properties that affect the expression of the gene (8). Studying cytogenetics brings benefits in areas such as in medicine, it is used to diagnose genetic diseases.

The evolution of organisms from the cellular change. This is because the study and comparison of karyotypes are important in the study of phylogenetic closeness and Taxonomy to classify certain organisms (9). Karyotype were studied of three Lonchophylla species (Chiroptera, Phyllostomidae) from Southeastern Brazil. All three species showed the same diploid number $2n = 28$ and an autosomal fundamental number $FNa = 50$ (9). Conventional staining technique has been used to determine chromosome number and karyotype composition. Structure, number, type, size, and morphology of a nucleolar organizer region (NOR) may be specific to populations, species, and subspecies. NOR staining is frequently used to compare variations, as well as to identify and explain specifications (10). Molecular cytogenetic experiments have demonstrated that NORs are the chromosomal site of gene coding for 5.8S, 18S, and 28S rRNA, in humans and several mammalian species. NORs can be used as markers for evolutionary chromosome studies (10). Recently, molecular cytogenetic studies using fluorescence in situ hybridization (FISH) for mapping repetitive DNA sequences have provided important contributions to the characterization of biodiversity and the evolution of divergent fish groups (11). However, conventional cytogenetic and fluorescence in situ hybridization technique is the conduction of DNA probes binds to target DNA on Black-bearded Tomb bat have not yet been performed. Black-bearded Tomb bat is classified as the genus of Taphozous and has a very similar morphology. Accordingly, the present study is the cytogenetic

report on *Tasphozous melanopogon* of Thailand and accomplished with both classical and molecular cytogenetics. It is therefore the source for the study of the cytogenetics of the Black-bearded Tomb bat (*T. melanopogon*) by Giemsa's staining, Ag-NOR staining and fluorescence in situ hybridization techniques, which results from a study of genetics. The cellular level of the Black-bearded tomb bat will give us more detailed insight into the chromosome level as a supporting material for further identification of bat species.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection

Five males and six females of Black-bearded Tomb Bat were collected from Maharakam province and Khon Kaen university, Khon Kaen province.

Chromosome preparation, Giemsa's staining and AgNORs banding technique

Metaphase chromosomes were directly prepared in vivo as following (8) and (9). Subsequently, chromosomes were stained with 20% Giemsa solution and 50 % silver nitrate for Ag-NOR banding (12).

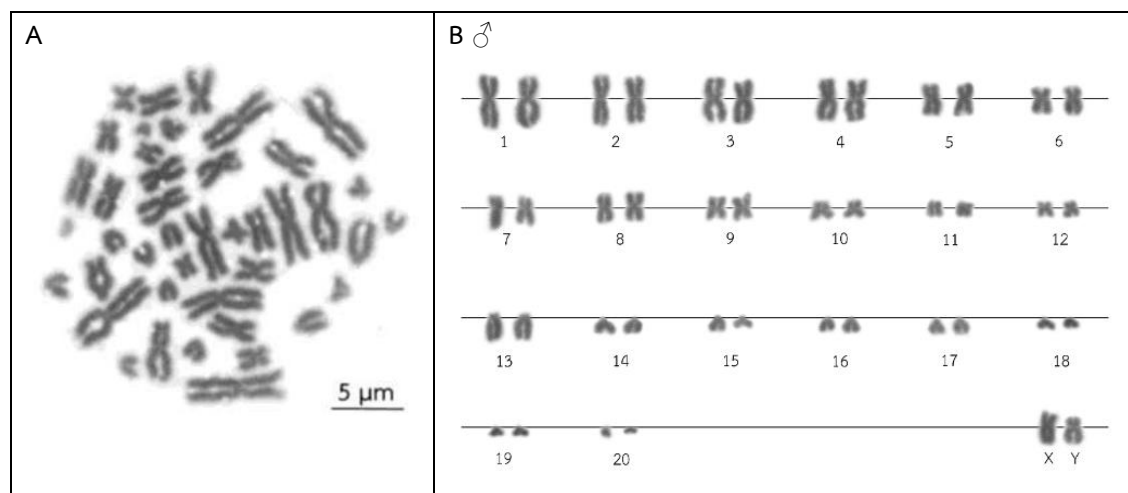
Chromosome checking

Chromosome counting was performed on mitotic metaphase cells under light microscope. Twenty cells each of male and female with clearly observable and well-spread chromosomes were selected and photographed. The length of short arm (Ls) and the length of

long arm of chromosome (Ll) were measured to calculate the length of total arm chromosome (LT, $LT = Ls + Ll$). The relative length (RL), the centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL, CI were also computed to classify the types and size of chromosomes according to (13). All parameters were used in karyotyping and ideogram according to (12), and (13). The CI ($q/p + q$) between 0.50-0.59, 0.60-0.69, 0.70-0.89, and 0.90-1.00 are described as metacentric (m), submetacentric (sm), acrocentric (a), and telocentric (t) chromosomes, respectively. The fundamental number (NF) was obtained by assigning a value of 2 to the m, sm and a chromosome and 1 to the t chromosome. All data were used in karyotyping and diagramming (14)

Fluorescence in situ hybridization (FISH) with $d(GC)_{15}$, and $d(CG)_{10}$ probes

FISH was performed on metaphase chromosome spreads with specific probes (15). Both rDNA probes were directly labeled with the Nick-translation Labeling Kit (Jena Bioscience, Jena, Germany), using the fluorescent labels Atto488 (18S rDNA) and Atto550 (5S rDNA), according to the manufacturer's manual (16). The usage of microsatellites $d(GC)_{15}$, and $d(CG)_{10}$ probes described by (12) was followed with slight modifications. Sequences were directly labeled with Cy3 at 5' terminals during synthesis by Sigma (St. Louis, MO, USA). FISH was performed on mitotic chromosome spreads (17) under highly stringent conditions, as previously reported (18).



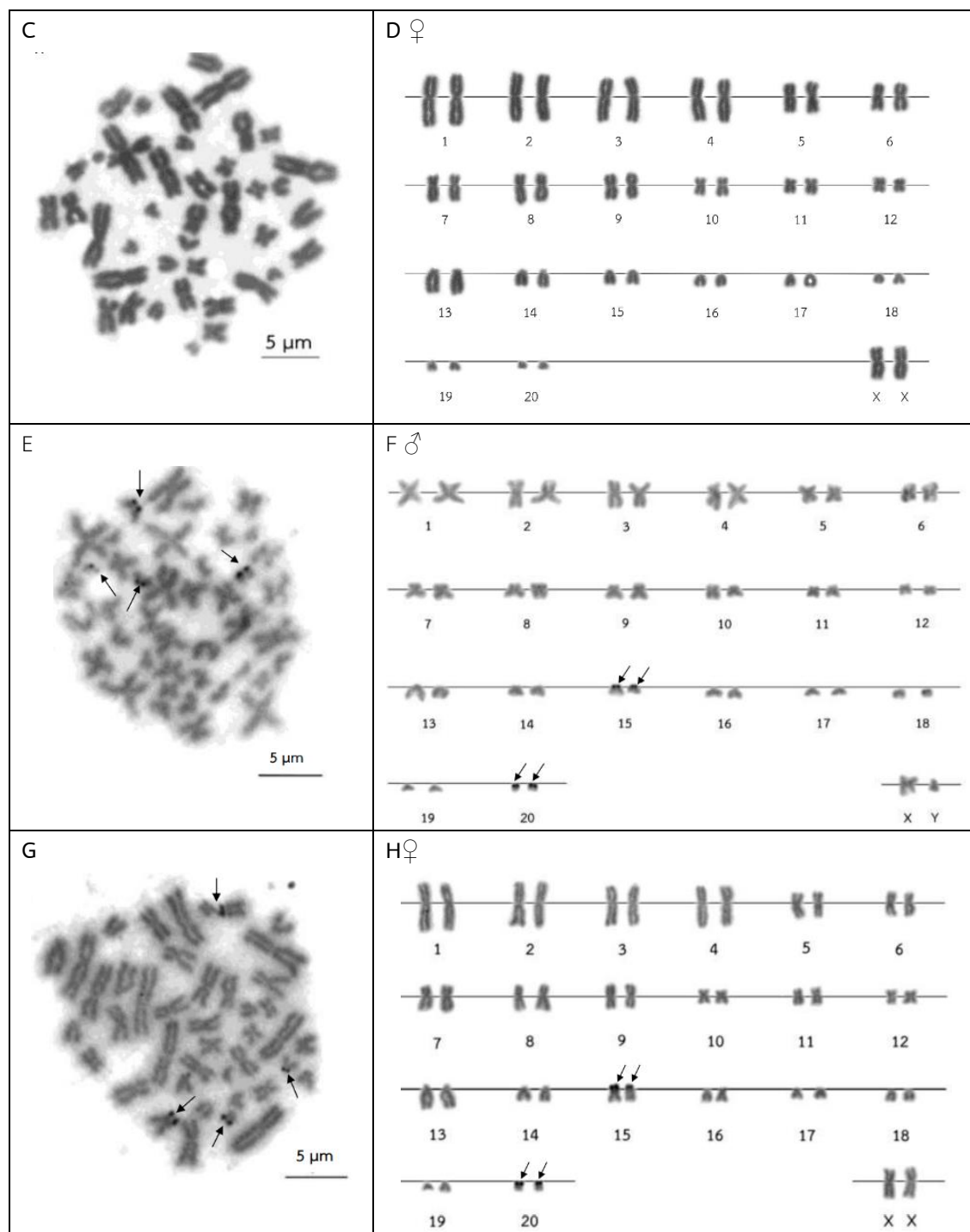
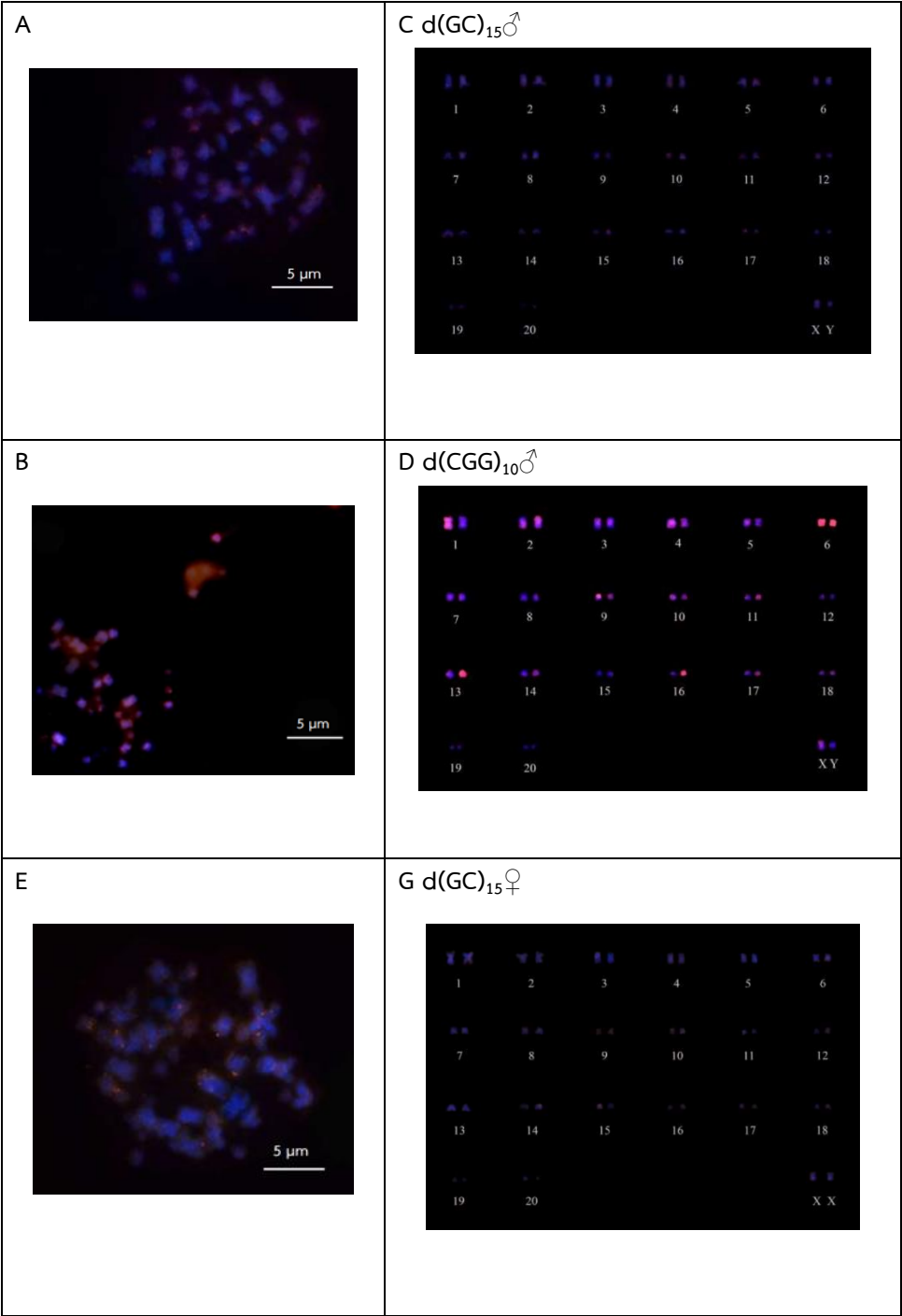


Figure 1 The metaphase and karyotypes chromosomes of the Black-bearded Tomb Bat (*T. melanopogon*) 2n=42, male (A-B and E-F) and female (C-D and G-H) with conventional chromosome staining and Ag-NOR staining banding technique (E-H). Bars indicate 5 μm.



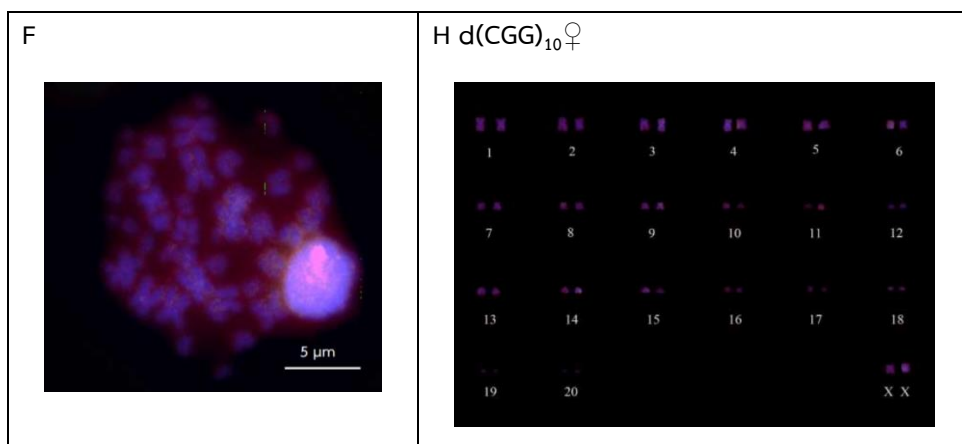
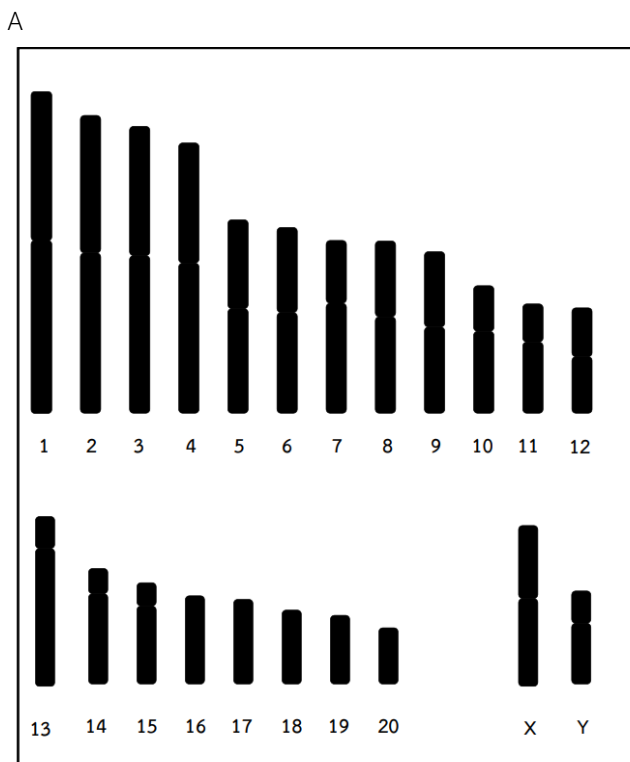


Figure 2 Metaphase chromosome and karyotypes of male (A-D) and female (E-H), Black-bearded Tomb Bat (*T. melanopogon*), $2n=42$. Fluorescence in situ hybridization (FISH) with $d(CA)_{15}$ probe of male (C) and female (G), FISH with $d(CGG)_{10}$ of male (D) and female (H). Bars indicate 5 μm . The arrows indicate probe signals.



B

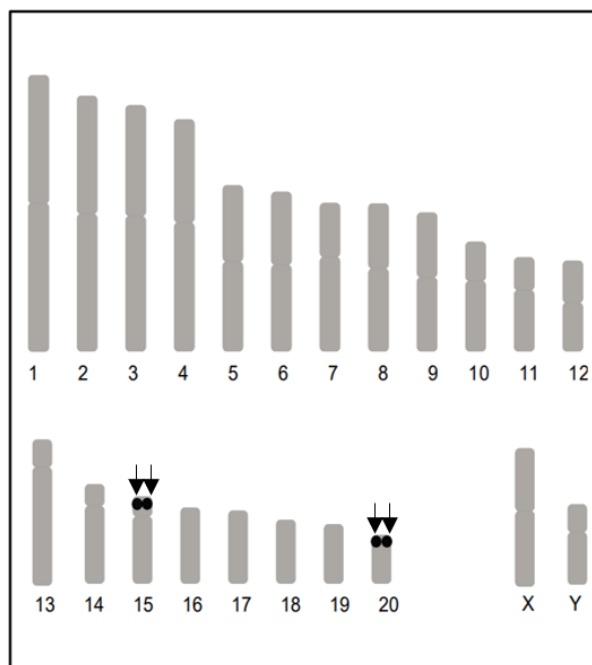


Figure 3 Standard idiograms of the Black-bearded Tomb Bat (*T. melanopogon*, $2n = 42$) from conventional chromosome staining (A) and Ag-NOR staining banding (B) techniques.

Table 1 Cytogenetics review in the genus *Taphozous*

Species	2n	NF	Karyotype	Sex system	Locality	Reference
<i>Taphozous melanopogon</i>	42	64	18m + 6sm + 16t	X(m)/Y(a)	India	Ray-Chaudihuri et al. (1971)
<i>T. longimanus</i>	42	64	18m + 8sm + 16t	X(sm)/Y(a)	India	Ray-Chaudihuri et al. (1971)
<i>T. theobaldi</i>	42	64	24msm + 16t	X(m)/Y(sm)	Thailand	Harada et al. (1982)
<i>T. melanopogon</i>	42	62	16m + 6sm + 2a + 14t	X(m)/Y(sm)	Thailand	Narumon et al. (2012)
<i>T. nudiventris</i>	42	64	18m + 6sm + 16t	X(m)/Y(a)	Turkey	Asan et al. (2007)
<i>T. nudiventris</i>	42	66	10m + 12sm + 4a + 14t	X(sm)/Y(t)	Egypt	Attia et al. (2007)
<i>T. nudiventris</i>	42	64	18m + 6sm + 16t	X(m)/Y(a)	Turkey	Asan and Albatrak (2007)

Species	2n	NF	Karyotype	Sex system	Locality	Reference
<i>T. melanopogon</i>	42	64	24msm + 16t	X(sm)/Y	Philippines	Rickart et al. (1999)
<i>T. nudiventris</i>	42	64	24msm + 16t	X(msm)/Y(a)	Turkey	Arsalan and Zima (2014)

Remarks: 2n = diploid chromosome number NF = base chromosome number m = metacentric chromosome
sm = submetacentric chromosome a = acrocentric chromosome and t = telocentric chromosome

Table 2 Means of the short arm length (Ls), long arm length (LL) and total arm length of chromosomes (LT), relative length (RL), centromeric index (CI) and standard deviation (SD) of RL, CI of 20 metaphase cells of the male and female (Black-bearded Tomb Bat), 2n=42

Chro. Pair	LS	LL	LT	RL±SD	CI±SD	Chro. Size	Chro. Type
1	2.920	3.387	6.307	0.0953±0.004	0.537±0.021	Large	Metacentric
2	2.699	3.144	5.843	0.088±0.004	0.537±0.019	Large	Metacentric
3	2.536	3.092	5.628	0.085±0.005	0.548±0.025	Large	Metacentric
4	2.358	2.945	5.303	0.08±0.005	0.554±0.027	Large	Metacentric
5	1.744	2.052	3.796	0.057±0.003	0.540±0.026	Medium	Metacentric
6	1.670	1.975	3.645	0.055±0.002	10.542±0.017	medium	metacentric
7	1.231	2.158	3.390	0.051±0.004	0.638±0.030	medium	submetacentric
8	1.487	1.892	3.379	0.05±0.003	0.558±0.029	medium	metacentric
9	1.479	1.691	3.170	0.048±0.003	0.534±0.019	medium	metacentric
10	0.896	1.606	2.502	0.038±0.004	0.643±0.026	small	submetacentric
11	0.748	1.397	2.145	0.032±0.002	00.653±0.036	small	submetacentric
12	0.958	1.109	2.067	0.031±0.003	0.535±0.024	small	metacentric
13	0.628	2.706	3.333	0.05±0.003	0.811±0.020	medium	acrocentric
14	0.494	1.774	2.268	0.034±0.003	0.782±0.036	small	acrocentric
15	0.456	1.532	1.988	0.03±0.002	0.770±0.036	small	acrocentric
16	0.000	1.732	1.732	0.026±0.002	1.000±0.000	small	telocentric
17	0.000	1.662	1.662	0.025±0.002	1.000±0.000	small	telocentric
18	0.000	1.451	1.451	0.021±0.002	1.000±0.000	small	telocentric
19	0.000	1.349	1.349	0.02±0.002	1.000±0.000	small	telocentric

Chro. Pair	LS	LL	LT	RL±SD	CL±SD	Chro. Size	Chro. Type
20	0.000	1.104	1.104	0.0167±0.002	1.000±0.000	small	telocentric
X	1.432	1.724	3.156	0.046±0.016	0.543±0.018	medium	metacentric
Y	0.634	1.193	1.826	0.03±0.012	0.651±0.019	small	submetacentric

Remarks: Chro.: Chromosome

RESULTS AND DISCUSSION

Karyotype, diploid number of chromosomes (2n) and fundamental chromosome number (NF) of the Taphozous melanopogon

The results show that the diploid chromosomes number was $2n = 42$ and the fundamental number (NF) were 74 chromosomes in both female and male of *T. melanopogon* in both male and female. Karyotype formula described as. $2n (42) = L^m_8 + M^m_8 + M^{sm}_2 + M^a_2 + S^m_2 + S^{sm}_4 + S^a_4 + S^t_{10} +$ Sex chromosome.

Chromosome type and size of Taphozous melanopogon

The karyotype is composed of 8 large metacentric, 8 medium metacentric, 2 medium submetacentric, 2 medium acrocentric, 2 small metacentric, 4 small submetacentric, 4 small acrocentric and 10 small telocentric chromosomes. The sex determination is XY, X chromosome is medium metacentric chromosomes and Y chromosome is small submetacentric chromosomes (Table 2) (Figure 1).

Chromosome marker of *Taphozous melanopogon*

The determination of a chromosome marker for this species was firstly obtained by Ag-NOR staining. The nucleolar organizer regions (NORs) were determination of a chromosome marker for this species was firstly obtained by Ag-NOR staining. The nucleolar organizer regions were appeared to telomere of the short arm of the chromosome pairs 15 small acrocentric type and chromosome pairs 20 small telocentric type. (Figure 3).

Patterns of microsatellite d(GC)₁₅ and d(CGG)₁₀ repeats in Taphozous melanopogon

The mapping of microsatellite repeats on the chromosomes of *T. melanopogon* showed that (GC)₁₅ and (CGG)₁₀ signals were observed on all chromosome 1, 6 and 13 pairs. (Figure 2. A-H).

Idiograms of Taphozous melanopogon chromosomes

All previous results were summarized, and idiograms presenting shapes, sizes and probe signals on the chromosomes of *T. melanopogon* are shown in Figure 3.

CONCLUSION

The result of black-bearded tomb bat indicated that the karyotype formula described as: $2n (42) = L^m_8 + M^m_8 + M^{sm}_2 + M^a_2 + S^m_2 + S^{sm}_4 + S^a_4 + S^t_{10} + \text{Sex chromosome}$. Diploid number was $2n = 42$ chromosomes and fundamental number was 74 ($NF = 74$) for male and female of *T. melanopogon*. which is consistent with the number of diploid somatic chromosomes and previous studies from (19) and (20). And the results of the study showed that the type of sex chromosome was consistent with the previously study of (21). The number of diploids being studied is found in black-bearded tomb bat, for example in the study of *T. longimanus* chromosomes (22), *T. theobaldi*. (23) and *T. nudiventris* (24). With the corresponding number of diploid chromosomes. It shows that the black-bearded tomb bat does not have a large variety of chromosomes within the genus. While the number of fundamental chromosomes is between 62 and 66, they are not highly variable. Number, type and size of *T. melanopogon* chromosomes, 8 large metacentric, 8 medium metacentric, 2 medium submetacentric, 2 medium acrocentric, 2 small metacentric, 4 small submetacentric, 4 small acrocentric and 10 small telocentric chromosomes. The sex determination is XY, X chromosome is medium metacentric chromosomes and Y chromosome is small submetacentric chromosomes. (Table 1). Which is consistent but there are a number of chromosome types acrocentric more It is also different from previous studies that did not

detect the acrocentric chromosome (24). Chromosome marker of *T. melanopogon*, the determination of a chromosome marker for this species was firstly obtained by Ag-NOR staining. The nucleolar organizer regions (NORs) sites appeared to telomere of the short arm of the chromosome pairs 15 small acrocentric type and chromosome pairs 20 small telocentric type. The pattern of microsatellite (GC)₁₅ and (CGG)₁₀ signals were observed on all chromosome 1, 6 and 13 pairs.

ACKNOWLEDGEMENT

Major Biology, Department of Science and Technology, Faculty of Liberal Arts and Science Roi Et Rajabhat University, Roi Et. and Department of Biology, Faculty of Science, Khonkhaen University, Khon Kaen.

REFERENCES

1. Thongchai N, Kasidis R, Sakarin S, Art-ong P. Biodiversity of bats and small mammals in the secondary forest, RSPG area. Research Results and Research Progress Report; 2015.
2. Sotero- Caio CG, Baker RJ, Volleth M. Chromosomal evolution in Chiroptera. Genes. 2017;8(10):1-25.
3. Praween S, Alongklod T, Sumpars K, Krit P, La-orsri S. Karyological analysis and morphometrics of the Lesser Asiatic House Bat, *Scotophilus kuhlii* (Chiroptera, Vespertilionidae). Cytologia. 2012;77(3):401-11.
4. Praween S, Alongklod T, Sumpars K, Sarawut K, Krit P, La-orsri S. Karyological analysis and

- morphometrics of Horsfield's Bat, *Myotis horsfieldii* (Chiroptera, Vespertilionidae). *Cytologia*. 2013;78(1):15-24.
5. Sitthisak J, Praween S, Alongklod T, Sumpars K, Narumon Pr, Sarawut K. Chromosome analysis and morphometric of Intermediate Roundleaf Bat, *Hipposideros larvatus* (Chiroptera, Hipposideridae) by conventional, GTG-banding and Ag-NOR banding techniques. *Cytologia*. 2014;79(4):445-56.
 6. Asan N, Albayrak I. Some taxonomic features of *Taphozous nudiventris* Cretzschmar, 1830 vel 1831 from Turkey (Chiroptera: Emballonuridae). *Turk J Zool*. 2007;12(31):165-70.
 7. Liang-Kong L, Masaharu M, Masashi H. Karyology of Ten Vespertilionid Bats (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwan. *Zool Stud*. 2002;41(4):347-54.
 8. Schulz- Schaeffe J. Cytogenetics: Plants, Animals, Humans. New York: Springer-Verlag New York Inc.; 1980.
 9. Almeida B, Novaes RLM, Aguiéiras M, Souza RF, Esbérard CEL, Geise L. Karyotype of three *Lonchophylla* species (Chiroptera, Phyllostomidae) from Southeastern Brazil. *Comp Cytogenet*. 2016;10(1):109-15.
 10. Nuntiya M, Weerayuth S, Alongklod T. Chromosomal analysis and Nors polymorphism of *bagarius suchus* (Siluriformes: Sisoridae) by conventional banding and fish techniques. *J Nat Appl Sci*. 2016;2(1):10-9.
 11. Gálvez F, Symonová R, Kovařík A. Evolutionary trends in animal ribosomal DNA loci: Introduction to a new online database. *Chromosoma*. 2018;127:141-50.
 12. Supiwong W, Tanomtong A, Pinthong K, Kaewmad P, Poungnak P, Jangsuwan N. The first chromosomal characteristics of nucleolar organizer regions and karyological analysis of pink anemonefish, *Amphiprion perideraion* (Perciformes, Amphiprioninae). *Cytologia*. 2015;80(3):271-8.
 13. Kasiroek W, Indananda C, Luangoon N, Pinthong K, Supiwong W, Tanomtong A. First chromosome analysis of the Humpback cardinalfish, *Fibramia lateralis* (Perciformes, Apogonidae). *Cytologia*. 2017;82(1):9-15.
 14. Tanomtong A, Supiwong W, Jearanaipreame P, Khakhong S, Kongpironchuen C, Getlekha N. A new natural autotetraploid and chromosomal characteristics of dwarf snakehead fish, *Channa gachua* (Perciformes, Channidae) in Thailand. *Cytologia*. 2014;79(1):15-27.
 15. Turpin R, Lejeune J. Les chromosomes humains. Paris: Gauthier-Pillars; 1965.
 16. Nash WG, O'Brien SJ. A comparative chromosome banding analysis of Ursidae and their relation-ship to other carnivores. *Cytogenet Cell Genet*. 1987;45:206-12.

17. Wada MY, Lim Y, Wurster- Hill DH. Bandedkaryotype of wild- caught male Korean raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides koreensis*. *Genomics*. 1991;34:302-6.
18. Rodrigues DS, Rivera M, Lourenço LB. Molecular organization and chromosomal localization of 5S rDNA in Amazonian *Engystomops* (Anura, Leiuperidae). *BMC Genet*. 2012;13(1):1-13.
19. Koubínová D, Sreepada K, Koubek P, Zima J. Karyotypic variation in rhinolophid and hipposiderid bats (Chiroptera: Rhinolophidae, Hipposideridae). *Acta Chiropt*. 2010;12:393–400.
20. Seim I, Fang X, Xiong Z, Lobanov AV, Huang Z, Ma S, et al. Genome analysis reveals insights into physiology and longevity of the Brandt's bat *Myotis brandtii*. *Nat Commun*. 2013;4:1–8
21. Rickart AE, Mercier AJ, Heaney RL. Cytogeography of philippine bat (Mammalia: Chrioptera). *Biological society of Washington*. 1999;112(3):453-69.
22. Asan N, Albayrak I. Some taxonomic features of *taphozous nudiventris cretzenschmar*, 1830 vel 1831 from Turkey (Chiroptera: Emballonuridae). *Turk J Zool*. 2007;12(31):165-70.
23. Harada M, Minezawa M, Takada S, Yenbutra S, Nunpakdee P, Ohtani S. Karyological analysis of 12 species of bats from Thailand. *Caryologia*. 1982;352:269-78.
24. Sotero- Caio CG, Baker RJ, Volleth M. Chromosomal Evolution in Chiroptera. *Genes*. 2017;8(10):1-25.
25. Ray-Chaudhuri SP, Pathak S, Sharma T. Karyotypes of five Indian species of microchiroptera. *Caryologia*. 1971;24(2): 239-45.
26. Arsalan A, Zima J. Karyotypes of the mammals of Turkey and neighbouring regions: A review. *Folia Zool*. 2014;63(1):1–62.



