



วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร

เจ้าของ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

<http://science.srru.ac.th/kochasarn>

สำนักงาน

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

186 หมู่ 1 ถนนสุรินทร์-ปราสาท ตำบลนอกเมือง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000

โทรศัพท์/โทรสาร 0-4455-8344

บรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.น้องนุช สารภี

รองบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย เจือจันทร์

กองบรรณาธิการ

- | | |
|--|--|
| 1. ศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ ทัดศรี | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน |
| 2. ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ประเทพา | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 3. ศาสตราจารย์ ดร.อลงกลด แทนอมทอง | มหาวิทยาลัยขอนแก่น |
| 4. รองศาสตราจารย์ ดร.ฉมาลีลา ยวอมรพิทักษ์ | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 5. รองศาสตราจารย์ ดร.สำเนาวิ เสาวกุล | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
วิทยาเขตสุรินทร์ |
| 6. รองศาสตราจารย์ ดร.กฤติมา กษมาวุฒิ | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน
วิทยาเขตสุรินทร์ |
| 7. รองศาสตราจารย์ ดร.กฤษณ์ ปิ่นทอง | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ |
| 8. รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 9. รองศาสตราจารย์ ดร.นิติพัฒน์ พัฒนฉัตรชัย | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 10. รองศาสตราจารย์ ดร.พัชรศักดิ์ อาลัย | มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม |
| 11. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรียาภรณ์ อิศรานูวัฒน์ | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| 12. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประวรดา โกชนจันทร์ | มหาวิทยาลัยสวนดุสิต |
| 13. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย กันนุฬา | มหาวิทยาลัยนครพนม |
| 14. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อำนาจ วัฒนกรศิริ | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 15. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กชนิภา อุดมทวี | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 16. ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิระเดช อินทเจริญสานต์ | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |
| 17. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุพเยาว์ โตศิริ | มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ |



ISSN 3027-7299 (Print)

ISSN 2985-0835 (Online)

วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร
Koch Cha Sarn Journal of Science

ปีที่ 46 ฉบับที่ 1 : มกราคม – มิถุนายน 2567

Vol.46 No.1 January – June 2024

สำนักงานวารสาร

สำนักงานคณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์

186 หมู่ 1 ถนนสุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

โทรศัพท์/โทรสาร 0-4455-8344 <http://science.srru.ac.th/kochasarn>

วัตถุประสงค์และขอบเขต

วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร เป็นวารสารของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ จัดทำขึ้นเพื่อตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกลุ่ม Life Science (Agricultural and Biological Sciences) ในรูปแบบบทความวิจัยหรือบทความปริทัศน์ ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยบทความที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่จะต้องผ่านการพิจารณาโดยผู้ทรงคุณวุฒิ (Peer Review) ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องอย่างน้อย 3 ท่าน แบบ Double Blind ที่มาจากหลากหลายสถาบัน และวารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร ยึดมั่นในจริยธรรมการตีพิมพ์ และมุ่งเน้นที่จะเผยแพร่บทความที่มีคุณค่าทางวิชาการเป็นสำคัญ

วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร ได้รับการรับรองคุณภาพจาก TCI กลุ่ม 2 มีกำหนดตีพิมพ์ปีละ 2 ฉบับ ทั้งแบบรูปเล่มและออนไลน์บนเว็บไซต์ ผู้นิพนธ์สามารถส่งบทความเพื่อเข้าสู่กระบวนการพิจารณาตีพิมพ์เผยแพร่ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

กำหนดตีพิมพ์ปีละ 2 ฉบับ

ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม - มิถุนายน

ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม - ธันวาคม



ISSN 3027-7299 (Print)
ISSN 2985-0835 (Online)

วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร

Koch Cha Sarn Journal of Science

ปีที่ 46 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2567

Vol.46 No.1 January – June 2024



วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร

ปีที่ 46 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2567

Koch Cha Sarn Journal of Science

Vol.46 No.1 January – June 2024

สารบัญ

การศึกษาสมบัติและความคงตัวของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลสำหรับทาผิวหนัง

Characterization and Stability Study of Itraconazole-Loaded Microemulsions for Skin Application

ประภาพร บุญมี ศิรดา ภูสันติสัมพันธ์ ณัฐธัญญา จันทร์มา และสร้อยสนันท์ พรหมจันทร์

Prapaporn Boonme, Sirada Pusantisumpun, Nattanicha Janma & Saratsanan Promjan...1

การใช้แป้งถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์ขนมคุกกี้

Soybean Flour Supplemented for Nutritional Value Enhancement in Cookies

ศักดิ์ดา จันปัญญา หทัยวรรณ รมยะสมิต และโคภิชฐ์ เวทยสุภรณ์

Sakda Chanpanya, Hathaiwan Ramayasamit & Sopit Vetayasuporn.....8

คุณภาพน้ำดื่มทางกายภาพและจุลินทรีย์จากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย

และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี

Physical and Microbiological Quality of Drinking Water from Water Dispensers at Schools in

Bang Sai Sub-district and Sirindhorn College of Public Health Chonburi

ศิริกัญญา ธาณีพูน สรรพวัต ทองใบ ศิริวรรณ วัฒนภักดี ธาณี ลีละทีป ขวัญฤทัย โสมสัย

ต่อศักดิ์ ดาบโสมศรี และเหลืองแก้ว โกยทรัพย์

Sirikanya Thaneepoon, Sappawat Thongbai, Siriwan Watanapakdee,

Tharinee Leelateep, Kwanrutai Somsai, Toesak Dabsomsri & Lueangkaew Koysap.....13

โปรโตซัวดินในพื้นที่ป่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

Soil Protozoa in forest of Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus

ชัตติยา มุลไชยสุข และจุมจระ ทุยไธสง

Khattiya Moonchaisook & Chunchara Thuythaisong.....20

สารบัญ (ต่อ)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*Cutibacterium acnes*) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ด
และกลีบดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.)

Antioxidant and Anti-acne Causing Bacteria (*Cutibacterium acnes*) Activities of Essential oil from
Marigold Flower (*Tagetes erecta* L.)

ณัฏพร มโนใจ เทยุ่น โรห์ ปณิติตา เดชณัฐวุฒิ รัชชานนท์ อติศักดิ์ภิรมย์ จินห์นิภา จินวรรณ

ชวยศ อนุรักษ์วงศ์ศรี จุฑามาศ ดวงกมล และสาธิต เอี่ยมจงจันทร์

Natthaporn Manojai, Taeyoon Roh, Pundita Detnattawut, Ratchanon Adisakpirom,

Jinnipa Jinwan, Chawayot Anurakwongsri, Chuthamat Duangkamol &

Sathid Aiemjongjan.....27



Research Article

Characterization and Stability Study of Itraconazole-Loaded Microemulsions for Skin Application

การศึกษาสมบัติและความคงตัวของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลสำหรับทาผิวหนัง

ประภาพร บุญมี^{1*}, ศิรดา ภูสันติสัมพันธ์¹, ณัฐธัญญา จันทร์มา¹, สรัสนันท์ พรหมจันทร์¹

Prapaporn Boonme^{1*}, Sirada Pusantisumpun¹, Nattanicha Janma¹, Saratsanan Promjan¹

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90112

¹Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Songkhla, 90112

Article Info

Received 14 December 2023

Revised 23 February 2024

Accepted 3 March 2024

Abstract

Dermatophytosis is a common disease in tropical regions and it can be treated with antifungal drugs via oral and topical administration. Topical liquid dosage form of an antifungal drug provides advantages such as reducing systemic adverse reactions, spreading on the applied area thoroughly, and convenience for patient using. This study aimed to investigate the microemulsion systems for preparing itraconazole-loaded microemulsions for topical usage. Microemulsion formation of systems consisting of different types of oil phase, aqueous phase, and surfactant was studied by titration method. Blank microemulsions were selected from the phase diagram with large microemulsion region for incorporation with itraconazole 1% w/w. The obtained formulations were observed and compared the present appearances with their blank counterparts. Stability of the formulations after being stored in light-protected glass containers at ambient temperature ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) for 8 weeks was evaluated. The drug content was quantitatively analyzed using UV-visible spectroscopy. The results showed that among 12 systems with various excipients, the optimized system was composed of 3:1 clove oil:oleic acid as oil phase, 1:1 water:propylene glycol as aqueous phase, and Tween 80 as surfactant. Incorporation of the active drug into the four selected blank microemulsions did not affect on appearances and microemulsion type. Viscosity and pH values of all prepared formulations were determined in acceptable criteria for skin application. However, low chemical stability was found when all formulations were kept under the investigated condition. Therefore, in the further study, the formulations should be improved to enhance chemical stability of the active drug.

Keywords: Itraconazole, Microemulsion, Antifungal drug, Stability

บทคัดย่อ

โรคผิวหนังจากเชื้อราเป็นโรคที่พบได้บ่อยในภูมิภาคเขตร้อนชื้นโดยทั่วไป โรคนี้สามารถรักษาได้ด้วยยาต้านเชื้อราโดยการรับประทานและการทาเฉพาะที่ ยาต้านเชื้อราในรูปแบบของเหลวสำหรับทาเฉพาะที่มีข้อดี คือ ลดการเกิดอาการไม่พึงประสงค์แบบทั่วร่างกาย ยาแผ่กระจายได้ทั่วบริเวณที่ทา และผู้ป่วยสามารถใช้ยาได้สะดวก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระบบไมโครอิมัลชันในการเตรียมตำรับไอทราโคนาโซลไมโครอิมัลชันสำหรับใช้เฉพาะที่ โดย

*Corresponding Author. Email: prapaporn@pharmacy.psu.ac.th

ศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชันในระบบที่แตกต่างกัน ซึ่งประกอบด้วยวัฏภาคน้ำมัน วัฏภาคน้ำ และสารลดแรงตึงผิว ต่างชนิดกันด้วยวิธีไทเทรต จากนั้นเลือกตำรับไมโครอิมัลชันเปล่าจากแผนภาพวัฏภาคที่มีพื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่เพื่อบรรจุยาไอทราโคนาโซลในความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก สังเกตลักษณะของตำรับที่เตรียมได้เทียบกับไมโครอิมัลชันเปล่า นอกจากนี้ ศึกษาความคงตัวของตำรับเมื่อเก็บในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ (28 ± 2 องศาเซลเซียส) นาน 8 สัปดาห์ โดยใช้เทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิธีเปิดสเปกโทรสโคปีในการวิเคราะห์ปริมาณตัวยาสำคัญ ผลการศึกษาพื้นที่ไมโครอิมัลชันของระบบที่มีส่วนประกอบแตกต่างกัน 12 ระบบ พบว่าระบบที่เหมาะสมประกอบด้วยน้ำมันกานพลูและกรดโอเลอิกในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 เป็นวัฏภาคน้ำมัน น้ำและโพรพิลีนไกลคอลในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เป็นวัฏภาคน้ำ และทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว การผสมตัวยาสำคัญในไมโครอิมัลชันเปล่าที่เลือกมาศึกษา 4 ตำรับ ไม่มีผลต่อลักษณะและชนิดของไมโครอิมัลชัน สมบัติด้านความหนืดและความเป็นกรด-ด่างของทุกตำรับที่เตรียมได้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการทาผิวหน้ง อย่างไรก็ตาม พบว่าทุกตำรับมีความคงตัวทางเคมีต่ำเมื่อเก็บภายใต้สภาวะที่ศึกษา ดังนั้น ในการศึกษาต่อไป ควรปรับปรุงสูตรตำรับเพื่อให้ตัวยามีความคงตัวทางเคมีเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: ยาไอทราโคนาโซล, ไมโครอิมัลชัน, ยาต้านเชื้อรา, ความคงตัว

1. บทนำ

โรคผิวหนังจากเชื้อรา (dermatophytosis) มีโอกาสพบได้บ่อยในภูมิภาคเขตร้อนชื้น รวมถึงประเทศไทย เชื้อก่อโรคที่พบเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton rubrum* นอกจากนี้อาจพบสาเหตุจาก *Aspergillus nidulans* และ *Candida* species ด้วย โรคนี้สามารถรักษาได้ด้วยการให้ยาต้านเชื้อรา (antifungal drug) ทางการรับประทานหรือการทาเฉพาะที่ [1] การบริหารยาโดยการทาเฉพาะที่มีข้อดีในด้านการลดความเสี่ยงของการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ รวมถึงวิธีการใช้ยาที่ง่ายสามารถเพิ่มความร่วมมือในการรักษาของผู้ป่วย ซึ่งยาทาในรูปแบบของเหลว นอกจากจะมีข้อดีดังกล่าวแล้ว ยังทำให้ตัวยาสำคัญแผ่กระจายบนบริเวณผิวหนังที่ต้องการได้ง่ายอีกด้วย

ยาไอทราโคนาโซล (itraconazole) เป็นยาต้านเชื้อราในกลุ่มไตรเอโซล (triazole) ออกฤทธิ์โดยยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เออร์โกสเตอรอล (ergosterol) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา คือ cytochrome P-450-dependent enzymes ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราไม่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม ยานี้มีค่าการละลายในน้ำต่ำ (9.64 มิลลิกรัม/ลิตร) และน้ำหนักโมเลกุลสูง (705.6 กรัม/โมล) [2] ซึ่งเป็นอุปสรรคในการผลิตยาในรูปแบบตำรับไมโครอิมัลชัน (microemulsions) สามารถแก้ปัญหานี้ได้