การศึกษาพฤติกรรมการถ่ายเทความร้อนระหว่างปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน

Study of Heat Transfer Throughout the Inverse Temperature Phenomena

นาวพล ไตรพันธุ์วนิช สมศักดิ์ วงษ์ประดับไชย และ ผดุงศักดิ์ รัตนเดโช*

Navaphon Traiphunvanich, Somsak Vongpradubchai and Phadungsak Rattanadecho*

ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จังหวัดปทุมธานี 12110

Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Thammasat University (Rangsit Campus), Pathumthani 12120, THAILAND

*Corresponding author e-mail: ratphadu@engr.tu.ac.th

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 26 March, 2020

Revised: 24 May, 2021

Accepted: 15 June, 2021

Available online: 27 September, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.7

Keywords: heat transfer, the temperature inversion phenomenon, concentration diffusion

This research aimed to study the behavior of heat transfer. And heat in the inverse temperature phenomenon in which the problem of pollution and there are various toxins mixed in the air that are created by humans and nature. Because humans need to breathe. And unable to separate toxins from the air Thus making the process of breathing automatically bring toxins into the body Therefore, this research is to study computer simulations to study heat transfer. And heat during inverse temperature phenomena. To study and explain the models, behavior, diffusion, concentration of toxic substances that are affected by variables in the equation such as temperature, convection temperature. Flow velocity and the concentration of toxic substances. By using a model and analyzed with four basic equations: 1. Equation of continuity 2. Momentum equation 3. Energy conservation equation 4. Diffusion equation of substance concentration Using a computer program numerical solution based on finite element methodology. From the study, it is found that the air temperature in high altitude areas. This is an important variable indicating the effect of toxic substance concentration distribution. Therefore, the

concentration of toxic substances in the second case and the second case is the second level. In this study, the results showed that the concentrations of toxic substances were lower, so new fish were more likely to be contaminated. The results of this study can explain the two phenomena. Case study of inversion of 1 layer by temperature, the results show that the accumulation of sulfur dioxide is less than two opposite temperatures.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพฤติกรรมการถ่ายเทความร้อนในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน โดยในปัญหาการเกิดมลพิษ และมีสารพิษต่างผสมปนอยู่ในอากาศที่มาจากมนุษย์ และธรรมชาติ ในกระบวนการหายใจของมนุษย์นำสารพิษเข้าสู่ร่างกายโดยอัตโนมัติ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการจำลองทางคอมพิวเตอร์เพื่อศึกษาการถ่ายเทความร้อนระหว่างปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน เพื่อต้องการศึกษาและอธิบายในรูปแบบพฤติกรรม การแพร่กระจายความเข้มข้นของสารพิษที่มีผลกระทบมาจากตัวแปร ในสมการ เช่น อุณหภูมิ อุณหภูมิของการพาความร้อน ความเร็วของการไหล และปริมาณความเข้มข้นของสารพิษ โดยการใช้แบบจำลอง และวิเคราะห์ด้วยสมการพื้นฐาน 1. สมการความต่อเนื่อง 2. สมการโมเมนตัม 3. สมการอนุรักษ์พลังงาน 4. สมการการแพร่กระจายของความเข้มข้นของสาร โดยใช้วิธีการแก้ปัญหาเชิงตัวเลขด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่อยู่บนพื้นฐานของระเบียบวิธีไฟไนต์เอลิเมนต์ จากการศึกษาพบว่า อุณหภูมิของอากาศที่ตำแหน่งความสูงต่าง ๆ เป็นตัวแปรสำคัญที่บอกถึงผลกระทบต่อการแพร่กระจายความเข้มข้นของสารพิษ กรณีที่ 1) อุณหภูมิผกผัน 1 ชั้น ส่งผลให้ความเข้มข้นในระบบของสารละลายสารพิษได้ดีกว่าในกรณีที่ 2 และถ้าในกรณีที่ 2) อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้น มีจำนวนชั้นผกผัน 2 ชั้น ส่งผลให้ความเข้มข้นในระบบของสารละลายสารพิษได้น้อยกว่า ดังนั้นสารพิษจึงถูกสะสมในแบบจำลองมากกว่า จากผลของการศึกษาสามารถนำมาอธิบายสาเหตุปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่เกิดขึ้นได้ทั้ง 2 กรณีโดยการเกิด

ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 1 ชั้น มีจำนวนชั้นผกผัน 1 ชั้นทำให้มีการสะสมของซัลเฟอร์ไดออกไซด์น้อยกว่าในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้น

คำสำคัญ: การถ่ายเทความร้อน ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน การแพร่กระจายความเข้มข้น

บทนำ

ตั้งแต่อดีตมาจนถึงปัจจุบันปัญหาสภาพแวดล้อมเป็นปัญหาที่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม โดยปัญหาทางมลพิษทางอากาศเป็นผลมาจากการกระทำของมนุษย์หรือเกิดจากปรากฏการณ์ทางธรรมชาติ หากพูดถึงการกระทำของมนุษย์สามารถสร้างมลพิษทางอากาศได้มาจากการใช้เครื่องยนต์ที่มีการสันดาปต่าง ๆ ที่เกิดการเผาไหม้ โดยจะปล่อยสารคาร์บอนมอนอกไซด์ ไฮโดรคาร์บอน สารตะกั่วในน้ำมัน ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งสารพวกนี้เป็นส่วนประกอบของ PM2.5 และมีผลกระทบต่อมนุษย์ในส่วนของการปรากฏการณ์ทางธรรมชาติ นั้นก็สามารถสร้างมลพิษทางอากาศและเป็นตัวการกักเก็บฝุ่นละอองหรือมลพิษ และยังมีที่มาจากเกิดการกักเก็บฝุ่นละอองหรือมลพิษสามารถแบ่งเป็น 4 แบบ ได้ดังนี้ 1. การผกผันของการแผ่รังสีในช่วงเช้า กลางวัน กลางคืน (Nighttime or Radiation Inversion) 2. การผกผันของอากาศที่อบอุ่นกับอากาศเย็นมาเจอกัน (Frontal Inversion) 3. การผกผันที่เกิดจากความชื้นในอากาศบริเวณติดกับทะเล (Marine Inversion) 4. การผกผันแบบมีการยุบตัว (Subsidence Inversion) ดังนั้นเราจึงตระหนักถึงปัญหามลพิษทาง

อากาศที่เกิดจากการผกผันของอุณหภูมิทั้ง 4 แบบ โดยทั้ง 4 แบบมีผลกระทบต่อร่างกายมนุษย์ทั้งในกรณีที่บุคคลนั้นอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เกิดปรากฏการณ์และที่มลพิษถูกปล่อยออกมา อาจจะทำให้บุคคลได้รับมลพิษเข้าไปในร่างกายทั้งในปริมาณมากและน้อย ในระยะสั้นจะมีอาการ เช่น วิงเวียนศีรษะ ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย และในระยะยาวจะทำให้เป็นโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคภูมิแพ้ โรคหอบหืด โรคติดเชื้อทางอากาศ โรคมะเร็งปอด ไม่ว่าจะเป็นกรณีใดก็สามารถส่งผลเสียต่อร่างกายของเราโดยตรง และมันจะยิ่งแย่หนักขึ้นไปอีกถ้าในกรณีที่มลพิษถูกปล่อยออกมาในปริมาณมากในสภาพแวดล้อมที่เกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีการระบายอากาศไม่ดีหรือสภาพแวดล้อมแบบไม่มีการถ่ายเท (ระบบปิด) เช่น การปล่อยสารพิษจากยานยนต์ และโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่สร้างมลพิษในช่วงที่อากาศไม่ถ่ายเท การแพร่กระจายของสารพิษที่ปกคลุมในภูมิประเทศต่าง ๆ ทั้งหมดนี้เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายและเสี่ยงต่อการเป็นโรคมามากขึ้น ดังนั้นการศึกษาพฤติกรรมและการแพร่กระจายของมลพิษ ปริมาณเข้มข้นของมลพิษ และการหาวิธีการจัดการลดมลพิษจึงมีความสำคัญที่จะศึกษารวมไปถึงสามารถช่วยลดปัญหาทางมลพิษทางอากาศ การวิเคราะห์ปัญหาทางมลพิษทางอากาศจากตัวแปรที่มีผลต่อการแพร่กระจายความเข้มข้นของมลพิษ เช่น สัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสาร (ค่าคงที่) อุณหภูมิการไหล อุณหภูมิของการพาความร้อน ความเร็วของการไหล ทิศทางการไหล และปริมาณความเข้มข้นของสารพิษ

ในวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของการเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่เราพิจารณาของไหล เช่น การศึกษาผลกระทบของการเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันโดยการเก็บข้อมูลตั้งแต่ปี 2011-2016 ในประเทศจีนเพื่อนำวิเคราะห์ ผลและเปรียบเทียบผลของข้อมูล และได้มีการศึกษาการประเมินระดับความเข้มข้นของ PM2.5 โดยใช้ค่าความลึกของละอองลอย (AOD) และตัวแปรต่าง ๆ ในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน ทั้งหมดนี้มีส่วนเกี่ยวข้องของอิทธิพลจากอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังนั้นการแพร่กระจายของสารแต่ละชนิดไม่เท่ากัน ในช่วงฤดูหนาวที่

เกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันได้มีการวัดอุณหภูมิอากาศตามพื้นดินและทางอากาศ เนื่องจากประสิทธิภาพความเข้มข้นของจำนวนอนุภาคลดลงอย่างช้า ๆ นั้นหมายถึงมีสารพิษปนเปื้อนอยู่ในอากาศมากกว่าฤดูอื่น ๆ และการไหลของอากาศที่ปนเปื้อนในชั้นโทรโพสเฟียร์ ที่มีความสูงประมาณ 8-15 กิโลเมตร จากพื้นผิวโลกมีการตรวจพบอนุภาคที่มีความเข้มข้นสูงตลอดทั้งชั้น และนอกจากนั้นได้มีการศึกษาคุณสมบัติทางสถิติของการแพร่กระจายของ PM2.5 ในชั้นโทรโพสเฟียร์ โดยผลการศึกษาพบว่าการผกผันของอุณหภูมิในชั้นโทรโพสเฟียร์ มักจะเกิดบ่อยครั้งและมีการแพร่กระจายของ PM2.5 อยู่ในชั้นโทรโพสเฟียร์ การศึกษาการแพร่กระจายความเข้มข้นของสารพิษในแบบจำลอง มีการศึกษาถึงการเชื่อมโยงระหว่างความเข้มข้นของควันในระดับพื้นดินและการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิโดยอิทธิพลของทิศทางการไหลของอากาศและสารพิษปนเปื้อน ทั้งหมดนี้ทำโดยใช้หลักการพยากรณ์ เทคนิคนี้ใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินโดยใช้ความสำคัญสัมพันธ์ของตัวแปรทางอุตุนิยมวิทยาต่าง ๆ ในปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการแพร่กระจายความเข้มข้นของ PM2.5 จะสามารถลดได้เร็วหรือช้า นั้นขึ้นอยู่กับความเร็วของการไหล และสิ่งกีดขวางที่ของไหลเคลื่อนที่ผ่าน โดยสิ่งปนเปื้อนหรือ PM2.5 มีปริมาณลดลง นั้นหมายความว่าความเร็วในการไหล ไหลได้เร็วสิ่งปนเปื้อนลดลง และสามารถระบายอากาศดี ดังนั้นส่งผลให้ความเข้มข้นที่สะสมอยู่เปลี่ยนแปลงโดยภายในแบบจำลองมีความเข้มข้นลดลงได้มาก โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษาการแพร่กระจายความเข้มข้นของ PM2.5 ด้วยการจำลองผ่านโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อวิเคราะห์สาเหตุการแพร่กระจายความเข้มข้นของมลพิษในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน และผลกระทบต่อคุณภาพของอากาศ แล้วนำผลที่ได้มาช่วยในการพิจารณาถึงสาเหตุในการลดปริมาณความเข้มข้นของ PM2.5 ในอากาศรวมถึงการคาดการณ์สถานการณ์ล่วงหน้า ดังนั้นสิ่งที่จะสามารถอธิบายเหตุการณ์ต่าง ๆ ได้ของการแพร่กระจายของ PM2.5 มีหลายรูปแบบ การอธิบายตัวแปรในแบบจำลองและการอธิบายตามทฤษฎีของไหล เช่น ความเร็วตาม

แนวแกน x และแกน y ตำแหน่งและทิศทางการไหลของอากาศ รูปร่างลักษณะการของแบบจำลอง อุณหภูมิ ณ ตำแหน่งต่าง ๆ เช่น การจำลองเชิงตัวเลขของการทดลองในอุโมงค์ลมได้ดำเนินการโดยใช้เปรียบเทียบข้อมูลการจำลองเชิงตัวเลขกับผลการทดลองในอุโมงค์ลม แต่ในกรณีการพิจารณาและศึกษาผลของอุณหภูมิผกผันนั้น ในปัจจุบันยังมีคนศึกษาอยู่จำนวนไม่มากนัก และส่วนใหญ่มีแต่การศึกษาในลักษณะเก็บข้อมูลของการเกิดปรากฏการณ์ อุณหภูมิผกผัน และวิเคราะห์ผล แต่การศึกษากการแพร่กระจายความเข้มข้นของสารพิษที่มาจากอิทธิพลการพาความร้อนแบบธรรมชาติยังไม่มีการศึกษา ดังนั้นผมจึงทำการศึกษากการพาความร้อนแบบธรรมชาติในปรากฏการณ์ อุณหภูมิผกผัน ด้วยการคำนวณบนพื้นฐานของระเบียบวิธีไฟไนต์ และการวิเคราะห์เชิงตัวเลขในวิธีที่แตกต่างกัน การศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิผกผันในกรณีมีการพาความร้อนโดยมีลักษณะการแพร่กระจายความเข้มข้นของ PM2.5 ในการจำลองทางคอมพิวเตอร์บนพื้นฐานของระเบียบวิธีไฟไนต์วอลุ่ม (Finite volume method) โดยไฟไนต์วอลุ่มสามารถลดรูปของสมการอนุพันธ์ย่อยได้เป็นพีชคณิตอย่างง่าย

วิธีดำเนินการวิจัย

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยการแพร่กระจายความเข้มข้นของมลพิษทางอากาศ และฝุ่นละออง ในเงื่อนไขขอบเขต ของการพาความร้อนภายในอากาศ ที่สำคัญได้แก่ ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและสมการที่เกี่ยวข้อง ของการไหล การถ่ายเทความร้อนในของไหล และการแพร่กระจายความเข้มข้นของสาร ดังนี้

การเขียนสมการ

สมการความต่อเนื่อง (Continuity Equation) เมื่อพิจารณาการไหลของไหลเป็นแบบอัดตัวไม่ได้ (Incompressible fluid) และการเปลี่ยนแปลงของไหลขึ้นอยู่กับเวลา (Unsteady state) จึงทำให้มีพจน์ของการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากเวลา และความหนาแน่นของไหลคงที่

$$\rho \frac{\partial u}{\partial x} + \rho \frac{\partial v}{\partial y} = 0 \quad (1)$$

โดยที่

ρ ความหนาแน่นของของไหล	$[kg/m^3]$
u ความเร็วในแกน x	$[m/s]$
v ความเร็วในแกน y	$[m/s]$

สมการโมเมนตัม (Momentum Equation) กฎข้อที่ 2 ของนิวตันโดยการเปลี่ยนตัวแปร แรงเท่ากับมวลคูณความเร่ง เป็นสมการโมเมนตัม จะพิจารณาว่าการไหลเข้าของมวลเท่ากับการไหลออกของมวล และในส่วนที่มีแรงมากระทำ มีแรงที่กระทำบนพื้นผิวของไหล แรงที่เกิดจากความดัน (Pressure) แรงที่ความเค้นเฉือนเนื่องมาจากค่าสัมประสิทธิ์ความหนืดของไหล (Shear stress) และแรงที่กระทำทั่วทั้งก้อนของไหล (Body force) เช่น แรงโน้มถ่วง ($F = mg$) สมการโมเมนตัมใน 2 มิติ ในแกน x และแกน y

$$\mu \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} - \frac{\partial p}{\partial x} + \rho g_x = \rho \left[\frac{\partial u}{\partial t} + u \frac{\partial u}{\partial x} + v \frac{\partial u}{\partial y} \right] \quad (2)$$

$$\mu \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} - \frac{\partial p}{\partial y} + \rho g_y = \rho \left[\frac{\partial v}{\partial t} + u \frac{\partial v}{\partial x} + v \frac{\partial v}{\partial y} \right] \quad (3)$$

โดยที่

ρ ความหนาแน่นของของไหล	$[kg/m^3]$
u ความเร็วในแกน x	$[m/s]$
v ความเร็วในแกน y	$[m/s]$
μ ความหนืดของของไหล	$[Pa \cdot s]$
P ความดัน	$[Pa]$
g ความเร่งเนื่องจากแรงโน้มถ่วงโลก	$[m/s^2]$
t เวลา	$[s]$

สมการอนุรักษ์พลังงาน (Energy Equation) สมการอนุรักษ์พลังงาน (Energy Equation) สมดุลทางพลังงานคือ พลังงานที่เข้าสู่ระบบพลังงานที่ออกจากระบบ หรือเรียกได้อีกอย่างว่าผลต่างของพลังงานจะเท่ากับการเปลี่ยนแปลงทางพลังงาน

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho C_p \left(u \frac{\partial T}{\partial x} + v \frac{\partial T}{\partial y} \right) = k \left(\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} \right) + Q \quad (4)$$

โดยที่

ρ ความหนาแน่นของของไหล	$[kg/m^3]$
u ความเร็วในแกน x	$[m/s]$
v ความเร็วในแกน y	$[m/s]$
C_p ความจุความร้อนจำเพาะ	$[J/kg \cdot K]$
T อุณหภูมิ	$[K]$
t เวลา	$[s]$
k ค่าการนำความร้อน	$[W/m \cdot C]$
Q การสร้างความร้อนภายในระบบ	$[W/m^3]$

สมการการแพร่กระจายของความเข้มข้นของสาร (Diffusion of Concentration) ในอากาศและฝุ่นละอองเกิดจากความเข้มข้นของสารระหว่างสองบริเวณมีค่าต่างกันปริมาณมาก จะทำให้การแพร่จะเกิดขึ้นเร็ว โดยสารจากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงจะแพร่ไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ ในกรณีที่อุณหภูมิสูง การแพร่ของสารจะเป็นไปอย่างรวดเร็ว เพราะอนุภาคของสารมีพลังงานจลน์สูง โดยสมมติฐานให้

- ค่าความเข้มข้นของสาร $1 \times 10^{10} [mol/m^3]$

- สัมประสิทธิ์การแพร่กระจายความเข้มข้นของสาร $1 \times 10^{-1} [m^2/s]$

$$\frac{\partial C}{\partial t} + u \frac{\partial C}{\partial x} + v \frac{\partial C}{\partial y} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D_{xx} \frac{\partial C}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(D_{yy} \frac{\partial C}{\partial y} \right) + S \quad (5)$$

โดยที่

C คือค่าความเข้มข้นของสารใด ๆ $[mol/m^3]$

u, v คือความเร็วของของไหลในแกน x, y

ตามลำดับ $[m/s]$

t เวลา $[s]$

D คือสัมประสิทธิ์การแพร่กระจายความเข้มข้น

ของสาร $[m^2/s]$

S คือความเข้มข้นของสารที่ถูกปล่อยหรือเติม

เพิ่มเข้ามาในแบบจำลอง $[mol/m^3]$

การออกแบบและสร้างแบบ

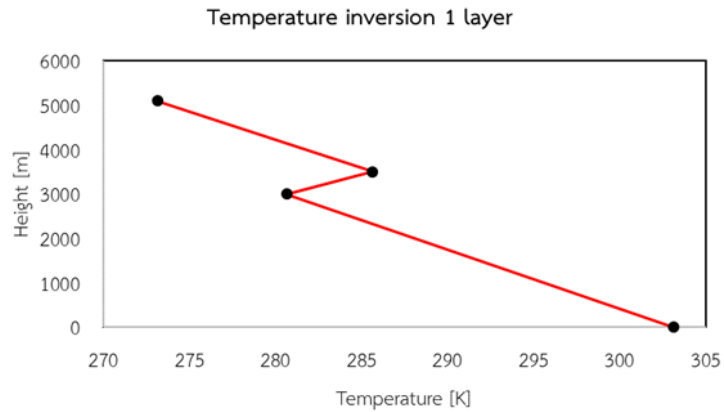
กรณีที่ 1 อุณหภูมิกับความสูงในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน (Temperature inversion) ขณะที่เกิดขึ้นความร้อน 1 ชั้นการเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 1 ชั้นนั้นเกิดจากกราฟในรูปมีลักษณะเป็นผาซี 1 ชั้นซ้อนกันอยู่โดยมีอุณหภูมิ 303.15, 280.65, 285.65, 273.15 [K] ณ ตำแหน่งความสูงที่ 0, 3000, 3500, 5100 [m] ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอุณหภูมิกับความสูง ความสูงเพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิลดลง นอกจากนั้นมีช่วงที่ ความสูงและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นตามกัน ทำให้เกิดเป็นปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันดังในรูปที่ 1

กรณีที่ 2 อุณหภูมิกับความสูงในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน (Temperature inversion) ขณะที่เกิดขึ้นความร้อน 2 ชั้น

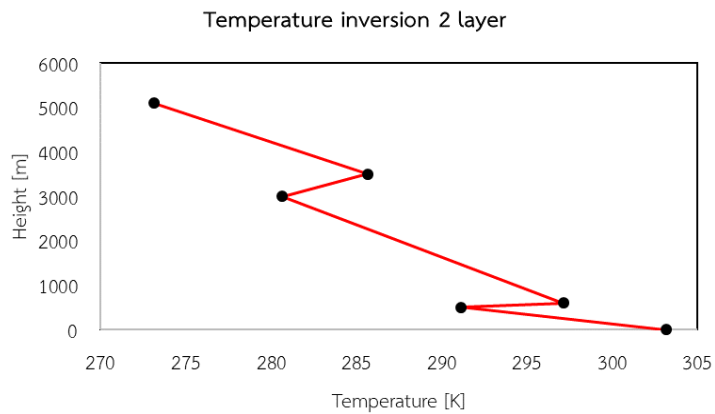
การเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้นนั้นเกิดจากกราฟในรูปมีลักษณะเป็นผาซี 2 ชั้นซ้อนกันอยู่โดยมีอุณหภูมิ 303.15, 291.15, 297.15, 280.65, 285.65, 273.15 [K] ณ ตำแหน่งความสูงที่ 0, 500, 600, 3000, 3500, 5100 [m] ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอุณหภูมิกับความสูง ความสูงเพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิลดลงและเพิ่มขึ้น ณ ตำแหน่งความสูงที่ 500 - 600 [m] และความสูง 3000 - 3500 [m] เป็นช่วงที่เรียกว่าอุณหภูมิผกผัน ซึ่งทำให้เกิดเป็นปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีลักษณะเป็นผาซี 2 ชั้นดังในรูปที่ 2

การสร้างแบบจำลองในกรณีที่ 1 การเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 1 ดังรูปที่ 3

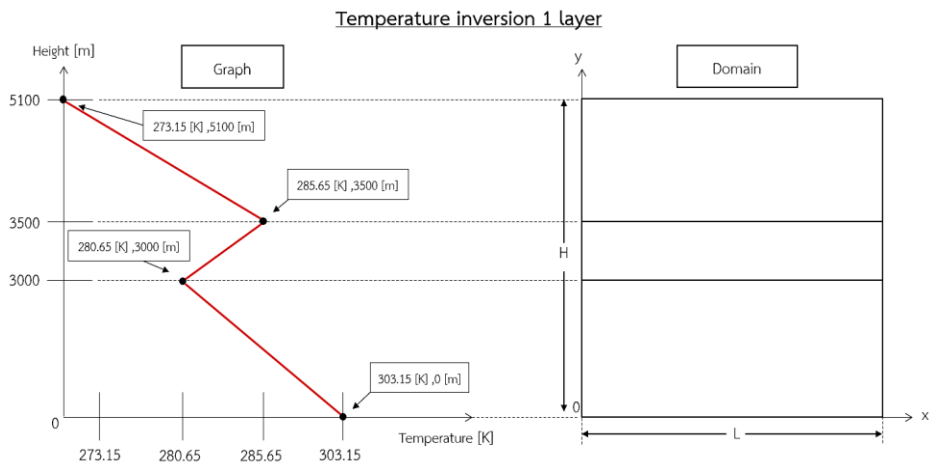
การสร้างแบบจำลองในกรณีที่ 2 การเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้น ดังรูปที่ 4



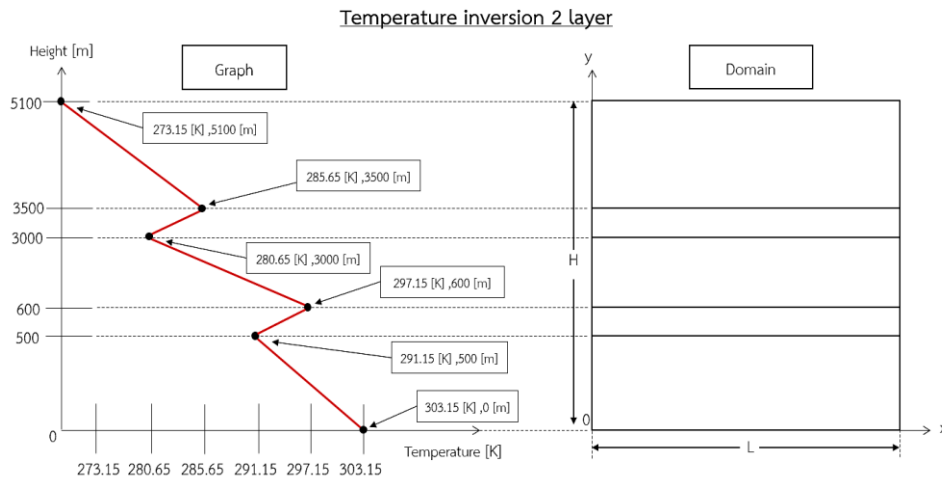
รูปที่ 1 กราฟอุณหภูมิกับความสูงในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 1 ชั้น



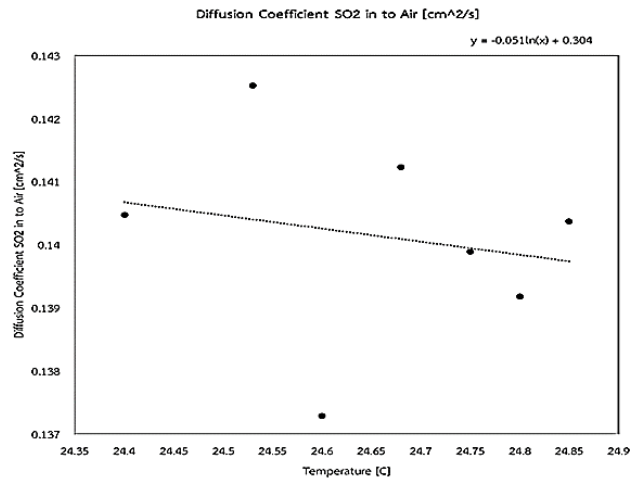
รูปที่ 2 กราฟอุณหภูมิกับความสูงในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้น



รูปที่ 3 กราฟการเปลี่ยนแปลงความสูงเทียบกับอุณหภูมิ และขอบเขตของงานในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น



รูปที่ 4 กราฟการเปลี่ยนแปลงความสูงเทียบกับอุณหภูมิ และขอบเขตของงานในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น



รูปที่ 5 สมการของ Diffusion Coefficient of SO₂ in Air

Initial Condition

$$u = v = 0, T = T(y) \text{ for } t = 0$$

Boundary Condition

$$u = v = 0 \quad \text{at } x = 0, L \quad 0 \leq y \leq H$$

$$u = v = 0 \quad \text{at } y = 0, H \quad 0 \leq x \leq L$$

$$c = c_{\text{so}_2} = 0 \quad \text{at } x = 0, L \quad 0 \leq y \leq H$$

$$c = c_{\text{so}_2} = 0 \quad \text{at } y = 0, H \quad 0 \leq x \leq L$$

$$\frac{\partial T}{\partial x} = 0 \quad \text{at } x = 0, L \quad 0 \leq y \leq H$$

$$\frac{\partial T}{\partial y} = 0 \quad \text{at } y = 0, H \quad 0 \leq x \leq L$$

$$t > 0 \quad \text{at } y = 0 \quad 0 \leq x \leq L \quad T = 30 [^{\circ}\text{C}]$$

$$t > 0 \quad \text{at } y = 0 \quad 0 \leq x \leq L \quad c = c_{\text{so}_2} = 5.9313 \times 10^{-5} \left[\frac{\text{mol}}{\text{m}^2 \cdot \text{s}} \right]$$

การพิจารณาได้กำหนดเงื่อนไขขอบเขตของงานโดยมีการคำนวณและการศึกษาวิเคราะห์ ในสมมติฐาน ดังนี้

1. เนื่องจากก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เป็นส่วนประกอบของ PM_{2.5} ดังนั้นพิจารณาค่าการแพร่กระจาย และความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เท่านั้น

2. อากาศ และก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (Sulfur dioxide) เป็นก๊าซซึ่งไม่ทำปฏิกิริยาระหว่างกัน โดยที่ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์เป็นส่วนประกอบส่วนหนึ่งที่อยู่ใน PM_{2.5}

3. การไหลเป็นการไหลแบบราบเรียบ (Lamina flow) ในแบบจำลอง 2 มิติ
4. คำนวณผลของแรงลอยตัว
5. ไม่คำนวณการถ่ายเทความร้อนเนื่องด้วยจากการแผ่รังสีความร้อน
6. ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสถานะของของไหล
7. ความสูงเป็นฟังก์ชันที่ขึ้นกับอุณหภูมิ $H(T)$ ที่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ

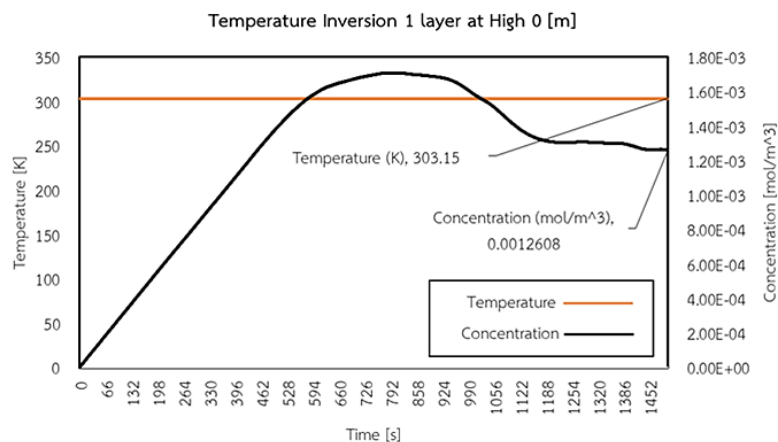
จากการศึกษาการแพร่กระจายความเข้มข้นของสาร SO_2 เพื่อให้งานวิจัยนั้นสมจริง และเป็นไปตามสมมุติฐานที่กำหนดไว้ โดยการนำค่าการแพร่กระจายและความเข้มข้นที่มาจากการวิจัยในหัวข้อ Diffusion Coefficient of SO_2 in Air ทำให้ทราบว่า การแพร่กระจายของ SO_2 ในอุณหภูมิที่แตกต่างกันนั้นค่าการแพร่กระจายความเข้มข้นที่แตกต่างกันด้วย โดยสามารถนำข้อมูลเบื้องต้นไปทำการ Plot Graph โดยเลือกใช้วิธี Regression ดังรูปที่ 5

$y = -0.051\ln(x) + 0.304$ มาจากการ PlotGraph โดยกำหนดให้อุณหภูมิในช่วงต่าง ๆ อยู่แนวแกน x กับค่าการแพร่กระจายความเข้มข้นอยู่แนวแกน y โดยต้องการจะทราบค่าอุณหภูมิที่ 30 [°C] ดังนั้นจึงแทนค่าลงสมการที่ $x = 30$ [°C] ค่า y หรือ

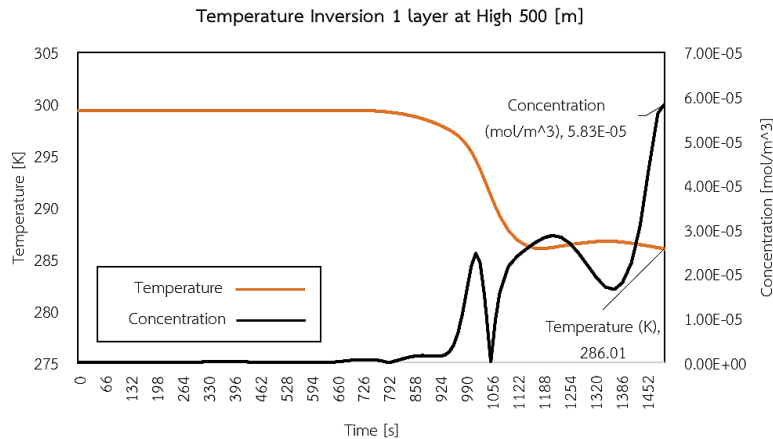
Diffusion Coefficient SO_2 in to Air = 0.13053 [cm²/s] และค่าความเข้มข้นหรือ Concentration SO_2 เท่ากับ 5.9313×10^{-5} [mol/m²s] โดยทุก ๆ 1 s จะปล่อย SO_2 เท่ากับ 5.9313×10^{-5} [mol/m²s] โดยอ้างอิงตามงานวิจัยในหัวข้อ Diffusion Coefficient of SO_2 in Air

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

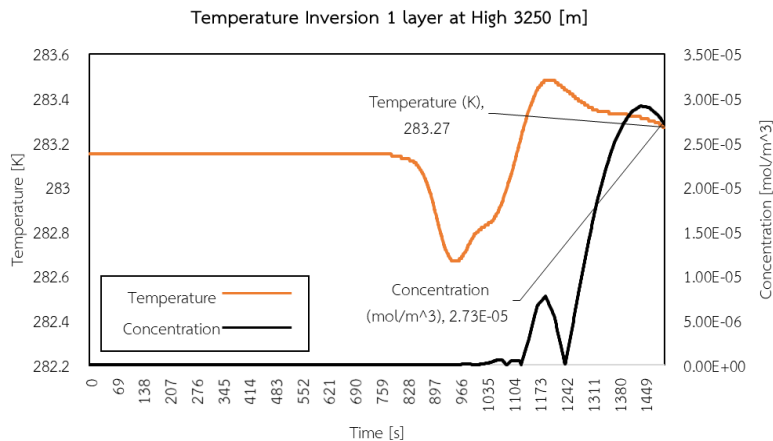
กรณีที่ 1 การเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 1 ชั้น นั้นเกิดจากการพาในรูปมีลักษณะเป็นผาซี 1 ชั้น การแพร่กระจายความเข้มข้นของ PM2.5 หรือมลพิษเป็นผลมาจากการเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันในลักษณะที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้นในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันส่งผลต่อการแพร่กระจายความเข้มข้นในชั้นความร้อน โดยค่าความเข้มข้นการแพร่กระจายเพิ่มมากขึ้นเมื่อเกิดการไหลเนื่องจากความร้อนซึ่งแสดงออกมาในลักษณะความเข้มข้นเทียบกับเวลา นอกจากนั้นค่าความเข้มข้นและการแพร่กระจายเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับผลของอุณหภูมิในช่วงระยะเวลาตอนต้น จะสามารถแสดงผลออกมาในลักษณะอุณหภูมิเทียบกับเวลา และการแพร่กระจายของความเข้มข้นเทียบกับเวลา ณ ตำแหน่งที่พื้น ที่ความสูง 500 เมตร ที่ความสูง 3250 เมตร



รูปที่ 6 อุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลาภายในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น ณ ตำแหน่งที่พื้น



รูปที่ 7 อุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลาภายในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น ณ ตำแหน่งที่ความสูง 500 เมตร



รูปที่ 8 อุณหภูมิกับความเร็วเทียบกับเวลาภายในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น ณ ตำแหน่งที่ความสูง 3250 เมตร

รูปที่ 6 สามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของมวลพิษโดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลาโดยพิจารณาที่อุณหภูมิทางซ้ายมือกับค่าความเข้มข้นทางขวามือในรูปที่ 6 จะทำให้ทราบค่า ณ เวลาที่ ณ เวลาที่ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 [s] มีค่าอุณหภูมิ 303.15, 303.15, 303.15, 303.15, 303.15, 303.15, 303.15 [K] มีค่าความเข้มข้น 0.0013837, 0.0015886, 0.0016732, 0.0017071, 0.0016887, 0.001595, 0.0014234, 0.0013106 [mol/m³] ตามลำดับตามลำดับ และเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ อุณหภูมินั้นคงที่ทุกช่วงเวลา (เป็นไปตามเงื่อนไขและขอบเขตที่กำหนด) ส่วนค่าความเข้มข้น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และมีความเข้มข้นสูงสุดใน

ช่วงเวลาที่ 800-900 [s] โดยมีค่าความเข้มข้น 0.0017071 - 0.0016887 [mol/m³] ตามลำดับ แสดงว่าอุณหภูมิและความเข้มข้นมีแนวโน้มแปรผันตามกัน ดังนั้นสามารถอธิบายได้ เมื่อเวลาผ่านไป ณ ตำแหน่งที่พื้นมีความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ สะสมอยู่โดยการสะสมได้รับอิทธิพลมาจากปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันแบบมีชั้นความร้อน 1 ชั้น

เมื่อพิจารณาในรูปที่ 7 โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลา โดยพิจารณาที่อุณหภูมิกับค่าความเข้มข้นในรูปที่ 7 ณ ตำแหน่งที่ 500 เมตร สามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของ PM2.5 โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลาทำให้ทราบค่า ณ เวลาที่ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 [s]

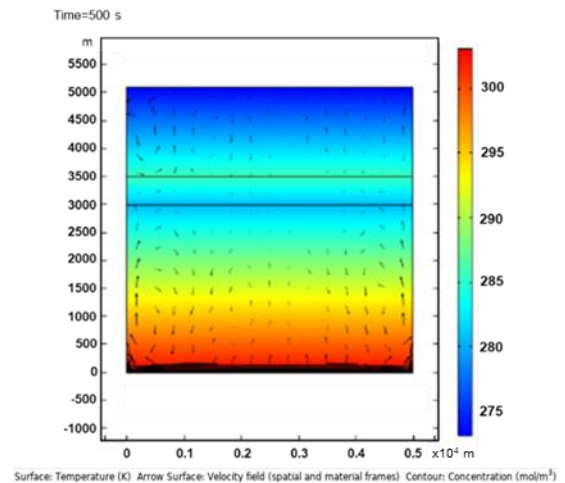
มีค่าอุณหภูมิ 299.4, 299.41, 299.41, 299.21, 298.36, 295.75, 287.83, 286.08 [K] มีค่าความเข้มข้น $1.04\text{E}-07$, $8.36\text{E}-09$, $5.63\text{E}-07$, $1.15\text{E}-07$, $1.51\text{E}-06$, $1.90\text{E}-05$, $2.16\text{E}-05$, $2.84\text{E}-05$ [mol/m^3] ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิมีแนวโน้มลดลงหลังช่วงเวลา 900-1200 [s] ส่วนค่าความเข้มข้นคงที่ในช่วงแรก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังช่วงเวลา 1200 [s] แสดงว่าอุณหภูมิและความเข้มข้นมีแนวโน้มแปรผกผันกัน ดังนั้นสามารถอธิบายได้ เมื่อเวลาผ่านไป ณ ตำแหน่งที่ความสูง 500 เมตร มีความเข้มข้นของมลพิษสะสมอยู่โดยการสะสมของมลพิษได้รับการสะสมต่อเนื่องมาจากตำแหน่งที่สูงจากพื้น และได้รับอิทธิพลมาจากปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันแบบมีชั้นความร้อน 1 ชั้น

รูปที่ 8 ณ ตำแหน่งความสูงที่ 3250 เมตร สามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของ PM2.5 โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลาโดยพิจารณาที่อุณหภูมิกับค่าความเข้มข้นใน ณ เวลาที่ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 [s] มีค่าอุณหภูมิ 283.15, 283.15, 283.15, 283.14, 282.91, 282.77, 283.05, 283.48 [K] มีค่าความเข้มข้น $3.26\text{E}-10$, $3.60\text{E}-10$, $6.45\text{E}-11$, $2.65\text{E}-10$, $6.59\text{E}-11$, $6.76\text{E}-08$, $4.81\text{E}-07$, $6.81\text{E}-06$ [mol/m^3] ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิมีแนวโน้มลดลงในช่วงเวลา 800-900 [s] และอุณหภูมิมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังในช่วงเวลา 1000 [s] ส่วนความเข้มข้นคงที่ในช่วงแรก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังช่วงเวลา 1200 [s] แสดงว่าอุณหภูมิและความเข้มข้นแปรผันตรงกับเวลา

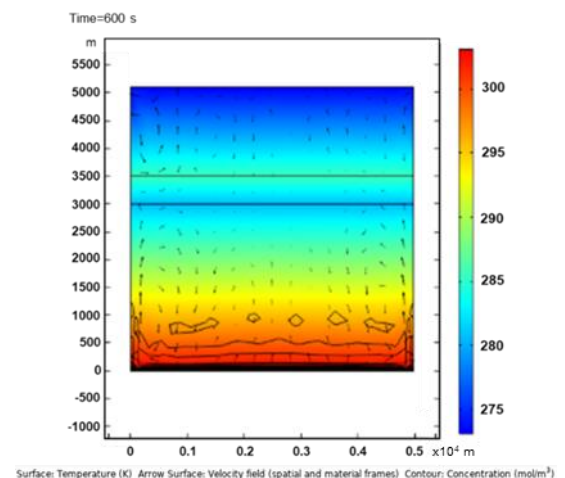
ดังนั้นสามารถอธิบายได้ เมื่อเวลาผ่านไป ณ ตำแหน่งที่ความสูง 3250 เมตร (ในชั้นปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน) มีความเข้มข้นของมลพิษสะสมอยู่โดยการสะสมของมลพิษได้รับการสะสมต่อเนื่องมาจากตำแหน่งที่สูงจากพื้น และได้รับอิทธิพลมาจากปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันแบบมีชั้นความร้อน 1 ชั้น

ในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น ในรูปที่ 9 ณ เวลาที่ 500 [s] พฤติกรรม

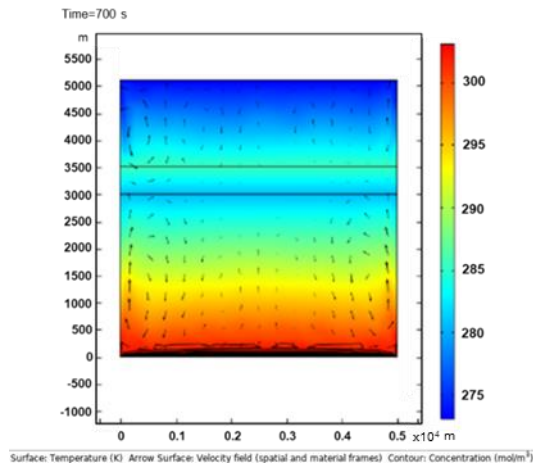
ไหลของของไหลมีลักษณะหมุนวนเข้าสู่จุดศูนย์กลางของ Domain และเกิดการสะสมของ SO_2 ตรงบริเวณพื้นส่วนในรูปที่ 10 ณ เวลาที่ 600 [s] ได้รับอิทธิพลของปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันทำให้เกิดการแพร่กระจายของ SO_2 ณ ความสูงในช่วง 500 [m] จึงทำให้ SO_2 ไม่สามารถลอยตัวขึ้นที่สูงได้



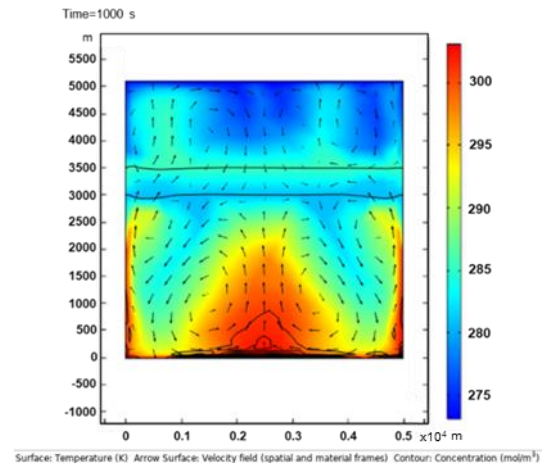
รูปที่ 9 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลาที่ 500 [s]



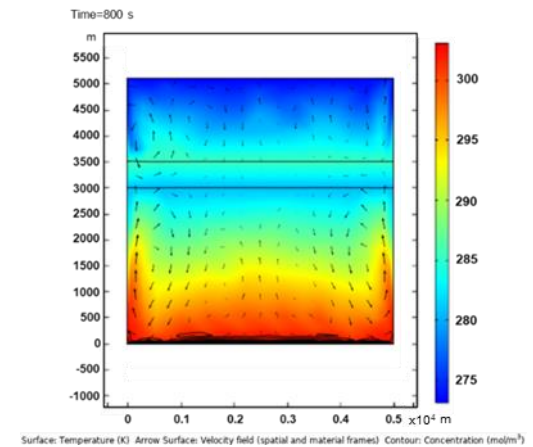
รูปที่ 10 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลาที่ 600 [s]



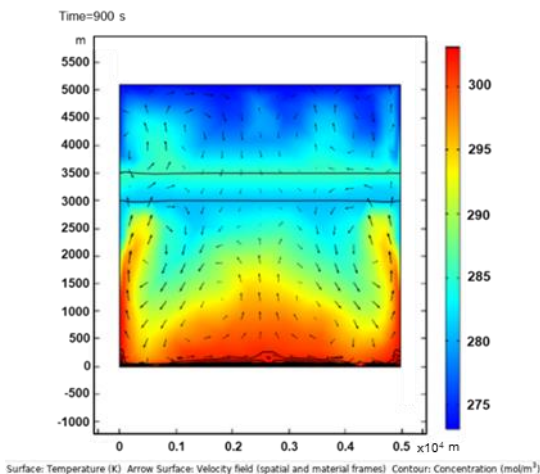
รูปที่ 11 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลา 700 [s]



รูปที่ 14 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลา 1000 [s]

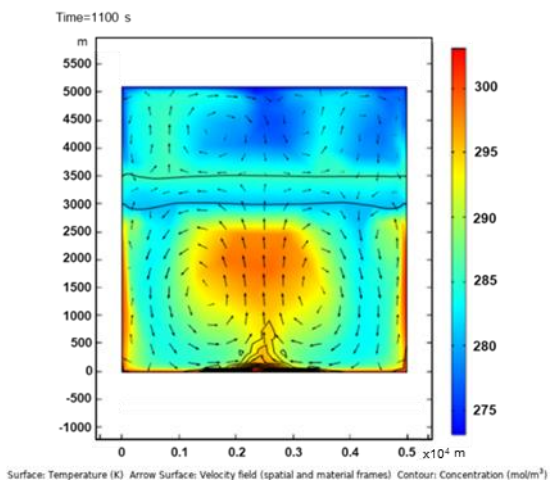


รูปที่ 12 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลา 800 [s]

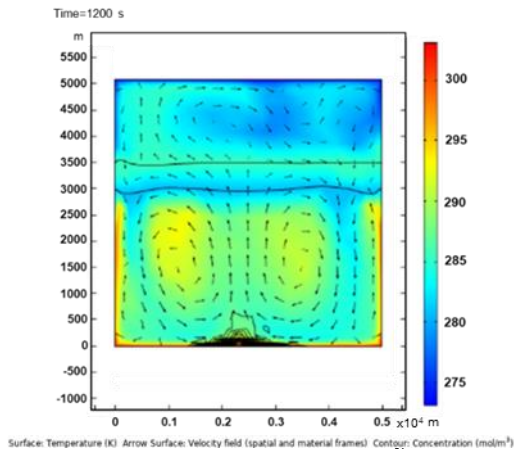


รูปที่ 13 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลา 900 [s]

ในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น รูปที่ 11 - 14 ณ เวลาที่ 700 - 1000 [s] พฤติกรรมการไหลของของไหลมีลักษณะหมุนวนเข้าสู่จุดศูนย์กลางของ Domain เหมือนในช่วงเวลา 500 - 600 [s] แต่จุดที่เริ่มหมุนวนอยู่ใน Inversion Layer หรือชั้นอุณหภูมิผกผันจึงทำให้การแพร่กระจายของ SO_2 ไม่สามารถลอยตัวขึ้นที่สูงได้ และส่งผลให้หมุนวน และซ้อน SO_2 อยู่ตรงกลางของ Domain ทำให้เกิดการสะสมของ SO_2 อย่างต่อเนื่อง ณ ตำแหน่งที่พื้น



รูปที่ 15 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลา 1100 [s]



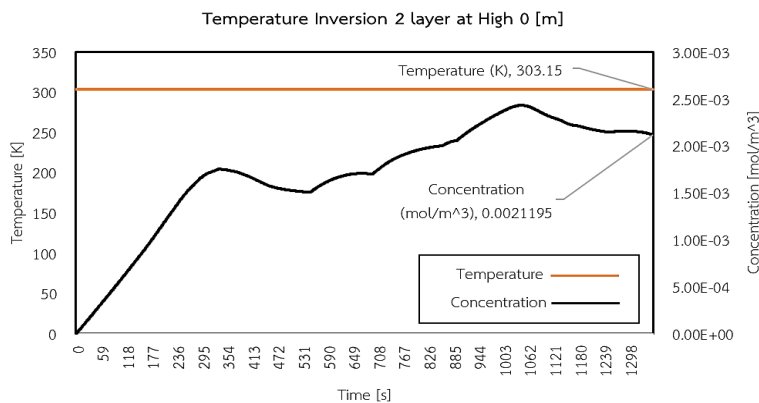
รูปที่ 16 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลาที่ 1200 [s]

ส่วนรูปที่ 15 -16 ณ เวลาที่ 1100 - 1200 [s] เกิดการหมุนวนที่ตำแหน่งสูงชัน และอิทธิพลของ Inversion Layer ทำให้เกิดการกักตัวของของไหลโดยส่งผลให้การแพร่กระจายของ SO_2 ไม่สามารถลอยตัวขึ้นที่

สูง และแพร่กระจายไปในตำแหน่งที่สูงขึ้นได้

กรณีที่ 2 การเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้นแบบไม่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในชั้นความร้อน

ลักษณะของการแพร่กระจายความเข้มข้นของ $\text{PM}_{2.5}$ หรือมลพิษเป็นผลมาจากการเกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันในลักษณะที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น โดยมีลักษณะไม่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในชั้นความร้อน ในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันส่งผลต่อการแพร่กระจายความเข้มข้นในชั้นความร้อน โดยค่าความเข้มข้นการแพร่กระจายเพิ่มมากขึ้นเมื่อเกิดการไหลเนื่องจากการถ่ายเทความร้อน และการพาความร้อน ซึ่งมีผลลัพธ์แสดงออกมาในลักษณะความเข้มข้นเทียบกับเวลา ณ ตำแหน่งที่พื้น, ที่ความสูง 500 เมตร, ที่ความสูง 3250 เมตรรูปที่ 16 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 1 ชั้น เมื่อเวลาที่ 1200 [s]

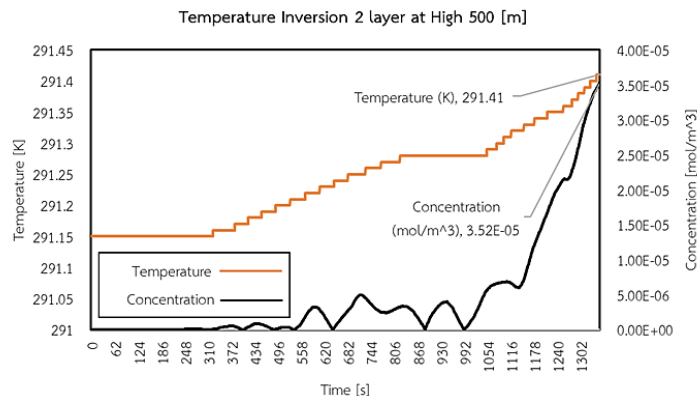


รูปที่ 17 อุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลาภายในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น ณ ตำแหน่งที่พื้น

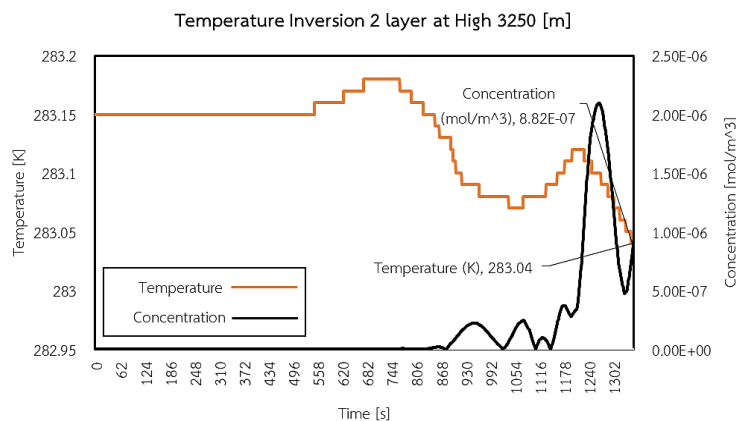
รูปที่ 17 สามารถวิเคราะห์ค่าอุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลา โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลาโดยพิจารณาที่ ณ ตำแหน่งที่พื้น (0 เมตรในขอบเขตของงาน) สามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลา โดยพิจารณาที่อุณหภูมิกับความเข้มข้นทำให้ทราบค่า ณ เวลาที่ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 [s] มีค่าอุณหภูมิ 303.15 [K] (ทุก ๆ ช่วงเวลา) มีค่าความเข้มข้น 0.001529, 0.0016394, 0.0017147, 0.0019525, 0.0020799, 0.0023642,

0.002338, 0.0021877 [mol/m^3] ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ อุณหภูมินั้นคงที่ทุกช่วงเวลา (เป็นไปตามเงื่อนไขและขอบเขตที่กำหนด) ส่วนค่าความเข้มข้น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และมีความเข้มข้นสูงสุดในช่วงเวลาที่ 900-1100 [s] โดยมีค่าความเข้มข้น 0.0020799 - 0.002338 [mol/m^3] ตามลำดับ แสดงว่าอุณหภูมิ และความเข้มข้นมีแนวโน้มแปรผันตามกัน ดังนั้นสามารถอธิบายได้ เมื่อเวลาผ่านไป ณ ตำแหน่งที่พื้นมีความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือ $\text{PM}_{2.5}$ สะสมอยู่โดยการ

สะสมได้รับอิทธิพลมาจากปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน แบบมีชั้นความร้อน 2 ชั้น



รูปที่ 18 อุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลาภายในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น ณ ตำแหน่งที่ความสูง 500 [m]



รูปที่ 19 อุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลาภายในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น ณ ตำแหน่งที่ความสูง 3250 [m]

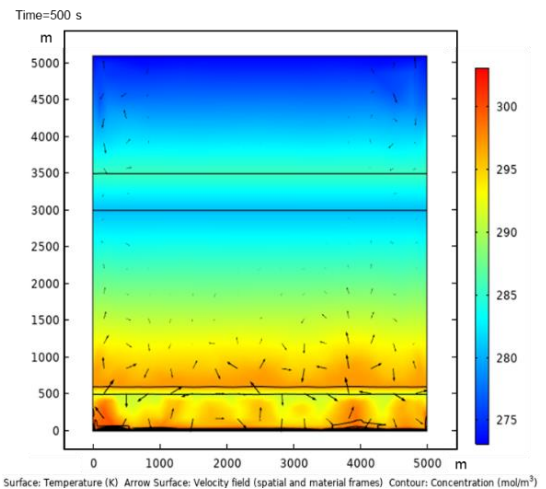
รูปที่ 18 สามารถวิเคราะห์ค่าอุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลา โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลาโดยพิจารณาที่ ณ ตำแหน่งความสูงที่ 500 เมตร (วิเคราะห์ในช่วงความสูงที่เกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้น) สามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลา โดยพิจารณาที่อุณหภูมิกับค่าความเข้มข้น ณ เวลาที่ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 [s] มีค่าอุณหภูมิ 291.2, 291.22, 291.25, 291.27, 291.28, 291.28, 291.31, 291.34 [K] มีค่าความเข้มข้น $2.15\text{E-}07$, $3.18\text{E-}06$, $3.82\text{E-}06$, $2.67\text{E-}06$, $1.30\text{E-}06$, $3.48\text{E-}07$, $6.81\text{E-}06$, $1.46\text{E-}05$ [mol/m³]

ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ อุณหภูมินั้นคงที่ในช่วงเวลาแรกตั้งแต่ 0 – 300 [s] ส่วนค่าความเข้มข้นมีแนวโน้มคงที่ในช่วงแรก และมีความเข้มข้นสูงสุดในช่วงเวลาที่ 1100 [s] ถึงช่วงหลัง 1300 [s] ไปแล้ว โดยมีค่าความเข้มข้น $6.81\text{E-}06$ [mol/m³] ถึงช่วงหลัง $2.65\text{E-}05$ [mol/m³] ตามลำดับ แสดงว่าอุณหภูมิ และความเข้มข้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และแปรผันตามกับเวลา ดังนั้นสามารถอธิบายได้ เมื่อเวลาผ่านไป ณ ตำแหน่งความสูงที่ 500 เมตร มีความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือ PM2.5 สะสมอยู่โดยการสะสมได้รับอิทธิพลมาจากปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันแบบมีชั้นความร้อน 2 ชั้น

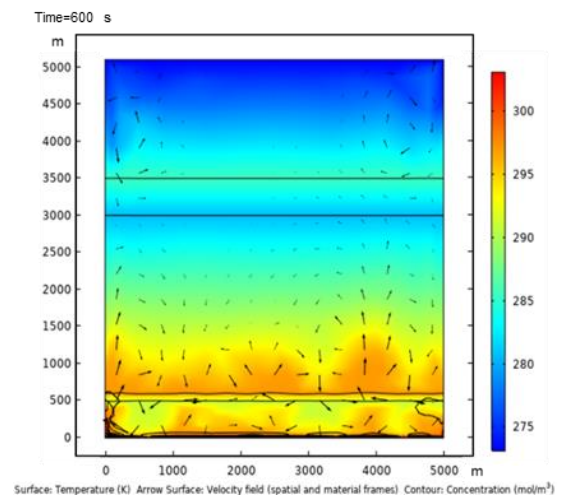
รูปที่ 19 สามารถวิเคราะห์ค่าอุณหภูมิกับความเข้มข้นเทียบกับเวลา โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลาโดยพิจารณาที่ ณ ตำแหน่งความสูงที่ 3250 เมตร (วิเคราะห์ในช่วงความสูงที่เกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน 2 ชั้น) สามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โดยแบ่งเป็น 8 ช่วงเวลา โดยพิจารณาที่อุณหภูมิกับค่าความเข้มข้น ณ เวลาที่ 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 [s] มีค่าอุณหภูมิ 283.15, 283.16, 283.18, 283.16, 283.12, 283.08, 283.08, 283.12 [K] มีค่าความเข้มข้น $3.15\text{E-}12$, $5.85\text{E-}11$, $1.95\text{E-}09$, $4.04\text{E-}09$, $6.66\text{E-}08$, $9.57\text{E-}08$, $8.72\text{E-}08$, $2.91\text{E-}07$ [mol/m^3] ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิในช่วงที่ 1 อุณหภูมินั้นคงที่ในช่วงเวลาที่ 0 – 500 [s] ส่วนช่วงที่ 2 อุณหภูมิเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 500 – 750 [s] และช่วงสุดท้าย อุณหภูมิมีแนวโน้มลดลงต่ำกว่าช่วงที่ 1 และช่วงที่ 2 ส่วนในค่าความเข้มข้นคงที่ในช่วงเวลาที่ 0 – 900 [s] และมีความเข้มข้นสูงสุดในช่วงเวลาที่ 1200 - 1250 [s] โดยมีค่าความเข้มข้น $2.91\text{E-}07$ - $1.88\text{E-}06$ [mol/m^3] แสดงว่าอุณหภูมิ และความเข้มข้นมีแนวโน้มแปรผกผันกับเวลาดังนั้นสามารถอธิบายได้ เมื่อเวลาผ่านไป ณ ตำแหน่งความสูงที่ 3250 เมตร มีความเข้มข้นของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือ PM2.5 สะสมอยู่โดยการสะสมได้รับอิทธิพลมาจากปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันแบบมีชั้นความร้อน 2 ชั้น (แต่ในการสะสมของก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ นั้นมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นจากเดิมแต่เป็นการเพิ่มขึ้นที่ไม่คงที่)

ในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น ในรูปที่ 20 ณ เวลาที่ 500 [s] กับรูปที่ 21 ณ เวลาที่ 600 [s] เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับและ วิเคราะห์มีพฤติกรรมการไหลของของไหลมีลักษณะลอยตัวขึ้นสูงขึ้นทั้งเวลาที่ 500 [s] และ 600 [s] แต่พิจารณาที่เวลา 500 [s] นั้นยังไม่เกิดการหมุนวนเข้าสู่จุด ศูนย์กลางของ Domain แต่ในทางกับกันนั้น ณ เวลาที่ 600 [s] ของไหลเริ่มก่อตัวให้เห็นว่าหมุนวนเข้าสู่จุดศูนย์กลางของ Domain และเกิดการสะสมของ SO_2 ตรงบริเวณพื้นจนถึง ณ ความสูงที่ 500 เมตร ซึ่งเริ่มได้รับอิทธิพลของปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน

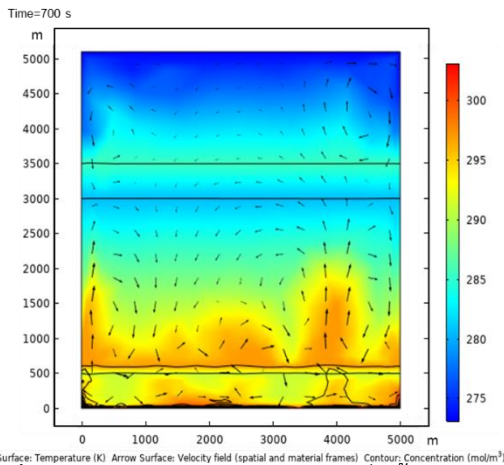
ทำให้เกิดการแพร่กระจายของ SO_2 และการแพร่กระจายของ SO_2 ไม่สามารถลอยตัวขึ้นที่สูงได้



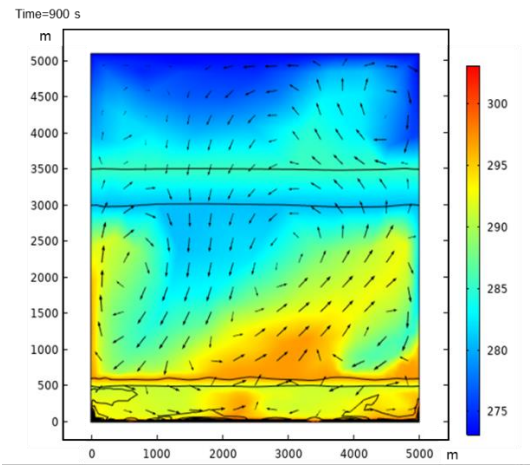
รูปที่ 20 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลา 500 [s]



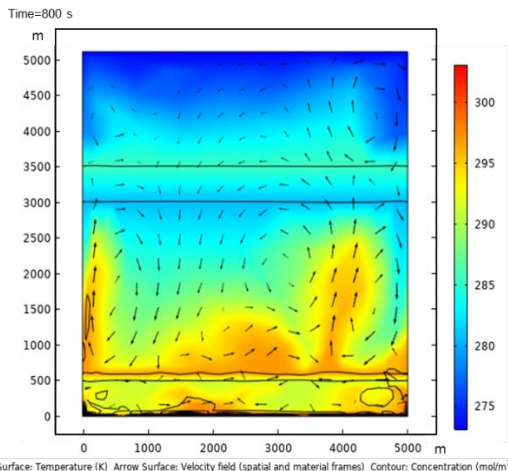
รูปที่ 21 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลา 600 [s]



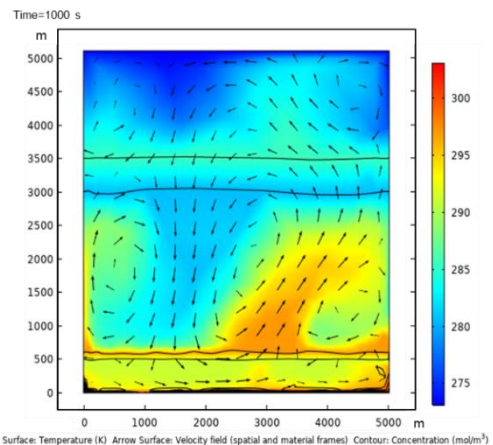
รูปที่ 22 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลาที่ 700 [s]



รูปที่ 24 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลาที่ 900 [s]

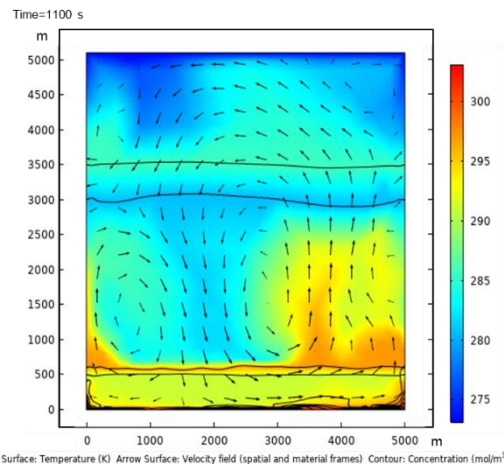


รูปที่ 23 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลาที่ 800 [s]

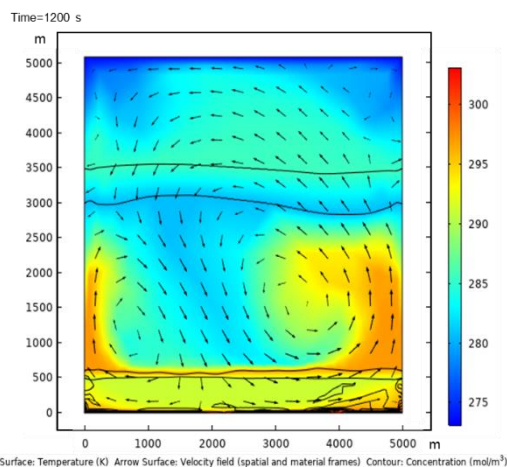


รูปที่ 25 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลาที่ 1000 [s]

ในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น รูปที่ 22 - 23 ณ เวลาที่ 700 - 800 [s] เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับระหว่างรูปที่ 22 ณ เวลาที่ 700 [s] พฤติกรรมการไหลของของไหลนั้นมีลักษณะไหลของสู่จุดศูนย์กลางชัดเจนมากกว่าตอนที่เวลา 500 [s] กับ 600 [s] ส่วนการแพร่กระจายของ SO_2 มีการแพร่ชัดเจนตรงกลางของ Domain เมื่อนำมาเทียบกับรูปที่ 23 ณ เวลาที่ 800 [s] พฤติกรรมการไหลของของไหลมีการหมุนวนเข้าสู่จุดศูนย์กลางอย่างเห็นได้ชัดเด่นมากกว่า ณ เวลาที่ 700 [s] การแพร่กระจายของ SO_2 มีการแพร่กระจายทั่วบริเวณตำแหน่งด้านล่างของ Domain อย่างเห็นได้ชัด



รูปที่ 26 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลาที่ 1100 [s]



รูปที่ 27 ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น เมื่อเวลาที่ 1200 [s]

ในส่วนปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันที่มีชั้นความร้อน 2 ชั้น รูปที่ 24 - 27 ณ เวลาที่ 900 - 1200 [s] เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับระหว่างรูปที่ 24 ณ เวลาที่ 900 [s] พฤติกรรมการไหลของของไหลนั้นมีการพา และการแพร่กระจายของ SO_2 ลอยตัวสูงขึ้นโดยมีการหมุนวนในลักษณะทวนเข็มนาฬิกาเป็นวงกลมอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่ในการพาของของไหล และการแพร่กระจายของ SO_2 นั้นไม่สามารถลอยตัวขึ้นที่สูงเป็นผลเนื่องมาจากอิทธิพลของปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน เมื่อนำมาเทียบกับรูปที่ 25 ณ เวลาที่ 1000 [s] พฤติกรรมการไหลของของไหลมีการหมุนวนในลักษณะทวนเข็มนาฬิกาเป็นวงกลมซึ่งมีลักษณะคล้ายกับช่วง ณ เวลาที่ 900 [s] และเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงของชั้นความร้อน หรือที่เรียกว่า Moving Boundary อย่างเห็นได้ชัด

ส่วนรูปที่ 26- 27 ณ เวลาที่ 1100 - 1200 [s] เกิดการหมุนวนที่ตำแหน่งสูงขึ้นมีลักษณะเป็นวงกลมใหญ่ หมุนไปในทิศทางทวนเข็มนาฬิกา และเกิดการเปลี่ยนแปลงของชั้นความร้อน หรือ Moving Boundary ทั้ง 2 ช่วงความสูง ณ ความสูงที่ 500 – 600 เมตร และช่วง 3000 – 3500 เมตร ซึ่งเป็นอิทธิพลของปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน ทำให้เกิดการกดตัวลงโดยส่งผลให้การแพร่กระจายของ SO_2 ไม่สามารถลอยตัวขึ้นที่สูง และแพร่กระจายไปในตำแหน่งที่สูงขึ้นได้

สรุปผล

ในงานวิจัยนี้เป็นการใช้คอมพิวเตอร์ช่วยจำลองปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันทั้ง 2 แบบ โดยมีลักษณะปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันแบบชั้นความร้อน 1 ชั้น และ 2 ชั้น และในสภาพปกติ โดยการแพร่กระจายของความเข้มข้นของสาร แพร่กระจายเข้าสู่ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันซึ่งทำให้เกิดเป็นมลพิษหรือฝุ่น $\text{PM}_{2.5}$ โดยจำลองแบบเป็นสี่เหลี่ยม 2 มิติ โดยในแบบจำลองเป็น อากาศ และมีมลพิษแพร่กระจายผสมอยู่ในอากาศ และแบบจำลองปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันนี้เป็นแบบจำลองแบบของไหล ดังนั้นเพื่อคำนวณผล การทำนายผลของสาเหตุการเกิดฝุ่น และการสะสมของ $\text{PM}_{2.5}$ ได้อย่างมีประสิทธิภาพในขั้นตอนการทดลอง ในงานวิจัยนี้ได้เพิ่มขอบเขตของบรรยากาศ (Boundary Layer) หรือชั้นของความร้อนหรือฟังก์ชันความสูงของอุณหภูมิ $H(T)$ และความหนาแน่นของอุณหภูมิ $\rho(T)$ เพื่อคล้ายกับลักษณะความเป็นจริงมากที่สุด โดยขอบเขตเงื่อนไขการวิเคราะห์การไหลของของไหล เป็นการศึกษาในสมมติฐานบนพื้นฐานของสมการความต่อเนื่อง (Continuity Equation) และสมการโมเมนตัม (Momentum Equation) ส่วนขอบเขตเงื่อนไขการวิเคราะห์การถ่ายเทพลังงานความร้อนใช้สมมติฐานบนพื้นฐานของ สมการอนุรักษ์พลังงาน (Energy Equation) โดยการเพิ่มประสิทธิภาพการศึกษาจากการอธิบายด้วยสมการนำความร้อนกับสมการพาความร้อนในของไหล ร่วมกับสมการการแพร่กระจายของความเข้มข้นของสาร (Diffusion of Concentration) พบว่า ปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันมีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของ $\text{PM}_{2.5}$ เมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีการแพร่กระจายเพิ่มมากขึ้น และมีการสะสมของ $\text{PM}_{2.5}$ เพิ่มมากขึ้น ตัวแปรที่สำคัญต่อผลกระทบนี้คือความสูงกับอุณหภูมิ ทำให้ไม่สามารถระบาย $\text{PM}_{2.5}$ ทำให้เกิดการสะสมของ $\text{PM}_{2.5}$ เพราะฉะนั้นในสภาพปกติก็จะมีอิทธิพลตรงกันข้ามกับปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผัน โดยเมื่อเวลาเปลี่ยนไปมีการแพร่กระจายเพิ่มมากขึ้น การสะสมของ $\text{PM}_{2.5}$ ต่ำกว่า

ตอนที่เกิดปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันให้สามารถระบาย PM2.5 ได้ดีกว่าทำให้ไม่เกิดการสะสมของ PM2.5 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และความเข้มข้นเทียบกับเวลา ในปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันนั้นเริ่มชัดเจน ณ เวลาที่ 500 [s] เพราะเนื่องจากขอบเขตงานมีขนาดใหญ่ และมีความแตกต่างของอุณหภูมิในปริมาณไม่มาก ดังนั้นจึงพิจารณาอิทธิพลของปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันในช่วงเวลา 500 -1200 [s] การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ณ ความสูงต่าง ๆ ได้รับผลกระทบจากการพาความร้อน และการถ่ายเทความร้อนของ ๆ ไหล และในทางเดียวกันนั้นสนามและทิศทางการไหลความเร็วการไหลก็ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ณ ตำแหน่งช่วงความสูงต่าง ๆ ส่วนตัวแปรอื่น ๆ เป็นตัวแปรรองที่แทบจะไม่สามารถส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงหรือเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ค่าความเข้มข้นของสารพิษจะลดลงหรือเกิดการสะสมน้อยลง เกิดจากอุณหภูมิ ณ ความสูงที่เปลี่ยนแปลงและความเร็วที่พาผลพิษลอยตัวสูงขึ้น ถ้าหากอุณหภูมิของอากาศที่พื้นมีความต่างกับอุณหภูมิด้านบนโดยไม่มีชั้นความร้อนอยู่ภายในแบบจำลอง จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการระบายอากาศได้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะตำแหน่งที่พื้นมีอุณหภูมิสูงกว่าตำแหน่งด้านบน ทำให้เกิดการไหลเนื่องจากการพาความร้อน และการถ่ายเทความร้อนช่วยให้พาความเข้มข้นของสารพิษลอยตัวไปด้วย และช่วยลดการแพร่กระจายความเข้มข้นของสารพิษ ณ ตำแหน่งบริเวณพื้น

การศึกษาปรากฏการณ์อุณหภูมิผกผันในลักษณะการเกิดขึ้นความร้อน 1 และ 2 ชั้น สามารถอธิบายได้ว่าการเกิดอุณหภูมิผกผันทำให้เกิดการเก็บสะสมของ PM2.5 ณ ตำแหน่งต่าง ๆ และสาเหตุรวมถึงผลลัพธ์ของเหตุการณ์ในสถานที่จริงต่าง ๆ ที่มีการสะสมของ PM2.5

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาลัยธรรมศาสตร์ ที่ได้กรุณามอบทุนการศึกษาระดับ

บัณฑิตศึกษา และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Costa LG, Cole TB, Dao K, Chang Y, Garrick JM. Developmental impact of air pollution on brain function. *Neurochemistry International* (NCI). 2019;131:104580.
- Singh A, Pant P, Pope FD. Air quality during and after festivals. *Atmos Res.* 2019;227:220-32.
- Shendell D. Community outdoor air quality: sources, exposure agents and health outcomes. *Encyclopedia of Environmental Health.* 2011;791-805.
- Li Y, Yan J, Sui X. Tropospheric temperature inversion over central China. *Atmos Res.* 2012;116:105-15.
- Geng L, Wu Z, Zhang S, Zhou K. The end effect in air pollution: The role of perceived difference. *J Environ Manage.* 2019;232:413-20.
- Xu T, Song Y, Liu M, Cai X, Zhang H, Guo J, et al. Temperature inversions in severe polluted days derived from radiosonde data in North China from 2011 to 2016. *Sci Total Environ.* 2019;647:1011-20.
- Zang Z, Wang W, You W, Li Y, Ye F, Wang C. Estimating ground-level PM 2.5 concentrations in Beijing, China using aerosol optical depth and parameters of the temperature inversion layer. *Sci Total Environ.* 2017;575:1219-27.

8. Ganbat G, Baik J. Wintertime winds in and around the Ulaanbaatar metropolitan area in the presence of a temperature inversion. *The Asia-Pacific Journal of Atmospheric Sciences (APJAS)*. 2016;52:309–25.
9. Zhang Z, Li Y. Near-surface temperature inversion over the east china sea. *Earth and Environmental Science*. 2020;531:012048.
10. Milionis AE, Davies TD. Regression and stochastic models for air pollution-II. Application of stochastic models to examine the links between ground-level smoke concentrations and temperature inversions. *Atmos Environ*. 1994;28:2811-2822.
11. Santiago JL, Buccolieri R, Rivas E, Calvete-Sogo H, Sanchez B, Martilli A, et al. CFD modelling of vegetation barrier effects on the reduction of traffic-related pollutant concentration in an avenue of Pamplona, Spain. *Sustain Cities Soc*. 2019;48:101559.
12. Abed B, Benzerdjeb A, Hamidou M. A numerical analysis on the effect of turbulent schmidt number on numerical prediction of pollutant dispersion within street canyons. *The Eurasia Proceedings of Science Technology Engineering and Mathematics*. 2018;(4):230–40.
13. Jouberta P, Quéréb PL, Bégheina C, Collignanc B, Couturierc S, Glocknerd S, et al. A numerical exercise for turbulent natural convection and pollutant diffusion in a two-dimensional partially partitioned cavity. *INT J Therm Sci*. 2005;44(4):311-22.
14. Yuan Y, Yang K, Du C, Fu X. Study on Schmidt number of pollutant diffusion in urban street atmosphere. *Procedia Engineer*. 2017;205:1711-17.
15. Fish BR, Durham JL. Diffusion coefficient of SO₂ in air. *Environ Lett*. 1971;2(1):13-21.



การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณไมทราไจนีนในตัวอย่างเลือดและปัสสาวะด้วยออนไลน์ เอส พี อี ลิควิดโครมาโตกราฟี แมสสเปกโตรเมทรี

Method Validation for the Quantification of Mitragynine in Blood and Urine by Using Online Solid Phase Extraction Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
ภัทรพร ชดช้อย*

Phatraporn Chodchoy*

สาขานิติวิทยาศาสตร์และงานยุติธรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และกลุ่มงานพิษวิทยา สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ

Forensic Science and Criminal Justice, Faculty of Science, Silpakorn University and Toxicology Division, Institute of Forensic Medicine, THAILAND

*Corresponding author e-mail: Phatraporn.IFM@gmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 18 September, 2020

Revised: 16 November, 2020

Accepted: 29 December, 2020

Available online: 18 October, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.8

Keywords: mitragynine, urine, blood, online-SPE-LC-MS/MS

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) is a tropical plant in Thailand, which an addictive effect. Kratom is classified as a Penal Drug Category-5 of the Thai Narcotics Act 2522 (1979), the least restrictive and punitive level. Mitragynine is a major alkaloid of Kratom and is responsible for its opioid effects, which has pharmacological action. Therefore may increase the use of kratom by pretending to be medical benefits. This research aims to study method validation to quantify Mitragynine from Kratom in serum and urine by using Online-SPE-LC-MS/MS. This method has six topics for validation. First, the linearity has r^2 (0.995 - 1.000) in blood and urine equal to 0.9998 and 0.9992, respectively. Second, the specificity has not to be disturbed in the chromatogram of Mitragynine in the blood and urine. Third, the accuracy with %recovery ($\pm 15\%$) in blood and urine equal to 95.25-109.12% and 94.98-111.20%, respectively. Forth, the precision shows that the Intraday-Precision and Interday-Precision values are %RSD ($<15\%$) within acceptable levels in both blood and urine. Fifth, the

detection limit (S/N ratio > 3) in the blood and urine is equal to 0.20, 0.15 ng/mL, respectively. And sixth, the limit of quantitation (S/N ratio > 10) in the blood and urine is equal to 1.0, 2.0 ng/mL, respectively. The obtained LOQ has to be in the right criteria. The determination of Mitragynine in the blood and urine using this method is appropriate. This method could analyze samples precisely and reliably.

บทคัดย่อ

พืชกระท่อม (*Mitragyna speciosa* Korth) เป็นพืชพื้นเมืองในประเทศไทย ที่มีฤทธิ์ทำให้เสพติดได้ ดังนั้นกระท่อมจึงถูกจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 ตามพระราชบัญญัติ ยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 สารสำคัญที่พบในใบกระท่อม คือ ไมทราไจนีน (Mitragynine) เป็นสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จึงอาจทำให้มีการใช้กระท่อมเพิ่มมากขึ้น โดยแอบอ้างถึงประโยชน์ทางการแพทย์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของสารไมทราไจนีน ในตัวอย่างทางชีวภาพ ได้แก่ เลือดและปัสสาวะ ด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS โดยทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ 6 หัวข้อ พบว่าหัวข้อที่ 1 linearity มีค่า r^2 (0.995 – 1.000) ในเลือดและปัสสาวะ เท่ากับ 0.9998 และ 0.9992 ตามลำดับ หัวข้อที่ 2 specificity ไม่พบ peak อื่นรบกวนใน chromatogram ของสารไมทราไจนีนในเลือดและปัสสาวะ หัวข้อที่ 3 accuracy มีค่า %recovery ($\pm 15\%$) ในเลือดและปัสสาวะ เท่ากับ 95.25-109.12% และ 94.98-111.20% ตามลำดับ หัวข้อที่ 4 precision พบว่าค่า Intraday-Precision และ Interday-Precision มีค่า %RSD (< 15%) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทั้งในเลือดและปัสสาวะ หัวข้อที่ 5 limit of detection (S/N > 3) ในเลือดและปัสสาวะมีค่าเท่ากับ 0.20, 0.15 ng/mL ตามลำดับ และหัวข้อที่ 6 limit of quantitation (S/N > 10) ในเลือดและปัสสาวะมีค่าเท่ากับ 1.00, 2.00 ng/mL ตามลำดับ โดยค่า LOQ ที่ได้นั้นมี accuracy และ precision อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้น

การหาปริมาณสารไมทราไจนีน ในเลือดและปัสสาวะด้วยวิธีวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสม สามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้ถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้

คำสำคัญ: ไมทราไจนีน ตัวอย่างปัสสาวะ ตัวอย่างเลือด Online-SPE-LC-MS/MS

บทนำ

พืชกระท่อม มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Mitragyna speciosa* Korth. เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae สามารถพบได้ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศไทยและประเทศมาเลเซีย เนื่องจากพืชกระท่อมมีฤทธิ์ทำให้เสพติดได้ จึงถูกจัดเป็นยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 (1) สารที่พบได้ในกระท่อมเป็นส่วนใหญ่คือสารในกลุ่มอัลคาลอยด์รวม (Total Alkaloids) โดย อัลคาลอยด์ ที่พบได้มากที่สุดคือสารไมทราไจนีน (Mitragynine) ซึ่งเป็นสารหลักในการออกฤทธิ์ (2)

ไมทราไจนีน มีลักษณะเป็นผงสีขาว (White amorphous powder) มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{23}H_{30}N_2O_4$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 398.50 g/mol สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ และ ตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent) ได้แก่ อะซิโตน (Acetone), กรดแอซิติก (Acetic acid), คลอโรฟอร์ม (Chloroform) และ ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether) แต่ไม่สามารถละลายในน้ำได้ (2) โดยสารไมทราไจนีน มีคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์คือ มีความชอบไขมัน (lipophilic) โดยมีค่า log P เท่ากับ 1.73 และเป็นด่างอ่อนโดยมีค่า pKa เท่ากับ 8.1 ละลายได้ดีในกรดแต่เป็นสลายตัวได้ในสภาวะกรด (3)

ด้านเภสัชจลนศาสตร์พบว่าสารไมทราไจนีนสามารถดูดซึมได้เร็วเมื่อบริหารยาด้วยการรับประทาน และระดับยาในเลือดสามารถขึ้นถึงความเข้มข้นสูงสุดได้ในเวลาประมาณ 1.5 ชั่วโมง โดยระดับยาในเลือดสูงสุดเท่ากับ 0.3-1.8 μM และสาร ไมทราไจนีน มีค่าชีวประสิทธิผล (Bioavailability) ประมาณ 21% มีค่าการกระจายตัวของยา (Volume of distribution; Vd) เท่ากับ 37-90 L/kg มีค่าการรวมตัวกับโปรตีน (Protein binding) เท่ากับ 85-95% (3) มีการเปลี่ยนแปลงสภาพของยา ระยะที่ 1 และ 2 โดยเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) หมู่เมทิลเอสเทอร์ (Methylester) ที่ตำแหน่ง 16 และเกิดโอดีเมทิลเลชัน (O-demethylation) หมู่เมทอกซี (Methoxy) ที่ 9 และ 17 แล้ว เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) โดยเอนไซม์ไซโทโครม พี 450 (Cytochrome P450) (4) ที่มีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสารไมทราไจนีน คือเอนไซม์ไซโทโครมพี 450 สามเอสี่ (CYP3A4) ซึ่งนอกจากจะทำหน้าที่หลักในการเปลี่ยนแปลงสารไมทราไจนีน เพื่อขับออกจากร่างกายแล้วยังทำให้ได้ active metabolite ของไมทราไจนีน คือ ไฮดรอกซีไมทราไจนีน (7-Hydroxymitragynine) ในขณะที่สารไมทราไจนีน มีการเปลี่ยนแปลงผ่านเอนไซม์ ไซโทโครมพี 450 สองดีหก (CYP2D6) และ ไซโทโครมพี 450 สองซีเก้า (CYP2C9) เพียงเล็กน้อย (5) นอกจากนี้สารไมทราไจนีนยังมีผลต่อเอนไซม์ไซโทโครมพี 450 ด้วยเช่นกัน คือมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไซโทโครมพี 450 สองดีหกมากที่สุด และยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ไซโทโครมพี 450 สองซีเก้า และ ไซโทโครมพี 450 สามเอสี่ ได้ด้วย (4) ส่วนการขับออกของสารไมทราไจนีน พบว่าส่วนใหญ่ถูกขับออกในรูปเมแทบอไลต์ทางปัสสาวะ และมีค่าการกำจัดครึ่งชีวิต (Elimination half-life) เท่ากับ 3-9 ชั่วโมง (3)

ด้านเภสัชพลศาสตร์พบว่ามีการจับกับตัวรับโอปิออยด์ (Opioid receptor) และมีความชอบจับจากมากไปน้อยคือตัวรับแคปปา (κ), ตัวรับมิว (μ) และตัวรับเดลต้า (δ) โดยออกฤทธิ์เป็นแอนตาโกนิสต์ (Antagonist) ต่อตัวรับแคปปา และเป็นอะโกนิสต์ (Agonist) ต่อตัวรับ

มิว และ ตัวรับเดลต้า ซึ่งเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต่อจิตประสาท (Psychoactive) โดยมีคุณสมบัติลดการปวด (Analgesic) มีผลยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กทำให้มีฤทธิ์แก้ท้องเสีย นอกจากนี้ในระดับเซลล์สามารถปิดกั้นช่องแคลเซียม (Ca^{2+} channel) จึงสามารถลดการปลดปล่อยสารสื่อประสาท (Neurotransmitter) จาก ปลายประสาท (Nerve endings) ที่ วาส ดีเฟอเรนส์ (Vas deferens) ซึ่งเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางสรีรวิทยา และพบว่าสามารถเพิ่มระดับการคั่งของสารสื่อประสาทโมโนเอมีน (Monoamine neurotransmitter) สารสื่อประสาท ได้แก่ เซโรโทนิน (Serotonin), นอร์อะดรีนาลีน (Noradrenaline) และโดปามีน (Dopamine) จึงมีคุณสมบัติด้านการซึมเศร้า (Antidepressant effect) โดยสารไมทราไจนีน หากเสพในปริมาณน้อยมีฤทธิ์กระตุ้นประสาทคล้ายโคคา แต่หากเสพในปริมาณสูงจะออกฤทธิ์กดประสาทและทำให้เคลิ้มสุขเหมือนเสพยาจำพวกฝิ่น (4)

โดยพืชกระท่อมมีสรรพคุณในการรักษาอาการติดเชื่อในลำไส้ ท้องร่วง โรคบิด แก้วปวดมวนท้อง ท้องเพ้อ บรรเทาปวด ลดไข้ แก้ไอ (6) และยังนิยมใช้ในในกลุ่มผู้ใช้แรงงานที่ต้องการเพิ่มพลังกำลังและความสามารถในการทำงานให้นานขึ้น ส่วนใหญ่นิยมเสพยาพืชกระท่อมในรูปแบบของสูตรค็อกเทล 4x100 ที่ประกอบด้วยน้ำต้มใบกระท่อมผสมกับน้ำอัดลม ยาแก้ไอ และยาอื่น ๆ เช่น ยากลวย เครียด ยานอนหลับ ยาต้านการซึมเศร้า ยาแก้ปวด เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันมีการใช้พืชกระท่อมเพิ่มมากขึ้น โดยมักแอบอ้างถึงประโยชน์ทางการแพทย์

การหาปริมาณสารไมทราไจนีนในชีววัตถุ จะทำให้สามารถทราบได้ว่าการเสพยาพืชกระท่อมหรือไม่ และมีรูปแบบการเสพยาเดี่ยว ๆ หรือเสพร่วมกับยาหรือยาเสพติดอื่น ๆ ในรูปแบบของการเสพยาเพื่อความบันเทิง ดังนั้นเพื่อให้การวิเคราะห์หาปริมาณสารไมทราไจนีนในชีววัตถุ เป็นไปอย่างถูกต้องเหมาะสม จึงควรมีการหาความใช้ได้ของวิธีทดสอบก่อน โดยการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบคือ กระบวนการที่พิสูจน์ว่าวิธีทดสอบมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ทดสอบตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งาน โดย

จัดทำหลักฐานที่เป็นรูปธรรมเพื่อแสดงถึงคุณภาพ และระดับความน่าเชื่อถือของการทดสอบนั้น ๆ ภายใต้เงื่อนไขจำเพาะของวิธีทดสอบ

ทั้งนี้มีการศึกษาของ Vania Meireles และคณะ ทำการศึกษาผลทางคลินิก พิษวิทยา และการวิเคราะห์ผลระดับยาที่ส่งผลต่อสุขภาพของพืชกระท่อมซึ่งได้กล่าวถึงการใช้เทคนิควิธีวิเคราะห์ทั้งแบบ แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC) ซึ่งมีความจำเพาะสูง แต่จำเป็นต้องทำการเตรียมสารตัวอย่างให้เป็นอนุพันธ์ (Derivatization) และใช้อุณหภูมิสูงจึงทำให้การเลือกเฟ้นของแก๊สโครมาโทกราฟี (GC stationary phases) มีข้อจำกัด และแบบลิควิดโครมาโทกราฟี (Liquid chromatography ; LC) ซึ่งเป็นที่นิยมมากกว่า แต่อย่างไรก็ตามต้องมีขั้นตอนการสกัดตัวอย่างที่ดีเพื่อกำจัดสิ่งรบกวนในการวิเคราะห์ออกไป (7) โดยในงานวิจัยนี้เลือกเครื่องมือวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบออนไลน์ ร่วมกับ ลิควิดโครมาโทกราฟี แมสสเปกโตรเมตรี (Online-Solid phase extraction liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Online-SPE-LC-MS/MS) โดยเครื่องจะทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างได้ในคราวเดียว ซึ่งการสกัดตัวอย่างโดยเทคนิคนี้มีข้อดีคือ จะมีความเสถียรมากกว่า ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยกว่า ลดระยะเวลาการทำงาน ลดการใช้สารเคมีและลดอันตรายจากสารเคมีมากกว่าการสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (Solid phase extraction; SPE) หรือ การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (Liquid-liquid extraction; LLE)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของไมทราไจนีน ในตัวอย่างทางชีวภาพ ได้แก่ เลือดและปัสสาวะ ด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS เพื่อนำวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ ไมทราไจนีน ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 100 และ 1,000 ไมโครลิตร ไมโครทิวป์ (Microtube) ขนาด 2,000 ไมโครลิตร ขวดแก้วแอมเบอร์ (Amber Glass vial) ขนาด 1.5 ไมโครลิตร ฝาขวดสีฟ้า (Vial blue caps) ไมโครปิเปตทิป (Micropipette Tips) เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge machine) เครื่องลิควิดโครมาโทกราฟี รุ่น Thermo Scientific™ Dionex™ UltiMate™ 3000 RSLC แมสสเปกโตรมิเตอร์ รุ่น Thermo Scientific™ TSQ Quantiva™ คอลัมน์สำหรับการแยกสาร รุ่น Thermo Scientific™ HyperSep™ HPLC Columns for Online SPE คอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์สาร รุ่น Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ PFP HPLC Columns

1.2 สารเคมี

อะซิโตนไตริล (Acetonitrile) จากบริษัท Honeywell® เลือดเปล่าที่ไม่มีสารเจือปน (Blood blank sample) ปัสสาวะเปล่าที่ไม่มีสารเจือปน (Urine blank sample) น้ำปราศจากไอออน (Deionized water) สารละลายไตริมพรามินในเมทานอล (Trimipramine in methanol) จากบริษัท Sigma-Aldrich® สารมาตรฐานไมทราไจนีนในเมทานอล (Mitragynine standard in methanol) จากบริษัท Cerilliant® กรดฟอร์มิก (Formic acid) จากบริษัท Sharlau® เมทานอล (Methanol) จากบริษัท Honeywell® สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตในน้ำและเมทานอล (Ammonium acetate in water/methanol) (85:15 โดยปริมาตร) จากบริษัท Emsure®

1.3 เครื่องมือวิเคราะห์

วิเคราะห์หาปริมาณไมทราไจนีน ด้วยเครื่อง Online-SPE-LC-MS/MS ส่วนของคอลัมน์ที่ใช้ในการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPE column) ใช้คอลัมน์สำเร็จรูป Thermo Scientific HyperSep Retain Polar Enhanced

Polymer (PEP) โดยตั้งค่าสภาวะเครื่องดังนี้ อุณหภูมิภายในตู้อบสำหรับบรรจุคอลัมน์ (Column oven temperature) 55 องศาเซลเซียส

ระบบล้าง (Washing system) 10 นาที ป้อนตัวช่วยใช้อัตราการไหล 0.9 มิลลิลิตรต่อนาที เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ใช้ 0.5 เปอร์เซ็นต์ กรดฟอร์มิกในน้ำ ในอัตราส่วน 5 เปอร์เซ็นต์ และใช้ 0.5 เปอร์เซ็นต์ กรดฟอร์มิก ในอะซิโตนไตรล ในอัตราส่วน 95 เปอร์เซ็นต์ ป้อนตัวช่วยใช้อัตราการไหล 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ 2 มิลลิโมลาร์ แอมโมเนียม อะซิเตรต ในน้ำ ต่อเมทานอล (85:15) ในอัตราส่วน 100 เปอร์เซ็นต์

ระบบสมดุล (Equilibrium system) 5 นาที ป้อนตัวช่วยใช้อัตราการไหล 0.9 มิลลิลิตรต่อนาที เฟสเคลื่อนที่ ใช้ 0.5 เปอร์เซ็นต์ กรดฟอร์มิกในน้ำ ในอัตราส่วน 90 เปอร์เซ็นต์ และใช้ 0.5 เปอร์เซ็นต์ กรดฟอร์มิกในอะซิโตนไตรล ในอัตราส่วน 10 เปอร์เซ็นต์ ป้อนตัวช่วยใช้อัตราการไหล 3 มิลลิลิตรต่อนาที เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ 2 มิลลิโมลาร์ แอมโมเนียม อะซิเตรต ในน้ำ ต่อเมทานอล (85:15) ในอัตราส่วน 100 เปอร์เซ็นต์

และตั้งค่าสภาวะ แมสสเปกโตรมิเตอร์ดังนี้ แหล่งกำเนิดไอออน ชนิดอีทีเอ็กโตรสเปรย์ ไอออนในเซชัน (Heated ESI) ตัวพ่นไอออนบวก ความต่างศักย์ 3,500 โวลต์ ตัวพ่นไอออนลบ ความต่างศักย์ 2,500 โวลต์ ซิทแก๊ส 50 อาร์บิทารี ยูนิต (Arb) แก๊สช่วย (Auxiliary gas) 15 อาร์บิทารี ยูนิต, อุณหภูมิภายในท่อส่งผ่านไอออน (Ion transfer tube temp) 350 องศาเซลเซียส อุณหภูมิภายในเครื่องทำไอระเหย (Vaporizer temp) 400 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน สำหรับกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) และการควบคุมคุณภาพ (Quality control)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน ไมทราไจนีน สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 1.00, 10.00, 125.00, 250.00, 500.00 และ 1,000.00

นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และสำหรับการทำการควบคุมคุณภาพ (Quality control) ที่ความเข้มข้น 300.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในเลือดเปล่าที่ไม่มีสารเจือปน หรือ ปัสสาวะเปล่าที่ไม่มีสารเจือปน

3. การเตรียมตัวอย่าง

3.1 การเตรียมตัวอย่างเลือด

นำอะซิโตนไตรล 900 ไมโครลิตร กับ 5 พาร์ทเปอร์มิลเลียน (ppm; w/v) สารละลายไทรมิพรามินในเมทานอล (สารมาตรฐานภายใน; internal standard) 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติมตัวอย่างเลือดเปล่า 300 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำส่วนใสปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ลงในขวดแก้วขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อนำเข้าเครื่อง Online-SPE-LC-MS/MS แล้ววิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป

3.2 การเตรียมตัวอย่างปัสสาวะ

นำปัสสาวะส่วนใสปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมกับ 5 ppm สารละลายไทรมิพรามินในเมทานอล 20 ไมโครลิตร ใน ขวดแก้วขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อนำเข้าเครื่อง Online-SPE-LC-MS/MS แล้ววิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป

4. การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ (Method Validation)

4.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 10.00 125.00 250.00 500.00 และ 1,000.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อเตรียมกราฟมาตรฐาน โดยมีความเข้มข้นตั้งแต่ช่วง 1-1,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2 ความจำเพาะ (Specificity)

ทดสอบโดยการเตรียมตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐานลงไป (Spiked sample) ด้วยการเติมสารมาตรฐานรวม (Mixed standard) ทั้ง 5 ชนิด คือ เซทิรีซีน

(Cetirizine) ไดเฟนไฮโดรตามีน (Diphenhydramine) ไมทราไจนีน (Mitragynine) ไตรมิพรามิน (Trimipramine) และ ترامาดอล (Tramadol) ลงใน ตัวอย่างที่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Sample blank) ให้มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค การมอนิเตอร์ปฏิกิริยาที่เลือกแล้ว (Selected reaction monitoring; SRM) แล้วเปรียบเทียบกับโครมาโทแกรม (Chromatogram) ระหว่างสารทั้ง 5 ชนิด ซึ่งสารไมทราไจนีน มีพีคเป้าหมาย (Target peaks) ที่มีมวลตั้งต้น (Precursor mass) และ มวลผลิตภัณฑ์ (Product mass) คือ 399.230 และ 174.100 ตามลำดับ ใช้ พลังงานของการชน (Collision energy) เท่ากับ 30.00 และมี พี คยืนยัน (Confirming peaks) ที่มีมวลตั้งต้น และ มวลผลิตภัณฑ์ คือ 399.230 และ 159.100 ตามลำดับ ใช้พลังงานของการชน เท่ากับ 40.00

4.3 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

เตรียมสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 100.00 300.00 800.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในเลือดและ 100.00 300.00 750.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในปัสสาวะ ความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ จากนั้นวัดหาปริมาณไมทราไจนีน แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยและ ร้อยละการคืนกลับ (Percent recovery)

4.4 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน ไมทราไจนีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 100.00 300.00 800.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 100.00 300.00 750.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์เลือดและปัสสาวะตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 6 ซ้ำภายในวันเดียวกัน (Intraday-Precision) และระหว่างวัน (Interday-Precision) เป็นระยะเวลา 3 วัน จากนั้นวัดหาปริมาณไมทราไจนีน แล้วคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation; RSD)

4.5 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD)

เตรียมสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.10 0.15 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.10 0.15 0.25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์เลือดและปัสสาวะตามลำดับ ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ จากนั้นวัดค่าอัตราส่วนสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน (Signal to Noise ratio ; S/N ratio) โดยเลือกความเข้มข้นที่ให้ค่า S/N ratio > 3

4.6 ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation ; LOQ)

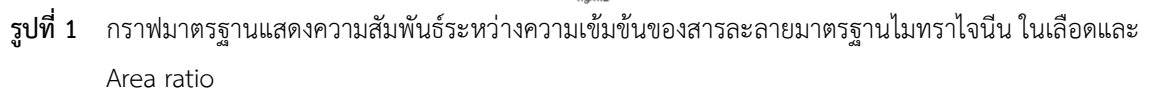
เตรียมสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 1.50 และ 2.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.00 2.00 และ 2.50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์เลือดและปัสสาวะตามลำดับ ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ จากนั้นวัดค่า S/N ratio โดยเลือกความเข้มข้นที่ให้ค่า S/N ratio > 10

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

1. การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด

จากการนำสารละลายมาตรฐาน ไมทราไจนีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน จำนวน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 10.00 125.00 250.00 500.00 และ 1,000.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบความสัมพัทธ์เชิงเส้นตรงด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS โดยการสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน และอัตราส่วนพื้นที่ (Area ratio) ที่วัดได้ พบว่าได้กราฟเส้นตรงดังรูปที่ 1 ซึ่งเมื่อคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (Coefficient of Determination; r^2) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.9998

สารอินทรกวนในโครมาโตแกรม (Chromatogram) ของสารไมทราไจนีน โดยเวลาที่สารไว้ในคอลัมน์ (Retention time; RT) เท่ากับ 3.46 3.30 3.41 3.50 และ 2.96 นาที ตามลำดับ ดังรูปที่ 2



ครั้งที่	ความเข้มข้น ไมทราไจนิน 100.00 (ng/ml)	%Recovery	ความเข้มข้น ไมทราไจนิน 300.00 (ng/ml)	%Recovery	ความเข้มข้น ไมทราไจนิน 800.00 (ng/ml)	%Recovery
1	98.57	98.57	309.87	103.29	761.96	95.25
2	99.11	99.11	315.48	105.16	766.31	95.79
3	100.40	100.40	327.36	109.12	797.58	99.70

ครั้งที่	ความเข้มข้น ไมทราไจนีน	%Recovery	ความเข้มข้น ไมทราไจนีน	%Recovery	ความเข้มข้น ไมทราไจนีน	%Recovery
	100.00 (ng/ml)		300.00 (ng/ml)		800.00 (ng/ml)	
4	96.50	96.50	320.88	106.96	791.93	98.99
5	95.17	95.17	322.41	107.47	793.07	99.13
6	100.81	100.81	313.76	104.59	820.74	102.59
ค่าเฉลี่ย	98.43	98.43	318.29	106.10	788.60	98.58

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นที่นำไปวิเคราะห์ ค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และค่า SD และ %RSD ของสารไมทราไจนีน ในตัวอย่างเลือด

ความเข้มข้นไมทราไจนีน (ng/ml)	Intraday-Precision			Interday-Precision		
	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
100.00	98.43	2.21	2.24	98.31	1.69	1.72
300.00	318.29	6.41	2.01	315.33	2.94	0.93
800.00	788.60	21.69	2.75	797.13	3.14	0.39

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 100.00 300.00 และ 800.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบความถูกต้องและความเที่ยงด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS พบว่าสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน 100.00 300.00 และ 800.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าความเข้มข้นของสารไมทราไจนีน เฉลี่ยเท่ากับ 98.43 318.29 และ 788.60 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาคำนวณหาค่า %recovery พบว่าค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น 100.00 300.00 และ 800.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 95.17-100.81 103.29-109.12 และ 95.25-102.59% ตามลำดับ ดังตารางที่ 1 และเมื่อนำมาทดสอบหาความแม่นยำ โดยคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความเข้มข้น 100.00 300.00 และ 800.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า Intraday-Precision มีค่าเท่ากับ 2.24 2.01 และ 2.75% ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน มีค่า Interday-Precision เท่ากับ 1.72 0.93 และ 0.39% ตามลำดับดังตารางที่ 2

จากการนำสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.10 0.15 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบ limit of detection ด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีค่า S/N ratio มากกว่า 3 ทั้ง 5 ซ้ำ คือ 0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยได้ค่า S/N ratio เท่ากับ 5.16 3.24 4.25 3.87 และ 3.79 ดังตารางที่ 3

จากการนำสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 1.50 และ 2.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบ limit of quantitation ด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีค่า S/N ratio มากกว่า 10 ทั้ง 5 ซ้ำ คือ 1.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยได้ค่า S/N ratio เท่ากับ 13.82, 14.89, 13.01, 13.01 และ 12.85 และเมื่อนำค่าความเข้มข้นของไมทราไจนีน ที่วัดได้มาคำนวณหา %recovery พบว่าได้ค่าอยู่ในช่วง 81.7-97.6% และเมื่อคำนวณหาค่า %RSD พบว่าได้ค่าเท่ากับ 7.47% ดังตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 3 การหาค่า LOD ของวิธีวิเคราะห์ จาก Signal to Noise (S/N) ratio ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในตัวอย่างเลือด

ทำซ้ำครั้งที่	ความเข้มข้นไมทราไจนีน	ความเข้มข้นไมทราไจนีน	ความเข้มข้นไมทราไจนีน
	0.10 (ng/ml)	0.15 (ng/ml)	0.20 (ng/ml)
1	2.06	1.95	5.16
2	3.96	3.31	3.24
3	3.57	3.71	4.25
4	1.95	4.42	3.87
5	1.98	2.78	3.79

ตารางที่ 4 การหาค่า LOQ ของวิธีวิเคราะห์ จาก Signal to Noise (S/N) ratio ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในตัวอย่างเลือด

ทำซ้ำครั้งที่	ความเข้มข้นไมทราไจนีน	ความเข้มข้นไมทราไจนีน	ความเข้มข้นไมทราไจนีน
	1.00 (ng/ml)	1.50 (ng/ml)	2.00 (ng/ml)
1	13.82	17.61	18.13
2	14.89	22.36	31.86
3	13.01	22.54	22.54
4	13.01	17.78	24.30
5	12.85	20.95	21.31

ตารางที่ 5 การหา Accuracy และ Precision ของ LOQ ในตัวอย่างเลือด

ทำซ้ำครั้งที่	ความเข้มข้นของสารไมทราไจนีน 1.00 ng/ml		
	Signal to Noise (S/N) ratio	ค่าที่วัดได้ (ng/ml)	%Recovery
1	13.82	0.98	97.6
2	14.89	0.84	84.1
3	13.01	0.84	83.5
4	13.01	0.85	85.2
5	12.85	0.82	81.7
ค่าเฉลี่ย		0.87	
SD		0.06	
%RSD		7.47	

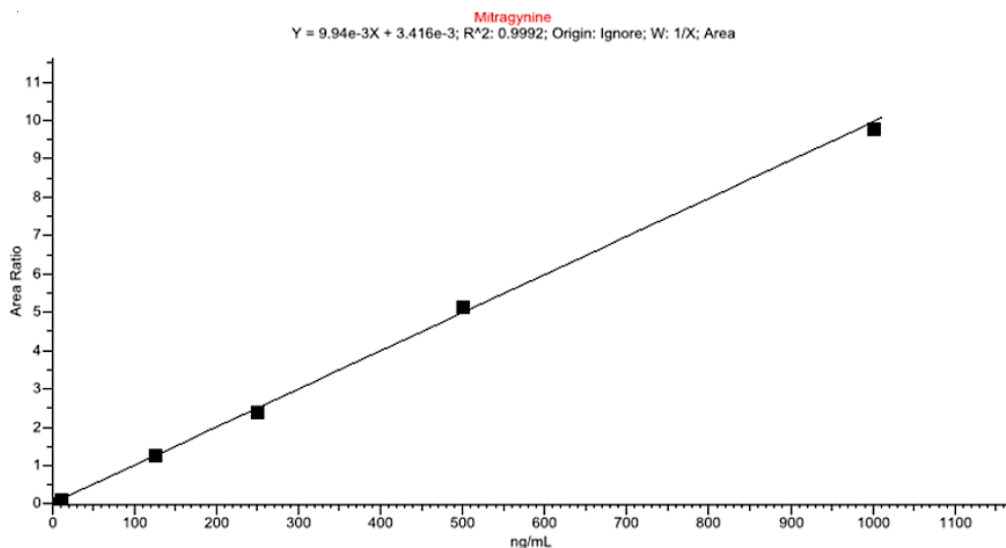
2. การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ตัวอย่าง
ปัสสาวะ

จากการนำสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน
จำนวน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 10.00 125.00 250.00

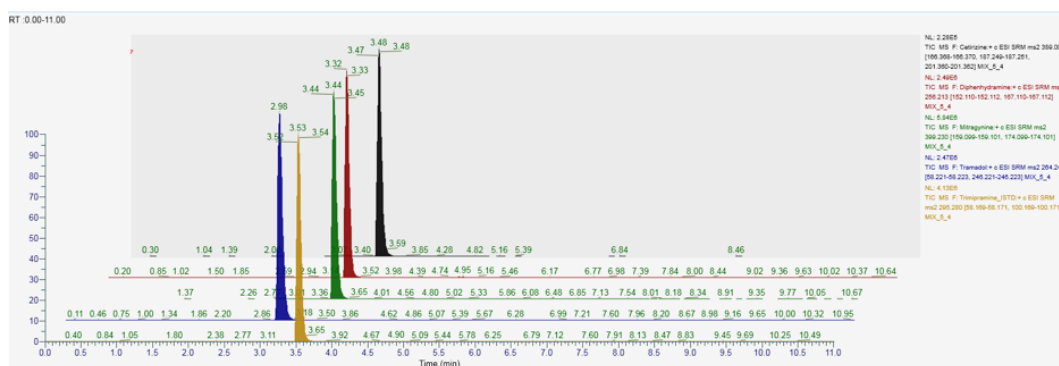
500.00 และ 1,000.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบ
ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS
โดยการสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน และ

อัตราส่วนพื้นที่ ที่วัดได้ พบว่าได้กราฟเส้นตรงดังรูปที่ 3 ซึ่งเมื่อคำนวณหาค่า r^2 พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.9992 จากการเติมสารมาตรฐานรวม (Mixed standard) ทั้ง 5 ชนิด คือ เซทริซีน ไดเฟนไฮดรามีน ไมทราไจนีน ไตรมิพรามิน และ ทรามาดอล ลงปัสสาวะเปล่า เพื่อทดสอบความจำเพาะ นั้น

ไม่พบพีคของสารอื่นรบกวนในโครมาโตแกรม ของสารไมทราไจนีน โดยเวลาที่สารใช้ในคอลัมน์ (Retention time; RT) เท่ากับ 3.48 3.33 3.45 3.54 และ 2.98 นาที ตามลำดับ ดังรูปที่ 4



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน ในปัสสาวะและ area ratio



รูปที่ 4 การทดสอบความจำเพาะ (Specificity) ของสารมาตรฐานในปัสสาวะ

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 100.00 300.00 และ 750.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบความถูกต้องและความเที่ยงด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS พบว่าสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน 100 300 และ 750 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าความเข้มข้นของสารไมทราไจนีน เฉลี่ยเท่ากับ 101.55 296.68 และ 737.86 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาคำนวณหาค่า %recovery พบว่าค่าเฉลี่ยของความเข้มข้น 100.00 300.00 และ 750.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าอยู่ในช่วง 94.98-111.20 96.99-103.34 และ 95.82-102.96% ตามลำดับ ดังตารางที่ 6 และเมื่อนำมาทดสอบหาความแม่นยำ โดยคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความเข้มข้น 100.00 300.00 และ 750.00 นาโนกรัม

ต่อมิลลิลิตร พบว่าค่า Intraday-Precision มีค่าเท่ากับ 6.25 2.29 และ 2.94% ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวันมีค่า Interday-Precision เท่ากับ 6.06 1.57 และ 1.29% ตามลำดับ ดังตารางที่ 7

จากการนำสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.10 0.15 0.25 นาโนกรัม

ต่อมิลลิลิตร มาทดสอบ limit of detection ด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีค่า S/N ratio มากกว่า 3 ทั้ง 5 ซ้ำ คือ 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยได้ค่า S/N ratio เท่ากับ 4.29 6.46 5.46 5.25 และ 3.44 ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นที่นำไปวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และ %Recovery ของสารไมทราไจนีน ในตัวอย่างปัสสาวะ

วันที่	ความเข้มข้น ไมทราไจนีน 100.00 (ng/ml)	%Recovery	ความเข้มข้น ไมทราไจนีน 300.00 (ng/ml)	%Recovery	ความเข้มข้น ไมทราไจนีน 750.00 (ng/ml)	%Recovery
1	107.15	107.15	310.01	103.34	756.39	100.85
2	100.36	100.36	293.72	97.91	722.56	96.34
3	99.19	99.19	296.66	98.89	772.17	102.96
4	96.39	96.39	290.99	96.99	734.52	97.94
5	94.98	94.98	295.23	98.41	722.90	96.39
6	111.20	111.20	293.48	97.83	718.62	95.82
ค่าเฉลี่ย	101.55	101.55	296.68	98.90	737.86	98.38

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นที่นำไปวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และค่า SD และ %RSD ของสารไมทราไจนีน ในตัวอย่างปัสสาวะ

ความเข้มข้น ไมทราไจนีน (ng/ml)	Intraday-Precision			Interday-Precision		
	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
100.00	101.55	6.34	6.25	103.51	6.27	6.06
300.00	296.68	6.80	2.29	293.05	4.60	1.57
750.00	737.86	21.72	2.94	748.36	9.69	1.29

จากการนำสารละลายมาตรฐานไมทราไจนีน จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.00 2.00 และ 2.50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบ limit of quantitation ด้วยวิธี Online-SPE-LC-MS/MS พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีค่า S/N ratio มากกว่า 10 ทั้ง 5 ซ้ำ คือ 2.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยได้ค่า S/N ratio เท่ากับ 17.82

19.86 19.91 19.36 และ 23.14 และเมื่อนำค่าความเข้มข้นของ ไมทราไจนีน ที่วัดได้มาคำนวณหา %recovery พบว่าได้ค่าอยู่ในช่วง 87.5-109.5% และเมื่อคำนวณหาค่า %RSD พบว่าได้ค่าเท่ากับ 8.63% ดังตารางที่ 9 และ 10

ตารางที่ 8 การหาค่า LOD ของวิธีวิเคราะห์ จาก Signal to Noise (S/N) ratio ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในตัวอย่างปัสสาวะ

ทำซ้ำครั้งที่	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น	ความเข้มข้น
	ไมทราไจนีน	ไมทราไจนีน	ไมทราไจนีน
	0.10 (ng/ml)	0.15 (ng/ml)	0.25 (ng/ml)
1	6.55	4.29	12.99
2	6.07	6.46	26.63
3	4.26	5.46	27.86
4	2.44	5.25	17.17
5	2.10	3.44	12.39

ตารางที่ 9 การหาค่า LOQ ของวิธีวิเคราะห์ จาก Signal to Noise (S/N) ratio ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในตัวอย่างปัสสาวะ

ทำซ้ำครั้งที่	ความเข้มข้นไมทราไจนีน	ความเข้มข้นไมทราไจนีน	ความเข้มข้นไมทราไจนีน
	1.00 (ng/ml)	2.00 (ng/ml)	2.50 (ng/ml)
1	6.83	17.82	15.96
2	4.37	19.86	24.12
3	18.45	19.91	21.92
4	10.24	19.36	18.96
5	-	23.14	14.53

ตารางที่ 10 แสดงการหา accuracy และ precision ของ LOQ ในตัวอย่างปัสสาวะ

ทำซ้ำครั้งที่	ความเข้มข้นของสารไมทราไจนีน 2.00 ng/ml		
	Signal to Noise (S/N) ratio	ค่าที่วัดได้ (ng/ml)	%Recovery
1	17.82	1.75	87.5
2	19.86	2.19	109.5
3	19.91	2.12	106
4	19.36	2.05	102.5
5	23.14	1.93	96.5
ค่าเฉลี่ย		2.01	
SD		0.17	
%RSD		8.63	

สรุปผล

การทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ (Method Validation) ซึ่งอ้างอิงเกณฑ์จาก Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry 2018 (8) โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาสหรัฐอเมริกา ทำการทดสอบ 6 หัวข้อ พบว่า หัวข้อที่ 1 ความเป็นเส้นตรง มีค่า r^2 (0.995 – 1.000) ในเลือดและปัสสาวะ เท่ากับ 0.9998 และ 0.9992 ตามลำดับ หัวข้อที่ 2 ความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์ ไม่พบฟิคของสาร อื่นรบกวนในโครมาโตแกรม ของสารไมทราไจนิน ในเลือดและปัสสาวะ หัวข้อที่ 3 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ มีค่า %recovery ($\pm 15\%$) ในเลือดและปัสสาวะ เท่ากับ 95.25-109.12% และ 94.98-111.20% ตามลำดับ หัวข้อที่ 4 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ค่า Intraday-Precision และ Interday-Precision มีค่า %RSD ($< 15\%$) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทั้งในเลือดและปัสสาวะ หัวข้อที่ 5 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (S/N ratio > 3) ในเลือดและปัสสาวะมีค่า เท่ากับ 0.20 และ 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และหัวข้อที่ 6 ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (S/N ratio > 10) ในเลือดและปัสสาวะมีค่า เท่ากับ 1.0 และ 2.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยค่า LOQ ที่ได้นั้นมีความเที่ยงและความแม่นยำ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้นการหาปริมาณไมทราไจนิน ในเลือดและปัสสาวะด้วยวิธีวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสม สามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ กลุ่มงานพิษวิทยา สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ ที่กรุณาให้ความสะดวกในการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Narcotics Act (No. 7) B.E. 2562 (2019). Government Gazette Volume 136, Part 19 (dated 18 February 2019). Thai.
2. Kratom (*Mitragyna speciosa*) drug profile [Internet]. Portugal: The European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. [cited 2021 Jul 2]. Available from: <https://www.emcdda.europa.eu/publication/s/drug-profiles/kratom>.
3. Ya K, Tangamornsuksan W, Scholfield CN, Methaneethorn J, Lohitnavy M. Pharmacokinetics of mitragynine, a major analgesic alkaloid in kratom (*Mitragyna speciosa*): A systematic review. Asian J Psychiatr. 2019;43:73–82.
4. Suhaimi FW, Yusoff NHM, Hassan R, Mansor SM, Navaratnam V, Müller CP, et al. Neurobiology of Kratom and its main alkaloid mitragynine. Brain Res Bull. 2016;126(Pt 1):29–40.
5. Kamble SH, Sharma A, King TI, León F, McCurdy CR, Avery BA. Metabolite profiling and identification of enzymes responsible for the metabolism of mitragynine, the major alkaloid of *Mitragyna speciosa* (kratom). Xenobiotica. 2019;49(11):1279–88.
6. Wangsinthaveeku C. Kratom (Kratom) [Internet]. 2017 [accessed 25 Nov. 2019]. Accessed from: <http://ccpe.pharmacycouncil.org>. Thai.
7. Meireles V, Rosado T, Barroso M, Soares S, Gonçalves J, Luís Â, et al. *Mitragyna speciosa*:

Clinical, Toxicological Aspects and Analysis in Biological and Non-Biological Samples. Med (Basel, Switzerland). 2019;6(1):35.