ไมโครอิมัลชันเป็นรูปแบบตำรับหนึ่งที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากสามารถเกิดขึ้นได้เอง (spontaneous formation) เมื่อผสมส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) วัฏภาคน้ำ (aqueous phase) และสารลดแรงตึงผิว (surfactant) นอกจากนี้บางระบบอาจมีสารลดแรงตึงผิวร่วม (cosurfactant) และ/หรือตัวทำละลายร่วม (cosolvent) ในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งอยู่ภายในพื้นที่ไมโครอิมัลชัน (microemulsion region) ของแผนภาพวัฏภาคไตรภาค (ternary phase diagram) หรือแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม (pseudoternary phase diagram) เข้าด้วยกัน โดยไม่ต้องใช้พลังงานหรือเครื่องมือเฉพาะในการผลิต จึงผลิตง่ายและสามารถขยายขนาดการผลิตได้สะดวก มีลักษณะเป็นของเหลวใสซึ่งดูน่าใช้และสามารถทำให้ตัวยาสามารถกระจายในบริเวณที่ต้องการได้ดี มีกำลังใน

การละลาย (high solubilization power) สูง จึงใช้บรรจุได้ทั้งยาที่ขบน้ำและยาที่ขบน้ำมัน รวมถึงมีสมบัติเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังของตัวยาสำคัญ ไมโครอิมัลชันจึงได้รับความนิยมในการศึกษาเพื่อนำส่งยาหลากหลายชนิดทางผิวหนัง [3,4] รวมถึงยาต้านเชื้อรา [5]

ผลการศึกษาการละลายของยาไอทราโคนาโซลในงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าไมโครอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันรำข้าว (rice bran oil) หรือน้ำมันปาล์ม (palm oil) เป็นวัฏภาคน้ำมัน ของผสมระหว่างน้ำกับโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัฏภาคน้ำ และของผสมระหว่างทวิน 80 (Tween 80) กับสแปน 80 (Span 80) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นสารลดแรงตึงผิว สามารถเพิ่มการละลายของยาได้เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนประกอบเดี่ยวๆ แต่ละชนิดในสูตรตำรับ และตำรับที่ได้สามารถนำไปใช้เตรียมไมโครอิมัลชันออร์แกโนเจลบรรจุยาไอทราโคนาโซล (itraconazole microemulsion organogels) โดยใช้ฟุ้งซิลิกา (fumed silica) เป็นสารก่อเจล [6] อย่างไรก็ตาม ตำรับไมโครอิมัลชันออร์แกโนเจลบรรจุยาไอทราโคนาโซลที่เตรียมได้ในงานวิจัยดังกล่าว มีความเข้มข้นของยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก

Patel และคณะ [7] เตรียมตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก โดยพิจารณาชนิดของส่วนประกอบจากการละลาย ซึ่งสารที่ถูกเลือกใช้ได้แก่ น้ำมันยูคาลิปตัส (eucalyptus oil) เป็นวัฏภาคน้ำมัน ทวิน 20 (Tween 20) เป็นสารลดแรงตึงผิว เมทานอล (methanol) เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม และน้ำเป็นวัฏภาคน้ำ ผลการศึกษาพบว่าไมโครอิมัลชันที่เหมาะสม (optimized microemulsion) ซึ่งพิจารณาจากการปลดปล่อยยาผ่านเยื่อเลือกผ่าน (semi-impermeable membrane) ได้สูงกว่าไมโครอิมัลชันอื่นอีก 8 ตำรับที่เตรียมได้ในการศึกษานี้ ให้ผลการปลดปล่อยยาผ่านเยื่อเลือกผ่านสูงกว่าและยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ดีกว่าผลิตภัณฑ์ทางการค้า อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยดังกล่าว ผู้วิจัยไม่ได้ระบุรูปแบบยาเตรียม (dosage form) และความเข้มข้นของตัวยาสำคัญของผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ใช้ในการเปรียบเทียบ รวมถึงไม่ได้ศึกษาความคงตัวของตำรับที่เตรียมได้ นอกจากนี้ เมทานอลเป็นสารที่ไม่ใช้ในตำรับยา เนื่องจากมีความเป็นพิษสูง การได้รับสารนี้โดยการสัมผัส มีผลก่อความระคายเคืองต่อผิวหนัง ทำให้ผิวหนังแห้งและเป็นผื่นแดง รวมถึงอาจซึมผ่านผิวหนังซึ่งส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย (systemic toxicity) ได้ [8]

Promjan และ Boonme [9] รายงานว่าระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลู (clove oil) เป็นวัฏภาคน้ำมัน ทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว และของผสมระหว่างน้ำกับพอลิเอทิลีนไกลคอล 400 (polyethylene glycol 400) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัฏภาคน้ำ ให้พื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่ ส่งผลให้สามารถเตรียมได้ทั้งไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil-in-water) และชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil) แต่พบว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันซึ่งมีปริมาณน้ำมันกานพลูสูงเท่านั้นที่สามารถผสมกับยาไอทราโคนาโซลความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักแล้วได้ตำรับที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส การเก็บตำรับที่เตรียมได้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียสมีผลให้ความคงตัวทางเคมีและกายภาพดีกว่าการเก็บที่ 45 องศาเซลเซียส ตำรับที่เตรียมได้สามารถนำส่งยาทางผิวหนังเมื่อศึกษาด้วยคราบงูเห่าไทย (shed snakeskin of *Naja kaouthia*) รวมถึงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *T. rubrum*

ดังนั้นการเตรียมยาไอทราโคนาโซลให้อยู่ในรูปไมโครอิมัลชันจึงมีความน่าสนใจ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชันของระบบซึ่งมีส่วนประกอบเป็นสารที่พบการใช้ในตำรับยาทาผิวหนังเพื่อนำมาเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก จากนั้นศึกษาสมบัติต่างๆ และความคงตัวของตำรับที่เตรียมได้

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมี

ตัวยาสาคัญ คือ ยาไอทราโคนาโซล ซื้อมาจาก Acros Organics ประเทศเบลเยียม ส่วนสารเคมีอื่นๆ ซื้อมาจาก JKK Chemical, RCI Labscan, PC Drug Center และ Union Chemical 1986 ประเทศไทย สารที่ใช้ในการเตรียมตำรับเป็นสารเคมีเกรดยา (pharmaceutical grade) สารที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นสารเคมีเกรดงานวิเคราะห์ (analytical grade) และน้ำที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ น้ำกลั่น (distilled water)

2.2 การสร้างแผนภาพวัฏภาคเพื่อหาพื้นที่ไมโครอิมัลชัน

สร้างแผนภาพวัฏภาคไตรภาคหรือแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียมด้วยวิธีไทเทรต (titration method) ที่อุณหภูมิโดยรอบ (ambient temperature; 28±2 องศาเซลเซียส) โดยผสมวัฏภาคน้ำมันกับสารลดแรงตึงผิวหรือกับของผสมระหว่างสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม ในอัตราส่วน 1:9 2:8 3:7 4:6 5:5 6:4 7:3 8:2 และ 9:1 โดยน้ำหนัก จากนั้นไทเทรตแต่ละของผสมด้วยวัฏภาคน้ำ หลังการเติมวัฏภาคน้ำทุกครั้ง เขย่าแรงๆ เพื่อให้ของผสมทั้งหมดเข้ากันดีและรอจนกระทั่งระบบเข้าสู่สมดุล (equilibrium) ก่อนไทเทรตต่อ จนถึงจุดที่ระบบมีลักษณะขุ่นหรือเริ่มเกิดการแยกชั้น ซึ่งเป็นจุดสิ้นสุดการเกิดไมโครอิมัลชัน จากนั้นจึงนำปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของส่วนประกอบต่างๆ ที่ผสมกันแล้วได้ไมโครอิมัลชันที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสไปเขียนกราฟสามเหลี่ยม เพื่อหาพื้นที่ไมโครอิมัลชันบนแผนภาพวัฏภาค [10] ในงานวิจัยนี้ ศึกษาทั้งหมด 12 ระบบซึ่งมีชนิดและอัตราส่วนของส่วนประกอบที่แตกต่างกัน โดยวัฏภาคน้ำมันที่ศึกษา ได้แก่ น้ำมันกานพลู (clove oil; CO) กรดโอเลอิก (oleic acid; OA) และไอโซโพรพิลไมริสเทต (isopropyl myristate; IPM) สารลดแรงตึงผิวที่ศึกษา ได้แก่ ทวิน 80 (Tween 80; T80) สารลดแรงตึงผิวร่วมที่ศึกษา ได้แก่ พอลิเอทิลีนไกลคอล 400 (polyethylene glycol 400; PEG400) และ ครีโมเฟอรอาร์เอช 40

(Cremophor RH40; RH40) วัฏภาคน้ำที่ศึกษา ได้แก่ น้ำกลั่น (distilled water; W) และของผสมระหว่าง W กับตัวทำละลายร่วมที่ศึกษาซึ่งได้แก่ PEG400 ไอโซโพรพานอล (isopropanol; IPA) และโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol; PG) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระบบที่ศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชัน

ระบบที่	ส่วนประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)		
	วัฏภาคน้ำมัน	วัฏภาคน้ำ	สารลดแรงตึงผิว
01	1:1 OA:IPM	W	1:1 T80:PEG400
02	OA	W	1:1 T80:RH40
03	OA	W	1:2 T80:RH40
04	OA	W	2:1 T80:RH40
05	OA	W	T80
06	1:1 OA:IPM	W	T80
07	1:1 CO:OA	W	T80
08	2:1 CO:OA	W	T80
09	3:1 CO:OA	W	T80
10	3:1 CO:OA	1:1 W:PEG400	T80
11	3:1 CO:OA	1:1 W:IPA	T80
12	3:1 CO:OA	1:1 W:PG	T80

2.3 การเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล

เลือกระบบที่ให้พื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่ จากนั้นเลือกจุดในพื้นที่ไมโครอิมัลชันที่มีอัตราส่วนของส่วนประกอบที่แตกต่างกัน เพื่อเตรียมไมโครอิมัลชันเปล่า (blank microemulsions) โดยการคนผสมส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันและสังเกตลักษณะด้วยตาเปล่า (สถานะทางกายภาพและความใส) ผสมยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนักแล้วสังเกตลักษณะ จากนั้นเลือกไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะเมื่อเทียบกับไมโครอิมัลชันเปล่า เพื่อศึกษาขั้นต่อไป โดยเตรียมไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ด้วยการละลายยาไอทราโคนาโซลในวัฏภาคน้ำมัน จากนั้นเติมส่วนประกอบอื่นลงไปผสม [9]

2.4 การศึกษาสมบัติและความคงตัวของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล

สังเกตลักษณะของตำรับที่เตรียมได้ ได้แก่ ความใส และสี ด้วยตาเปล่า ศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้โดยการทดสอบการผสมเข้ากันได้เมื่อหยดตัวอย่างลงในน้ำผสมสีที่ละลายน้ำ (water-soluble dye) ซึ่งในการศึกษานี้ใช้น้ำผสมสีฟ้า (brilliant blue) เพื่อเพิ่มความชัดเจนในการสังเกตผล และโดยหยดสีที่ละลายน้ำมัน (oil-soluble dye) ซึ่งในการศึกษานี้ใช้ Sudan III ลงในตัวอย่าง จากนั้นสังเกตลักษณะการแพร่ของสี รวมถึงวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) ของตัวอย่างด้วย electrical conductivity meter (F20 FiveEasy™,

Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland) ศึกษาสมบัติของไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้ โดยวัดความหนืด (viscosity) และศึกษาแบบการไหล (rheological characteristics) ด้วย Brookfield viscometer (LV/DV-III Ultra, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, USA) โดยใช้ SC4-31 spindle ซึ่งหมุนด้วยความเร็ว 5 ค่า คือ 50 100 150 200 และ 250 รอบต่อนาที วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วย pH meter (SevenCompact™ pH/Ion S220, Mettler Toledo Schwerzenbach, Switzerland) โดยทดลองที่อุณหภูมิโดยรอบและทดลอง 3 ซ้ำ (triplicate) [9,11,12]

ศึกษาความคงตัวของอิมัลชันภายใต้สภาวะปกติ โดยเก็บตัวอย่างในขวดแก้วใสและห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันแสง วางที่อุณหภูมิโดยรอบ จากนั้นสังเกตและศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณยาที่เหลืออยู่หลังเก็บไว้ที่ระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยสกัดด้วยยาออกจากตัวรับและเจือจางด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้นของยาในช่วงที่เหมาะสมแล้ววิเคราะห์หาปริมาณยาที่คงเหลือ จากนั้นคำนวณเป็นร้อยละเทียบกับปริมาณยาเริ่มต้น