8. Guidance for industry-Bioanalytical method validation [Internet]. United States: U.S. Department of Health and Human Services,

Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine. 2018 [cited 2019 Nov 10]. Available from: <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf>



คุณภาพทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยาของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนที่จำหน่ายใน
จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

Physical, Chemical and Microbiological Quality of Opaque-Plastic Bottled Drinking Water Distributed in Chon Buri Province, Thailand

สุบัณฑิต นิมรัตน์^{1*} อภิญญา จิตต์อารี¹ และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย²

Subuntith Nimrat^{1*} Apinya Jitaree² and Verapong Vuthiphandchai²

¹ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง จ.ชลบุรี

²ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง จ.ชลบุรี

¹Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri 20131, THAILAND

²Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri 20131, THAILAND

*Corresponding author e-mail: subunti@buu.ac.th

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 28 June, 2021

Revised: 9 August, 2021

Accepted: 23 August, 2021

Available online: 28 October, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.9

Keywords: bottled drinking water, pH, total solids, Chon Buri, coliform bacteria

This study was conducted to assess physical quality (label information, water characteristic, odor, manufacturing date/expiry date (MFD/EXD), and pH), chemical quality (total solids) and microbiological quality (coliform and fecal coliform bacteria, *E. coli*) of 45 opaque-plastic bottled drinking water sold in Mueng district, Chon Buri province. All tested opaque-plastic bottled drinking water products were clear, odorless, and had pH and total solid values ranging from 5.53-7.51 and 1.0-147.0 mg/L, respectively. In addition, all samples represented coliform and fecal coliform bacteria less than 2 MPN/100 mL and were devoid of *E. coli*. In accordance with the standard for drinking water in sealed container imposed by Ministry of Public Health, opaque-plastic bottled drinking water (8 samples; 17.8%) did not meet the criterion because of pH values lower than standard value (6.5–8.5). Also, all drinking water samples (100%) did not abide by the standard due to the absence of MFD/EXD on the labels with the presence of only label information

related to company name and place of manufacture. Therefore, consumers should consciously choose the opaque bottled drinking water products with guarantee of quality.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ประเมินคุณภาพทางกายภาพ (รายละเอียดฉลาก ลักษณะน้ำดื่ม กลิ่น วันผลิต-วันหมดอายุ ค่าความเป็นกรด-ด่าง) คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งทั้งหมด และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ฟีคัลโคลิฟอร์ม และ *E. coli* ของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกชนิดที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี จำนวน 45 ตัวอย่าง จากการศึกษาพบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดทุกตัวอย่างมีลักษณะใส ไม่มีกลิ่น มีค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ในช่วง 5.53 – 7.51 และ 1.0 – 147.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ น้ำดื่มทุกตัวอย่างมีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2 เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร และตรวจไม่พบ *E. coli* เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มในภาชนะบรรจุปิดสนิทของกระทรวงสาธารณสุข พบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกชนิดที่จำหน่ายจำนวน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 17.8 ไม่ผ่านมาตรฐานค่าความเป็นกรด-ด่างที่กำหนดให้มีค่าอยู่ในช่วง 6.5 – 8.5 และน้ำดื่มทุกตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 100 ไม่ผ่านมาตรฐาน เนื่องจากไม่ระบุวันผลิตหรือวันหมดอายุบนฉลากผลิตภัณฑ์ โดยมีการระบุแค่เพียงรายละเอียดของสถานที่และชื่อบริษัทที่ผลิตเท่านั้น ดังนั้นผู้บริโภคจึงควรตระหนักถึงการเลือกซื้อน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกชนิดที่มีคุณภาพได้มาตรฐาน

คำสำคัญ: น้ำดื่มบรรจุขวด ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งทั้งหมด ชลบุรี แบคทีเรียโคลิฟอร์ม

บทนำ

น้ำมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดรวมทั้งมนุษย์ โดยร่างกายของมนุษย์มีน้ำเป็นส่วนประกอบมาก

ถึงร้อยละ 70 ของน้ำหนักตัว (1) น้ำมีบทบาทหน้าที่สำคัญต่อร่างกาย เช่น ช่วยในการดูดซึมสารอาหารและกระบวนการย่อยอาหาร น้ำในเลือดช่วยในการนำสารอาหารไปหล่อเลี้ยงทั่วร่างกาย น้ำยังช่วยรักษาความชุ่มชื้นของผิวหนัง การรักษามวลของความเป็นกรด-ด่างในร่างกาย จะเห็นได้ว่าน้ำมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตเป็นอย่างมาก (2) ปัจจุบันจำนวนประชากรเพิ่มมากขึ้น วิถีชีวิตและพฤติกรรมของผู้คนส่วนใหญ่มักดำเนินไปอย่างเร่งรีบและใช้เวลาส่วนใหญ่ในแต่ละวันในการทำงาน รวมทั้งสภาพอากาศและคุณภาพทางสิ่งแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่แย่ลง ประกอบกับผู้คนหันมาใส่ใจในสุขภาพเพิ่มมากขึ้น จนอาจกล่าวได้ว่าปัจจัยเหล่านี้เป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์น้ำดื่มได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากขึ้น อีกทั้งผลิตภัณฑ์น้ำดื่มยังมีราคาที่ถูกกว่าเครื่องดื่มประเภทอื่น มีหลากหลายรูปแบบให้เลือกซื้อตั้งแต่ขวดพลาสติก ขวดแก้วหรือในรูปแบบแก้วน้ำขนาดเล็ก และมีจำหน่ายตั้งแต่ร้านค้าปลีกขนาดเล็ก ซูเปอร์มาร์เก็ต จนถึงห้างสรรพสินค้าขนาดใหญ่ ทำให้มีความสะดวกในการเลือกซื้อและตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค น้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคสูงมาก เป็นธุรกิจที่มีการเติบโตอย่างต่อเนื่องและมีส่วนแบ่งทางการตลาดสูงกว่าผลิตภัณฑ์น้ำดื่มประเภทอื่น โดยมีมูลค่าทางการตลาดสูงถึง 4.53 หมื่นล้านบาท ในปี พ.ศ. 2562 น้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกที่จำหน่ายในประเทศไทยแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่ น้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกใสที่ทำมาจากพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน เทเรฟทาเลต (Polyethylene terephthalate หรือ PET) และขวดพลาสติกชนิดที่ผลิตจากพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (Polyethylene หรือ PE) ถึงแม้ว่าน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกชนิดนี้จะได้รับความนิยมต่ำกว่าขวดพลาสติก

ใส แต่น้ำดื่มบรรจุขวดชนิดนี้ยังคงมีการจำหน่ายอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ต่างจังหวัด เนื่องจากพลาสติกชนิดนี้มีราคาต่อหน่วยต่ำ ทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิไม่เกิน 80 องศาเซลเซียส ได้ดี (3) มีความยืดหยุ่น ไม่แตกง่าย จึงทำให้โรงงานขนาดเล็กและโรงงานที่ผลิตน้ำดื่มเองใช้วัสดุชนิดนี้ในการผลิตน้ำดื่ม อย่างไรก็ตาม ข้อเสียของขวดพลาสติกชนิดนี้ คือ ป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ไม่ดีทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันส่งผลให้กลิ่นของน้ำดื่มเปลี่ยนแปลงไป ผู้บริโภคทั่วไปมักพิจารณาเพียงความใสของน้ำดื่มบรรจุขวด แต่ทว่าความใสนั้นอาจมีความบริสุทธิ์และคุณภาพแตกต่างกัน ซึ่งคุณภาพน้ำดื่มสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ ด้านกายภาพ ได้แก่ ความขุ่น สี รส กลิ่นและค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งหากมีความผิดปกติไม่ควรนำมาบริโภค ด้านเคมี ได้แก่ ปริมาณสารทั้งหมดที่มองเห็นและมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ความกระด้าง ปริมาณแร่ธาตุ ปริมาณโลหะหนัก เป็นต้น โดยปริมาณของแข็งในน้ำดื่มที่มีปริมาณสูงอาจทำให้เกิดความกระด้างของน้ำ ซึ่งมีผลเกี่ยวเนื่องต่อสุขภาพของมนุษย์ (4) และสุดท้ายด้านจุลินทรีย์ ได้แก่ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค แบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *E. coli* (5-6) โดยแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และ *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบ ถูกนำมาใช้เป็นแบคทีเรียดัชนีบ่งชี้ถึงโอกาสการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคทางอาหารบางชนิด เช่น *Vibrio cholerae*, *Shigella flexneri*, *S. dysenteriae* และ *Salmonella* spp. ในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่มและน้ำดื่มตามประกาศของสำนักงานควบคุม ดูแลและตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารของประเทศไทยและนานาชาติ (7) จากการศึกษาคุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดที่จำหน่ายในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย เช่น จังหวัดน่านและมหาสารคาม พบอุบัติการณ์การปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์มสูงเกินมาตรฐานร้อยละ 10-12 (8-9) รวมทั้งน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นในจังหวัดระยอง บุรีรัมย์และอ่างทอง ทุกตัวอย่างไม่ระบุวันผลิต-วันหมดอายุบนฉลากผลิตภัณฑ์

และตัวอย่างส่วนใหญ่มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน ๆ ไม่ผ่านมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข (10-12) แสดงให้เห็นว่าน้ำดื่มบรรจุขวดที่จำหน่ายในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นอาจสร้างอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้

จังหวัดชลบุรีเป็นจังหวัดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งในด้านพาณิชยกรรมและอุตสาหกรรมต่าง ๆ รวมทั้งเป็นที่ตั้งของแหล่งท่องเที่ยวที่มีชื่อเสียงและได้รับความนิยมของคนไทย เช่น หาดบางแสน เขาสามมูข สวนสัตว์เปิดเขาเขียว หาดพัทยา เป็นต้น (13) ทำให้เป็นพื้นที่ที่มีประชากรอาศัยอย่างหนาแน่นและมีนักท่องเที่ยวเดินทางเข้ามาในพื้นที่จำนวนมาก จึงมีการจับจ่ายใช้สอยสินค้าอุปโภคบริโภคจำนวนมากตามไปด้วย โดยน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นเป็นสินค้าประเภทหนึ่งที่ยังได้รับความนิยม เนื่องจากมีราคาถูกกว่าน้ำดื่มประเภทอื่นและหาซื้อได้ในร้านค้าทั่วไปในพื้นที่จังหวัดชลบุรี ดังนั้นเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้ตระหนักถึงความปลอดภัยในการบริโภคน้ำดื่มของนักท่องเที่ยวและประชาชนทั่วไป การศึกษาในครั้งนี้จึงตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ การติดฉลาก ลักษณะน้ำดื่ม กลิ่นและค่าความเป็นกรด-ด่าง คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งทั้งหมด และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นที่จำหน่ายในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างและบันทึกรายละเอียดบางประการของน้ำดื่มบรรจุขวด

เก็บตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นจำนวน 45 ตัวอย่าง จากร้านค้าในเขตอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี การสุ่มซื้อไม่มีการเลือกลักษณะร้านค้าทั้งในเขตชนบทและเขตชุมชนเมือง จากนั้นบันทึกคุณภาพบางประการของตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวด ได้แก่ ยี่ห้อ รายละเอียดบนฉลาก (ชื่อบริษัทและสถานที่ตั้ง) วันผลิต/หมดอายุ (14)

การทดสอบลักษณะทางกายภาพ

ตรวจกลิ่นของน้ำโดยการเปิดฝาและดมกลิ่นจากขวด (15) และสังเกตความใสของน้ำดื่มด้วยตาเปล่า จากนั้นวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Denver, Ultrabasic UB 10, Goettingen, Germany) ที่ได้ปรับเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างกับสารละลายมาตรฐาน (15) โดยตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างจำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้คำนวณค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด

ชั่งน้ำหนักด้วยกระเบื้องเคลือบที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo AT 200, Greifensee, Switzerland) จากนั้นนำตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ นำไประเหยจนแห้งในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Mettmert, Schwabach, Germany) ที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาระเหยจนแห้งสนิทในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 1 ชั่วโมง เก็บถ้วยกระเบื้องเคลือบในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนัก แล้วนำถ้วยกระเบื้องเคลือบอบซ้ำอีกครั้ง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักอีกครั้ง คำนวณผลต่างของน้ำหนักครั้งก่อน ถ้าผลต่างเกิน 0.5 มิลลิกรัม ให้อบซ้ำจนน้ำหนักที่ชั่งติดต่อกัน 2 ครั้งต่างกันไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม คำนวณปริมาณของแข็งทั้งหมดตามวิธีการของ APHA (15)

การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม พิคัลโคลิฟอร์ม และ *E. coli* โดยวิธี Most Probable Number (16)

1. การทดสอบขั้นแรก

ปิเปตตัวอย่างน้ำลงในอาหาร Lauryl Tryptose broth (LST) 10 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 2 เท่า จำนวน 5 หลอด ๆ ละ 10 มิลลิลิตร และปิเปตตัวอย่างน้ำลงในอาหาร LST 10 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้น 1 เท่า หลอดละ

1 และ 0.1 มิลลิลิตร อย่างละ 5 หลอด ตามลำดับ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง เลือกหลอด LST ที่ให้ผลบวก (ขุ่น อาหารมีสีเหลืองและมีก๊าซใน Durham tube) ไปทดสอบในขั้นยืนยันต่อไป

2. การทดสอบขั้นยืนยัน

การตรวจแบคทีเรียโคลิฟอร์มทำได้โดยนำหลอด LST ที่ให้ผลบวกถ่ายเชื้อลงในอาหาร Brilliant Green Lactose Bile broth (BGLB) ด้วยหลอดเชื้อช้อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง สวนการตรวจแบคทีเรียฟัลคูลิฟอร์มทำได้โดยนำหลอด LST ที่ให้ผลบวกถ่ายเชื้อลงใน *Escherichia coli* (EC) medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.2 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนหลอด BGLB ที่ให้ผลบวก (ขุ่นและมีก๊าซใน Durham tube) นำไปเทียบกับตาราง Most Probable Number (MPN) จะได้ค่าเอ็มพีเอ็นโคลิฟอร์มต่อ 100 มิลลิลิตร และนับจำนวนหลอด EC ที่ให้ผลบวก (ขุ่นและมีก๊าซใน Durham tube) นำไปเทียบกับตาราง MPN จะได้ค่าเอ็มพีเอ็นฟัลคูลิฟอร์มต่อ 100 มิลลิลิตร

3. การทดสอบขั้นสมบูรณ์ของ *E. coli*

นำหลอด BGLB และ/หรือ EC ที่ให้ผลบวกไปเชื้อลงบนอาหาร Eosin Methylene Blue agar (EMB) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *E. coli* มีสีเขียวสะท้อนเงาโลหะ (Metallic sheen) นำไปย้อมแกรมและศึกษาสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเปรียบเทียบกับ *E. coli* ATCC 25922 และทดสอบยืนยันโดยใช้ IMViC test ที่ประกอบด้วย Indole production test, Methyl red test, Voges-proskauer test และ Citrate utilization test

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ผลการทดลอง

คุณภาพทางกายภาพบางประการของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมืองชลบุรี พบว่าน้ำดื่มทุกตัวอย่าง (ร้อยละ 100) ระบุรายละเอียดของสถานที่ ชื่อบริษัทผลิต แต่ไม่ระบุวันผลิตหรือวันหมดอายุบนฉลากผลิตภัณฑ์ ทำให้ทุกตัวอย่างไม่ผ่านมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 383 พ.ศ. 2560 เรื่องการแสดงฉลากของอาหารในภาชนะบรรจุ (17) การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพอื่น ๆ ได้แก่ ลักษณะของน้ำดื่มที่บรรจุภายในขวด กลิ่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าลักษณะของน้ำดื่มที่ปรากฏทุกตัวอย่างมีลักษณะใส ไม่มีกลิ่น และมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.53 ± 0.14 ถึง 7.51 ± 0.09 (ตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524 ที่กำหนดค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 6.5-8.5 และต้องไม่มีกลิ่น (18) พบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดชนิด

พลาสติกขุ่นที่ทำการศึกษานี้ไม่ผ่านมาตรฐานค่าความเป็นกรด-ด่าง จำนวน 5 ยี่ห้อ (8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 17.8) ได้แก่ น้ำดื่มยี่ห้อ A (3 ตัวอย่าง) C (1 ตัวอย่าง) D (2 ตัวอย่าง) F (1 ตัวอย่าง) และ O (1 ตัวอย่าง) (ตารางที่ 1)

การตรวจสอบลักษณะทางเคมี คือ ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำดื่มพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1.0 ± 0.0 ถึง 147.0 ± 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524 (18) ที่กำหนดไว้ให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 1)

การตรวจสอบคุณภาพทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม ฟีคัลโคลิฟอร์ม และ *E. coli* พบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นทุกตัวอย่างมีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟีคัลโคลิฟอร์ม น้อยกว่า 2 เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิลิตร และตรวจไม่พบ *E. coli* ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524 (18)

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีบางประการของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมืองจังหวัดชลบุรี

ยี่ห้อ	หมายเลขตัวอย่าง	ลักษณะทางกายภาพ			ปริมาณของแข็งทั้งหมด* (มก/ล)	คุณภาพน้ำดื่มตามมาตรฐาน
		ลักษณะน้ำ	กลิ่น*	ค่าความเป็นกรด-ด่าง*		
A	1	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.32 ± 0.10	5.0 ± 1.0	ไม่ผ่าน
	2	ใส	ไม่มีกลิ่น	5.97 ± 0.10	8.7 ± 1.5	ไม่ผ่าน
	3	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.18 ± 0.02	10.3 ± 3.1	ไม่ผ่าน
B	4	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.61 ± 0.07	110.7 ± 1.5	ผ่าน
	5	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.75 ± 0.05	114.0 ± 2.0	ผ่าน
	6	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.75 ± 0.02	115.3 ± 1.5	ผ่าน
C	7	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.91 ± 0.08	109.5 ± 0.7	ผ่าน
	8	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.51 ± 0.09	116.5 ± 0.7	ผ่าน
	9	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.47 ± 0.06	127.0 ± 1.4	ไม่ผ่าน

ยี่ห้อ	หมายเลขตัวอย่าง	ลักษณะทางกายภาพ			ปริมาณของ แข็งทั้งหมด* (มก/ล)	คุณภาพน้ำดื่ม ตามมาตรฐาน
		ลักษณะน้ำ	กลิ่น*	ค่าความเป็นกรด-ด่าง*		
D	10	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.54 ± 0.27	3.0 ± 1.7	ผ่าน
	11	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.12 ± 0.10	2.7 ± 1.4	ไม่ผ่าน
	12	ใส	ไม่มีกลิ่น	5.53 ± 0.14	1.0 ± 0.0	ไม่ผ่าน
E	13	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.85 ± 0.07	11.7 ± 2.1	ผ่าน
	14	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.67 ± 0.06	10.0 ± 2.0	ผ่าน
	15	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.70 ± 0.07	16.3 ± 2.5	ผ่าน
F	16	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.39 ± 0.09	92.7 ± 3.5	ไม่ผ่าน
	17	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.54 ± 0.06	95.3 ± 3.2	ผ่าน
	18	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.63 ± 0.02	93.3 ± 7.2	ผ่าน
G	19	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.31 ± 0.10	1.7 ± 1.2	ผ่าน
	20	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.79 ± 0.09	1.3 ± 0.6	ผ่าน
	21	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.56 ± 0.15	1.3 ± 0.6	ผ่าน
H	22	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.08 ± 0.08	139.5 ± 3.5	ผ่าน
	23	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.11 ± 0.04	137.5 ± 9.2	ผ่าน
	24	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.06 ± 0.02	141.5 ± 2.1	ผ่าน
I	25	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.75 ± 0.06	63.3 ± 12.2	ผ่าน
	26	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.82 ± 0.06	48.0 ± 5.6	ผ่าน
	27	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.90 ± 0.05	51.0 ± 3.0	ผ่าน
J	28	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.03 ± 0.01	56.3 ± 10.7	ผ่าน
	29	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.02 ± 0.02	49.0 ± 5.7	ผ่าน
	30	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.00 ± 0.01	51.0 ± 13.2	ผ่าน
K	31	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.08 ± 0.00	147.0 ± 1.4	ผ่าน
	32	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.08 ± 0.02	144.0 ± 4.2	ผ่าน
	33	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.09 ± 0.01	141.5 ± 4.9	ผ่าน
L	34	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.51 ± 0.09	99.3 ± 8.5	ผ่าน
	35	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.33 ± 0.03	95.3 ± 13.2	ผ่าน
	36	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.11 ± 0.02	85.0 ± 7.0	ผ่าน
M	37	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.90 ± 0.02	12.3 ± 6.6	ผ่าน
	38	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.89 ± 0.02	12.0 ± 6.1	ผ่าน
	39	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.80 ± 0.01	13.7 ± 2.3	ผ่าน

ยี่ห้อ	หมายเลขตัวอย่าง	ลักษณะทางกายภาพ				ปริมาณของ แข็งทั้งหมด* (มก/ล)	คุณภาพน้ำดื่ม ตามมาตรฐาน
		ลักษณะน้ำ	กลิ่น*	ค่าความเป็นกรด-ด่าง*			
N	40	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.25 ± 0.04	10.7 ± 0.6		ผ่าน
	41	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.05 ± 0.04	8.0 ± 4.4		ผ่าน
	42	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.75 ± 0.07	5.7 ± 3.5		ผ่าน
O	43	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.92 ± 0.05	13.3 ± 2.5		ผ่าน
	44	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.73 ± 0.06	12.5 ± 2.1		ผ่าน
	45	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.48 ± 0.09	11.5 ± 2.1		ไม่ผ่าน

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน *ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524 ที่กำหนดให้น้ำดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทต้องมีความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.5-8.5 ปริมาณของแข็งทั้งหมดน้อยกว่า 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่มีกลิ่น (18)

อภิปรายผล

ฉลากผลิตภัณฑ์มีความสำคัญอย่างมากในการแสดงรายละเอียดเกี่ยวกับสินค้า ไม่ว่าจะเป็นชื่อผลิตภัณฑ์ วันผลิต-วันหมดอายุ ส่วนประกอบ คำแนะนำในการใช้และเก็บรักษาอย่างปลอดภัย การออกแบบฉลากที่สวยงามยังเป็นการส่งเสริมความโดดเด่นของผลิตภัณฑ์และดึงดูดความสนใจทำให้ลูกค้าตัดสินใจเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ ข้อสำคัญของฉลากผลิตภัณฑ์ต้องแสดงข้อมูลต่าง ๆ ตามกฎหมายที่มีผลบังคับใช้กับผลิตภัณฑ์นั้น ๆ การศึกษาครั้งนี้ฉลากผลิตภัณฑ์น้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นทั้งหมด 45 ตัวอย่าง แสดงรายละเอียดชื่อผลิตภัณฑ์ ชื่อบริษัทผลิตและสถานที่ผลิต แต่ตัวอย่างทั้งหมด (ร้อยละ 100) ไม่แสดงวันผลิต-วันหมดอายุ ทำให้ไม่ผ่านมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 383 พ.ศ. 2560 เรื่องการแสดงฉลากของอาหารในภาชนะบรรจุ (17) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาคุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นที่จำหน่ายในจังหวัดระยอง บุรีรัมย์ พระนครศรีอยุธยาและอ่างทอง ที่พบว่าน้ำดื่มทุกตัวอย่างไม่ระบุวันผลิต-วันหมดอายุบนฉลากผลิตภัณฑ์ มีการระบุเพียงชื่อผลิตภัณฑ์ ชื่อบริษัทผลิตและสถานที่ผลิตเช่นเดียวกันกับน้ำดื่มในจังหวัด

ชลบุรีในการศึกษารั้งนี้ (10-12, 19) การระบุรายละเอียดบนฉลากให้ครบถ้วนตามกฎหมายเป็นการให้ข้อมูลแก่ผู้บริโภคว่าน้ำดื่มบรรจุขวดนั้นยังคงมีคุณภาพที่ดี มีความปลอดภัยต่อการเลือกบริโภค เนื่องจากในบางสถานการณ์ เช่น น้ำท่วมหรือเกิดภัยพิบัติทางธรรมชาติ อาจจะต้องมีการเก็บน้ำดื่มเป็นระยะเวลานาน การไม่ระบุวันหมดอายุทำให้ผู้บริโภคไม่ทราบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดที่มีอยู่นั้นยังคงปลอดภัยต่อการบริโภคหรือไม่ ทำให้มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสิ่งแปลกปลอมที่เกิดจากความเสื่อมของภาชนะบรรจุที่อาจส่งผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นทุกตัวอย่างไม่ระบุวันหมดอายุลงบนฉลากผลิตภัณฑ์ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่บริษัทผู้ผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดต้องดำเนินการปรับปรุงฉลากผลิตภัณฑ์ให้ตรงตามมาตรฐานคุณภาพน้ำดื่ม รวมทั้งเจ้าหน้าที่รัฐที่มีอำนาจรับผิดชอบควรเข้มงวดในการตรวจสอบคุณภาพน้ำดื่มให้มากยิ่งขึ้น เพื่อความปลอดภัยและคุณภาพชีวิตของผู้บริโภค

ความเป็นกรด-ด่างของน้ำเกิดจากการควบคุมความสมดุลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สารไบคาร์บอเนต สารคาร์บอเนต (carbon dioxide–bicarbonate–carbonate equilibrium system) ภายใน

น้ำ (4) หากมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมากขึ้นจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (1) น้ำที่เป็นกรดหรือน้ำที่เป็นกรดอ่อนมีค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 6.5 และมีคุณสมบัติในการกัดกร่อน จากผลการตรวจสอบน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นในการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำดื่มจำนวน 8 ตัวอย่าง (ร้อยละ 17.8) มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่ามาตรฐาน คือ 6.5 การสำรวจคุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นที่จำหน่ายในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย เช่น อ่างทอง ระยองและบุรีรัมย์แสดงให้เห็นว่าน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นส่วนใหญ่มีค่าความเป็นกรดอ่อน ๆ เนื่องจากน้ำดื่มมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าค่ามาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข (10-12) แต่อย่างไรก็ตามน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นที่จำหน่ายในจังหวัดพระนครศรีอยุธยามีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 6.5 (19) ความเป็นกรดอ่อนที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 6.5 ที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำดื่มในครั้งนี้อาจเกิดจากค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำดิบที่นำมาใช้ผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานหรือเกิดจากกระบวนการบำบัดน้ำดิบอาจมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง นอกจากนี้อาจเกิดจากกระบวนการบางประการที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษาน้ำดื่มนานเกินไปจนทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของพลาสติกจนส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดที่หมดอายุแล้ว 5 ปี ทุกตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 6.5 (20) การมีคุณสมบัติเป็นกรดของน้ำดื่มอาจส่งผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุต่าง ๆ ในร่างกายน้อยลง การขับแร่ธาตุออกทางปัสสาวะมากขึ้นทำให้ร่างกายขาดแร่ธาตุ (21) รวมทั้งอาจส่งผลเกี่ยวกับการเกิดโรคหัวใจและความดันโลหิตสูงอีกด้วย (1) นอกจากนี้น้ำที่มีค่าความเป็นกรดจะมีคุณสมบัติในการกัดกร่อนทำให้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนด้วยสารโลหะ เช่น ทองแดง เหล็ก ตะกั่ว แมงกานีสและสังกะสี เป็นต้น (22) โดยเฉพาะอย่างยิ่งขวดน้ำพลาสติกชนิดขุ่นเหล่านี้เป็นพลาสติกชนิด PE ซึ่งเป็นพลาสติกประเภทเทอร์โมพลาสติกที่โครงสร้างหรือโมเลกุลขององค์ประกอบ

พลาสติกถูกทำลายได้ง่ายด้วยสภาวะที่เป็นกรดจนเกิดการหลุดออกมาปนเปื้อนในน้ำ อาหารหรือเครื่องดื่มที่บรรจุในขวดพลาสติกขุ่น เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มเหล่านี้เข้าไปจะทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพได้ ซึ่งอาจจะไม่แสดงอาการในทันที แต่สามารถสะสมเมื่อรับประทานติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจนเกิดอันตรายต่อสุขภาพขึ้นมาได้ (23) จากผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบน้ำดื่มบรรจุขวดบางตัวอย่างมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่ามาตรฐาน ดังนั้นบริษัทผู้ผลิตจึงควรมีความระมัดระวังในการตรวจสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำดื่มให้อยู่ในช่วงมาตรฐานก่อนการจัดจำหน่าย รวมทั้งควรมีการปรับปรุงกระบวนการผลิตบางขั้นตอนที่จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำดื่มตรงตามมาตรฐาน

คุณสมบัติทางเคมีที่ตรวจวัดคุณภาพน้ำดื่มในการศึกษาครั้งนี้ คือ ปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยปริมาณของแข็งทั้งหมด คือ ของแข็งที่ละลายน้ำและของแข็งที่แขวนลอย รวมทั้งของแข็งที่ตกตะกอนในน้ำ ซึ่งมักเป็นสารประกอบเกลืออนินทรีย์ เช่น แคลเซียม คลอไรด์ ไนเตรท ฟอสฟอรัส เหล็ก กำมะถันและอนุภาคไอออนอื่น ๆ (15) หากปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงจะทำให้น้ำดื่มมีความขุ่นและรสชาติเปลี่ยนไป การศึกษาปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำดื่มมีการศึกษาอย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เช่น อินเดียและไนจีเรีย เป็นต้น (6, 24) ถึงแม้ว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็นปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำดื่มดังที่กล่าวมาข้างต้น แต่ยังมีการศึกษาถึงปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำดื่มบรรจุขวดในประเทศไทยน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับต่างประเทศ มีเพียงรายงานถึงปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำดื่มจากเครื่องทำน้ำเย็นภายในมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง ที่พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยประมาณ 78 มิลลิกรัมต่อลิตร (25) การศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุ่นที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมืองชลบุรีมีค่าอยู่ในช่วง 1.0 – 147.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าน้ำดื่มบรรจุขวด

น่าจะมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524 (18) ที่กำหนดไว้ให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ได้ศึกษาในครั้งนี้แล้ว ควรมีการศึกษาคุณภาพทางเคมีด้านอื่น เช่น ความกระด้างและสารโลหะหนักต่อไป เพื่อให้ให้น้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนได้รับความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น พร้อมทั้งยังทำให้ผู้บริโภคมีข้อมูลด้านต่าง ๆ เพียงพอในการพิจารณาถึงความปลอดภัยในการเลือกซื้อน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุน

โดยทั่วไปแล้วน้ำดื่มบรรจุขวดต้องผ่านกระบวนการบำบัดต่าง ๆ เพื่อให้ให้น้ำดื่มมีความบริสุทธิ์ สะอาดและมีคุณภาพดีเหมาะต่อการบริโภค อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนแบคทีเรียในน้ำดื่มบรรจุขวดสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดทุกขั้นตอนของกระบวนการผลิต การศึกษาในครั้งนี้พบว่าน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนในเขตอำเภอเมืองชลบุรีทุกตัวอย่างมีปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.0 เอ็มพีเอ็นต่อ 100 มิลลิตร และตรวจไม่พบ *E. coli* ทำให้ผ่านมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 พ.ศ. 2524 (18) สอดคล้องกับการศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนที่จำหน่ายในจังหวัดระยอง พระนครศรีอยุธยา บุรีรัมย์ และอ่างทอง ที่ไม่พบการปนเปื้อนแบคทีเรียดัชนีเหล่านี้เช่นเดียวกัน (10-12, 19) การไม่พบแบคทีเรียดัชนีเหล่านี้บ่งชี้ว่าน้ำดื่มบรรจุขวดอาจไม่มีการปนเปื้อนด้วยแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารบางชนิดที่มีแหล่งมาจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบ เช่น *V. cholerae* สาเหตุของโรคอหิวาตกโรค *Sh. flexneri* หรือ *Sh. dysenteriae* สาเหตุของโรคบิด และ *Sal. paratyphi* สาเหตุของโรคไข้รากสาดหรือไข้ไทฟอยด์ เป็นต้น (7) จากการสังเกตผลากผลิตภัณฑ์น้ำดื่มบรรจุขวดในการศึกษารุ่นนี้มีการระบุถึงกระบวนการบำบัดน้ำดิบที่ใช้ในกระบวนการผลิต เช่น การทำ Reverse osmosis, การใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ต และการใช้โอโซน เป็นต้น กระบวนการเหล่านี้

เป็นขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ดังนั้นจึงน่าจะเป็นสาเหตุทำให้น้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนปราศจากแบคทีเรียดัชนีและแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร ทำให้มีความปลอดภัยต่อการบริโภคตามมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทย

สรุปผล

น้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนที่จำหน่ายในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี ทุกตัวอย่าง (ร้อยละ 100) มีปริมาณของแข็งทั้งหมด แบคทีเรียโคลิฟอร์มและ *E. coli* ผ่านมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข แต่น้ำดื่มบรรจุขวดเหล่านี้ทุกตัวอย่างไม่ระบุวันผลิตหรือวันหมดอายุบนฉลากผลิตภัณฑ์ และน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนร้อยละ 17.8 มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่ามาตรฐาน คือ 6.5 ดังนั้นบริษัทผู้ผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนควรดำเนินการปรับปรุงกระบวนการผลิตน้ำดื่มบางขั้นตอนให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น สามารถรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงมาตรฐาน รวมทั้งดำเนินการปรับปรุงฉลากผลิตภัณฑ์ให้ตรงตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ในขณะเดียวกันเจ้าหน้าที่รัฐที่มีอำนาจรับผิดชอบควรเข้มงวดในการตรวจสอบคุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดพลาสติกขุนให้มากยิ่งขึ้น เพื่อความปลอดภัยและสร้างความเชื่อมั่นในน้ำดื่มบรรจุขวดของทั้งนักท่องเที่ยวและประชาชนทั่วไปในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเพื่อวัสดุอุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Varakamin S. Water for life. Bangkok: Samcharoen Panich; 2006. Thai.

2. Rylander R. Drinking water constituents and disease. *J Nutr.* 2008;138:423S-25S.
3. Choudhary AK, Das S, Jha JN. Improvement of properties of clay subgrade using waste LDPE strip reinforcement. In: Singh H, Garg P, Kaur I, editors. *ICSWMD 2018, LNCE 21*. Switzerland: Springer Nature AG; 2019. p. 103-15.
4. World Health Organization. Guidelines for drinking water quality. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2017.
5. Food and Drug Administration. Notification of Ministry of Health, No. 256 (2002) entitled "The water for consumption in sealed container" (No. 4) [Internet]. 2002 [cited 2020 Dec 25] Availability from: <http://elib.fda.moph.go.th/elib/cgibin/opacexe?lang=1&cat=gen&pat>. Thai.
6. Krishnan RR, Dharmaraj K, Kumari BDR. A comparative study on the physico-chemical and bacterial analysis of drinking, borewell and sewage water in the three different places of Sivakasi. *J Environ Biol.* 2007;28:105-8.
7. Pumpuang A, Cheewaphan A, Amnouypon J, Supasirisun Y, Teawrattanakul T, Pidet N, et al. [Prevalence and antibiotic susceptibility profile of fecal coliform isolated from beverage sold in Sangkhalok community]. *Vajira Medical Journal: Journal of Urban Medicine.* 2017;61(2):75-82. Thai.
8. Jonganokpone C. [Physical assessment and determination of bacterial contamination of locally drinking water in sealed containers and packaged ice sold in Mahasarakham province, Thailand]. *Academic Journal of Community Public Health.* 2020;6(4):14-26. Thai.
9. Nimrat S, Vuthiphandchai V. [Physical and microbiological qualities of clear bottled drinking water distributed in Nan province]. *Journal of Science & Technology, Ubon Ratchathani University.* 2014;16(3):57-64. Thai.
10. Nimrat S, Suechamnongkitchakarn N, Supannapan K, Vuthiphandchai V. [Assessment of physical, pH and microbiological qualities of bottled drinking water produced in Buriram province, Thailand]. *RMUTP Research Journal Science & Technology.* 2015;9(2):32-43. Thai.
11. Nimrat S, Supannapan K, Butkhot N, Vuthiphandchai V. [Standard of bottled drinking water distributed in Aug Thong]. *RMUTP Research Journal.* 2016;10(2):135-47. Thai.
12. Nimrat S, Supannapan K, Vuthiphandchai V. [Quality of bottled drinking water distributed in Rayong province, Thailand]. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University.* 2016;35(5):538-47. Thai.
13. Chonburi Province. Chonburi Province [Internet]. 2017 [cited 2020 Dec 25] Availability from: http://www.chonburi.go.th/website/main/web_index. Thai.
14. Nimrat S, Banjertjaradlert H, Vuthiphandchai V. [Assessment of quality of bottled drinking

- water distributed in Chon Buri province]. Journal of Science and Technology Mahasarakham University. 2013;33(5):454-9. Thai.
15. American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. Baltimore: American Public Health Association; 2012.
 16. Kornacki JL, Johnson JL. Chapter 8: Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington DC: American Public Health Association; 2001. p. 69-82.
 17. Bureau of Food, Food and Drug Administration, Ministry of Public Health. Notification of the Ministry of Public Health No. 383, B.E 2560 (2017), Re: labeling of pre-packaged foods (No.2) [Internet]. 2017 [cited 2020 Dec 25] Availability from: <http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2560/E/097/24.PDF>. Thai.
 18. Bureau of Food, Food and Drug Administration, Ministry of Public Health. (1981). Notification of the Ministry of Public Health (No.61) B.E. 2524 (1981) Re: Drinking water in sealed containers [Internet]. 1981 [cited 2020 Dec 25] Availability from: <http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2524/D/157/52.PDF>. Thai.
 19. Nimrat S, Vuthiphandchai V. [Physical and microbiological qualities of clear and opaque bottled drinking water distributed in Ayutthaya province]. Journal of Science & Technology Ubon Ratchathani University. 2017;19(3):193-207. Thai.
 20. Nimrat S, Khunjeng N, Vuthiphandchai V. [Characteristic and some qualities of 5-year expired drinking water in clear plastic bottles]. Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal. 2018;11(2):122-30. Thai.
 21. Reid R. 7 reasons why acidic water is bad for you [Internet]. 2019 [cited 2020 Dec 25] Availability from: <https://www.tyentusa.com/blog/acidic-water-negative-effects/>.
 22. Private Wells Series. pH- Acidity of Private Drinking Water Wells. Rhode Island: Rhode Island and Department of Health and the University of Rhode Island Cooperative Extension Department of Natural Resources Science; 2003.
 23. Mathawaraporn B. Case study: Hazard from consumption of opaque-plastic bottled beverages [Internet]. [cited 2020 Nov 4] Availability from: http://knowledge.ocpb.go.th/download/article/article_20190409104742.pdf. Thai.
 24. Shittu OB, Olaitan JO, Amusa TS. Physico-chemical and bacteriological analyses of water used for drinking and swimming purposes in Abeokuta, Nigeria. J Biomed. 2008;11:285-90.

25. Rakkamon T, Chaimay B, Inraksa S, Rachasong W. [Quality of drinking water from water cooler at Thaksin University, Phatthalung campus]. *Thaksin Journal*. 2012;15(2):18-26. Thai.



ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ผลิตโดยเอนไซม์ไคตินเนสที่สกัดจากต้นอ่อนก้ามปู

Antioxidant Activity of Chitooligosaccharides Produced by Chitinase Extracted from two Weeks Seedlings of *Samanca saman* (Jacq) Merr.

มานะ ขาวเมฆ

Mana Kaomek

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 13180
Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage,
Khlong Luang, Pathum Thani 13180, THAILAND

Corresponding author e-mail: mana@vru.ac.th

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 9 August, 2021

Revised: 22 September, 2021

Accepted: 4 October, 2021

Available online: 28 October, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.10

Keywords: chitinase,
chitooligosaccharides,
antioxidant activity, *Samanca saman* (Jacq) Merr.

This research was to study the antioxidant activity of chitooligosaccharides from two weeks seedlings of *Samanca saman* (Jacq) Merr. produced by chitinase with extraction of 0.1 molar acetate buffer at pH 3.5 was investigated in this work. It was found that chitooligosaccharides obtained from hydrolysis of 1 percent of colloidal chitin in 0.1 molar acetate buffer pH 3.5 using chitinase extracted from two weeks seedlings of *Samanca saman* (Jacq) Merr. at 0.5 hour digestion, chitooligosaccharides were produced from hydrolysis of 1 percent of colloidal chitin in 0.1 molar acetate buffer pH 3.5 utilizing chitinase isolated from two weeks seedlings of *Samanca saman* (Jacq) Merr. It comprises acetylglucosamine as well as (GlcNAc)₂, (GlcNAc)₃, (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅, and (GlcNAc)₆ of chitooligosaccharides. The small molecules of (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂ and (GlcNAc)₃ increased with 1 hour, 2 hours and 4 hours of curing time, the small molecules of (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂, and (GlcNAc)₃ increased, whereas the large molecules of (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ and (GlcNAc)₆ decreased. The large molecules of (GlcNAc)₄ changed to (GlcNAc)₂ + (GlcNAc)₂ and (GlcNAc)₁ + (GlcNAc)₃,

(GlcNAc)₅ changed to (GlcNAc)₂ + (GlcNAc)₃ and (GlcNAc)₁ + (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₆ changed to (GlcNAc)₃ + (GlcNAc)₃, (GlcNAc)₂ + (GlcNAc)₄ and (GlcNAc)₁ and (GlcNAc)₅. Chitooligosaccharides obtained from the use of every curing time to digest which have antioxidant activity better than butylated hydroxyl toluene (BHT) standard. The EC₅₀ of 0.5 hour, 1 hour, 2 hours and 4 hours incubation were 1.01±0.1, 1.07±0.1, 1.12±0.1 and 1.18±0.1 µg/mL, respectively, which less than the EC₅₀ of BHT standard of 1.34±0.1 µg/mL. The large molecules of chitooligosaccharides from shorter curing time (0.5 hour) have more antioxidant activity than small molecules from longer curing time (1 hour, 2 hours and 4 hours).

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากต้นอ่อนง้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์โคติเนส และสกัดด้วย 0.1 โมลาร์ อะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 3.5 พบว่า ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้จากการย่อย 1 เปอร์เซ็นต์ โคตินในรูปแบบคอลลอยด์ ใน 0.1 โมลาร์ อะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 3.5 โดยการย่อยของเอนไซม์โคติเนสที่สกัดได้จากต้นอ่อนง้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ ที่ใช้เวลาย่อย 0.5 ชั่วโมง จะมีเอนอะซิติลกลูโคซามีน (GlcNAc)₁ และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขนาด 2-6 โมเลกุล ได้แก่ (GlcNAc)₂, (GlcNAc)₃, (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ แต่เมื่อเพิ่มเวลาบ่มเป็น 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง จะมีโมเลกุลขนาดเล็กของ (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂ และ (GlcNAc)₃ เพิ่มขึ้น ในขณะที่โมเลกุลขนาดใหญ่ของ (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ ลดต่ำลง เนื่องจากโมเลกุลขนาดใหญ่ของ (GlcNAc)₄ จะเปลี่ยนไปเป็น (GlcNAc)₂ จำนวน 2 โมเลกุล และ (GlcNAc)₁ กับ (GlcNAc)₃ อย่างละ 1 โมเลกุล ส่วน (GlcNAc)₅ จะถูกเปลี่ยนไปเป็น (GlcNAc)₂ กับ (GlcNAc)₃ และ (GlcNAc)₁ กับ (GlcNAc)₄ อย่างละ 1 โมเลกุล และ (GlcNAc)₆ จะถูกเปลี่ยนไปเป็น (GlcNAc)₃ กับ (GlcNAc)₃ และ (GlcNAc)₂ กับ (GlcNAc)₄ และ (GlcNAc)₁ กับ (GlcNAc)₅ อย่างละ 1 โมเลกุล เป็นต้น เมื่อนำไปทดสอบ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่า ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการใช้เวลาย่อยทุกช่วงเวลา ดังกล่าวข้างต้นจะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐานบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอิน (BHT) โดยมีค่า EC₅₀ ของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในช่วงการบ่มที่ 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมงเท่ากับ 1.01±0.1, 1.07±0.1, 1.12±0.1 และ 1.18±0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าค่า EC₅₀ จากสารมาตรฐาน BHT ที่มีค่าเท่ากับ 1.34 ±0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่จากการใช้ระยะเวลาบ่มน้อยลง (0.5 ชั่วโมง) จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจากการใช้ระยะเวลาบ่มมากกว่า (1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง)

คำสำคัญ: โคติเนส ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ต้นอ่อนง้ามปู

บทนำ

เอนไซม์โคติเนสเป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเบตา 1,4 ไกลโคซิดิกของโคตินด้วยน้ำ ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของเอนอะซิติลกลูโคซามีน (GlcNAc) ได้ผลผลิตเป็นเอนอะซิติลกลูโคซามีนและไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาด 2-6 โมเลกุล ได้แก่ ไคโตไบโอส ((GlcNAc)₂)

โคโตไตรออส ((GlcNAC)₃) โคโตเตโตรส ((GlcNAC)₄) โคโตเพนโตส ((GlcNAC)₅) และโคโตเฮกซอส ((GlcNAC)₆) เป็นต้น เอนไซม์โคติเนสพบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ เชื้อรา และพืช มีความสำคัญในการประยุกต์ใช้ทางเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะด้านอุตสาหกรรมเภสัช เช่น ควบคุมโรคพืช ที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย และแมลง (1) ขนาดของเอนไซม์โคติเนสจากพืชมีขนาดอยู่ในช่วง 25-40 กิโลดาลตัน (2)

โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยมอนอแซคคาไรด์ของเอนอะซิดิลกลูโคซามีนหรือกลูโคซามีนตั้งแต่ 2-10 โมเลกุล เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบตา 1,4 ไกลโคซิดิก ที่เกิดจากการย่อยสลายโคตินหรือโคโตซานด้วยปฏิกิริยาเคมีของกรดหรือการเร่งปฏิกิริยาการสลายด้วยน้ำของเอนไซม์ในกลุ่มโคติโนไลติก (โคติเนสและโคโตซานเนส) โคโตโอลิโกแซคคาไรด์นำมาใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อรา (3,4) สารต้านโรคพืชอีกเสบ สารลดคอเลสเตอรอลและไขมันในเส้นเลือด สารควบคุมการปล่อยด้วยสำคัญ (5) นอกจากนี้ โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยโคซานด้วยเอนไซม์โคโตซานเนสจากต้นอ่อนก้ามปู กระถินบ้าน ข้าว กข. 6 ข้าวฟ่างเคยู 630 อายุ 2 สัปดาห์ ที่ใช้ระยะเวลาในการบ่มสั้น (0.5 ชั่วโมง) จะมีโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ของ (GlcN)₄, (GlcN)₅ และ (GlcN)₆ มากกว่าโมเลกุลขนาดเล็กของ (GlcN)₁, (GlcN)₂ และ (GlcN)₃ จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐานบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอิน (BHT) เมื่อเปรียบเทียบกับค่า EC₅₀ (6) โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ละลายน้ำได้ดีกว่าโคตินและโคโตซาน จึงทำให้มีประสิทธิภาพการดูดซึมได้ดีกว่า ดังนั้น โคโตโอลิโกแซคคาไรด์จึงมีมูลค่าสูงกว่าโคตินและโคโตซานมาก โคตินและโคโตซานถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย เนื่องจากอยู่ในรูปพอลิเมอร์ ดังนั้น การเปลี่ยนโคตินและโคโตซานที่อยู่ในรูปพอลิเมอร์ให้เป็นโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์โคติเนสหรือเอนไซม์โคโตซานเนสจึงมีความจำเป็นอย่างมาก ซึ่งพบว่าพืชหลายชนิดมี

เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดและมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูงจึงเปลี่ยนโคตินหรือโคโตซานเป็นโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้ดีกว่าจุลินทรีย์ และจากผลการวิจัยของพริตา ภูมิคอนสาร และมานะ ขาวเมฆ (7) เกี่ยวกับเอนไซม์โคติเนสจากต้นอ่อนก้ามปูซึ่งมีค่ากิจกรรมจำเพาะสูง พบว่า โคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคติเนสที่สกัดจากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ เมื่อบ่มที่ 0.5 ชั่วโมง จะมีขนาดโมเลกุลเป็น (GlcNAC)₄, (GlcNAC)₅ และ (GlcNAC)₆ และงานวิจัยของมานะ ขาวเมฆ (8) พบว่า โคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเอนไซม์โคติเนสที่สกัดจากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 4 สายพันธุ์ คือ *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Magnaporthe oryzae* และ *Setosphaeria oryzae* ด้วยความเข้มข้น 5-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และจากงานวิจัยของมุนและคณะ (9) สกัดเอนไซม์โคติเนส จากเชื้อแบคทีเรีย *Serratia marcescens* PRNK-1 เมื่อใช้ระยะเวลาในการย่อยโคตินในรูปคอลลอยด์น้อยลง ส่งผลทำให้ได้ปริมาณของโคโตเฮกซอสเพิ่มมากขึ้น รองลงมาเป็นโคโตเพนโตส และโคโตเตโตรส ตามลำดับ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงนำโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยโคตินในรูปคอลลอยด์ด้วยเอนไซม์โคติเนสที่สกัดได้จากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ จะมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาได้ดีและได้ผลิตผลเป็นโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขนาดใหญ่ (8) มาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

วิธีดำเนินการวิจัย

การสกัดเอนไซม์โคติเนสจากต้นอ่อนก้ามปูด้วยวิธีของบอลเลอร์และคณะ (10)

ชั่งต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ที่ปลูกในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความชื้นร้อยละ 80 หนัก 20 กรัม ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อบดด้วยโกร่งให้ละเอียด เติมน้ำละลาย 0.1 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น พีเอช 3.5 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่มี 1 มิลลิโมลาร์ ฟีนิลเมธิลซัลโฟนิลฟลูออไรด์ และ 5 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตรของพอลิไวนิลพอลิไพโรลิ

โดนผสมอยู่ หลังจากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ เท่ากับ 25,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จะได้ สารละลายของสารสกัดเอนไซม์ไคตินเนส

การหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสด้วยวิธีของบอลเลอร์ และคณะ (10)

ปิเปตสารสกัดเอนไซม์ไคตินเนส 200 ไมโครลิตร (3.85 ยูนิต/มิลลิกรัม) ผสมกับ 1 เปอร์เซ็นต์ ไคตินในรูป คอลลอยด์ (11) ที่เตรียมจากเกล็ดไคติน (บริษัทชิกมา) ใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น พีเอช 3.5 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร บ่มที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำของผสมปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ปิเปตสารละลายใส 500 ไมโครลิตร เติมน้ำ 0.8 โมลาร์ โซเดียมเตตระโบเรต ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำของผสมไปต้มให้เดือด 3 นาที เติมสารละลายพาราไดเมทิลอะมิโนเบนซาลดีไฮด์ปริมาตร 3 มิลลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานเอนอะซิติลกลูโคซามีน

การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของเลาว์รีและคณะ (12)

ปิเปตสารสกัดเอนไซม์ไคตินเนส 10 ไมโครลิตร (0.1926 ยูนิต/มิลลิกรัม) ปรับปริมาตรเป็น 500 ไมโครลิตร ด้วย 0.1 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 3.5 เติม สารละลายผสมคอปเปอร์ซัลเฟต 2.5 มิลลิตร เขย่าและ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย โพลินที่เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร/ปริมาตร ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เขย่าและตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโบวีน ซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin; BSA)

การเตรียมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยวิธีของมิลเลอร์ (13)

ปิเปต 1 เปอร์เซ็นต์ ไคตินในรูปคอลลอยด์ ใน 0.1 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 3.5 ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร เติมสารสกัดเอนไซม์ไคตินเนสปริมาตร

0.3 มิลลิลิตร (5.78 ยูนิต/มิลลิกรัม) บ่มที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ หลังจากนั้น นำไปต้มให้เดือด แล้วนำของผสม มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายใสของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

การศึกษารูปแบบไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยวิธีของเพา นิบและไลซ์คีวิทซ์ (14)

1. สปอร์ตไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการ บ่มในระยะเวลา 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง บนแผ่น TLC
2. นำแผ่น TLC ใส่ในถังกึ่งที่มีตัวทำละลายผสม ของโพรพานอล : น้ำ : แอมโมเนีย เท่ากับ 70 : 30 : 1 รอนจนตัวทำละลายเคลื่อนที่ระยะทาง 10 เซนติเมตร ทำให้แห้ง
3. สเปรย์กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ บนแผ่น TLC นำไปวางบนเตาให้ความร้อน 3 นาที วัดระยะทางสารที่ปรากฏและหาค่า R_f เปรียบเทียบกับ สารมาตรฐานไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

การหาปริมาณร้อยละของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยวิธี ของโคกะและคณะ (15)

1. เตรียมสารมาตรฐานเอนอะซิติลกลูโคซามีน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขนาด 2-6 หน่วย เข้มข้น 50, 100 และ 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สารเคลื่อนที่เป็น น้ำ : เมทานอล เท่ากับ 60 : 40 ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ผ่าน คอลัมน์ชนิด Shodex Asahipak NH2P-50 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นำพื้นที่ใต้กราฟและค่าความเข้มข้น ของสารมาตรฐานเอนอะซิติลกลูโคซามีนและไคโตโอลิโก แซคคาไรด์ไปสร้างกราฟมาตรฐาน
2. นำสารไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อย ของเอนไซม์ไคตินเนสจากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ มา วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC และหาปริมาณโดยเปรียบ เทียบกับกราฟมาตรฐานเอนอะซิติลกลูโคซามีนและไคโตโอลิโก แซคคาไรด์แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณร้อยละ

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2'-ไดเฟนิล-1-พิกไคลดราซิล (16)

1. เตรียมสารละลายเรดิคัล DPPH ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 มิลลิโมลาร์ ในแอบโซลูทเอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานของบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated Hydroxytoluene; BHT) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2.5, 5, 10, 20, 40 และ 80 มิลลิกรัม/ลิตร ในเอทานอล หลังจากนั้น ปิเปตสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานของบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอีน ระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งกับค่า log ความเข้มข้นของ BHT และหาค่าการต้านอนุมูลอิสระและ EC_{50}

3. เตรียมสารตัวอย่างเข้มข้น 2.5, 5, 10, 20, 40 และ 80 มิลลิกรัม/ลิตร ปิเปตสารตัวอย่าง 1.5 มิลลิลิตร เติม DPPH ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BHT คำนวณหาค่าการต้านอนุมูลอิสระและค่า EC_{50} การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Radical Scavenging Activity) ได้ร้อยละ 50 โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Radical Scavenging Activity} = \frac{[(A-B)-(C-D)]}{[(A-B)]} \times 100$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (Control)

C = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

D = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่เติม DPPH

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

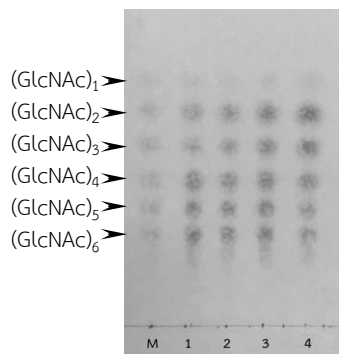
การหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โคดีเนส

การศึกษาค่ากิจกรรมของโคดีเนสจากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ พบว่าค่ากิจกรรม ปริมาณโปรตีน และค่ากิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 19.2687 ยูนิต/มิลลิลิตร 0.9730 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 19.8040 ยูนิต/มิลลิกรัม ตามลำดับ

การศึกษารูปแบบโคโตโอลิโกแซคคาไรด์

โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยโคดีนในรูปคอลลอยด์ด้วยเอนไซม์โคดีเนสที่สกัดจากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ที่ใช้ระยะเวลาในการบ่ม 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง จะมีขนาดตั้งแต่ 16 โมเลกุล เมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มน้อยลง (0.5 ชั่วโมง) จะได้โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ของ $(GlcNAc)_4$, $(GlcNAc)_5$ และ $(GlcNAc)_6$ มีจุดเข้มข้นกว่าโมเลกุลขนาดเล็กของ $(GlcNAc)_1$, $(GlcNAc)_2$ และ $(GlcNAc)_3$ แสดงว่ามีปริมาณของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่มากกว่าโมเลกุลขนาดเล็ก แต่เมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้นเป็น 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ของ $(GlcNAc)_4$, $(GlcNAc)_5$ และ $(GlcNAc)_6$ จะน้อยลง ในขณะที่โมเลกุลขนาดเล็กของ $(GlcNAc)_1$, $(GlcNAc)_2$ และ $(GlcNAc)_3$ จะเพิ่มขึ้น ดังนั้น แสดงว่าโมเลกุลขนาดใหญ่ถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลง โดยโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ของ $(GlcNAc)_4$ จะเปลี่ยนไปเป็น $(GlcNAc)_2$ จำนวน 2 โมเลกุล และ $(GlcNAc)_5$ กับ $(GlcNAc)_3$ อย่างละ 1 โมเลกุล และ $(GlcNAc)_6$ จะถูกเปลี่ยนไปเป็น $(GlcNAc)_2$ กับ $(GlcNAc)_3$ และ $(GlcNAc)_1$ กับ $(GlcNAc)_4$ อย่างละ 1 โมเลกุล และ $(GlcNAc)_6$ จะถูกเปลี่ยนไปเป็น $(GlcNAc)_3$ จำนวน 2 โมเลกุล และ $(GlcNAc)_2$ กับ $(GlcNAc)_4$ และ $(GlcNAc)_1$ กับ $(GlcNAc)_5$ อย่างละ 1 โมเลกุล (รูปที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของมุนและคณะ พบว่า เอนไซม์โคดีเนสที่สกัดได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Serratia marcescens* PRNK-1 และนำไปย่อยโคดีนในรูปคอลลอยด์ที่ระยะเวลามากขึ้น

ส่งผลทำปริมาณของ (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ ลดลงในขณะที่ปริมาณ(GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂ และ(GlcNAc)₃ เพิ่มขึ้น (9)



รูปที่ 1 รูปแบบของโคโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการบ่มไคตินที่อยู่ในรูปคอลลอยด์ด้วยเอนไซม์ไคตินเนสจากต้นอ่อนก้ามปู M: สารมาตรฐานไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขนาด 1-6 โมเลกุล 1: ระยะเวลาในการบ่ม 0.5 ชั่วโมง 2: ระยะเวลาในการบ่ม 1 ชั่วโมง 3: ระยะเวลาในการบ่ม 2 ชั่วโมง 4: ระยะเวลาในการบ่ม 4 ชั่วโมง

การหาปริมาณร้อยละของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์

เมื่อนำโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อย 1 เปอร์เซ็นต์ ไคตินในรูปคอลลอยด์ ด้วยเอนไซม์ไคตินเนสจากต้นอ่อนก้ามปู อายุ 2 สัปดาห์ ที่ใช้เวลาบ่ม 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง มาวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงและเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเอนอะซิติลกลูโคซามีนและโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดตั้งแต่ 2 – 6 โมเลกุล พบว่า ปริมาณของ (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂, (GlcNAc)₃, (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ เท่ากับร้อยละ 3.41-5.54, 18.19-38.87, 8.23-20.46, 17.87-22.64, 9.84-20.17 และ 9.34-25.64 ตามลำดับ โดยโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ของ (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ จะมีปริมาณร้อยละลดลงเมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น คือ (GlcNAc)₄ ที่ถูกบ่มด้วยระยะเวลา 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง จะมีปริมาณ

ร้อยละเท่ากับ 22.64, 21.74, 20.15 และ 17.87 ตามลำดับ (GlcNAc)₅ ที่ถูกบ่มด้วยระยะเวลา 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง จะมีปริมาณร้อยละเท่ากับ 20.17, 17.42, 14.58 และ 9.84.87 ตามลำดับ และ (GlcNAc)₆ ที่ถูกบ่มด้วยระยะเวลา 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง จะมีปริมาณร้อยละเท่ากับ 25.64, 18.63, 13.12 และ 9.34 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณร้อยละของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่า เมื่อใช้เวลาในการบ่มน้อยลง (0.5 ชั่วโมง) ส่งผลทำให้มีปริมาณร้อยละของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดใหญ่ เช่น (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ สูงกว่าการใช้ระยะเวลาในการบ่มสูงขึ้น และปริมาณร้อยละของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขนาดเล็ก เช่น (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂ และ (GlcNAc)₃ เพิ่มสูงขึ้น เมื่อใช้เวลาในการบ่มสูงขึ้น (1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของมุนและคณะ พบว่า เอนไซม์ไคตินเนสที่สกัดได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Serratia marcescens* PRNK-1 และนำไปย่อยไคตินในรูปคอลลอยด์ที่ระยะเวลาสั้นลง ส่งผลทำให้ได้ปริมาณของโคโตเฮกโซสมากที่สุด รองมาเป็นโคโตเพนโตส และโคโตเตโตรส ตามลำดับ (9)

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์

เมื่อนำโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยไคตินในรูปคอลลอยด์ด้วยเอนไซม์ไคตินเนสที่สกัดจากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ ที่ใช้เวลาบ่ม 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง มาศึกษาการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BHT ที่มีค่า $EC_{50} = 1.34 \pm 0.1$ ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ 1) พบว่า โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากบ่มด้วยระยะเวลา 0.5 ชั่วโมง 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง มีค่าการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วงร้อยละ $25.29 \pm 0.1 - 88.03 \pm 0.1$, $24.22 \pm 0.1 - 84.67 \pm 0.1$, $21.69 \pm 0.1 - 81.97 \pm 0.1$ และ $15.41 \pm 0.1 - 80.03 \pm 0.1$ ตามลำดับ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.01 ± 0.1 , 1.07 ± 0.1 , 1.12 ± 0.1 และ 1.18 ± 0.1 ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 เมื่อวิเคราะห์ค่า

EC₅₀ ที่ได้จากระยะเวลาในการบ่มที่ต่างกันด้วย One Way ANOVA พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เนื่องจากค่า EC₅₀ ของแต่ละระยะเวลาการบ่มใกล้เคียงกันมาก ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการบ่มทุกช่วงเวลามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารมาตรฐาน BHT โดยไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการบ่มด้วยระยะเวลา 0.5 ชั่วโมง จะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการใช้ระยะเวลาในการบ่มที่น้อยกว่า (0.5 ชั่วโมง) จะมีโมเลกุลขนาดใหญ่ของ (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ มากกว่าโมเลกุลขนาดเล็กของ (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂ และ (GlcNAc)₃ ในขณะที่ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการใช้ระยะเวลาในการบ่มที่มากกว่า (1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง) จะมีโมเลกุลขนาดเล็กของ (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂ และ (GlcNAc)₃ มากกว่าโมเลกุลขนาดใหญ่ของ (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ (GlcNAc)₆ ดังนั้น ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ไคตินเนสจากพืชชนิดอื่น ๆ พบว่า ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ไคตินเนสจากต้นอ่อนก้ามปูมีฤทธิ์การต้านอนุมูล

อิสระได้ดีกว่าการย่อยโดยใช้เอนไซม์ไคตินเนสที่สกัดได้จากกระถินบ้าน (EC₅₀ เท่ากับ 1.21±0.1) และข้าว กข. 6 (EC₅₀ เท่ากับ 1.37±0.1) (17,18) เนื่องจาก ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ไคตินเนสจากต้นอ่อนก้ามปูที่ใช้ระยะเวลาบ่มน้อย (0.5 ชั่วโมง) มีปริมาณร้อยละของโมเลกุลขนาดใหญ่ของ (GlcNAc)₄ เท่ากับ 22.64, (GlcNAc)₅ เท่ากับ 20.17 และ (GlcNAc)₆ เท่ากับ 25.64 ซึ่งมากกว่า ปริมาณร้อยละของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ไคตินเนสจากต้นอ่อนกระถินบ้านที่มี (GlcNAc)₄ เท่ากับ 20.02, (GlcNAc)₅ เท่ากับ 15.03 และ (GlcNAc)₆ เท่ากับ 9.98 และข้าว กข. 6 ที่มี (GlcNAc)₄ เท่ากับ 14.92, (GlcNAc)₅ เท่ากับ 9.54 และ (GlcNAc)₆ เท่ากับ 7.92 ดังนั้น ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดใหญ่ (ใช้ระยะเวลาในการบ่มเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง) จะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้น 80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรเท่ากับ 88.03±0.1 มากกว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดเล็ก (ใช้ระยะเวลาในการบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง 4 ชั่วโมง) จะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้น 80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรเท่ากับ 84.67±0.1, 81.97±0.1 และ 80.03±0.1 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ด้วย BHT

ความเข้มข้น BHT (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	การต้านอนุมูลอิสระ (%)	EC ₅₀ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
2.5	4.37±0.1	1.34±0.1
5	13.84±0.1	
10	29.90±0.1	
20	48.75±0.1	
40	65.83±0.1	
80	77.47±0.1	

ตารางที่ 2 การต้านอนุมูลอิสระของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยการย่อยของโคติเนสจากต้นอ่อนก้ามปู ด้วยวิธี DPPH

เวลาที่ใช้ในการบ่ม	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	% การต้านอนุมูลอิสระ	EC ₅₀ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
0.5 ชั่วโมง	2.5	25.29±0.1	1.01±0.1
	5.0	35.55±0.1	
	10	50.01±0.1	
	20	61.62±0.1	
	40	74.78±0.1	
	80	88.03±0.1	
1 ชั่วโมง	2.5	24.22±0.1	1.07±0.1
	5.0	34.03±0.1	
	10	46.78±0.1	
	20	59.78±0.1	
	40	71.03±0.1	
	80	84.67±0.1	
2 ชั่วโมง	2.5	21.69±0.1	1.12±0.1
	5.0	31.48±0.1	
	10	43.39±0.1	
	20	58.97±0.1	
	40	70.47±0.1	
	80	81.97±0.1	
4 ชั่วโมง	2.5	15.41±0.1	1.18±0.1
	5.0	28.63±0.1	
	10	42.32±0.1	
	20	56.16±0.1	
	40	69.48±0.1	
	80	80.03±0.1	

สรุปผล

โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยของโคติเนสที่สกัดจากต้นอ่อนก้ามปูอายุ 2 สัปดาห์ ที่ใช้ระยะเวลาย่อย 0.5 ชั่วโมง จะมีโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขนาด (GlcNAc)₁-(GlcNAc)₆ เมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มน้อยคือ 0.5 ชั่วโมง จะมีปริมาณร้อยละของโคโตโอลิโก

แซคคาไรด์ขนาดใหญ่ของโคโตเฮกโซส โคโตเพนโตส และโคโตเตโตรส มากกว่าการใช้เวลาในการบ่มมากขึ้นเป็น 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง และ 4 ชั่วโมง และปริมาณร้อยละของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขนาดเล็กของ (GlcNAc)₁, (GlcNAc)₂ และ (GlcNAc)₃ เพิ่มขึ้น เมื่อใช้ระยะเวลาบ่มเพิ่มเป็น 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ขณะที่ (GlcNAc)₄, (GlcNAc)₅ และ

(GlcNAc)₆ ลดลง โดยไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ของ (GlcNAc)₄ เปลี่ยนไปเป็น (GlcNAc)₂ + (GlcNAc)₂, (GlcNAc)₅ เปลี่ยนไปเป็น (GlcNAc)₂ + (GlcNAc)₃ และ (GlcNAc)₆ เปลี่ยนไปเป็น (GlcNAc)₃ + (GlcNAc)₃ และ (GlcNAc)₂ และ (GlcNAc)₄ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการใช้เวลาย่อยทุกช่วงเวลา จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐานบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอิน (BHT) โดยไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ซึ่งใช้เวลาบ่มน้อยจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กที่ใช้เวลาบ่มมาก

เอกสารอ้างอิง

- Chernin LS, Fuente LD, Sobolev LV, Haran S, Vorgias CE, Oppenheim AB, et al. Molecular cloning, structural analysis, and expression in *Escherichia coli* of a chitinase gene from *Enterobacter Agglomerans*. Appl Environ Microb. 1997;63(3):834–9.
- Malik A. Purification and properties of plant chitinases: A review. J Food Biochem. 2019;43(3):1-11.
- Baureithel K, Felix G, Boller T. Specific, high affinity binding of chitin fragments tomato cells and membranes, competitive inhibition of binding by derivatives of chitooligosaccharides and a nod factor of *Rhizobium*. J Biol Chem. 1994;269(27):17931-8.
- Shibuya N, Kaku H, Kuchitsu K, Maliarik MJ. Identification of a novel high-affinity binding site for N-acetylchitooligosaccharide elicitor in the plasma membrane fraction from suspension-cultured rice cells. FEBS. 1993;329:75–8.
- Coelho JF, Ferreira PC, Alves P, Cordeiro R, Fonseca AC, Gois JR, et al. Drug delivery system: advanced technologies potentially applicable in personalized treatments. EPMA Journal. 2010;1(1):164-209.
- Kaomek M. Antioxidant activity by chitooligosaccharides of chitosanase from *Samanca saman* (Jacq) Merr, *Leucaena leucocephala* de Wit, *Oryza sativa* RD. 6 and *Sorghum vulgare* KU 630. VRU Research and Development Journal Science and Technology. 2019;14(3):62-71.
- Phumkhonsan P, Kaomek M. Assessment of charats and activities of chitinase from *Samanca saman* (JACQ). Sri-ayutthaya cluster 9th Rajabhat university national conference; 18 Oct 8; Valaya Alongkorn Rajabhat University; 2018.
- Kaomek M. Antifungal acitivity of chitoloigosaccharides from *Samanca saman* (JACQ) Merr., *Leucaena leucocephala* de wit, *Oryza sativa* RD. 6 and *Sorghum vulgare* KU 630 produced by chitinase. VRU Research and Development Journal Science and Technology. 2020;15(2):119-30.
- Moon C, Seo D, Song Y, Hong S, Choi S, Jung W. Antifugal activity and patterns of N-acetyl-chitooligosaccharide degradation via chitinase produced from *Serratia marcescens* PRNK-1. Microb Pathogenesis. 2017;113:218-24.
- Boller T, Gehri A, Mauch F, Vogeli U. Chitinase in bean leaves: induction by

- ethylene, purification, properties and possible function. *Planta*. 1983;157:22-31.
11. Berger LR, Reynold DM. The chitinase system of a strain of griseus. *Biochimi Biophys Acta*. 1958;29(3):522–34.
 12. Lowry OH, Rosebrougly NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:256-7.
 13. Miller GC. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Etermination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*. 1959;31:426-8.
 14. Pownibg RF, Lrzykiewicz H. Separation of Chitin Oligosaccharide by Thin Layer Chromatography. *J Chromatogr*. 1967;27:115-9.
 15. Koga D, Yoshioka T, Arakane Y. HPLC analysis of anomeric formation and cleavage pattern by chitinolytic enzyme. *Biosci Biotech Bioch*. 1998;62(8):1643-6.
 16. Brand WW, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol*. 1995;28(1):25-30.
 17. Testhong W, Kaomek M. Antioxidant activity of chitooligosaccharides produced by chitinase from *Leucaena leucocephala* de wit. *Journal of Research and Innovation in Science and Technology*. 2021;2(2):16-27.
 18. Phomniles B, Kaomek M. Patterns and antioxidant activity of chitooligosaccharides produced by chitinase from *Oryza sativa* RD.6. The 8th Academic Science and Technology Conference 2021; 21 Mar 26; Valaya Alongkorn Rajabhat University; 2021.