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณด้วยยาสำคัญ

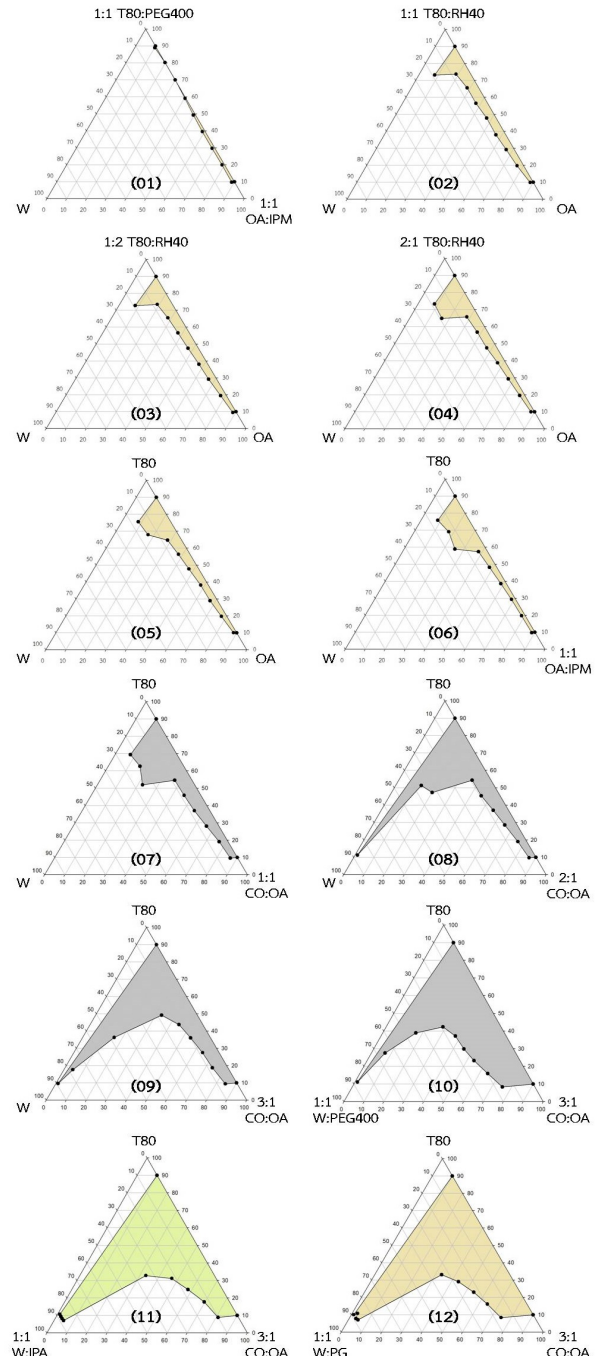
วิเคราะห์ปริมาณยาไอทราโคนาโซลด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตและ-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) ซึ่งดัดแปลงจากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ [13] โดยชั่งไมโครอิมัลชัน 100 มิลลิกรัม ละลายและเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยเมทานอล จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วย UV-Vis spectrophotometer (UV-1900i, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) ที่ความยาวคลื่น 258 นาโนเมตร (nm) และใช้เมทานอลเป็นแบล็ค (blank) จากนั้นเทียบกับกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของยาไอทราโคนาโซลในเมทานอล ในช่วงความเข้มข้น 5–18 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม (µg/mL) และค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, r^2) > 0.999 และวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

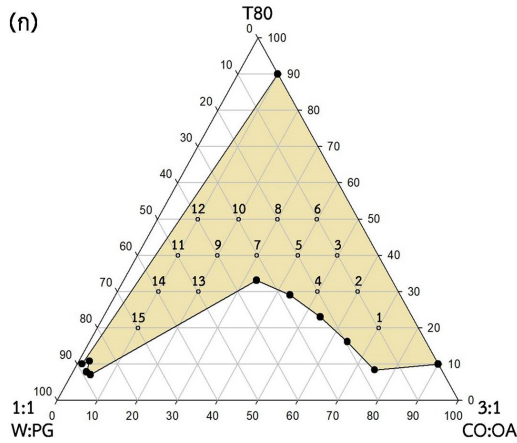
3.1 พื้นที่ไมโครอิมัลชันในแผนภาพภูมิภาคและตัวรับที่เตรียมได้

จากการศึกษาพฤติกรรมของระบบพบว่าเกิดไมโครอิมัลชันใน 12 ระบบ แต่รูปร่างและขนาดของพื้นที่ไมโครอิมัลชันที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าระบบที่ 11 และ 12 มีพื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่ใกล้เคียงกัน ดังภาพที่ 1 และระบบที่ 12 ประกอบด้วย PG เป็นตัวทำละลายร่วม จึงมีความเสี่ยงในการก่อความระคายเคืองผิวหนังน้อยกว่าระบบที่ 11 ซึ่งประกอบด้วย IPA เป็นตัวทำละลายร่วม จากข้อมูลดังกล่าว จึงเลือก 15 จุดบนพื้นที่ไมโครอิมัลชันในระบบที่ 12 ซึ่งมีอัตราส่วนของส่วนประกอบที่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 2(ก) ไปเตรียมไมโครอิมัลชันเปล่า ผลการศึกษาพบว่าไมโครอิมัลชันเปล่าที่เตรียมจากทั้ง 15 จุด มีลักษณะเป็นของเหลวใสเหลือง อย่างไรก็ตาม เมื่อผสมกับยาไอทราโคนาโซล พบว่าตัวรับที่เตรียมจากจุดที่ 1 2 3 และ 4 ยังคงมีลักษณะเป็นของเหลวใสหลังผสมกับยา ดังภาพที่ 2(ข) ขณะที่ตัวรับที่เตรียมจากจุดอื่น (จุดที่ 5 – จุดที่ 15) มีลักษณะเป็นเจลขุ่นหลังผสมกับยา ดังตัวอย่างในภาพที่ 2(ค) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตัวรับเหล่านี้มีปริมาณภูมิภาคน้ำมันไม่เพียงพอสำหรับละลายยาไอทราโคนาโซลซึ่งเป็นยาที่ชอบน้ำมัน (lipophilic drug) ส่งผลให้ตัวรับขุ่น [9]

ส่วนสาเหตุที่ตัวรับมีลักษณะขุ่นขึ้นจนมีลักษณะคล้ายเจลหลังผสมยา ยังไม่แน่ชัด แต่อาจเป็นไปได้ว่าโมเลกุลของยาที่ไม่ละลายในภูมิภาคน้ำมันอาจเกิดอันตรกิริยา (interaction) กับส่วนหางที่ชอบน้ำมัน (lipophilic tail) ของ T80 ซึ่งเป็นฟิล์มที่ผิวประจัน (interfacial film) ส่งผลให้การเรียงตัวของบริเวณผิวประจัน (interfacial packing) เปลี่ยนแปลง [14] ดังนั้น จึงเลือกตัวรับที่เตรียมจากจุดที่ 1 2 3 และ 4 ไปศึกษาต่อ โดยเรียกชื่อไมโครอิมัลชันเปล่าเป็น B-ME1 B-ME2 B-ME3 และ B-ME4 ตามลำดับ และเรียกชื่อไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลเป็น ME1 ME2 ME3 และ ME4 ตามลำดับ

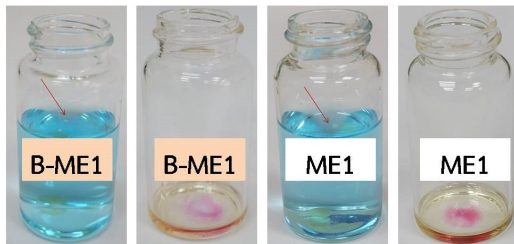


ภาพที่ 1 แผนภาพภูมิภาคของระบบที่ศึกษาในตารางที่ 1 โดยบริเวณที่แรเงาแสดงพื้นที่ไมโครอิมัลชัน



ภาพที่ 2 (ก) แผนภาพวัฏภาคของระบบที่ 12 โดยบริเวณที่แรเงาแสดงพื้นที่ไมโครอิมัลชันและจุดแสดงอัตราส่วนของส่วนประกอบสำหรับเตรียมไมโครอิมัลชันเปล่า (ข) ตำรับที่เตรียมจากจุดที่ 1 2 3 และ 4 หลังผสมกับยาไอทราโคนาโซล (ME1 – ME4) ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวใส (ค) ตำรับที่เตรียมจากจุดที่ 5 หลังผสมกับยาไอทราโคนาโซล (ME5) ซึ่งมีลักษณะเป็นเจลขุ่น

ไมโครอิมัลชันเปล่า (B-ME1 – B-ME4) และไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล (ME1 – ME4) มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลือง ทุกตำรับไม่ผสมเข้ากัน (immiscible) กับ brilliant blue aqueous solution ขณะที่สี Sudan III แปรได้ไมโครอิมัลชันทุกตำรับ ดังตัวอย่างในภาพที่ 3 และทุกตำรับมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ โดย B-ME1 – B-ME4 มีค่าการนำไฟฟ้า 6.94 ± 0.01 8.36 ± 0.03 9.30 ± 0.02 และ 16.95 ± 0.03 ไมโครซีเมนส์/เซนติเมตร ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ตามลำดับ ขณะที่ ME1 – ME4 มีค่าการนำไฟฟ้า 6.78 ± 0.01 8.52 ± 0.02 9.09 ± 0.05 และ 16.39 ± 0.03 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ตามลำดับ ดังนั้นทุกตำรับเป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน [9,12] เนื่องจากตำรับที่เลือกมาศึกษามีปริมาณวัฏภาคน้ำมันสูงกว่าวัฏภาคน้ำ นอกจากนี้ พบว่าค่าการนำไฟฟ้าของตำรับสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณวัฏภาคน้ำ [11] การผสมยาไอทราโคนาโซลในความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักในไมโครอิมัลชันเปล่าที่เลือกมาศึกษา 4 ตำรับ ไม่มีผลต่อลักษณะและชนิดของไมโครอิมัลชัน



ภาพที่ 3 ผลการทดสอบชนิดของไมโครอิมัลชันเปล่าที่เตรียมจากจุดที่ 1 (B-ME1) และไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลที่เตรียมจากจุดที่ 1 (ME1) ด้วย brilliant blue aqueous solution และ Sudan III

3.2 ความคงตัวของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล

ผลการศึกษาหลังเก็บ ME1 – ME4 ในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะที่มองเห็นด้วยตาเปล่าและชนิดไมโครอิมัลชัน โดยทุกตำรับยังคงมีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองและเป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน

ME1 – ME4 มีความหนืดคงที่เมื่อได้รับแรงกระทำจากการหมุนของ spindle ในทุกความเร็วรอบ จึงมีรูปแบบการไหลแบบนิวโตเนียน (Newtonian flow) ตลอดช่วงเวลาที่ศึกษา ความหนืดของตำรับหลังเตรียมมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณ T80 กล่าวคือ ME3 ซึ่งมี T80 ร้อยละ 39.6 มีความหนืดสูงที่สุด ตามด้วย ME2 และ ME4 ซึ่งมี T80 ร้อยละ 29.7 เท่ากัน ส่วน ME1 ซึ่งมี T80 ร้อยละ 19.8 มีความหนืดต่ำที่สุด ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ [9] และหลังเก็บในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าทุกตำรับมีการเปลี่ยนแปลงของความหนืดเพียงเล็กน้อยหรือต่ำกว่า 5 เซนติพอยส์ (cP) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความหนืดที่ความเร็วรอบในการหมุน spindle 250 rpm ของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล หลังเตรียม (wk 0) และหลังเก็บในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 สัปดาห์ (wk 4) และ 8 สัปดาห์ (wk 8) (mean $\pm$ SD, n=3)

ตำรับ	ความหนืด (cP)		
	wk 0	wk 4	wk 8
ME1	30.95 $\pm$ 0.00	31.79 $\pm$ 0.00	31.35 $\pm$ 0.18
ME2	47.23 $\pm$ 0.07	47.99 $\pm$ 0.00	49.11 $\pm$ 0.14
ME3	68.51 $\pm$ 0.00	68.67 $\pm$ 0.07	72.82 $\pm$ 0.32
ME4	50.87 $\pm$ 0.00	47.03 $\pm$ 0.00	51.91 $\pm$ 0.07

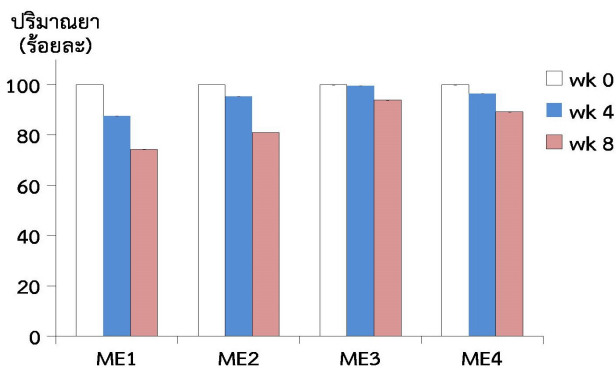
ME1 – ME4 มี pH เริ่มต้นเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.05 – 4.66 และหลังเก็บในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบการเปลี่ยนแปลงของความหนืดต่ำกว่า 0.5 หน่วย เมื่อเทียบกับ pH เริ่มต้น โดยเมื่อเก็บไว้ 4 สัปดาห์ ME1 – ME4 มี pH เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.32 – 4.77 และเมื่อเก็บไว้ 8 สัปดาห์ ME1 – ME4 มี pH เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.21 – 4.60 ดังตารางที่ 3 ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มี pH ในช่วง 4 – 6 จัดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการทาผิวหนัง [15] สาเหตุที่ pH เริ่มต้นของ ME1 – ME4 มีความแตกต่างกัน ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เป็นไปได้ว่าเกิดจากอัตราส่วนของส่วนประกอบในตำรับที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม พบว่าไมโครอิมัลชันทั้ง 4 ตำรับ ให้ผลความคงตัวทางเคมีของตัวยาสำคัญต่ำ ปริมาณตัวยาสำคัญลดลงเมื่อเก็บตำรับไว้นานขึ้น ดังภาพที่ 4 โดยพบว่า ปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลืออยู่หลังการเก็บ 4 และ 8 สัปดาห์มีแนวโน้มเหมือนกันโดยเรียงลำดับจากน้อยไปมาก คือ ME1 < ME2 $\approx$ ME4 < ME3 ซึ่งมีแนวโน้มสัมพันธ์กับ pH เริ่มต้นของตำรับซึ่งเรียงลำดับจากต่ำไปสูง คือ ME1 (4.05 ± 0.01) < ME2 (4.10 ± 0.01) $\approx$ ME4 (4.18 ± 0.01) < ME3 (4.31 ± 0.01) ถึงแม้ว่า ME3 มีปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลืออยู่หลังการเก็บ 8 สัปดาห์ สูงกว่า

ตำรับอื่นในการศึกษานี้และสูงกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น แต่ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณตัวยาสําคัญในตำรับนี้ลดลงเมื่อเก็บนานขึ้น โดยหลังการเก็บ 4 สัปดาห์ พบปริมาณตัวยาสําคัญที่เหลืออยู่ร้อยละ 99.60 ± 1.60 เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น ขณะที่หลังการเก็บ 8 สัปดาห์ พบปริมาณตัวยาสําคัญที่เหลืออยู่ลดลง โดยมีปริมาณเพียงร้อยละ 93.93 ± 1.46 เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น ดังนั้น จึงมีแนวโน้มที่ปริมาณตัวยาสําคัญอาจลดลงอีก หากเก็บตำรับนี้เป็นระยะเวลาที่นานขึ้น