Bitter Leaf Crude Extracts-Loaded Alginate Films as Potential Wound Dressings

Patcharaporn Wutticharoenmongkol*, Tittaya Thairin and Bhunnada Luthanawat

Department of Chemical Engineering, Thammasat School of Engineering, Thammasat University, Pathumthani 12120, THAILAND

*Corresponding author e-mail: tpatchar@engr.tu.ac.th

ARTICLE INFO

Article history:

Received: 11 August, 2021

Revised: 13 October, 2021

Accepted: 28 October, 2021

Available online: 29 November, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.11

Keywords: bitter leaf, alginate, drug release, antioxidant, wound dressing

ABSTRACT

The bitter leaf (BL), a tropical herbal plant which possess antioxidant activity and several pharmacological properties, was extracted using water, ethanol, and ethyl acetate as solvents. The yield of BL crude extract from water (BL/W) was the highest, followed by those from ethanol (BL/E), and ethyl acetate (BL/EA), respectively. The BL/W and the BL/E exhibited the antioxidant activity as determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay and slightly antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as determined by agar disc diffusion method. The alginate films containing 20% w/w of either the BL/W or the BL/E were fabricated from the solvent-casting technique. The release characteristics of the BL extracts therefrom were investigated by the total immersion method and the transdermal diffusion through a pigskin method in either the acetate buffer (pH 5.5) or the phosphate buffer (pH 7.4) solutions during 0-48 h, at the temperatures of 32° or 37°C, respectively. For total immersion method, the maximum released amounts of the BL/W were higher than those of the BL/E. Inversely, the maximum released amounts of the BL/E were higher than those of the BL/W in the case of the transdermal diffusion method. For both the total immersion and the transdermal diffusion methods, the released amounts of both BL/W and BL/E in the phosphate buffer were greater than those in the acetate buffer solutions. Both types of alginate films containing either BL/W or BL/E exhibited the antioxidant and antibacterial activities which showed the potential for use as topical transdermal and wound dressing materials.

INTRODUCTION

Vernonia amygdalina, known as bitter leaf (BL), is largely found in Asia and Africa. It is used as traditional food and medicine for the treatment of many diseases (1). It is a shrub in the Asteraceae family that grow 2-5 m high. It had shown to possess several pharmacological properties such as anti-inflammatory (2), antioxidant (3), anti-cancer (4), anti-malaria (5), anti-fungal (6), anti-microbial (7), anti-diabetes (3), and anti-allergic (8). BL contains carbohydrates, proteins, fats, amino acids, fibers, minerals, and vitamins (9, 10). Many phytochemicals have been extracted from BL which include flavonoids, phenolics, terpenes, sesquiterpenes, edotides, alkaloids, and xanthenes (11, 12). The antioxidant activities of herbal extracts were found to be related with the levels of flavonoid and phenolic compounds (13). The outstanding properties of BL in medicinal uses had drawn attentions to be used as a bioactive ingredient in wound healing (14, 15).

The achievement of wound dressings depends on the selection of the matrix materials and the loaded bioactive compounds. Biodegradable, biocompatible, non-allergic, and non-toxic materials are suitable for use as wound dressings (16). Hydrogels have been widely utilized as wound covering materials due to their ability to keep moist environment and absorb exudate from wounds. The crosslinking of some functional groups in polymer molecules allows hydrogel formation that can be swollen but not soluble in water. Alginate is one of the natural hydrogels that had been employed in biomedical applications, including tissue engineering (17) and carriers for a controlled-drug release in wound healing (18-20). Sodium alginate is a derivative of alginic acid, which is a linear copolymer of (1,4)-linked β -D-mannuronic

(M) and its C-5 epimer α -L-guluronic (G) acids (21). It is a natural polymer which can be extracted from a cell wall of brown algae. For use as topical transdermal patch and wound dressings, alginate had shown many satisfied properties including biocompatibility, biodegradability, anti-bacterial, providing moist environment, accelerating re-epithelialization, non-immunogenicity, and controlled release properties (22-25).

In the present contribution, the crude extracts of BL obtained from extraction by different types of solvents were loaded into alginate solutions and were fabricated into films. The antioxidant and antibacterial activities of BL extracts were evaluated. The release behaviors of BL extracts from the BL extracts-loaded alginate films were investigated by the total immersion and the transdermal diffusion through a pig skin with either the acetate buffer (pH 5.5) or the phosphate buffer (pH 7.4) solutions as to simulate the human skin and the physiological condition of wounds, respectively. Lastly, the antioxidant and antibacterial activities of the BL extracts-loaded alginate films were determined to evaluate the potential for use in wound dressing applications.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Bitter leaf (BL) was collected from Pathumthani province, Thailand. Sodium alginate was purchased from Acros Organics (USA). Ethanol, methanol, glycerol, ethyl acetate, and calcium chloride were purchased from Carlo Erba Reagents (Italy). 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was purchased from Sigma Aldrich (USA). The chemicals for the acetate buffer (pH 5.5) preparation including glacial acetic acid, and sodium acetate and for the

phosphate buffer (pH 7.4) preparation including anhydrous disodium hydrogen orthophosphate (Na_2HPO_4) and sodium dihydrogen orthophosphate monohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) were purchased from Carlo Erba Reagents (Italy). All chemicals were of analytical grade and used without further purification.

Extraction of BL

BL were collected, washed with water, dried at room temperature for 30 min, and were kept in refrigerator. BL was crushed into fine solid with mortar and mixed with each solvent including water, ethanol, and ethyl acetate at a solid:liquid ratio of 10 g : 20 mL. The mixture was sonicated at 40 kHz for 24 h at room temperature. The liquid extract of BL was collected after removing the solid residue by vacuum filtration. The extract was further freeze-dried and kept in a desiccator. The yield of extraction was calculated from an equation (1).

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{weight of the dry extract (g)}}{\text{weight of the BL leaf}} \times 100 \quad (1)$$

Antioxidant activity of BL extracts

The DPPH assay was conducted to evaluate the antioxidant activity of the BL extracts. The solutions of BL extract from various solvents were prepared at 1, 2, 3, and 5 mg/mL for this study. The DPPH solution was prepared at 0.5 mM in methanol. Then, 3 mL of DPPH solution was mixed with 1 mL of the tested solution and was kept in dark for 30 min. The control sample was the pristine DPPH solution which was kept in the same condition. The absorbance of the obtained solution was measured by the I3 Hanon UV-vis spectrophotometer at a wavelength of 517 nm. The antioxidant activity was calculated from an equation (2):

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) \times 100 \quad (2)$$

where, A_c and A_s are the absorbance at 517 nm of the control and the tested sample, respectively.

Antibacterial activity of BL extracts

Antibacterial activity of BL extracts against *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) was studied by the agar disc diffusion method. The circular filtered papers (diameters of 6 mm) saturated with the BL extracts, distilled water (a negative control: NC), and ethanol (a positive control: PC) were placed in agar plate and incubated at 37°C for 18 h. The length of inhibition zone was measured from the edge of the sample to the end of clear zone.

Preparation of BL extract-loaded alginate films

The weighed amount of sodium alginate powder was dissolved in distilled water at a concentration of 2% w/v and was stirred until the homogeneous solution was obtained. The BL extract was added into the alginate solution at a concentration of 20% w/w based on the weight of alginate powder. Glycerol, as a plasticizer, was further added into the solution at 3% w/v. The solvent-casting technique was used to fabricate the BL extract-loaded alginate (designated as alginate/BL) films. 20 g of the alginate/BL solution was poured into the 10 mm-diameter petri-dish. The dish was dried at 45°C for 21 h. The obtained alginate/BL film was immersed in 15 mL of the 2%w/v calcium chloride solution for 5 min to crosslink the alginate. Lastly, the film was rinsed with distilled water and was dried at room temperature for 24 h.

Preparation of acetate and phosphate buffers

In the release study, the acetate buffer (pH 5.5) was used as the releasing medium in order to simulate the pH condition of human

skin for the proposed application as topical transdermal patches. In addition, the phosphate buffer (pH 7.4) was used as another releasing medium to simulate the physiological condition for the proposed application as wound dressing. For preparation of 1 L of the acetate buffer solution, 15 g of sodium acetate was dissolved in about 500 mL of distilled water and followed by 1.5 mL of glacial acetic acid. Lastly, the final volume of the solution was adjusted to 1 L using distilled water. Few drops of sodium hydroxide solution or hydrochloric acid could be added to adjust the pH to 5.5. For preparation of 1 L of phosphate buffer solution, 20.2 g of $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and 3.4 g of $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ were dissolved in distilled water. The final volume was adjusted to 1 L. The pH of the obtained phosphate buffer solution was 7.4.

Release of BL extracts

The release behaviors of BL extracts from the alginate/BL films were investigated by two methods i.e., total immersion and transdermal diffusion through a pig skin. For both methods, the release medium was either acetate (pH 5.5) or phosphate (pH 7.4) buffer solutions. The temperatures of the release experiments in the acetate and the phosphate buffer solutions were either at the human skin temperature of 32°C or the physiological temperature of 37°C, respectively.

Prior to study the release of BL extracts therefrom, the actual drug content (i.e., the actual amounts of BL extracts) was determined for use as base values in the release study. The film was cut into a square piece of $2 \times 2 \text{ cm}^2$ and was dissolved by continuously stirred in 20 mL of distilled water at 80°C. The actual amount of BL extracts was quantified from its absorbance at 324 nm using the UV-vis spectrophotometer.

For the release by total immersion method, the film was cut into a square piece of $2 \times 2 \text{ cm}^2$ and was immersed into a capped bottle containing 40 mL of either acetate or phosphate buffer solutions. The solution was slowly stirred during the period of release study which was in a range of 0-48 h.

For the transdermal diffusion through a pig skin method, the abdomen pig skin was used. The pig skin was treated by removing epidermal hair, subcutaneous fat, and underlying tissues in which the final thickness was about 1-1.2 mm. The modified Franz diffusion cell with the expose diameter to the tested film of 13 mm was full-filled with the buffer solution. The tested film was placed on top of the pig skin which, in turn, was placed on the modified Franz diffusion cell. At a specified time point of release, either 1.0 mL of the releasing medium in case of the total immersion method or 0.3 mL in case of the transdermal diffusion method was withdrawn, diluted with the buffer solution, and measured for the absorbance by the UV-vis spectrophotometer at 324 nm. The amounts of released BL extract were calculated against the pre-determined standard curve of BL extract in each type of medium. After each time of withdrawal of the releasing medium, the same amount of fresh releasing medium was added into the bottle to keep the constant volume. The experiments were carried out in triplicate. The percentages of cumulative release amounts of BL extract were calculated from the comparative amounts of BL extract released at a given time point and the actual drug (BL extract) content.

Water swelling of alginate/BL films

The degree of water swelling of the alginate/BL films was determined after submersion in either the acetate buffer (pH 5.5)

or the phosphate buffer (pH 7.4) at the temperature of 32°C and 37°C, respectively, for 48 h according to an equation (3):

$$\text{Water swelling (\%)} = \left(\frac{M - M_i}{M_i} \right) \times 100 \quad (3)$$

where, M_i and M are the initial weight of sample and the weight of sample after submersion in a buffer solution for 48 h, respectively.

Antioxidant activity of alginate/BL films

The antioxidant activity of the alginate/BL films was evaluated by the DPPH assay. The tested solution was collected from the released media from the transdermal diffusion release study at 48 h. The procedure of DPPH assay mentioned in the earlier section was performed. Also, an equation (2) was used to calculate the antioxidant activity.

Antibacterial activity of alginate/BL films

The alginate/BL films were cut into circular discs with diameter of 6 mm. Antibacterial activity of the tested films against *S. aureus* and *E. coli* was studied by the agar disc diffusion method as described in the earlier section. The length of inhibition zone was measured.

RESULTS AND DISCUSSION

Yield and antioxidant activity of BL extracts

BL were extracted by using 3 types of solvents with different polarity. The obtained BL extracts from water, ethanol, and ethyl acetate were hereafter designated as BL/W, BL/E, and BL/EA, respectively. The percentages of yield of BL extracts are presented in Figure 1. The BL/W was obtained in the highest yield ($2.99 \pm 0.16\%$), followed by BL/E ($1.46 \pm 0.05\%$), and BL/EA ($0.45 \pm 0.08\%$), respectively. According to a very low yield of BL extract obtained from ethyl acetate,

only BL/W and BL/E were used in the further study. The BL/W and the BL/E were further investigated for their antioxidant activities based on the DPPH assay at the concentrations of 1, 2, 3, and 5 mg/mL. For both types of extracts, the higher concentration of extracts contributed to the higher antioxidant activity (see Figure 2). Obviously, the BL/W exhibited greater antioxidant activity than the BL/E at the same concentration. The antioxidant activities of the BL/W were in a range of about 49 -89% whereas those of the BL/E were in a range of about 0-51%. Interestingly, the antioxidant activity of the BL/W was as high as that of gallic acid released from the electrospun cellulose acetate at a comparable amount of antioxidant substances (26). The antioxidant activity of approximately 80.0% at 3.2 mg/mL gallic acid released was reported (26). However, the BL/E exhibited less antioxidant activity than the BL/W. A similar trend was reported by Atangwho, *et.al.*, (3) that the water extract of BL exhibited the higher antioxidant activity as measured by DPPH, 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays than the alcohol (i.e., methanol) extract.

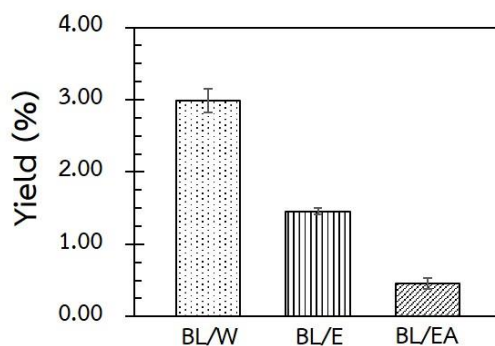


Figure 1 Yield of BL extracts in various types of solvents.

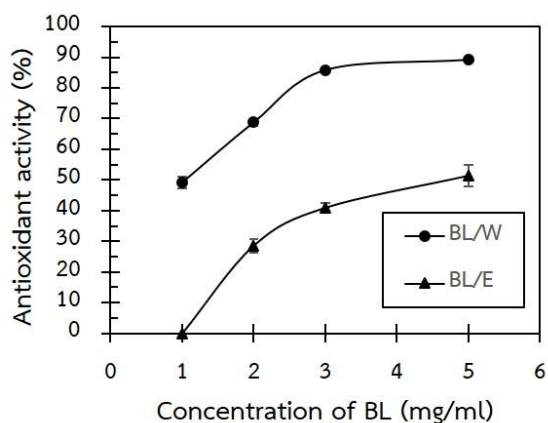


Figure 2 Antioxidant activity of BL extracts from water and ethanol.

Antibacterial activity of BL extracts

Antibacterial activity of BL extracts against *S. aureus* and *E. coli* was determined by the agar disc diffusion method. The lengths of inhibition zone are shown in Table 1. Both BL/W and BL/E exhibited slightly antibacterial activity against both types of bacteria which can be observed from the small values of inhibition zone compared with that of a positive control. Photographs of the bacteria cultured plates were presented in Figure 3. However, the photograph of the BL/E is not available.

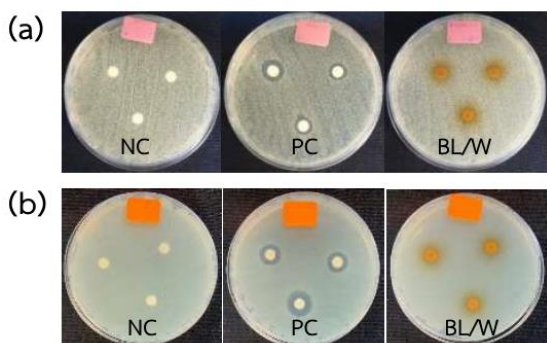


Figure 3 Antibacterial activity of a negative control (NC), a positive control (PC), and BL/W extracts against (a) *S. aureus* and (b) *E. coli* as determined by agar disc diffusion method.

Both of the BL extracts (BL/W and BL/E) were further loaded into the alginate solution at a concentration of 20% w/w based on the weight of alginate powder in which the solution was subsequently fabricated into films. The average thickness of the alginate/BL films was $134 \pm 59 \mu\text{m}$. Furthermore, the release of the BL extracts from the alginate/BL films were investigated.

Table 1 Lengths of the inhibition zone for a negative control, a positive control, and BL extracts against *S. aureus* and *E. coli*.

Samples	Lengths of inhibition zone (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Negative control	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Positive control	2.33 ± 0.53	2.33 ± 0.58
BL/W	1.24 ± 0.51	1.26 ± 0.45
BL/E	1.21 ± 0.45	1.25 ± 0.44

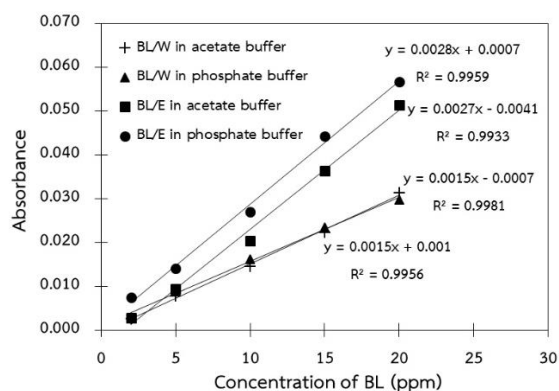


Figure 4 Standard curves of BL/W and BL/E in acetate and phosphate buffer solutions.

Release of BL extracts

Prior to study the release of the BL extracts from the alginate/BL films, it is necessary to prepare the standard curves of each BL extract in both release media (i.e., the acetate and the phosphate buffer solutions). Figure 4.

shows the standard curves of the BL/W and the BL/E in each buffer solution along with the equations corresponded to each curve.

In the further section, the amounts of the BL extracts released could be quantified according to the measured absorbance at the λ_{max} of the BL extracts (324 nm) against the equation of the standard curve. The best fits of the data were validated from the coefficient of determination (R^2) which were above 0.99 for all curves.

Moreover, the actual amounts of the BL extracts were determined for use as base values in the release study. The percentages of actual amounts of BL/W and BL/E in the films which were calculated from the actual amounts divided by the loaded amounts of BL extracts were $95.1\% \pm 3.4\%$ and $94.6\% \pm 4.1\%$, respectively.

Release of BL extracts from total immersion method

The release of the BL/W and the BL/E from the alginate/BL films was investigated by total immersion method during 0-48 h. Figures 5(a) and 5(b) show the percentages of cumulative release of BL/W and BL/E in the acetate buffer (pH 5.5) at 32°C and in the phosphate buffer (pH 7.4) at 37°C, respectively. The results were reported as the percentages of the cumulative weights of BL extracts released divided by the actual BL extracts content in the sample. For both media and both types of BL extracts (i.e., BL/W and BL/E), the burst release was observed at the initial 200 min of release. Later, the gradual release until reaching the plateau amounts was noticed. The maximum amounts of the BL/W and the BL/E released in the acetate buffer solution at 2,880 min (48 h) were about 50% and 42%, respectively. The

greater released amounts of the BL/W than the BL/E were evidenced. Moreover, the similar trend of release was observed in the phosphate buffer solution where the maximum released amount at 2,880 min of the BL/W (about 67%) was higher than that of the BL/E (about 58%).

There are a number of factors affected the rate and the amount of a substance released into media, for example, the degree of weight loss or the dissolution of matrix (27), the degree of swelling of matrix (28), and the polarity of substance (29). The comparable solubility of the substance released and the medium allows the greater rate and amount of substance released (29). The reason of the noticeable greater amounts of the BL/W released than the BL/E in both media could be from the fact that the chemical compositions in the BL/W were more polar than those in the BL/E. Therefore, the molecules in BL/W can diffuse and dissolve into either acetate or phosphate buffer solution which were aqueous solutions better than the molecules in BL/E.

Further observations to be discussed is that, for any type of the BL extract, the released amounts in the phosphate buffer solution were higher than those in the acetate buffer solution. The temperature of the phosphate buffer solution was controlled at 37°C which is the physiological temperature of wound, whilst the temperature of the acetate buffer solution was controlled at 32°C which is the temperature of human skin. The higher temperature of the experiment in the phosphate buffer than that in the acetate buffer solution could be the main reason that attributed to the greater released amounts of the BL extracts. The molecules would have higher kinetic energy and therefore can diffuse out easily at the higher temperature.

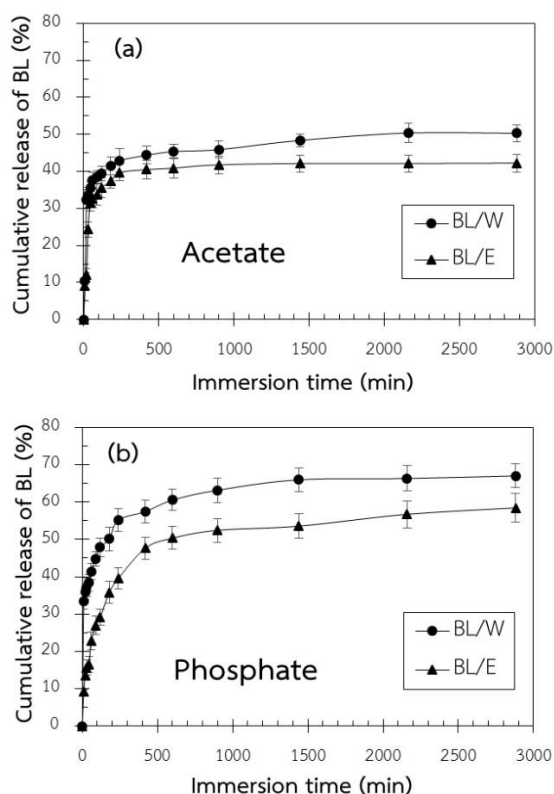


Figure 5 Cumulative release amounts of BL/W and BL/E from alginate/BL films in (a) acetate (pH 5.5) and (b) phosphate (pH 7.4) buffer solutions from total immersion method.

Release of BL extracts from transdermal diffusion through a pig skin method

According to the attempt to investigate the release behavior of the BL extracts in the most similar conditions of the applications in wound dressings or topical transdermal patch, the study of release by transdermal diffusion through a pig skin method was performed. Figures 6(a) and 6(b) present the percentages of cumulative release of the BL/W and the BL/E in the acetate buffer (pH 5.5) at 32°C and in the phosphate buffer (pH 7.4) at 37°C, respectively. The maximum amounts of the BL/W and the BL/E released in the acetate buffer solution at 2,880 min (48 h) were about 7% and 28%, respectively. While, the maximum amounts of

the BL/W and the BL/E released in the phosphate buffer solution at 2,880 min were about 39% and 45%, respectively.

Interestingly, the released amounts of the BL/E were significantly higher than those of the BL/W in both buffer solutions. Opposite to the results in the total immersion method, the chemical compositions in the BL/E which were less polar than those in the BL/W could easily diffuse and penetrate into the non-polar membrane of pig skin. The lipid bilayers in epidermis layer of mammal skins act as a non-polar membrane (30) that allows a non-polar substance to penetrate or diffuse conveniently (31, 32).

In addition, for any type of the BL extract, the released amounts in the phosphate buffer solution were higher than those in the acetate buffer solution. The higher temperature used for the phosphate buffer experiments could contribute to the higher amounts of BL extracts released as mentioned earlier.

Water swelling of alginate/BL films

The degree of water swelling of the carriers for the drug-controlled release applications is one of the important properties to explain the behavior of release (28). The degree of water swelling of the alginate/BL films was determined after submersion in either the acetate buffer (pH 5.5) or the phosphate buffer (pH 7.4) for 48 h at the temperature of 32°C or 37°C, respectively. The degree of water swelling of the pristine alginate, the alginate/BL/W, and the alginate/BL/E films in the acetate buffer solution were $1339 \pm 84\%$, $1345 \pm 56\%$, and $1329 \pm 135\%$, respectively. The alginate films with different types of BL extracts had the comparable degrees of water swelling. Additionally, the degree of water swelling of the pristine alginate, the alginate/BL/W, and the

alginate/BL/E films in the phosphate buffer solution were $513 \pm 59\%$, $581 \pm 66\%$, and $455 \pm 74\%$, respectively.

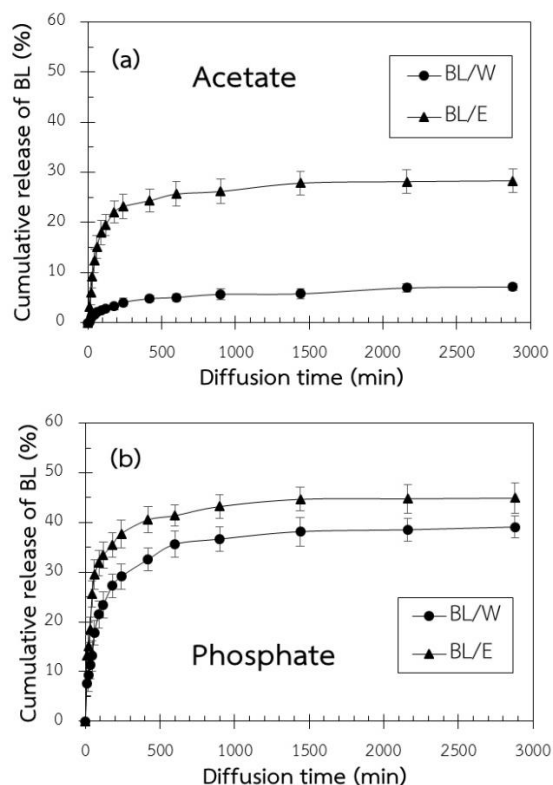


Figure 6 Cumulative release amounts of BL/W and BL/E from alginate/BL films in (a) acetate (pH 5.5) and (b) phosphate (pH 7.4) buffer solutions from transdermal diffusion through a pig skin method.

According to the higher amounts of BL extracts released in the phosphate buffer than the acetate buffer solution that was mentioned in the earlier section, the higher degree of water swelling of the alginate/BL films in the phosphate buffer solution was expected. However, the contrast results were obtained. During the experiment of determination of water swelling, the high mass loss of the films was observed in the case of the phosphate buffer solution. This mass loss affected to the lower degree of water swelling which was evaluated from the mass of the films after submersion in

media. The mass loss of the alginate films when they were submersed in the phosphate buffer solution could be due to the presence of phosphate ion that can remove calcium from the crosslinked alginate molecules and produce calcium orthophosphate. Therefore, the structure of the crosslinked alginate might be partly destroyed and the films could be eroded and lost some mass into media.

Antioxidant of alginate/BL films

The antioxidant activity of the alginate/BL films was evaluated by the DPPH assay. The DPPH radical can donate hydrogen radical and become a non-radical form. The decrease in amounts of DPPH radical induced by the antioxidant species was measured by the reduction in its absorbance at 517 nm according to an equation (2). The releasing media collected from the transdermal diffusion through a pig skin method for 48 h were determined for the antioxidant activity. The antioxidant activities of the alginate/BL/W and the alginate/BL/E films in the acetate buffer solution were $23 \pm 3\%$ and $34 \pm 4\%$, respectively (see Figure 7). While, these values in the phosphate buffer solution were $40 \pm 5\%$ and $41 \pm 6\%$, respectively.

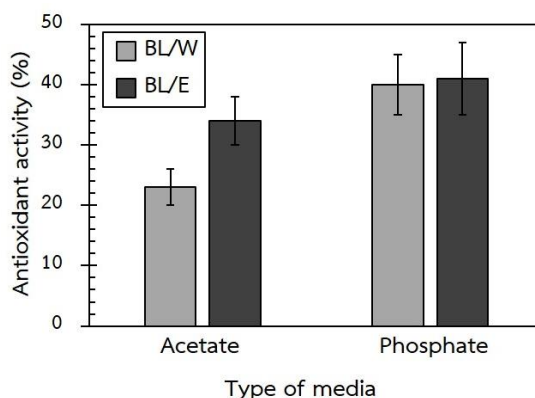


Figure 7 Antioxidant activity of alginate/BL films after immersion in buffer solutions for 48 h.

These observations were corresponded well with the amounts of BL extracts released which were discussed in the earlier section. Comparing 2 types of releasing media, the higher amounts of BL extracts released (either BL/W or BL/E), in the phosphate buffer solution contributed to the higher antioxidant activity than those in the acetate buffer solution. In addition, comparing between 2 types of BL extracts, the higher amounts of BL/E released in either acetate or phosphate buffer solutions contributed to their higher antioxidant activity than those of the BL/W.

Table 2 Lengths of the inhibition zone for a negative control (NC), a positive control (PC), and alginate/BL films against *S. aureus* and *E. coli*.

Samples	Lengths of inhibition zone (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Negative control	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Positive control	2.05 ± 0.05	2.03 ± 0.05
Pristine alginate film	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Alginate/BL/W	0.56 ± 0.09	0.51 ± 0.11
Alginate/BL/E	0.54 ± 0.08	0.50 ± 0.09

Antibacterial activity of alginate/BL films

For the proposed application as wound dressings, the antibacterial activity is one of the important properties. The antibacterial activities of the alginate/BL films against *S. aureus* and *E. coli* were evaluated by the agar disc diffusion method. The length of inhibition zone are shown in Table 2. These values of a negative control (distilled water) and a positive control (ethanol) were also reported. Obviously, the pristine alginate film without BL extracts had no antibacterial activity as the inhibition zone was not observed. The alginate/BL/W and

alginate/BL/E films exhibited slightly antibacterial activity against both types of bacteria which can be observed from the small values of inhibition zone.

Interestingly, both the alginate/BL/W and alginate/BL/E films possess their free radical scavenging ability and antibacterial activity. Even though, their antibacterial activities were not outstanding, some other antibacterial substances, for example, silver nanoparticles might be recommended to be incorporated into the films in the future work. Based on the overall results, the alginate/BL/W and the alginate/BL/E films exhibited the potential for use as carriers for topical transdermal delivery and wound healing applications. Even though the BL/E was obtained in the lower yield than the BL/W, the BL/E exhibited the greater released amounts and therefore greater antioxidant activity. While, the BL/W which was gained in the higher yield than the BL/E, exhibited lower amounts of release and therefore lower antioxidant activity. Possibly, the BL/W would be suggested to be loaded at the higher amounts than 20% w/w in the films which was currently used in this study to improve their antioxidant activity.

CONCLUSION

In the present study, the bitter leaf (BL), a tropical herbal plant which possess antioxidant activity and several pharmacological properties, was extracted by using different solvents. The BL extracts from water (BL/W) and from ethanol (BL/E) showed the antioxidant and slightly antibacterial activities. The alginate films containing 20% w/w of either the BL/W or the BL/E were fabricated. The release characteristics of the BL extracts therefrom were investigated in either the acetate buffer (pH 5.5) or the phosphate buffer (pH 7.4) solutions at 32° or

37°C, respectively. For total immersion method, the release amounts of the BL/W were higher than those of the BL/E in a given type of medium. The higher polarity of the molecules in the BL/W could contribute to the higher ability to diffuse and dissolve in the aqueous media. In contrast, for the transdermal diffusion through a pig skin method, the release amounts of the BL/E were greater than those of the BL/W. In a similar manner, the less polarity of the molecules in the BL/E could contribute to the greater ability to penetrate into a non-polar membrane of a pig skin. The proposed application of the alginate/BL films as wound dressings was investigated by evaluating their antioxidant and antibacterial properties. Both types of alginate films exhibited the antioxidant and slightly antibacterial activities which showed the potential for use as carriers for topical transdermal delivery and wound healing applications.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors acknowledge the fundings from the Thammasat School of Engineering and the research unit in polymer rheology and processing, Thammasat University.

REFERENCES

1. IfedibaluChukwu EI, Aparoop D, Kamaruz Z. Antidiabetic, anthelmintic and antioxidation properties of novel and new phytocompounds isolated from the methanolic stem-bark of *Vernonia amygdalina* Delile (Asteraceae). *Sci Afr*. 2020;10:e00578.
2. Mazumder U, Gupta M, Manikandan L, Bhattacharya S, Halder P, Roy S. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Vernonia cinerea* Less. extract in rats. *Phytomedicine*. 2003;10(2-3):185-8.
3. Atangwho IJ, Egbung GE, Ahmad M, Yam MF, Asmawi MZ. Antioxidant versus anti-diabetic properties of leaves from *Vernonia amygdalina* Del. growing in Malaysia. *Food Chem*. 2013;141(4):3428-34.
4. Gresham LJ, Ross J, Izevbogie EB. *Vernonia amygdalina*: anticancer activity, authentication, and adulteration detection. *Int J Env Res Pub He*. 2008;5(5):342-8.
5. Abosi AO, Raseroka BH. In vivo antimalarial activity of *Vernonia amygdalina*. *Brit J Biomed Sci*. 2003;60(2):89-91.
6. Yusoff SF, Haron FF, Tengku Muda Mohamed M, Asib N, Sakimin SZ, Abu Kassim F, et al. Antifungal Activity and Phytochemical Screening of *Vernonia amygdalina* Extract against *Botrytis cinerea* Causing Gray Mold Disease on Tomato Fruits. *Biology*. 2020;9(9):286.
7. Uzoigwe C, Agwa O. Antimicrobial activity of *Vernonia amygdalina* on selected urinary tract pathogens. *Afr J Microbiol Res*. 2011;5(12):1467-72.
8. Ngatu NR, Okajima MK, Yokogawa M, Hirota R, Takaishi M, Eitoku M, et al. Anti-allergic effects of *Vernonia amygdalina* leaf extracts in hapten-induced atopic dermatitis-like disease in mice. *Allergol Int*. 2012;61(4):597-607.
9. Alara OR, Abdurahman NH, Mudalip SKA, Olalere OA. Phytochemical and pharmacological properties of *Vernonia amygdalina*: a review. *J Chem Eng Ind Biot*. 2017;2(1):80-96.
10. Eyong EU, Agiang M, Atangwho I, Iwara I, Odey M, Ebong P. Phytochemicals and

- micronutrients composition of root and stem bark extracts of *Vernonia amygdalina* Del. J Med Med Sci. 2011;2(6):900-3.
11. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI, Hassan Z, Kabbashi NA. Dataset on LC-Q-TOF/MS tentative identification of phytochemicals in the extract of *Vernonia amygdalina* leaf through positive ionization. Data Brief. 2018;21:1686.
12. Farombi EO, Owoeye O. Antioxidative and chemopreventive properties of *Vernonia amygdalina* and *Garcinia biflavonoid*. Int J Env Res Pub He. 2011;8(6):2533-55.
13. Phowichit S, Ratanachamnong P, Matsathit U, Ussawawongaraya W. Anti-oxidant activity, phenolic and flavonoid constituents of Crude extracts from *Piper ribesioides* and *Zanthoxylum limonella* traditional herbal medicine in Northern Thailand. JARST [Internet]. 2019Jun.13 [cited 2021Oct.1];18(1):25-9. Available from: <https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/rmutt-journal/article/view/164542>.
14. Eyo JE, Uzoibiam B, Ogbanya KC, Nnaji T. Comparative evaluation of wound healing effects of *Ocimum gratissimum*, *Vernonia amygdalina* and *Zingiber officinalis* extracts on incision wound model in rats. Pharmacology online. 2014;3:44-50.
15. Mboto C, Eja M, Adegoke A, Iwatt G, Asikong B, Takon I, et al. Phytochemical properties and antimicrobial activities of combined effect of extracts of the leaves of *Garcinia kola*, *Vernonia amygdalina* and honey on some medically important microorganisms. Afr J Microbiol Res. 2009;3(9):557-9.
16. Dabiri G, Damstetter E, Phillips T. Choosing a wound dressing based on common wound characteristics. Adv Wound Care. 2016;5(1):32-41.
17. Alsberg E, Anderson K, Albeiruti A, Franceschi R, Mooney D. Cell-interactive alginate hydrogels for bone tissue engineering. J Dent Res. 2001;80(11):2025-9.
18. Dong Z, Wang Q, Du Y. Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release. J Membr Sci. 2006;280(1-2):37-44.
19. Hasnain MS, Nayak AK, Singh M, Tabish M, Ansari MT, Ara TJ. Alginate-based bipolymeric-nanobioceramic composite matrices for sustained drug release. Int J Biol Macromol. 2016;83:71-7.
20. Thairin T, Wutticharoenmongkol P. Ciprofloxacin-loaded alginate/poly (vinyl alcohol)/gelatin electrospun nanofiber mats as antibacterial wound dressings. J Ind Text. 2021;1528083721997466.
21. Kim HS, Lee C-G, Lee EY. Alginate lyase: structure, property, and application. Biotechnol Bioprocess Eng. 2011;16(5):843.
22. Abbasi AR, Sohail M, Minhas MU, Khaliq T, Kousar M, Khan S, et al. Bioinspired sodium alginate based thermosensitive hydrogel membranes for accelerated wound healing. Int J Biol Macromol. 2020;155:751-65.
23. Aderibigbe BA, Buyana B. Alginate in wound dressings. Pharmaceutics. 2018;10(2):42.
24. Bouhadir KH, Lee KY, Alsberg E, Damm KL, Anderson KW, Mooney DJ. Degradation of partially oxidized alginate and its potential application for tissue engineering. Biotechnol Progr. 2001;17(5):945-50.