ตารางที่ 3 pH ของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล หลังเตรียม (wk 0) และหลังเก็บในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 สัปดาห์ (wk 4) และ 8 สัปดาห์ (wk 8) (mean $\pm$ SD, n=3)

ตำรับ	pH		
	wk 0	wk 4	wk 8
ME1	4.05 ± 0.01	4.32 ± 0.02	4.21 ± 0.02
ME2	4.10 ± 0.01	4.50 ± 0.01	4.34 ± 0.02
ME3	4.31 ± 0.01	4.77 ± 0.02	4.60 ± 0.03
ME4	4.18 ± 0.01	4.64 ± 0.02	4.39 ± 0.02



ภาพที่ 4 ร้อยละของปริมาณที่เหลืออยู่ในไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล หลังเตรียม (wk 0) และหลังเก็บในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 สัปดาห์ (wk 4) และ 8 สัปดาห์ (wk 8) (mean $\pm$ SD, n=3)

งานวิจัยก่อนหน้านี้รายงานว่ายาไอทราโคนาโซลสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสภาวะกรด (acidic hydrolysis) เมื่อละลายผงยาไอทราโคนาโซลในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล รีฟลักซ์ (reflux) สารละลายนี้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่ 75 องศาเซลเซียส [16] นอกจากนี้ Promjan และ Boonme [9] รายงานว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันบรรจุยาไอทราโคนาโซลความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ซึ่งมี pH เริ่มต้นโดยเฉลี่ยในช่วง 5.77 – 6.22 มีความคงตัวตลอดระยะเวลาที่ศึกษา 3 เดือน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ขณะที่การเก็บที่ 45 องศาเซลเซียสมีผลให้ตำรับมีสีเข้มขึ้น และมีปริมาณตัวยาสําคัญที่เหลืออยู่น้อยกว่าเมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่ำ Mali และคณะ [17] เตรียมไมโครอิมัลชันเจลบรรจุยาไอทราโคนาโซลจากไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ พบว่าตำรับที่เหมาะสมซึ่งมี pH เริ่มต้น 6.14 ± 0.02 มีความคงตัวทางกายภาพและเคมีหลังเก็บในขวดที่ผลิตจากพอลิเอทิลีน (polyethylene bottles) โดยเก็บให้พ้นแสงที่อุณหภูมิ 4 และ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน อย่างไรก็ตาม

Shin และคณะ [18] รายงานว่ายาไอทราโคนาโซลคงตัวในสภาวะกรด (acidic conditions) เนื่องจากพบว่ายานี้คงตัวในสารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solutions) pH 1 และ 2 หลังบ่ม (incubation) ที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง แต่รายงานนี้ไม่มีข้อมูลในระยะเวลาสั้น

นอกจากนี้ อันตรกิริยาระหว่างยาหรือสารสําคัญกับส่วนประกอบอื่นๆ ในตำรับ และชนิดไมโครอิมัลชัน อาจส่งผลต่อความคงตัวของสารบางชนิด ผลการบรรจุแอสคอร์บิลปาลมิเตต (ascorbyl palmitate) ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก ในไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน และไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ซึ่งมีส่วนประกอบชนิดเดียวกันแต่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันสามารถทำให้สารนี้มีความคงตัวทางเคมีสูงกว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เพราะโครงสร้างส่วนที่ไวต่อออกซิเดชันในโมเลกุลของสารนี้ชอบอยู่ในวัฏภาคน้ำมากกว่าวัฏภาคน้ำมัน โครงสร้างส่วนนี้จึงอยู่ในวัฏภาคภายในของไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน ส่งผลให้สัมผัสกับออกซิเจนและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ต่ำกว่าเมื่ออยู่ในวัฏภาคภายนอกของไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ อย่างไรก็ตาม ความคงตัวของสารนี้ในไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันที่ศึกษา ยังไม่เพียงพอสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ต่อ [19] ขณะที่ผลการบรรจุโซเดียมแอสคอร์บิลฟอสเฟต (sodium ascorbyl phosphate) ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ในไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันและไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำซึ่งมีส่วนประกอบชนิดเดียวกันแต่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าชนิดไมโครอิมัลชันไม่ผลต่อความคงตัวทางเคมีของสารนี้ [20] ส่วนในการฉีดยาไอทราโคนาโซล ยังไม่พบรายงานที่เปรียบเทียบความคงตัวเมื่อเตรียมในรูปแบบไมโครอิมัลชันต่างชนิดกัน

ดังนั้น ในการศึกษาต่อไป ควรปรับปรุงสูตรตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล โดยการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของ pH เริ่มต้น อันตรกิริยาระหว่างยากับสารอื่นในตำรับ ผลของชนิดไมโครอิมัลชัน เป็นต้น เพื่อให้ตัวยาสําคัญคงตัวมากขึ้น

4.สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบว่าระบบที่ประกอบด้วยของผสมระหว่างน้ำมันกานพลูกับกรดโอเลอิกในอัตราส่วน 3:1 เป็นวัฏภาคน้ำมัน ทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว และของผสมระหว่างน้ำกับโพธิลินไกลคอลในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัฏภาคน้ำ ให้พื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่และสามารถเลือกอัตราส่วนของส่วนประกอบเพื่อเตรียมไมโครอิมัลชัน-เปล้าได้หลายจุด ซึ่งในการศึกษานี้เลือก 15 จุด อย่างไรก็ตาม พบว่ามีเพียงไมโครอิมัลชัน 4 ตำรับที่สามารถผสมกับยาไอทราโคนาโซลแล้วมีลักษณะเป็นของเหลวใส เนื่องจากมีปริมาณวัฏภาคน้ำมันสูง จึงสามารถละลายยาไอทราโคนาโซลได้ การผสมยาในตำรับ ไม่มีผลต่อลักษณะและชนิดของไมโครอิมัลชัน ถึงแม้ว่าทุกตำรับที่ศึกษามีสมบัติด้านความหนืดและความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการทาผิวหนัง แต่ผลการศึกษาความคงตัวโดยเก็บตำรับในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าทุกตำรับที่ศึกษายังไม่เหมาะสมสำหรับการนำส่งยาไอทราโคนาโซลทางผิวหนัง เนื่องจากมีปริมาณตัวยาสําคัญลดลงเมื่อเก็บในระยะเวลาสั้นขึ้น ดังนั้นควรปรับปรุงสูตรตำรับเพื่อให้ยาไอทราโคนาโซลมีความคงตัวในการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Luplertlop N, Suwanmanee S. Dermatophytosis: from bench to bedside. *J Trop Med Parasitol.* 2013;36(2):75-87.
2. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 55283, Itraconazole. [cited 2023 Nov 28]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Itraconazole>.
3. Souto EB, Doktorovova S, Boonme P. Lipid-based colloidal systems (nanoparticles, microemulsions) for drug delivery to the skin: materials and end-product formulations. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2011;21(1):43-54.
4. Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics.* 2014;6:52-77.
5. Boonme P, Kaewbanjong J, Amnuait T, Andreani T, Silva AM, Souto EB. Microemulsion and microemulsion-based gels for topical antifungal therapy with phytochemicals. *Curr Pharm Des.* 2016;22(27):4257-4263.
6. Boonme P, Wuttikul K, Fookloy K, Promjan S, Teeranachaideekul V. Formulation development and characterization of topical itraconazole microemulsion-organogels. *Lat Am J Pharm.* 2017;36(5):896-901.
7. Patel TB, Patel TR, Suhagia BN. Preparation, characterization, and optimization of microemulsion for topical delivery of itraconazole. *J Drug Deliv Ther.* 2018;8(2):136-145.
8. Public Health England. Methanol: Toxicological Overview. [cited 2023 Nov 28]. Available from: https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7f16d6e5274a2e8ab4a0be/Methanol_TO_PHE_260815.pdf.
9. Promjan S, Boonme P. Itraconazole-loaded microemulsions: formulation, characterization, and dermal delivery using shed snakeskin as the model membrane. *Pharm Dev Technol.* 2023;28(1):51-60.
10. ณัฐธิดา ภัคพยัต, ทรงวุฒิ ยศวิมลวัฒน์, ประภาพร บุญมี. กรีน-ไมโครอิมัลชันสำหรับเครื่องสำอาง. *วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ* 2554;6(4):290-298.
11. Lou H, Qiu N, Crill C, Helms R, Almoazen H. Development of w/o microemulsion for transdermal delivery of iodide ions. *AAPS PharmSciTech.* 2013;14(1):168-176.
12. Wuttikul K, Boonme P. N-acetylglucosamine microemulsions: assessment of physicochemical stability and *in vitro* release. *Lat Am J Pharm.* 2019;38(9):1823-1830.
13. Srinivas L, Hemalatha B, Vinai KT, Naga MRB, Bhanu TB. Studies on solubility and dissolution enhancement of itraconazole by complexation with sulfo-butyl7 ether β cyclodextrin. *Asian J Biomed Pharm Sci.* 2014;4(38):6-16.
14. Mehta SK, Kaur G, Bhasin KK. Tween-embedded microemulsions - physicochemical and spectroscopic analysis for antitubercular drugs. *AAPS PharmSciTech.* 2010;11(1):143-153.
15. Lukić M, Pantelić I, Savić SD. Towards optimal pH of the skin and topical formulations: from the current state of the art to tailored products. *Cosmetics.* 2021;8:69.
16. Parikh SK, Dave JB, Patel CN, Ramalingam B. Stability-indicating high-performance thin-layer chromatographic method for analysis of itraconazole in bulk drug and in pharmaceutical dosage form. *Pharm Methods.* 2011;2:88-94.
17. Mali KK, Dhawale SC, Dias RJ. Microemulsion based bioadhesive gel of itraconazole using tamarind gum: *in-vitro* and *ex-vivo* evaluation. *Marmara Pharm J.* 2017; 21(3):688-700.
18. Shin JH, Choi KY, Kim YC, Lee MG. Dose-dependent pharmacokinetics of itraconazole after intravenous or oral administration to rats: intestinal first-pass effect. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(5):1756-1762.
19. Špiclin P, Gašperlin M, Kmetec V. Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions. *Int J Pharm.* 2001; 222(2):271-279.
20. Špiclin P, Homar M, Zupančič-Valant A, Gašperlin M. Sodium ascorbyl phosphate in topical microemulsions. *Int J Pharm.* 2003;256(1-2):65-73.



Research Article

Soybean Flour Supplemented for Nutritional Value Enhancement in Cookies

การใช้แป้งถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์ขนมคุกกี

ศักดิ์ดา จันปัญญา¹, หทัยวรรณ รมยะสมิต¹, โศภิษฐ์ เวทยสุภรณ์^{2*},Sakda Chanpanya¹, Hathaiwan Ramayasamit¹, Sopit Vetayasuporn^{2*},¹ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150² คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ 186 หมู่ 1 ถนนสุรินทร์-ปราสาท ตำบลนอกเมือง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000¹ Faculty of Technology, Mahasarakham University, Khamriang, Kantharawichai, Mahasarakham, Thailand² Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University, 186 Moo 1, Surin-Prasart Road, Nokmuang, Muang Surin, Thailand

Article Info

Received 27 September 2023

Revised 5 December 2023

Accepted 22 March 2024

Abstract

Soybean flour was used to substitute wheat flour at different percentage ratios from 0, 25, 50 and 75 for producing cookies. Cookies produced from 75 % substitution of soybean flour gave the highest protein content (13.17 %) and TBA value (0.06), while the highest fat (33.85%), moisture content (2.40 %) and carbohydrate (123.11 µg/ml) were found in the control (100 % wheat flour). During shelf life evaluation of cookies (0, 5, 10 and 15 days) the physical properties were examined and the results showed that moisture content and TBA value increased when their storage time increased. Twenty panelists evaluated the organoleptic characteristics of the cookies, the overall acceptability of control (100 % wheat flour) obtained the highest sensory score at 4.55 followed by 50 % with soybean substitution with sensory score at 4.10.

Keywords: Soy flour, wheat flour, cookies

บทคัดย่อ

การนำแป้งถั่วเหลืองมาทดแทนแป้งสาลีในอัตราส่วนร้อยละ 0, 25, 50 และ 75 เพื่อใช้ในการผลิตขนมคุกกี พบว่า สูตรที่มีการเติมแป้งถั่วเหลือง 75% มีปริมาณโปรตีน และความเหม็นหืน (TBA value) มากที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 13.17% และ 0.06 ตามลำดับ สูตรควบคุมจะมีปริมาณไขมัน ความชื้น และคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 33.85%, 2.40% และ 123.11 µg/ml ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์ทางกายภาพเมื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาขนมคุกกีที่ระยะเวลา 0, 5, 10 และ 15 วัน พบว่าคุกกีจากทั้ง 4 สูตร จะมีค่าความชื้นและความเหม็นหืนเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษาและผลจากการทดสอบความชอบโดยรวมทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบจำนวน 20 คน พบว่าผู้ทดสอบมีความพึงพอใจในขนมคุกกีสูตรควบคุมมากที่สุด คือ 4.55 และรองลงมาคือสูตรที่มีการเติมแป้งถั่วเหลือง 50% คือมีค่าเท่ากับ 4.10.

คำสำคัญ: แป้งถั่วเหลือง แป้งสาลี ขนมคุกกี

1. บทนำ

คูกี้เป็นขนมอบชนิดหนึ่งที่ทำจากแป้งสาลีผสมรวมกับน้ำตาลไขมันหรือน้ำมันบริโภคนมไข่ผงฟูเบกกิ้งโซดา สารแต่งกลิ่น หรืออาจมีส่วนผสมอื่น เช่น กล้วยเชื่อมหรือผลไม้แห้ง ทำเป็นขึ้นโดยการหยอด หั่น กด ปั้น หรือวิธีอื่น ที่เหมาะสมแล้วนำไปอบจนกรอบโดยส่วนมากคูกี้จะทำมาจากแป้งข้าวสาลีคูกี้เป็นขนมอบที่นิยมรับประทานในกลุ่มคนทั่วไป ทั้งนี้เนื่องจากหาซื้อง่ายและราคาไม่แพง แต่เนื่องจากขนมคูกี้โดยส่วนใหญ่จะทำมาจากแป้งข้าวสาลี ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ไม่ใช่พืชเศรษฐกิจที่ทำการเพาะปลูกในพื้นที่ของประเทศไทย ดังนั้นการนำแป้งถั่วเหลืองที่เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการเพาะปลูกอยู่ในประเทศไทยมาเป็นส่วนผสมและทดแทนแป้งข้าวสาลีในการทำขนมคูกี้ อาจเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยลดต้นทุนในการทำขนมคูกี้ลงและเป็นการเพิ่มมูลค่าเพิ่มให้กับแป้งถั่วเหลือง เนื่องจากถั่วเหลืองสามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทยในพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ของดินสูงจนถึงปานกลางมีการระบายน้ำดี และมีความเป็นกรดเป็นด่างระหว่าง 5.5-7 ถั่วเหลืองมีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 3-4 เดือน ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ประมาณ 250 กิโลกรัมสามารถปลูกได้ทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝนเป็นพืชเสริมรายได้แก่เกษตรกรนอกเหนือจากการปลูกพืชหลักและยังเป็นพืชหมุนเวียนบำรุงดิน [1] ถั่วเหลืองเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของไทยเพราะเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารที่ให้โปรตีนสูงประมาณ 35-46 % และเมล็ดถั่วเหลืองยังมีคุณค่าทางอาหารอื่นๆ สูง อีกทั้งยังเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมหลายประเภทและบริโภคกันทั่วโลก ถั่วเหลืองเป็นแหล่งของแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น ทองแดง สังกะสี และแมงกานีส [16] [4] นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังเป็นแหล่งของกรดอะมิโนจำเป็นที่สำคัญ มีปริมาณ lecithin อยู่ถึง 3 % ซึ่ง lecithin นี้มีความจำเป็นต่อการพัฒนาสมอง และมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าข้าวสาลีถึง 4 เท่า [5]

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนให้แก่คูกี้โดยนำเอาแป้งถั่วเหลืองมาทดแทนแป้งสาลีในขนมคูกี้ โดยคาดหวังว่าคูกี้ถั่วเหลืองจะสามารถช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการอาหารด้านโปรตีนให้แก่ผู้บริโภคได้

2. วิธีดำเนินการ

2.1 การผลิตคูกี้ที่มีส่วนผสมของถั่วเหลือง (Guru, 2013)

การทดลองจะทำการแปรผันอัตราส่วนแป้งสาลีต่อแป้งถั่วเหลืองออกเป็น 4 สูตร แต่ละสูตรทำการทดลองซ้ำสามซ้ำ ดังต่อไปนี้

- สูตรที่ 1 แป้งสาลี 100% ต่อ แป้งถั่วเหลือง 0% (ชุดควบคุม)
- สูตรที่ 2 แป้งสาลี 75% ต่อ แป้งถั่วเหลือง 25%
- สูตรที่ 3 แป้งสาลี 50% ต่อ แป้งถั่วเหลือง 50%
- สูตรที่ 4 แป้งสาลี 25% ต่อ แป้งถั่วเหลือง 75%

ใช้แป้งในการทำคูกี้ในปริมาณ 100 กรัมผสมรวมกับส่วนผสม อื่น ๆ เช่น เนยเค็ม 95 กรัม น้ำตาลไอซิ่ง 40 กรัม ไข่ไก่ 1 ฟอง กลิ่น วานิลลาบัตเตอร์ 2.3 กรัม และผงฟู 2.3 กรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2.2 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตจากคูกี้ถั่วเหลือง ตัวอย่างละ 3 ครั้ง

- การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยวิธี Clegg anthrone method [8]
- การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนหรือโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl [6]
- การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันโดยวิธี Soxhlet; AOAC (2000) [6]

2.3 วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ค่าความเหม็นหืนและคุณสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัสของคูกี้ถั่วเหลือง

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ความเหม็นหืน และคุณสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัสจะทำการเก็บรักษาคูกี้ถั่วเหลือง โดยการเก็บคูกี้ถั่วเหลืองในขวดแก้วใส ปิดฝาแน่นไม่ให้อากาศเข้า แล้วเก็บไว้ที่ห้องแช่แข็ง แล้วนำตัวอย่างของคูกี้ถั่วเหลืองมาทำการวิเคราะห์หาค่าต่าง ๆ ในวันที่ 0, 5, 10, และ 15 ตามลำดับ

- การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยวิธี Hot air oven [6]
- การวิเคราะห์หาค่าความเหม็นหืน โดยวิธี Thiobarbituric acid value; [12]
- การวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Texture Analyzer [14]

2.4 การประเมินทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory test)

การตรวจสอบคุณลักษณะโดยใช้ระดับความชอบ 5 คะแนน (Hedonic scale test) จะสุ่มผู้ทดสอบมาโดยไม่ระบุเพศและอายุ จำนวน 20 คน เพื่อทำการประเมินคุณลักษณะ 6 อย่างดังนี้คือ สี, กลิ่น, รสชาติ, ความกรอบ, เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมจะให้คะแนนเป็นระดับความชอบตั้งแต่ 1-5 ค่าคะแนนระดับที่ 1 คือไม่ชอบมากที่สุด ค่าคะแนนระดับที่ 2 คือไม่ชอบ ค่าคะแนนระดับที่ 3 คือเฉยๆ ค่าคะแนนระดับที่ 4 คือชอบ และค่าคะแนนระดับที่ 5 คือชอบมากที่สุด [10]

2.5 การหาค่าทางสถิติ

ผลที่ได้จากการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคจำนวน 20 คน โดยการชิม ต้มกลิ่น และดูสี ผลลัพธ์คูกี้ถั่วเหลือง 3 ครั้ง จะถูกนำมาวิเคราะห์ในโปรแกรมทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Science for Windows) เวอร์ชัน 21 (2020) หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานซึ่งมีเปรียบเทียบค่าโดย Duncan's Multiple-Range Test (DMRT) [17]

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของคูกี้ถั่วเหลือง

ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในขนมคูกี้ทั้ง 4 สูตรพบว่าสูตรถั่วเหลือง 75% มีปริมาณของโปรตีนสูงที่สุดถึงคือ 13.17% ซึ่งค่าโปรตีนนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในสูตรนี้มีการเติม

แป้งข้าวเหนียวเป็นส่วนประกอบในขนมคุกกี้น้ำมากที่สุด ส่วนสูตรข้าวเหนียว 25% และ 50% มีค่าปริมาณโปรตีนเท่ากับ 10.05% และ 11.10% ตามลำดับ ส่วนสูตรควบคุมมีค่าปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดคือ 7.13% เพราะไม่มีการเติมแป้งข้าวเหนียวเป็นส่วนประกอบของคุกกี้น้ำ (ตารางที่ 1)

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในขนมคุกกี้น้ำทั้ง 4 สูตรพบว่าสูตรควบคุม สูตรข้าวเหนียว 25% และสูตรข้าวเหนียว 50% มีค่าปริมาณไขมันที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีปริมาณไขมันเท่ากับ 33.85%, 33.29% และ 33.79% ตามลำดับ ส่วนสูตรข้าวเหนียว 75% มีค่าปริมาณไขมันน้อยที่สุดคือเท่ากับ 32.38% ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ๆ (ตารางที่ 1)

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตในขนมคุกกี้น้ำทั้ง 4 สูตรพบว่าสูตรควบคุมมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 123.11 µg/ml รองลงมาคือสูตรข้าวเหนียว 25% และ 50% คือมีค่าเท่ากับ 100.44 µg/ml และ 81.11 µg/ml ตามลำดับ ส่วนสูตรข้าวเหนียว 75% มีค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตน้อยที่สุดคือ 58.11 µg/ml ซึ่งค่านี้จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่น ๆ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของคุกกี้น้ำ

คุกกี้น้ำที่ใช้ข้าวเหนียวทดแทน	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	คาร์โบไฮเดรต (µg/ml)
สูตรควบคุม	7.13 ± 0.61 ^d	33.85 ± 0.18 ^a	123.11 ± 6.25 ^a
ข้าวเหนียว 25%	10.05 ± 0.05 ^c	33.29 ± 0.59 ^{ab}	100.44 ± 8.22 ^{ab}
ข้าวเหนียว 50%	11.10 ± 0.10 ^b	33.79 ± 0.31 ^a	81.11 ± 6.73 ^{ab}
ข้าวเหนียว 75%	13.17 ± 0.00 ^a	32.38 ± 1.18 ^b	58.11 ± 46.41 ^b

หมายเหตุ- ตัวอักษร a, b, c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2 ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพของคุกกี้น้ำ

ค่าความชื้นและการเกิดออกซิเดชันของไขมันเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บของคุกกี้น้ำ [11] ดังนั้นในระหว่างการเก็บนั้นจะต้องมีการติดตามการเปลี่ยนแปลงความชื้นของผลิตภัณฑ์ และติดตามการเกิดกลิ่นหืน ที่เป็นผลเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันนั้น การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น และความเหม็นหืน (TBA value) ของขนมคุกกี้น้ำทั้ง 4 สูตรพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยสูตรข้าวเหนียว 75% พบว่ามีค่าปริมาณความชื้นน้อยที่สุดแต่ความเหม็นหืนสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 2.04 % และ 0.06 ตามลำดับ ส่วนสูตรควบคุมมีค่าความชื้นสูงที่สุดแต่ความเหม็นหืนน้อยที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 2.66 % และ 0.02 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ทางกายภาพของคุกกี้น้ำ

คุกกี้น้ำที่ใช้ข้าวเหนียวทดแทน	ปริมาณความชื้น (%)	ความเหม็นหืน	เนื้อสัมผัส (N)
สูตรควบคุม	2.66 ± 1.02 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	12.48 ± 4.14 ^a
ข้าวเหนียว 25%	2.40 ± 0.28 ^a	0.04 ± 0.03 ^a	10.92 ± 2.52 ^a
ข้าวเหนียว 50%	2.37 ± 0.19 ^a	0.05 ± 0.03 ^a	8.97 ± 1.41 ^{ab}
ข้าวเหนียว 75%	2.04 ± 1.39 ^a	0.06 ± 0.03 ^a	5.21 ± 2.44 ^b

หมายเหตุ- ตัวอักษร a, b, c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวิเคราะห์หาเนื้อสัมผัสของขนมคุกกี้น้ำทั้ง 4 สูตรพบว่าสูตรควบคุมมีความแข็งสูงที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 12.48 N รองลงมาคือสูตรข้าวเหนียว 25% และ 50% โดยมีค่าที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.91 N และ 8.97 N ตามลำดับ ส่วนสูตรข้าวเหนียว 75% มีค่าความแข็งน้อยที่สุดคือ 5.21 N เมื่อเทียบกับสูตรควบคุมซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3 ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพของขนมคุกกี้น้ำเมื่อทำการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0, 5, 10 และ 15 วัน ในอุณหภูมิห้อง

ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ (ปริมาณความชื้น ความเหม็นหืน และเนื้อสัมผัส) ของคุกกี้น้ำทั้ง 4 สูตร ตลอดอายุการเก็บรักษา (0, 5, 10 และ 15 วัน) พบว่าในเกือบทุกสูตร (ยกเว้นขนมคุกกี้น้ำสูตรข้าวเหนียว 75%) จะมีค่าความชื้นเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามอายุการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามค่าความชื้นที่ลดลงในขนมคุกกี้น้ำสูตรข้าวเหนียว 75% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับขนมคุกกี้น้ำสูตรที่การผสมแป้งข้าวเหนียวอื่น ๆ (ตารางที่ 3)

ส่วนค่าความเหม็นหืน และเนื้อสัมผัสจะมีค่าเพิ่มขึ้น ตามอายุการเก็บรักษาในวันที่ 0, 5, 10 และ 15 วันตามลำดับ ซึ่งค่าเหล่านี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% [2] ได้กล่าวไว้ว่า การที่ผลิตภัณฑ์สามารถเก็บได้เป็นระยะเวลาหนึ่ง โดยไม่เสื่อมเสียคุณภาพ อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ และปัจจัยหลายอย่าง เช่น ภาชนะบรรจุ สภาพการเก็บ เป็นต้น สภาพการเก็บที่สำคัญ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ออกซิเจน และแสง (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ทางกายภาพของคุกกี้น้ำทั้ง 4 สูตรเมื่อทำการเก็บรักษานาน 0, 5, 10 และ 15 วัน ในอุณหภูมิห้อง

คุกกี้น้ำที่ใช้ข้าวเหนียวทดแทน	วัน	ปริมาณความชื้น (%)	ความเหม็นหืน	เนื้อสัมผัส (N)
สูตรควบคุม	0	2.66 ± 1.02 ^b	0.02 ± 0.01 ^a	12.48 ± 4.14 ^a
	5	4.49 ± 0.36 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	13.07 ± 0.92 ^a
	10	4.97 ± 0.66 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	13.45 ± 4.67 ^a
	15	4.55 ± 0.17 ^a	0.05 ± 0.02 ^a	14.97 ± 5.53 ^a