25. Pereira RF, Carvalho A, Gil M, Mendes A, Bártolo PJ. Influence of Aloe vera on water absorption and enzymatic in vitro degradation of alginate hydrogel films. *Carbohydr Polym.* 2013;98(1):311-20.
26. Wutticharoenmongkol P, Hannirojram P, Nuthong P. Gallic acid-loaded electrospun cellulose acetate nanofibers as potential wound dressing materials. *Polym Advan Technol.* 2019;30(4):1135-47.
27. Tuovinen L, Peltonen S, Järvinen K. Drug release from starch-acetate films. *J Control Release.* 2003;91(3):345-54.
28. Wan LS, Heng PW, Wong LF. Relationship between swelling and drug release in a hydrophilic matrix. *Drug Dev Ind Pharm.* 1993;19(10):1201-10.
29. Bustamante P, Navarro-Lupi3n J, Pe3a M, Escalera B. Hildebrand solubility parameter to predict drug release from hydroxypropyl methylcellulose gels. *Int J Pharmaceut.* 2011;414(1-2):125-30.
30. Kirjavainen M, Urtti A, J33skel3inen I, Suhonen TM, Paronen P, Valjakka-Koskela R, et al. Interaction of liposomes with human skin in vitro—the influence of lipid composition and structure. *Biochim Biophys Acta Lipids Lipid Metab.* 1996;1304(3):179-89.
31. Gupta R, Badhe Y, Rai B, Mitragotri S. Molecular mechanism of the skin permeation enhancing effect of ethanol: A molecular dynamics study. *RSC Adv.* 2020;10(21):12234-48.
32. Wutticharoenmongkol P, Sitthisan S, Kingkaew Y. Fabrication of pH-Sensing Sodium Alginate Films Containing Clitoria Ternatea Linn. Extract and Drug Release Characteristics. *Prog Appl Sci Tech.* 2021;11(1):38-45.



การศึกษาแบบจำลองการอบแห้งชั้นบางของพริกชี้หนู

The Study of Thin Layer Drying Model of Chili

นพมาศ ประทุมสูตร^{1*} และ ทวีเดช หมั่นภูเขียว²

Noppamas Pratummasoot^{1*} and Tawedach Mundpookier²

¹หลักสูตรฟิสิกส์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

²สาขาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยปทุมธานี อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

¹Applied Physics Program, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Khlong Luang District, Pathum Thani 13180, THAILAND

²Basic Science Program, Faculty of Allied Health Science, Patumthani University, Mueang District, Pathum Thani 12000, THAILAND

*Corresponding author e-mail: noppamas.pra@vru.ac.th

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 28 September, 2021

Revised: 1 November, 2021

Accepted: 8 November, 2021

Available online: 2 December, 2021

DOI: 10.14456/jarst.2021.12

Keywords: model, thin layer drying, chili, moisture ratio

The objective of this research was to study a thin layer drying model as an efficient mathematical model in order to determine the optimize model to study the relationship between the ratio of moisture and the time for chili. The researcher brought chili, which has a mass and initial moisture value, in the range of 4.2 - 5.2 g and 330-380%, d.b., respectively. Then, it drying with temperature control equal to 50°C, 60°C and 70°C, and the relative humidity values of air were 10%, 20% and 30% at wind speed equal to 1 m/s. There will be a total of 9 trials. The dryer used in this experiment consisted of two main parts: 1) the relative humidity control of the air inside the machine, which is a glass chamber and ceramic packed system for producing saturated air, and 2) the control section temperature which is a temperature control button on the outside and temperature can be adjusted as needed. The experimental results found that the last moisture content ranges from 6-8%, d.b. Then, the results of the experiments were then used to calculate the moisture content and moisture ratio from the chili experiments for calculation and compared to the moisture ratio obtained from a total of 6 models. According to the results of the model's accuracy test, the models suitable for chili for all

temperatures and humidity were the Wang and Singh models, which yielded differences in the form of RMSD and MBD in the range of 2.78 – 6.86% and -0.20 – 2.95%, respectively.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ซึ่งเป็นแบบจำลองการอบแห้งแบบชั้นบางเพื่อหาแบบจำลองที่เหมาะสมในการนำมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของความชื้นกับเวลาสำหรับพริกชี้หนู ผู้วิจัยได้นำพริกชี้หนูซึ่งมีมวลและค่าความชื้นเริ่มต้นอยู่ในช่วง 42-52 กรัม และ 330-380%, d.b. ตามลำดับ จากนั้นนำพริกชี้หนูไปอบแห้งโดยควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 50°C 60°C และ 70°C และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเท่ากับ 10% 20% และ 30% ที่ความเร็วลมเท่ากับ 1 m/s ซึ่งจะมีการทดลองทั้งหมด 9 ชุดการทดลอง ซึ่งเครื่องอบแห้งที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ 1) ห้องอบแห้งโดยมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในห้องมีลักษณะเป็นห้องกระจกและมีระบบเซรามิก (ceramic packed) สำหรับผลิตอากาศร้อนตัว และ 2) ชุดควบคุมอุณหภูมิในห้องอบแห้งซึ่งติดตั้งอยู่ด้านนอกห้องอบแห้ง ผลการทดลองพบว่า ความชื้นสุดท้ายที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 6-8%, d.b. จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้น และอัตราส่วนความชื้นจากการทดลองของพริกชี้หนูเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณและเปรียบเทียบกับค่าอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากแบบจำลองจำนวน 6 แบบจำลอง จากผลการทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองพบว่า แบบจำลองที่เหมาะสมกับพริกชี้หนูสำหรับทุกอุณหภูมิและความชื้นคือ แบบจำลอง Wang and Singh ซึ่งมีค่าความแตกต่างในรูปของ RMSD และ MBD อยู่ในช่วง 2.78 – 6.86 % และ -0.20 – 2.95 % ตามลำดับ

คำสำคัญ: แบบจำลอง การอบแห้งชั้นบาง พริกชี้หนู อัตราส่วนความชื้น

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีผลผลิตทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก เช่น พริกชี้หนู ซึ่งพริกชี้หนูถือว่าเป็นพริกที่นิยมนำมารับประทานหรือนำมาใช้ประโยชน์มากในบรรดาพริกทั้งหลาย เนื่องด้วยเป็นพริก

ที่มีรสเผ็ดจัด สีแดงสดสวยงามเหมาะสำหรับการปรุงอาหารหรือนำมาแปรรูปเป็นพริกป่นสำหรับการประกอบอาหาร แต่พริกชี้หนูมีอายุในการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น จึงจำเป็นต้องมีการแปรรูปผลิตภัณฑ์เพื่อยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้น โดยทั่วไปเกษตรกรนิยมนำผลผลิตทางการเกษตรมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แห้งโดยนำมตากแดดตามธรรมชาติ แต่ในการตากแดดตามธรรมชาติจะมีปัญหาในเรื่องของการปนเปื้อนของฝุ่นละออง แมลง หรือนกที่มามากมายมาทำลายผลิตภัณฑ์ซึ่งจะส่งผลเสียต่อผลิตภัณฑ์เป็นอย่างมาก นอกจากนี้ในช่วงที่ไม่มีแดดหรือฝนตกเกษตรกรก็ไม่สามารถตากแห้งผลิตภัณฑ์ได้ จากปัญหาที่เกิดขึ้น ได้มีนักวิจัยด้านพลังงานแสงอาทิตย์ทั้งไทยและประเทศต่าง ๆ ได้พัฒนาวิธีการในการอบแห้งผลิตภัณฑ์จากวิธีต่าง ๆ (1) ซึ่งอุปกรณ์ที่นิยมใช้เรียกว่า เครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (Solar Dryer) (2-8) ซึ่งจะช่วยให้ประสิทธิภาพในการใช้พลังงานแสงอาทิตย์ในการตากแห้งหรืออบแห้ง โดยหลักการทั่วไปของการอบแห้งผลิตภัณฑ์จะเป็นกระบวนการลดความชื้นของผลิตภัณฑ์ โดยอาศัยความร้อนจากพลังงานแสงอาทิตย์เพื่อทำให้น้ำในผลิตภัณฑ์ระเหยออกมาภายนอก โดยในกรณีของผักและผลไม้ การอบแห้งหรือตากแห้งจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษา แต่การอบแห้งด้วยพลังงานแสงอาทิตย์จะไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้จะขึ้นอยู่กับความเข้มของรังสีอาทิตย์ในช่วงเวลาที่ทำการอบแห้ง ดังนั้นการอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์จึงเหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์บางชนิดเท่านั้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์บางชนิดอาจจะเหมาะสมกับการอบแห้งที่ต้องใช้อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำเท่านั้น จึงจำเป็นต้องทำการอบแห้งในเครื่องอบแห้งที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้จึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์แห้งที่ได้มีคุณภาพ คุณประโยชน์ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์สด

โดยวิธีที่ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์แห้งมีคุณภาพส่วนใหญ่จะใช้เครื่องอบแห้งเชิงกลซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในเครื่องอบแห้งได้ นอกจากการศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการอบแห้งผลิตภัณฑ์แล้ว การศึกษาปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์ก็เป็นสิ่งที่สำคัญเช่นกัน

สำหรับการศึกษาหรือทำนายปริมาณความชื้นภายในผลิตภัณฑ์ได้มีการศึกษาและพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ซึ่งเป็นสมการการอบแห้งแบบชั้นบางใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความชื้นกับระยะเวลาที่ใช้ในการแห้งของผลิตภัณฑ์ (9-14) และเนื่องจากการศึกษาสมการการอบแห้งแบบชั้นบางในประเทศไทยมีข้อมูลการศึกษาค่อนข้างน้อยและมีการศึกษาบางผลิตภัณฑ์เท่านั้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาสมการอบแห้งโดยใช้สมการแบบชั้นบางเพื่อนำสมการที่เหมาะสมที่สุดไปใช้ในการทำนายความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความชื้นกับเวลาในการอบแห้ง โดยในงานวิจัยนี้จะใช้พริกชี้หนูในการทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของการอบแห้งแบบชั้นบาง

ในการศึกษาการอบแห้งแบบชั้นบางของผลผลิตต่าง ๆ ทางกลศาสตร์จะมีการนำแบบจำลองทางคณิตศาสตร์มาช่วยในการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความชื้นกับระยะเวลาในการอบแห้งของผลิตภัณฑ์ ซึ่งในปัจจุบันมีนักวิจัยหลายท่านได้เสนอแบบจำลองการอบแห้งแบบชั้นบางไว้หลายสมการที่มีลักษณะแตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 1 โดยค่าอัตราส่วนความชื้นสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1)

$$MR = \frac{M - M_e}{M_o - M_e} \quad (1)$$

เมื่อ

MR = อัตราส่วนความชื้น (-)

M = ความชื้นขณะเวลา t (% , d.b.)

M_e = ความชื้นสมดุล (% , d.b.)

M_o = ความชื้นเริ่มต้น (% , d.b.)

โดยทั่วไปปริมาณของความชื้น (moist product) ของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรจะประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นมวลของน้ำและส่วนที่เป็นมวลของแข็ง ซึ่งปริมาณความชื้นฐานแห้งของผลิตภัณฑ์ (moisture content ; M, % , d.b.) สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2)

$$M = \frac{m - m_{solid}}{m_{solid}} \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ m คือ มวลของพริกชี้หนูที่ได้จากการชั่ง (g) ทุก ๆ ชั่วโมงจนกระทั่งมวลของพริกชี้หนูมีค่าคงที่หรือไม่ลดลง และ m_{solid} คือมวลของแข็งของพริกชี้หนู (g) หาได้จากการนำพริกชี้หนูไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 103 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (15)

$$M_e = \frac{m_e - m_{solid}}{m_{solid}} \times 100 \quad (3)$$

$$M_o = \frac{m_o - m_{solid}}{m_{solid}} \times 100 \quad (4)$$

โดยปริมาณความชื้นสมดุล (M_e) และประมาณความชื้นเริ่มต้น (M_o) สามารถหาได้จากสมการ (3) และ (4) เมื่อ m_e และ m_o คือ มวลของพริกชี้หนูสุดท้ายและมวลพริกชี้หนูเริ่มต้น ตามลำดับ

จากนั้นนำค่าที่ได้จากสมการ (2-4) ไปคำนวณค่าอัตราส่วนความชื้นโดยใช้สมการ (1)

ตารางที่ 1 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการอบแห้งแบบชั้นบาง

ลำดับ	แบบจำลอง	ชื่อแบบจำลอง (เอกสารอ้างอิง)
1	$MR = 1 + at + bt^2$	Wang and Singh (10)
2	$MR = \exp(-kt)$	Newton (11)
3	$MR = (a)\exp(-kt)$	Handerson and Pabis (11)
4	$MR = (a)\exp(-kt) + c$	Logarithmic (13)
5	$MR = (a)\exp(-kt) + (b)\exp(-gt)$	Two term (9)
6	$MR = (a)\exp(-kt) + (b)\exp(-gt) + (c)\exp(-pt)$	Modifile Handerson and Pabis (12)

จากตารางที่ 1 แสดงแบบจำลองการอบแห้งแบบชั้นบางที่ได้ถูกเสนอโดยนักวิจัยท่านอื่น ๆ ซึ่งในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการวิจัยเพื่อหาแบบจำลองที่เหมาะสมกับพริกชี้หนู โดยศึกษาแบบจำลองทั้งหมด 6 แบบจำลอง รายละเอียดแสดงในหัวข้อถัดไป

2. การอบแห้งผลิตภัณฑ์



รูปที่ 1 ตัวอย่างลักษณะของพริกชี้หนูในงานวิจัยนี้

ผู้วิจัยได้เตรียมพริกชี้หนูโดยเลือกพริกชี้หนูสีแดงที่มีขนาดใกล้เคียงกันนำมาวางเรียงบนตะแกรงเป็นชั้นบาง (รูปที่ 1) ความชื้นเริ่มต้นของพริกชี้หนูมีค่า 330%, d.b. จากนั้นนำตะแกรงที่วางพริกชี้หนูไปเข้าเครื่องอบแห้ง (laboratory dryer) โดยควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 50°C 60°C และ 70 °C และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเท่ากับ 10% 20% และ 30% ความเร็วลมเท่ากับ 1 m/s ซึ่งทำให้มีอัตราการถ่ายเทความร้อนสูงส่งผลให้ความสามารถในการระเหยของน้ำในพริกชี้หนูได้

เร็วขึ้นจึงช่วยให้ระยะเวลาในการอบแห้งสั้นลง ในระหว่างการทดลองผู้วิจัยได้ทำการชั่งมวลของพริกชี้หนูทุก ๆ 1 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องชั่งแบบดิจิตอล และทำการชั่งมวลพริกชี้หนูจนกระทั่งมวลพริกชี้หนูมีค่าคงที่ ซึ่งทำการทดลองทั้งหมด 9 ครั้ง สำหรับทุกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

ในการทดลองแต่ละครั้งจะใช้มวลพริกชี้หนูเริ่มต้นใกล้เคียงกันประมาณ 42-52 กรัม ใช้เทอร์โมคัปเปิลชนิดเค (K type) ในการวัดอุณหภูมิ และใช้ไฮโกรมิเตอร์แบบคาปาซิทีฟ (ยี่ห้อ E+E Elektronik รุ่น EE23 ค่าความคลาดเคลื่อน $\pm (1.3 + 0.3 \% RH)$) ในการวัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ โดยอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศจะถูกบันทึกด้วยเครื่องบันทึกข้อมูลรุ่น DC 100 (Yokogawa, Model DC100; ความคลาดเคลื่อน $\pm 0.0070mV$) และแสดงค่าผ่านหน้าจอของเครื่องบันทึกข้อมูลเพื่อให้ผู้วิจัยสังเกตตลอดเวลาที่ทำการทดลอง เนื่องจากในระหว่างทำการทดลองผู้วิจัยต้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นตามค่าที่กำหนดไว้ข้างต้น

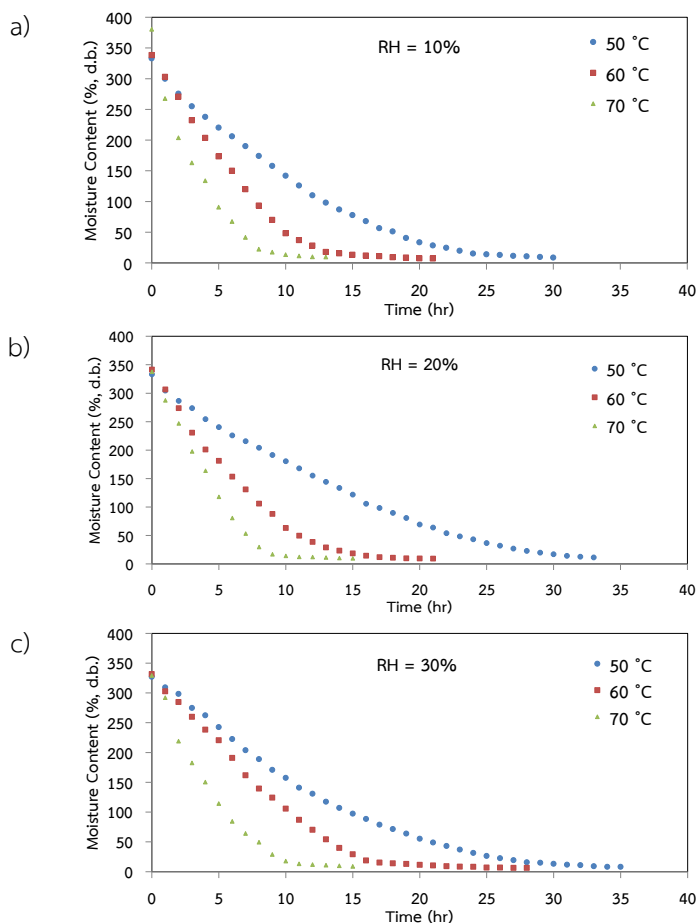
เครื่องอบแห้งที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ 1) ห้องอบแห้งโดยมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายในห้องมีลักษณะเป็นห้องกระจกและมีระบบเซรามิกสำหรับผลิตอากาศอิมตัวเพื่อควบคุมอุณหภูมิและความชื้นในอากาศในเครื่องอบแห้ง และ 2) ชุดควบคุมอุณหภูมิในห้องอบแห้ง ซึ่งติดตั้งอยู่ด้านนอกห้องอบแห้ง ลักษณะของเครื่องอบแห้งแบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นแสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ลักษณะของเครื่องอบแห้งแบบชั้นบาง (laboratory dryer) ห้องปฏิบัติการพลังงานแสงอาทิตย์ ภาควิชาฟิสิกส์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

หลังจากผู้วิจัยได้เก็บข้อมูลเรียบร้อยแล้วทั้ง 9 ครั้ง ผู้วิจัยได้นำพริกชี้หนูไปเข้าเครื่องอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อต้องการนำความชื้นออกจากผลิตภัณฑ์ทั้งหมดโดยจะได้มวลของแข็งของพริกชี้หนู (m_{solid}) หลังจากนำความชื้นออกหมด

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้น (M) จากการทดลองโดยใช้สมการ (2) ผลที่ได้แสดงในรูปแบบของกราฟการแปรค่าของความชื้นที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ค่าต่าง ๆ (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 การแปรค่าของปริมาณความชื้นฐานแห้งที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ค่าต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลอง a) ความชื้นสัมพัทธ์ 10% b) ความชื้นสัมพัทธ์ 20% c) ความชื้นสัมพัทธ์ 30%

จากรูปที่ 3 จะเห็นได้ว่า ที่ความชื้นของอากาศเท่ากับ 10% ปริมาณความชื้นของพริกชี้หนูเริ่มต้นมีค่า 333%, d.b. 338%, d.b. และ 380 %, d.b. และความชื้นสุดท้ายมีค่า 8.62% 7.11% และ 8.97% สำหรับอุณหภูมิภายในเครื่องเท่ากับ 50°C 60°C และ 70°C ตามลำดับ กรณีความชื้นของอากาศเท่ากับ 20% ปริมาณความชื้นของพริกชี้หนูเริ่มต้นมีค่า 333%, d.b. 341%, d.b. และ 337 %, d.b. และความชื้นสุดท้ายมีค่าประมาณ 11.20% 9.01% และ 9.63% สำหรับอุณหภูมิภายในเครื่องเท่ากับ 50°C 60°C และ 70 °C ตามลำดับ และความชื้นของอากาศ

เท่ากับ 30% ปริมาณความชื้นของพริกชี้หนูเริ่มต้นมีค่า 327%, d.b. 331%, d.b. และ 329 %, d.b. และความชื้นสุดท้ายมีค่า 7.92% , 6.12% และ 7.47% สำหรับอุณหภูมิภายในเครื่องเท่ากับ 50°C 60 °C และ 70 °C ตามลำดับ จากทั้ง 3 อุณหภูมิของแต่ละความชื้น พบว่าการอบแห้งในสภาวะที่อุณหภูมิสูง (70°C) ความชื้นสัมพัทธ์อากาศต่ำ (RH=10%) ปริมาณความชื้นของพริกชี้หนูมีการลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากกรณีที่ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศต่ำจะช่วยให้ความชื้นในพริกชี้หนูสามารถระเหยออกมาสู่อากาศ

ได้ง่ายกว่ากรณีที่ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศมีค่าสูงจึงช่วยให้ความชื้นของพริกชี้หนุมีการลดลงอย่างรวดเร็ว

จากนั้นผู้วิจัยนำผลการทดลองที่ได้ไปทำการวิเคราะห์เพื่อหาแบบจำลองที่เหมาะสมกับพริกชี้หนุ และในการทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองที่ได้ ผู้วิจัยใช้พารามิเตอร์ทางสถิติ 2 ตัวคือ ค่ารากที่สองของค่าความแตกต่างกำลังสองเฉลี่ย (Root mean square difference; RMSD) และค่าความแตกต่างของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean bias difference ;MBD) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการที่ (5) และ (6)

$$RMSD = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (MR_{model,i} - MR_{exp,i})^2}{N}}}{MR_{exp}} \times 100\% \quad (5)$$

$$MBD = \frac{\frac{\sum_{i=1}^n (MR_{model,i} - MR_{exp,i})}{N}}{MR_{exp}} \times 100\% \quad (6)$$

เมื่อ $MR_{model,i}$ คือ อัตราส่วนความชื้นที่ได้จากแบบจำลอง $MR_{exp,i}$ คือ อัตราส่วนความชื้นที่ได้จากการทดลอง MR_{exp} คือ ค่าเฉลี่ยอัตราส่วนความชื้นจากการทดลอง และ N คือ จำนวนข้อมูลทั้งหมด

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

เนื่องจากแบบจำลองการอบแห้งชั้นบางในตารางที่ 1 เป็นแบบจำลองที่นิยมใช้กันทั่วไป (16) ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ (17-18) ดังนั้นผู้วิจัยได้นำผลการทดลองการอบพริกชี้หนุไปคำนวณหา

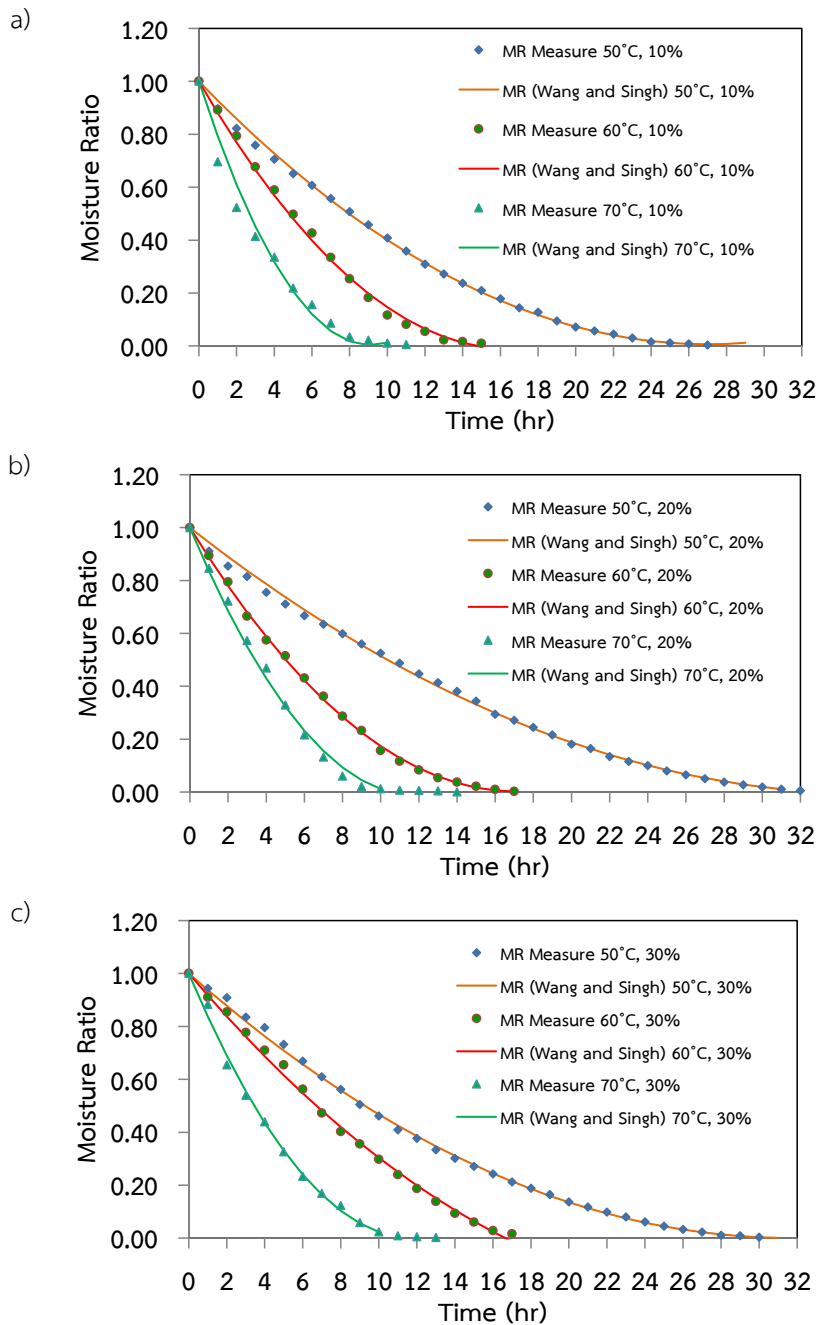
อัตราส่วนความชื้นโดยอาศัยสมการที่ (1) จากนั้นนำไปหาความสัมพันธ์กับสมการในตารางที่ 1 ซึ่งผู้วิจัยอาศัยโปรแกรมทางสถิติ (Statistical Software) ในการหาค่าสัมประสิทธิ์ของสมการ โดยทำการแทนค่าอัตราส่วนความชื้นและเวลาที่ได้จากการทดลองลงในสมการในตารางที่ 1 จากนั้นใช้หลักการการวิเคราะห์การถดถอยไม่เป็นเชิงเส้น (Non-linear Regression Analysis) จากโปรแกรมในการหาค่าสัมประสิทธิ์ของแต่ละสมการ โดยค่าสัมประสิทธิ์ที่ได้แสดงดังตารางที่ 2

จากผลในตารางที่ 2 พบว่าจากการเปรียบเทียบอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากแบบจำลองมีค่าความคลาดเคลื่อนจากทุกแบบจำลองไม่เกิน 20% โดยแบบจำลองที่มีสมารถนำไปทำนายอัตราส่วนความชื้นของพริกชี้หนุได้แม่นยำ และความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุดคือแบบจำลองของ Wang and Singh ซึ่งมีค่าความคลาดเคลื่อนในรูปของ RMSD และ MBD อยู่ในช่วง 2.78 – 6.86% และ -0.20 – 2.95% ตามลำดับ ผู้วิจัยได้แสดงกราฟการเปรียบเทียบอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากแบบจำลอง Wang and Singh ดังรูปที่ 4

จากรูปที่ 4 พบว่า การแปรค่าของอัตราส่วนความชื้นของพริกชี้หนุมีการแปรค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรก (15) ซึ่งที่อุณหภูมิ 70°C ของทุกความชื้นจะใช้เวลาในการลดลงของอัตราส่วนความชื้นน้อยกว่าที่อุณหภูมิอื่น ๆ ซึ่งผลิตภัณฑ์จะแห้งได้เร็วกว่าอุณหภูมิอื่น และจากการเปรียบเทียบอัตราส่วนความชื้นที่คำนวณได้จากแบบจำลองของ พบว่า ผลที่ได้จากแบบจำลองมีค่าใกล้เคียงกับผลจากการทดลองมาก โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนในรูปของ RMSD และ MBD อยู่ในช่วง 2-6 % และ -0.2-2.9% ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ค่าสัมประสิทธิ์ของแบบจำลองการอบแห้งชั้นบางที่อุณหภูมิและความชื้นค่าต่าง ๆ

ชื่อแบบจำลอง	อุณหภูมิ (T)	ความชื้น (RH)	สัมประสิทธิ์ของแบบจำลอง						MBD (%)	RMSD (%)	
			k	a	b	c	n	g			p
Wang and Singh	50	10		-0.0736	0.0014					1.2141	3.8272
	60	10		-0.1225	0.0037					-0.734	4.7032
	70	10		-0.2186	0.0119					2.9584	5.2708
	50	20		-0.0565	0.0008					0.9930	3.9352
	60	20		-0.1167	0.0034					-0.203	2.7864
	70	20		-0.1719	0.0073					-0.701	8.5055
	50	30		-0.0632	0.0009					-0.627	3.2295
	60	30		-0.0839	0.0014					-0.533	3.7705
	70	30		-0.1699	0.0072					-0.339	6.8699



รูปที่ 4 ผลการเปรียบเทียบค่าอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากแบบจำลองของ Wang and Singh เมื่อ a) ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ 10% b) ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ 20% c) ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ 30%

สรุปผล

จากการศึกษาสมการการอบแห้งแบบชั้นบาง เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของอัตราส่วนความชื้นกับเวลาในการอบแห้งผลิตภัณฑ์โดยอาศัยเครื่องอบแห้งแบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้น โดยเริ่มต้นจากการนำพริกชี้หนูที่มีความชื้นเริ่มต้นในช่วง 330 – 380%, d.b. ไปอบแห้งในเครื่องอบแห้งโดยทำการควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 50°C 60°C และ 70 °C และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเท่ากับ 10% 20% และ 30% รวมทั้งหมด 9 ชุดการทดลอง ในแต่ละชุดการทดลองผู้วิจัยจะเก็บข้อมูลมวลของพริกชี้หนูทุก ๆ 1 ชั่วโมง ความชื้นสุดท้ายจากการอบแห้งพริกชี้หนูมีค่าประมาณ 6-8 %, d.b. ในช่วงเวลาของการอบแห้งประมาณ 15 20 และ 30 ชั่วโมง สำหรับอุณหภูมิ 50°C 60°C และ 70 °C ตามลำดับ และเมื่อนำข้อมูลจากการทดลองอบแห้งไปคำนวณหาอัตราส่วนความชื้น และเปรียบเทียบกับอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากแบบจำลองพบว่า แบบจำลองที่เหมาะสมในการนำไปทำนายความสัมพันธ์ของอัตราส่วนความชื้นของพริกชี้หนูกับระยะเวลาในการแห้งคือ แบบจำลอง Wang and Singh ซึ่งมีค่าความคลาดเคลื่อนต่ำสุดในรูปของ RMSD และ MBD เท่ากับ 2.78% และ -0.20% ตามลำดับ จากผลวิจัยแสดงให้เห็นว่า อัตราส่วนความชื้นของพริกชี้หนูจากการทดลองและจากแบบจำลองมีค่าสูงมากในช่วงแรกสำหรับทุกอุณหภูมิและทุกความชื้น โดยอัตราส่วนความชื้นของพริกชี้หนูมีค่าคงที่หรือเข้าใกล้ศูนย์เมื่อเวลาผ่านไป 11-14 ชั่วโมงสำหรับที่อุณหภูมิ 70°C และ 15-17 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60°C และที่อุณหภูมิ 50°C อัตราส่วนความชื้นจะมีค่าลดลงค่อนข้างช้าโดยใช้เวลา 30 -32 ชั่วโมง

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาความสัมพันธ์ของอัตราส่วนความชื้นกับระยะเวลาในการแห้งของผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะทางกายภาพที่มีความแตกต่างกับพริกชี้หนู ผู้ที่ทำการศึกษควรทำการทดลองเพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์ของแบบจำลองสำหรับผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ใหม่เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความถูกต้องแม่นยำมากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณห้องปฏิบัติการพลังงานแสงอาทิตย์ ภาควิชาฟิสิกส์ มหาวิทยาลัยศิลปากรที่

ให้อำนวยอุปกรณ์และสถานที่ในการทดลองให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Warinthorn P, Purin A, Kannapot K. Study on drying method of rose tea. RJ-RMUTT. 2017; 16(1-2):1-9.
2. Ismailova AA. Possibilities of applying solar energy to dry fruits and vegetable. Teptoenergetika. 1957;1:1-22.
3. Lof GOG. Solar energy for drying of solids. Sol Energy. 1962;6(4):122-8.
4. Khan EU. Practical devices for the utilization of solar energy. Sol Energy. 1964;8(1):17-22.
5. Lawand TA. A solar-cabinet dryer. Sol Energy. 1966;10(4):158-63.
6. Murthy MVR. A review of new technologies, models and experimental investigations of solar driers. Renew Sust Energ Rev. 2009;13(4):835-44.
7. Fudholi A, Sopian K, Ruslan H, Alghoul MA, Sulaiman MY. Review of solar dryers for agricultural and marine products. Renew Sust Energ Rev. 2010;14:1-30.
8. Janjai S, Bala BK. Solar drying technology. Food Eng Rev. 2012;4:16-54.
9. Henderson S. Progress in developing the thin layer drying equation. T ASAE. 1974;17(6):1167-8.
10. Wang CY, Singh RP. Use of variable equilibrium moisture content in modelling rice drying. Transactions of American Society of Agricultural Engineers. 1978;11(6):668-72.
11. Zhang Q, Litchfield J. An optimization of intermittent corn drying in a laboratory scale thin layer dryer. Dry Technol. 1991;9(2):383-95.

12. Karathanos VT, Belessiotis VG. Application of a thin-layer equation to drying data of fresh and semi-dried fruits. *J Agr Eng Res.* 1999;74(4):355-61.
13. Togrul IT, Pehlivan D. Mathematical modelling of solar drying of apricots in thin layers. *J Food Eng.* 2002;55(3):209-16.
14. Das I, Das SK, Bal S. Drying kinetics of high moisture paddy undergoing vibration-assisted infrared (IR) drying. *J Food Eng.* 2009;95(1):166-71.
15. Bala BK. Solar drying systems: simulations and optimization. 1st Edition. Udaipur: Agrotech Publishing Academy; 1998.
16. Khawas P, Das AJ, Dash KK, Deka SC. Thin-layer drying characteristics of Kachkal banana peel (Musa ABB) of Assam, India. *Int Food Res J.* 2014;21(3):975-82.
17. Panchariya PC, Popovic D, Sharma AL. Thin layer modelling of black tea drying process. *J Food Eng.* 2002;52(4):349-57.
18. Hii CL, Law CL, Cloke M. Modelling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. *J Food Eng.* 2009;90(2):191-8.



Institute of Research and Development
Rajamangala University of Technology Thanyaburi
39 M.1 Klong 6, Thanyaburi, Pathumthani 12110, Thailand
Tel (02) 549-4681 Fax. (02) 577-5038, (02) 549-4680
www.ird.rmutt.ac.th