คุกกี้สูตรที่ใช้ ถั่วเหลือง ทดแทน	วัน	ปริมาณ ความชื้น (%)	ความเหนียว	เนื้อสัมผัส (N)
ถั่วเหลือง 25%	0	2.40 ± 0.28 ^b	0.04 ± 0.03 ^a	10.92 ± 2.52 ^a
	5	4.20 ± 0.10 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	10.93 ± 2.22 ^a
	10	4.38 ± 0.20 ^a	0.06 ± 0.03 ^a	10.97 ± 0.81 ^a
	15	4.41 ± 0.23 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	12.08 ± 4.94 ^a
	0	2.37 ± 0.19 ^b	0.05 ± 0.03 ^a	8.97 ± 1.41 ^a
ถั่วเหลือง 50%	5	2.88 ± 0.03 ^{ab}	0.07 ± 0.02 ^a	9.07 ± 4.42 ^a
	10	2.78 ± 0.78 ^{ab}	0.08 ± 0.03 ^a	9.50 ± 1.49 ^a
	15	3.49 ± 0.41 ^a	0.10 ± 0.01 ^a	9.67 ± 1.12 ^a
	0	2.04 ± 1.39 ^b	0.06 ± 0.03 ^a	5.21 ± 2.44 ^a
	5	2.36 ± 0.26 ^b	0.08 ± 0.02 ^a	7.32 ± 1.82 ^a
ถั่วเหลือง 75%	10	2.36 ± 0.12 ^b	0.09 ± 0.03 ^a	7.44 ± 3.31 ^a
	15	2.36 ± 0.31 ^b	0.10 ± 0.01 ^a	7.93 ± 2.06 ^a

หมายเหตุ- ตัวอักษร a, b, c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากการนำแป้งถั่วเหลืองมาช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารใน ขนมคุกกี้

ผู้ทดสอบทั้ง 20 คน ได้ทดสอบทางประสาทสัมผัสทั้ง 6 คุณลักษณะคือ สี กลิ่นรสชาติ เนื้อสัมผัส ความกรอบ และความชอบรวมจากคุกกี้ทั้ง 4 สูตรด้านสี พบว่าคุกกี้สูตรควบคุม มีการยอมรับสูงที่สุดที่มีคะแนนเท่ากับ 4.40 ซึ่งมีสีที่อ่อนเล็กน้อย ส่วนสูตรคุกกี้ที่มีการผสมแป้งถั่วเหลือง 25% และ 50% จะมีสีที่ไม่แตกต่างกันกับคุกกี้สูตรควบคุม ซึ่งมีคะแนนการยอมรับเท่ากับ 4.10 และ 4.15 ตามลำดับ ส่วนคะแนนการยอมรับสีในคุกกี้สูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 75% มีค่าน้อยที่สุดคือมีเท่ากับ 3.95 ซึ่งมีสีที่เข้มเล็กน้อยซึ่งค่านี้จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับสูตรควบคุม (ตารางที่ 4)

ด้านกลิ่น พบว่าคุกกี้ทั้ง 4 สูตรมีค่าการยอมรับไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งสูตรควบคุมมีการยอมรับสูงที่สุดซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 4.00 ส่วนสูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 25% มีค่าน้อยที่สุดโดยมีคะแนนการยอมรับเท่ากับ 3.50 (ตารางที่ 4)

ด้านรสชาติ พบว่าคุกกี้สูตรควบคุมและสูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 50% มีค่าที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งมีคะแนนการยอมรับเท่ากับ 4.50 และ 4.15 ตามลำดับ ส่วนคุกกี้สูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 25% และ 75% มีคะแนนการยอมรับเท่ากับ 3.50 และ 3.80 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ด้านเนื้อสัมผัส พบว่าคุกกี้สูตรควบคุมและสูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 50% มีเนื้อสัมผัสที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ซึ่งมีคะแนนการยอมรับเท่ากับ 4.30 และ 4.00 ตามลำดับ ส่วนคุกกี้สูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 25% และ 75% มีคะแนนการยอมรับเท่ากับ 3.75 และ 3.45 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ด้านความกรอบ พบว่าคุกกี้ทั้ง 4 สูตรมีค่าที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งสูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 50% มีการยอมรับสูงที่สุดคือ 4.20 เมื่อเทียบกับสูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 75% มีความกรอบน้อยที่สุดคือ 3.90 (ตารางที่ 4)

ด้านความชอบรวม พบว่าคุกกี้สูตรควบคุมมีการยอมรับสูงที่สุดซึ่งมีคะแนนเท่ากับ 4.55 ส่วนสูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 25%, 50% และ 75% มีความชอบรวมที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งมีคะแนนการยอมรับเท่ากับ 3.85, 4.10 และ 3.70 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากการนำแป้งถั่วเหลืองช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารในขนมคุกกี้

คุกกี้สูตรที่ใช้ถั่วเหลือง ทดแทน	คะแนนเฉลี่ยความชอบทางด้าน					
	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความกรอบ	ความชอบโดยรวม
สูตรควบคุม	4.40±0.68 ^a	4.00±0.72 ^a	4.50±0.60 ^a	4.30±0.86 ^a	4.15±0.87 ^a	4.55±0.82 ^a
ถั่วเหลือง 25%	4.10±1.02 ^{ab}	3.50±1.00 ^a	3.50±0.94 ^c	3.75±0.96 ^{bc}	4.00±0.91 ^a	3.85±0.81 ^b
ถั่วเหลือง 50%	4.15±0.87 ^{ab}	3.85±0.74 ^a	4.15±0.67 ^{ab}	4.00±0.72 ^{ab}	4.20±0.76 ^a	4.10±0.91 ^b
ถั่วเหลือง 75%	3.95±0.82 ^b	3.85±0.98 ^a	3.80±0.89 ^{bc}	3.45±1.05 ^c	3.90±1.02 ^a	3.70±0.97 ^b

หมายเหตุ- ตัวอักษร a, b, c ที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์ทางเคมีของขนมคุกกี้พบว่าสูตรผสมแป้งถั่วเหลือง 75% มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 13.17% เพราะมีการเติมแป้งถั่วเหลืองแทนแป้งสาลีมากที่สุด ส่วนสูตรควบคุมมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดคือ 7.13% เพราะไม่มีการเติมแป้งถั่วเหลืองแทนแป้งสาลีเลย ผลงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานของ [7] ซึ่งพบว่าค่าปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้น 9.9% เมื่อมีการเติมแป้งถั่วเหลือง 10 % ในส่วนผสมของ biscuits ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันพบว่าสูตรควบคุมมีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 33.85% ส่วนสูตรถั่วเหลือง 75% มีปริมาณไขมันน้อยที่สุดคือ 32.38% และส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตพบว่าสูตรควบคุมมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ 123.11 µg/ml ส่วนสูตรถั่วเหลือง 75% มีค่าน้อยที่สุดคือ 58.11 µg/ml

จากการวิเคราะห์ทางกายภาพของขนมคุกกี้พบว่าความชื้นของสูตรถั่วเหลือง 75% น้อยที่สุดคือ 2.04% และสูตรควบคุมมีค่าสูงที่สุดคือ 2.66% ปริมาณความชื้นที่ต่ำที่สุดในขนมคุกกี้สูตรถั่วเหลือง 75%

อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนของแป้งถั่วเหลืองจะไปลดค่าความสามารถในการละลายของน้ำในแป้งซึ่งค่านี้จะมีผลโดยตรงต่อค่าปริมาณความชื้นของคุกกี้ [9]

ส่วนค่าความเหนียวของแป้งถั่วเหลือง 75% มีค่าสูงที่สุดคือ 0.06 และค่าที่น้อยที่สุดคือสูตรควบคุมคือ 0.02 ส่วนเนื้อสัมผัสสูตรควบคุมมีค่าสูงที่สุดคือ 12.48 N และสูตรถั่วเหลือง 75% มีค่าน้อยที่สุดคือ 5.21 N

จากการวิเคราะห์ทางกายภาพของคุกกี้ถั่วเหลืองที่เก็บรักษา 0, 5, 10 และ 15 วันพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณความชื้นความเหนียวและเนื้อสัมผัส จะเพิ่มสูงขึ้น ตามอายุที่เก็บรักษา ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษาพบว่าสูตรควบคุมจะมีปริมาณความชื้นสูงที่สุดคือ 4.55% ส่วนสูตรถั่วเหลือง 50% และ 75% จะมีค่าความเหนียวสูงที่สุดคือ 0.10 แต่สูตรควบคุมมีค่าน้อยที่สุดคือ 0.02 และส่วนสูตรควบคุมมีเนื้อสัมผัสสูงที่สุดคือ 14.97 N ซึ่งสูตรถั่วเหลือง 75% มีค่าน้อยที่สุดคือ 5.21 N

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสจากการนำแป้งถั่วเหลืองช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารในขนมคุกกี้พบว่าผู้ทดสอบ 20 คนยอมรับสีของสูตรควบคุมสูงที่สุดคือ 4.40 ส่วนสูตรถั่วเหลือง 75% ยอมรับน้อยที่สุดคือ 3.95 ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ [13] ซึ่งพบว่าคุกกี้จะมีสีเข้มขึ้นเมื่อปริมาณเปอร์เซ็นต์แป้งถั่วเหลืองในส่วนผสมเพิ่มขึ้น ส่วนกลิ่น และรสชาติมีการยอมรับสูตรควบคุมสูงที่สุดคือ 4.00 และ 4.50 ส่วนยอมรับน้อยที่สุดคือสูตรถั่วเหลือง 25% มีค่า 3.50 เช่นเดียวกัน ส่วนการยอมรับเนื้อสัมผัสสูงที่สุดคือสูตรควบคุมคือ 4.30 และยอมรับน้อยที่สุดคือสูตรถั่วเหลือง 75% มีค่า 3.45 ส่วนการยอมรับความกรอบสูงที่สุดคือสูตรถั่วเหลือง 50% คือ 4.20 และยอมรับน้อยที่สุดคือสูตรถั่วเหลือง 75% มีค่า 3.90 ส่วนการยอมรับความชอบรวมสูงที่สุดสูตรควบคุมคือ 4.55 และยอมรับน้อยที่สุดคือสูตรถั่วเหลือง 75% มีค่า 3.70 แต่อย่างไรก็ตามการนำเอาแป้งถั่วเหลืองที่มีราคาถูกมาใช้เป็นส่วนผสมทดแทนแป้งข้าวสาลีที่มีราคาแพงในคุกกี้ก็เป็นแนวทางหนึ่งที่จะใช้เป็นแหล่งเสริมของโปรตีนราคาถูกให้กับประเทศที่กำลังพัฒนา

เอกสารอ้างอิง

1. เทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลือง (2563) สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ p. 1-20 ก.ค. 2563)
2. ศิริลักษณ์ สินธวาลัย (2535). การพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางโภชนาการ. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร. Guru (2013) คุกกี้ (Cookies)[ออนไลน์]. ได้จาก <http://guru.google.co.th/guru/thread?tid=3debb2ffc944a9c7> [สืบค้นเมื่อ 29 สิงหาคม 2563]
3. Ampofo, V. (2009), Production and sensory analysis of soybean and wheat flour composite cake, HND Dissertation, Cape Coast Polytechnic, Cape Coast, Ghana, 1: 5-7.
4. Akubor P.I. and Ukwuru M. U., (2005). Functional properties and biscuit making potential of soybean

- and cassava flour blends, plant foods for Human Nutrition, 58:1-12.
5. AOAC, (2000). Official Methods of the Association of Official Chemists. Official Analytical Int, ArlingtonVA.
6. Banureka, V. D. and Mahendran, T. (2011). Formulation of Wheat-Soybean Biscuits and their Quality Characteristics: Tropical Agricultural Research and Extension: 12(2), February.
7. Clegg, K. M. (1956). The Application of the Anthrone Reagent to the Estimation of Starch in Cereals. J. Sci, Food Agric., 7 January, 1956. p. 40-44.
8. Ghosal, G. และ Kaushik, P. (2020). Development of soymeal fortified cookies to combat malnutrition. Legume Science, Volume 2(3), p. 1-13.
9. ISO (International Organization for Standardization). 2007. ISO 8589: Sensory analysis – General guidance for the design of test room, Geneva, Switzerland.
10. Kramer A. and Twigg, B. A., (1966). Fundamentals of quality control for the food industry. The AVI Publishing Company, Inc.
11. Pearson, D. 1976. The Chemical analysis of foods. 7th ed.Churchill Livingstone, London.
12. Sharma, Chhavi. and Devi, Amita. (2021) Effects of Soy and Water Chestnut Flour on the Quality of Cookies.Asian Journal of Dairy and Food Research. P. 1-5.
13. Singh, M., and Mohamed, A. 2005.Influence of gluten soy protein blends on the quality of reduced carbohydrates cookies, Journal of Food Science and Technology. 353- 360.
14. Soybeans 101: Nutrition Facts and Health Effects; 13 July 2022. <https://www.healthline.com>.
15. SPSS About SPSS Inc. <http://www.spss.com>. (Accessed November 16, 2020).



Research Article

Physical and Microbiological Quality of Drinking Water from Water Dispensers at Schools in Bang Sai Sub-district and Sirindhorn College of Public Health Chonburi

คุณภาพน้ำดื่มทางกายภาพและจุลินทรีย์จากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี

ศิริกัญญา ธานีพูน¹, สรรพวัต ทองใบ¹, ศิริวรรณ วัฒนภักดี¹, ชารินี ลีละทีป¹, ขวัญฤทัย โสมสัย¹, ต่อศักดิ์ ดาบโสมศรี², เหลืองแก้ว โกยทรัพย์^{1*}
Sirikanya Thaneephon¹, Sappawat Thongbai¹, Siriwan Watanapakdee¹, Tharinee Leelateep¹, Kwanrutai Somsai¹, Toesak Dabsomsri², Lueangkaew Koysap^{1*}

¹วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร ชลบุรี คณะสาธารณสุขศาสตร์และสหเวชศาสตร์ สถาบันพระบรมราชชนก ถนนวิจิตรปราการ ตำบลบ้านสวน อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20000

²โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลบางทราย อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20000

¹Sirindhorn College of Public Health Chonburi, Faculty of Public Health and Allied Health Sciences, Praboromratchanak Institute, Wachiraprakarn Rd., Bansuan, Mueang, Chonburi 20000

²Bang Sai Health Promoting Hospital, Mueang, Chonburi 20000

Article Info

Received 17 January 2024

Revised 9 March 2024

Accepted 26 April 2024

Abstract

Water is a vital factor for human life for both water supplies and drinking water. Drinking water must be free from pathogens and toxic contaminants. Drinking water in schools and educational institutions is a basic service for students that the institutions must sufficiently provide both quantity and quality according to drinking water standard criteria consisting of 3 aspects: physical, chemical, and biological. This study aimed to examine the physical and biological drinking water quality toward Total coliform, Fecal coliform and *Escherichia coli* (*E. coli*) among all drinking water dispensers, 21 samples, from schools located in Bang Sai sub-district and Sirindhorn College of Public Health, Chonburi. Water samples were collected from 7 water dispensers in the schools and 14 water dispensers in the college. Data were analyzed by using descriptive statistics. The results showed that physical quality in all samples were clean, odorless, pH value between 6.73 and 8.65, turbidity between 0.2 and 1.6 NTU, and electrical conductivity between 173.8 and 390 mg/L. In terms of biological quality, Total coliform contamination was < 1.1 – 26 MPN per 100 mL, Fecal coliform contamination was < 1.1 MPN per 100 mL, and *E. coli* contamination was not detected in all samples. However, it was found that 16 water samples (76.19%) met the standard criteria, the pH value met the standard criteria in 19 samples (90.48%), the turbidity level was in the acceptable range, and electrical conductivity met the standard in a good quality. To prevent contamination by Total coliform, Fecal coliform, and *E. coli*, it should address strategies to reduce the risk of water-borne diseases by surveillance, monitoring the quality of drinking water before entering to water dispensers, capability of water filter, filter change period, sanitation of drinking water according to the standard, and evaluation the quality of drinking water from drinking water dispensers in educational institutions in other aspects. Moreover, maintaining environmental aspects surrounding the water dispensers should be managed appropriately.

Keywords: drinking water quality, school water dispenser, total coliform, fecal coliform, *Escherichia coli*

บทคัดย่อ

น้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ทั้งในด้านการอุปโภค บริโภค น้ำบริโภคต้องสะอาดบริสุทธิ์ปราศจากเชื้อก่อโรคและสารพิษเจือปน น้ำดื่มในโรงเรียนและสถานศึกษาถือเป็นการบริการขั้นพื้นฐานสำหรับนักเรียนที่สถาบันการศึกษาต้องจัดให้มีเพียงพอทั้งปริมาณและคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่ม ประกอบด้วย 3 ด้าน คือด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มทางกายภาพและชีวภาพของ Total coliform, Fecal coliform และ *Escherichia coli* (*E.coli*) ในตู้กดน้ำดื่มทั้งหมด จำนวน 21 ตัวอย่างจากโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี โดยการเก็บตัวอย่างน้ำดื่มจากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย จำนวน 7 ตู้ และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี จำนวน 14 ตู้ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ผลการศึกษาคุณภาพน้ำดื่มทางด้านกายภาพพบว่าน้ำใส ไม่มีกลิ่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในช่วง 6.73 – 8.65 ค่าความขุ่นอยู่ในช่วง 0.2 – 1.6 NTU ค่าการนำไฟฟ้าอยู่ในช่วง 173.8 – 390 mg/L คุณภาพทางด้านชีวภาพพบการปนเปื้อนเชื้อกลุ่ม Total coliform < 1.1 – 26 MPN/100 mL Fecal coliform พบ < 1.1 MPN/100 mL และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในทุกตัวอย่าง อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำตัวอย่างผ่านเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 16 ตัวอย่าง (76.19%) ค่าความเป็นกรด – ด่าง ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน 19 ตัวอย่าง (90.48%) ค่าความขุ่นอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ค่าการนำไฟฟ้าอยู่ในเกณฑ์น้ำคุณภาพดี เพื่อเป็นการป้องกันการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Total coliform, Fecal coliform และ *E. coli* ควรมีมาตรการลดความเสี่ยงการเกิดโรคโดยการเฝ้าระวัง ติดตามคุณภาพน้ำดื่มก่อนเข้าเครื่องกรองน้ำ ประสิทธิภาพเครื่องกรองน้ำ ระยะเวลาการเปลี่ยนไส้กรอง การสุขาภิบาลน้ำดื่มให้ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานและประเมินคุณภาพน้ำดื่มจากตู้กดน้ำดื่มภายในสถานศึกษาด้านอื่น รวมถึงการดูแลสิ่งแวดล้อมรอบตู้กดน้ำดื่มให้เหมาะสม

คำสำคัญ: คุณภาพน้ำดื่ม, ตู้กดน้ำดื่มในโรงเรียน, Total coliform, Fecal coliform, *Escherichia coli*

1. บทนำ

น้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ทั้งในด้านการอุปโภค บริโภค น้ำบริโภคต้องสะอาดบริสุทธิ์ปราศจากเชื้อก่อโรคและสารพิษเจือปน การเข้าถึงน้ำสะอาดและปลอดภัยถือเป็นสิทธิขั้นพื้นฐานของมนุษย์ตามกฎหมายมนุษยชนสากล น้ำดื่มในโรงเรียนและสถานศึกษาถือเป็นการบริการขั้นพื้นฐานสำหรับนักเรียนที่สถาบันการศึกษาต้องจัดให้มีเพียงพอทั้งปริมาณและคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่มของกรมอนามัย พ.ศ. 2563 [1] คุณภาพน้ำดื่มประกอบด้วย 3 ด้าน คือด้านกายภาพ ได้แก่ ความขุ่น สี กลิ่น รสและค่าความเป็นกรด – ด่าง ด้านเคมี ได้แก่ ปริมาณสาร ความกระด้าง ปริมาณแร่ธาตุปริมาณโลหะหนักและโลหะหนักเป็นพิษ และด้านชีวภาพ ได้แก่ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น Coliform, Fecal coliform และ *Escherichia coli* (*E. coli*) [1] จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าน้ำดื่มในโรงเรียนส่วนใหญ่ยังไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากพบการปนเปื้อนโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โลหะหนัก และพบปัญหาทางกายภาพเช่น สีและ ความขุ่นเกินมาตรฐาน [2] จากการศึกษาของภารดี อาษาและคณะ (2021) [3] โดยการศึกษาคุณภาพน้ำดื่มจากเครื่องกรองน้ำในโรงเรียนประถมศึกษาในจังหวัดชลบุรี พบว่าคุณภาพน้ำดื่มจากเครื่องกรองน้ำไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำดื่ม กรมอนามัย พ.ศ. 2553 ร้อยละ 75.8 โดยพบปัญหาในเรื่องของการปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียมากที่สุด ร้อยละ 48.5 ซึ่งแสดงถึงความสะอาดของน้ำดื่มในตู้กดน้ำดื่มและคุณภาพน้ำดื่มไม่เหมาะสมตามเกณฑ์มาตรฐาน [3] การบริโภคน้ำไม่สะอาดส่งผลกระทบต่อร่างกายได้หลายประการ เช่น การเจ็บป่วยด้วยโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนมากับน้ำดื่ม หรือการเจ็บป่วยเรื้อรังจากการสะสมพิษของแร่ธาตุต่างๆ ที่เจือปนในน้ำดื่ม [4, 5] ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มในสถานศึกษาจึงเป็นสิ่งสำคัญ

จากรายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา เขตสุขภาพที่ 6 ประจำเดือน มกราคม 2564 พบว่าอัตราการป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงสูงถึงร้อยละ 39.33 อาหารเป็นพิษร้อยละ 3.14 [6] และรายงานการระบาดของโรคอุจจาระร่วงในพื้นที่จังหวัดชลบุรี [7] พบว่ามีอัตราการป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงในปี พ.ศ. 2561 จำนวน 7,200.13 ต่อประชากรแสนคน และปี พ.ศ. 2562 จำนวน 3,987.77 ต่อประชากรแสนคน ในพื้นที่ตำบลบางทราย อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี พบว่ามีอัตราการป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วง ในปี พ.ศ. 2561 จำนวน 1,261.83 ต่อประชากรแสนคน และปี พ.ศ. 2562 จำนวน 1,297.30 ต่อประชากรแสนคน สาเหตุหนึ่งของการป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงมาจากการรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่ไม่สะอาด ดังนั้นน้ำดื่มที่สะอาดและการควบคุมดูแลคุณภาพน้ำดื่มให้ปลอดภัยจึงควรให้ความสำคัญ การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มด้านต่างๆ ตามเกณฑ์มาตรฐานจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการเฝ้าระวังการระบาดของโรคอุจจาระร่วงซึ่งมีสาเหตุมาจากการบริโภคน้ำที่ไม่สะอาด นอกจากนี้ข้อมูลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มจากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในเขตพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรียังมีการศึกษาน้อย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของคุณภาพน้ำดื่มในตู้กดน้ำดื่มของสถานศึกษา จึงสนใจที่จะตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มทางกายภาพและจุลชีววิทยาจากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนรัฐบาลในเขตพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำดื่มทางกายภาพและจุลินทรีย์ของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด Total coliform, Fecal coliform และ *E. coli* ในตู้กดน้ำดื่มของสถานศึกษาดังกล่าว โดยอ้างอิงมาตรฐานจากเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ.2563 [1] เพื่อนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวังการระบาดของโรคจากการบริโภคน้ำและเป็นแนวทางในการวางแผนจัดการน้ำดื่มที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคต่อไป

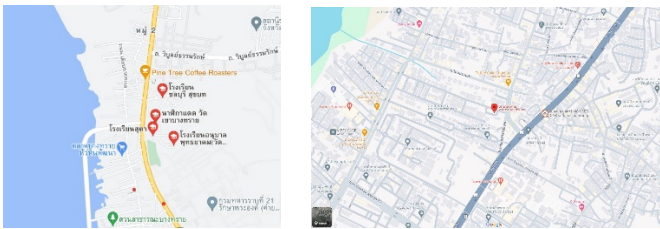
2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการวิจัยแบบภาคตัดขวาง (Cross-Sectional Study) เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำดื่มทางกายภาพและจุลินทรีย์ของน้ำดื่มจากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี ระยะเวลาศึกษาเดือนธันวาคม 2565- กุมภาพันธ์ 2566 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และร้อยละ

2.2 ประชากรและตัวอย่าง

ประชากรในการศึกษานี้คือตู้กดน้ำดื่มทั้งหมดจากโรงเรียนในเขตพื้นที่ตำบลบางทราย 4 แห่งจำนวน 7 ตู้ และตู้กดน้ำดื่มทั้งหมดในวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี จำนวน 14 ตู้ รวมทั้งสิ้น 21 ตู้ เก็บตัวอย่างโดยใช้วิธีเก็บตัวอย่างทั้งหมดกรณีโรงเรียนมีจุดให้บริการน้ำดื่มมากกว่า 1 ตู้ ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 รูปถ่ายแสดงโรงเรียนกลุ่มตัวอย่างและรูปขาววิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี

*google.co.th/maps

2.3 เครื่องมือและวิธีการเก็บตัวอย่าง

- 1) เก็บตัวอย่างน้ำดื่มด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) ตามวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการในงานสาธารณสุข [8] โดยใช้หลอดเซนตริฟิวส์ปราศจากเชื้อ (Centrifuge Tube) สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำที่โรงเรียนระดับประถมศึกษาและระดับมัธยมศึกษาสังกัดของรัฐบาลในพื้นที่ตำบลบางทรายและวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี
- 2) ทำความสะอาดก๊อกน้ำโดยใช้ไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์จนได้ก๊อกน้ำเป็นเวลาประมาณ 1 นาที เปิดก๊อกน้ำไหลปานกลางประมาณ 1-2 นาที เพื่อไล่น้ำทิ้ง
- 3) เปิดฝาลอดเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างน้ำประมาณ 3/4 หลอด จากนั้นปิดฝาลอดทันที
- 4) บรรจุหลอดลงในภาชนะหลอดในถุงซิปล็อค เก็บใส่กล่องน้ำแข็งอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และขนส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างภายในระยะเวลา 2 ชั่วโมง [8]

2.4 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ

ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำโดยการตรวจวัดสี กลิ่นด้วยการสังเกตสีของน้ำด้วยตาเปล่า ตรวจสอบกลิ่นด้วยการดมกลิ่นโดยผู้วิจัย แผลผลตามเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563 วัดค่าความเป็นกรด – ด่างด้วยเครื่อง pH-meter และวัดค่าการนำไฟฟ้าด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity meter) บริษัท HACH (HQd Portable Meter รุ่น HQ 40d), USA. วัดความขุ่นด้วยเครื่อง Nephelometer บริษัท HACH รุ่น 2100 Q, USA. [1] ดังแสดงในตารางที่ 1

2.5 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยาโดยตรวจประเมินหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count agar) ด้วยวิธี Spread plate ตามวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการในงานสาธารณสุขโดยกิจจา จิตรภิรมย์ [8] ตรวจหาเชื้อ Coliform, Fecal coliform และ *E. coli* ด้วยวิธี Multiple-Tube Fermentation Technique (MPN) ตามวิธีของ Blodgett (2020) [9] ตรวจยืนยันเชื้อ *E. coli* ด้วยอาหารเลือกจำเพาะ MacConkey Agar และทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี TSI และ IMViC test [9] แผลผลตามเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงพารามิเตอร์น้ำ ค่ามาตรฐาน และวิธีวิเคราะห์น้ำดื่ม

พารามิเตอร์	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
สี	ไม่เกิน 15 แพตต์ดินม์โคบอลท์	Visual comparison method
ความขุ่น	ไม่เกิน 5 NTU	Nephelometry
ความเป็นกรด-ด่าง	6.5-8.5	pH meter
ของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (TDS)	ไม่เกิน 500 มก./ลิตร	Conductivity meter
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Total coliforms bacteria)	น้อยกว่า 1.1	MPN
อีโคไล (<i>E. coli</i>)	น้อยกว่า 1.1	MPN

*ค่ามาตรฐานจากเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพของน้ำดื่มจากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี พบว่าสีน้ำดื่มทุกตัวอย่างใส ไม่ขุ่น ไม่มีกลิ่น ระดับความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าระดับปกติ (6.5 – 8.5) จำนวน 2 ตัวอย่าง และค่าการนำไฟฟ้าทุกตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ปกติตามเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563 รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2 จากการศึกษาพบว่าปัญหาน้ำดื่มมีความเป็นด่าง โดยพบค่าความเป็น

ตารางที่ 2 ผลการตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพทางห้องปฏิบัติการในน้ำดื่มจากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี

ตู้กดน้ำดื่ม	สี (ใส)	กลิ่น (ไม่มีกลิ่น)	pH (6.5 – 8.5)	ความขุ่น (NTU)	การนำไฟฟ้า ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	เกณฑ์มาตรฐาน
A	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.1	0.46	384	ผ่าน
B1	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.29	0.3	173.8	ผ่าน
B2	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.22	0.2	279	ผ่าน
B3	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.73	0.51	278	ผ่าน
B4	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.90	0.44	279	ผ่าน
C1	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.28	0.69	328	ผ่าน
C2	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.71	0.33	277	ผ่าน
S1	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.32	0.35	322	ผ่าน
S2	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.06	1.34	390	ผ่าน
S3	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.48	0.46	307	ผ่าน
S4	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.63	0.34	315	ไม่ผ่าน
S5	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.4	1.6	321	ผ่าน
S6	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.27	0.34	305	ผ่าน
S7	ใส	ไม่มีกลิ่น	8.65	0.36	301	ไม่ผ่าน
S8	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.9	0.36	313	ผ่าน
S9	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.28	0.29	326	ผ่าน
S10	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.24	0.35	325	ผ่าน
S11	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.88	0.23	317	ผ่าน
S12	ใส	ไม่มีกลิ่น	7.02	0.322	305	ผ่าน
S13	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.94	0.25	317	ผ่าน
S14	ใส	ไม่มีกลิ่น	6.78	0.32	315	ผ่าน

กรด-ด่างอยู่ในช่วงมากกว่า 8.6 จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 9.5 ถึงแม้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง ไม่มีผลกระทบต่อผู้บริโภค แต่อย่างไรก็ตามน้ำที่มีค่าความเป็นด่างสูงอาจมีกลิ่นหรือรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ และอาจส่งผลให้ท่อหรืออุปกรณ์ที่ใช้ลำเลียงน้ำเกิดเสียหายได้ ดังนั้นค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำดื่มจึงเป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่สำคัญซึ่งคุณภาพน้ำดื่ม นอกจากนี้ความเป็นกรด-ด่างของน้ำดื่มอาจมีสาเหตุจากน้ำดิบที่ใช้สำหรับทำดื่มผ่านระบบเครื่องกรองน้ำ [3].

ผลการตรวจหาการปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้งหมด (Total plate count) ในน้ำดื่มจากตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี พบการปนเปื้อนแบคทีเรียในน้ำดื่มมากกว่า 250 CFU/mL จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4.76 ดังแสดงในตารางที่ 3 การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดจำนวนมากซึ่งไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้ในตัวอย่างน้ำดื่ม แสดงถึงความสะอาดของน้ำดื่มจากตู้กดน้ำ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากประสิทธิภาพของเครื่องกรองน้ำ ความสะอาดของน้ำดิบ ลักษณะทางกายภาพของตู้กดน้ำ ถึงแม้ว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้จะไม่ได้ระบุว่าเป็นเชื้อก่อโรค แต่การตรวจพบแบคทีเรียทั้งหมดในปริมาณมากบ่งชี้ถึงความสะอาดของน้ำดื่ม ซึ่งอาจไม่ปลอดภัยต่อการบริโภค [8]

ตารางที่ 3 ผลการตรวจวิเคราะห์ Total Bacteria Count ทางห้องปฏิบัติการ จำแนกตามตู้กดน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี

ตู้กดน้ำดื่ม	จำนวนโคโลนีในระดับการเจือจางต่าง ๆ		
	1	0.1	0.01
A	TMTC	171	12.5
B1	0	-	-
B2	0	-	-
B3	0	-	-
B4	0	-	-
C1	12.5	-	-
C2	59.5	-	-
S1	0	0	-
S2	15	3	-
S3	51	7	-
S4	0	0	-
S5	0	0	-
S6	1	0	-
S7	0	0	-
S8	6	0	-
S9	0	0	-

ตุ๊กตน้ำดื่ม	จำนวนโคโลนีในระดับการเจือจางต่าง ๆ		
	1	0.1	0.01
S10	5	1	-
S11	0	0	-
S12	13	1	-
S13	0	0	-
S14	1	0	-

หมายเหตุ: TMTC = too much to count (>250 colonies)

ผลการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของ Total coliform, Fecal coliform และ *E. coli* ด้วยวิธี MPN จากตุ๊กตน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย พบว่าตุ๊กตน้ำ A, B2 และ C2 มีการปนเปื้อนของ Total coliform เกินเกณฑ์มาตรฐานน้ำประปาดื่มได้ โดยพบว่าตุ๊กตน้ำ A มีค่าการปนเปื้อน Total coliform 16 MPN/100 mL ตุ๊กตน้ำ B2 มีการปนเปื้อนของ Total coliform 1.1 MPN/100 mL และตุ๊กตน้ำ C2 มีการปนเปื้อนของ Total coliform 2.2 MPN/100 mL ตามลำดับ ดังแสดงใน ตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการตรวจวิเคราะห์หาการปนเปื้อน Total coliform, Fecal coliform และ *Escherichia coli* ในน้ำดื่มจากตุ๊กตน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย

ตุ๊กตน้ำดื่ม	Total coliform (MPN/100 mL)	Fecal coliform (MPN/100 mL)	<i>Escherichia coli</i> (MPN/100 mL)
A	16	< 1.1	< 1.1
B1	< 1.1	< 1.1	< 1.1
B2	1.1	< 1.1	< 1.1
B3	< 1.1	< 1.1	< 1.1
B4	< 1.1	< 1.1	< 1.1

ตารางที่ 5 ผลการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อน Total coliform, Fecal coliform และ *Escherichia coli* ทางห้องปฏิบัติการ จำแนกตามโรงเรียน

สถานศึกษา	Total coliform		Fecal coliform		<i>Escherichia coli</i>		ค่ามาตรฐาน
	MPN	จำนวน (%)	MPN	จำนวน (%)	MPN	จำนวน (%)	
โรงเรียน A	16	1 (100)	0	0	0	0	ไม่ผ่าน
โรงเรียน B	0.28	1 (25)	0	0	0	0	ผ่าน
โรงเรียน C	1.1	1 (50)	0	0	0	0	ไม่ผ่าน
SCPHC**	0.54	1 (7.14)	0	0	0	0	ผ่าน

*ค่ามาตรฐานจาก เกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563

**วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี

นอกจากนี้การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย Total coliform จากตุ๊กตน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี อาจมีสาเหตุมาจากลักษณะทางกายภาพบริเวณรอบตุ๊กตน้ำดื่ม เช่น สถานที่ตั้ง การสุขาภิบาลเครื่องกรองน้ำ จุดจ่ายน้ำดื่ม ลักษณะภูมิอากาศและระยะเวลาในการทำความสะอาดเครื่องกรองน้ำ ตุ๊กตน้ำดื่มเหนือพื้นน้อยกว่า 10 เซนติเมตร และเนื่องจากบริเวณที่ตั้ง

ตุ๊กตน้ำดื่ม	Total coliform (MPN/100 mL)	Fecal coliform (MPN/100 mL)	<i>Escherichia coli</i> (MPN/100 mL)
C1	< 1.1	< 1.1	< 1.1
C2	2.2	< 1.1	< 1.1

ผลการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของ Total coliform, Fecal coliform และ *E. coli* ด้วยวิธี MPN จากตุ๊กตน้ำดื่มของวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี พบว่าตุ๊กตน้ำ S6 ปนเปื้อน Total coliform 7.14 MPN/100 mL ซึ่งเกินเกณฑ์มาตรฐานน้ำประปาดื่มได้ การปนเปื้อนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียเกินค่ามาตรฐานอาจบ่งชี้ถึงความสะอาดของน้ำดื่มและคุณภาพของตุ๊กตน้ำ เนื่องจากโคลิฟอร์มแบคทีเรียเป็นดัชนีชี้วัดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค การตรวจพบเชื้อดังกล่าวในปริมาณเกินค่ามาตรฐานอาจบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำดื่มจากตุ๊กตน้ำ ซึ่งอาจไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ผลการตรวจวิเคราะห์ผลการปนเปื้อน Fecal coliform และ *E. coli* ของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี ไม่พบการปนเปื้อน Fecal coliform และ *E. coli* อย่างไรก็ตามโรงเรียน A และ C พบการปนเปื้อน Total coliform ร้อยละ 100 และร้อยละ 50 ตามลำดับ ซึ่งเกินเกณฑ์มาตรฐานน้ำประปาดื่มได้กำหนด ถึงแม้ตุ๊กตน้ำดื่มโรงเรียน B และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี พบการปนเปื้อน Total coliform ผ่านเกณฑ์มาตรฐานแต่ยังพบการปนเปื้อนของ Total coliform ดังแสดงในตารางที่ 5 จึงควรติดตามตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มคุณภาพน้ำดิบก่อนเข้าเครื่องกรองน้ำ ประสิทธิภาพเครื่องกรองน้ำ การดูแลความสะอาดบริเวณรอบเครื่องกรองน้ำ เพื่อเฝ้าระวังการระบาดของโรค รวมถึงการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มด้านอื่นๆ ตามเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำดื่ม

ของตุ๊กตน้ำเป็นสถานที่เปิด มีนักเรียน นักศึกษา เดินผ่าน เป็นบริเวณพลุกพล่าน ทำให้อาจมีการปนเปื้อนจากการใช้มือสัมผัสบริเวณหัวจ่ายน้ำดื่มได้ง่าย การเกิดลุมพัตพาฝุ่นดินที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียไปสัมผัสบริเวณหัวจ่ายน้ำ และอาจทำให้เกิดการสะสมของเชื้อแบคทีเรียส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเรื่องความเสี่ยงจุลินทรีย์เชิงปริมาณของ Total coliform และ Fecal coliform จาก

ตักน้ำดื่มในมหาวิทยาลัย ธรรมชาติ ศูนย์รังสิต พบว่าจุดบริการน้ำดื่มที่ตั้งอยู่ในสถานที่ที่ใกล้กับทางเดิน หรือข้างถนนซึ่งง่ายต่อการเข้าถึงของคนที่มาใช้บริการ [10] นอกจากนี้บริเวณโดยรอบจุดบริการน้ำดื่มยังใกล้กับสถานที่ทิ้งขยะ และเศษอาหาร ซึ่งเป็นแหล่งของสัตว์น้ำโรคต่างๆ เช่น หนู แมลงวัน แมลงสาบ เป็นต้น จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย และสอดคล้องกับการวิจัยเรื่องคุณภาพน้ำและสภาพสุขภาพของน้ำดื่มของโรงเรียนมัธยมศึกษาเขตอำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา พบว่า สภาพแวดล้อมโดยรอบที่มีสิ่งปฏิกูลหรือตักน้ำดื่มเหนือพื้นน้อยกว่า 10 เซนติเมตร จะทำให้เชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนในน้ำดื่มได้ง่ายขึ้น [11] นอกจากนี้สาเหตุที่พบการปนเปื้อนของ Total coliform ของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี อาจเกิดจากความสกปรกของสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ เช่น การมีตะไคร่น้ำเกาะที่หัวจ่ายน้ำ คราบสกปรกของท่อจ่ายน้ำและไส้กรอง เป็นต้น [3, 12, 13] ดังนั้นจึงควรมีมาตรการลดความเสี่ยงการเกิดโรคโดยการเฝ้าระวัง ติดตาม คุณภาพน้ำดื่มก่อนเข้าเครื่องกรองน้ำ ประสิทธิภาพเครื่องกรองน้ำ ระยะเวลาการเปลี่ยนไส้กรอง การสุขาภิบาลน้ำดื่มให้ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานและประเมินคุณภาพน้ำดื่มจากตักน้ำดื่มภายในสถานศึกษาด้านต่างๆ รวมถึงการดูแลสิ่งแวดล้อมรอบตักน้ำดื่มให้เหมาะสม

ตารางที่ 6 การประเมินคุณภาพน้ำดื่มทางกายภาพและจุลินทรีย์

การประเมินคุณภาพน้ำดื่ม	ผ่านเกณฑ์		ไม่ผ่านเกณฑ์	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
กายภาพ				
สี	21	100	0	0
กลิ่น	21	100	0	0
pH	19	90.48	2	9.52
ความขุ่น	21	100	0	0
การนำไฟฟ้า	21	100	0	0
รวมด้านกายภาพ	19	90.48	2	9.52
จุลินทรีย์				
Total coliform	20	95.24	1	4.76
Fecal coliform	21	100	0	0
<i>E. coli</i>	21	100	0	0
รวมด้านจุลินทรีย์	20	95.24	1	4.76
รวมทั้ง 2 ด้าน	18	85.71	3	14.29

4. สรุปผลการศึกษา

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มด้านกายภาพและด้านจุลินทรีย์ Total coliform, Fecal coliform และ *E. coli* ในตักน้ำดื่มของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี โดยเก็บตัวอย่างน้ำดื่มจากตักน้ำดื่ม จำนวน 21 ตัวอย่าง พบว่า คุณภาพน้ำดื่มทางด้านกายภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563 จำนวน 19 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 90.48 โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงจำนวน 2 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 9.52 และคุณภาพน้ำดื่มทางด้านจุลินทรีย์พบว่า ตักน้ำดื่มส่วนใหญ่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำดื่ม จำนวน 17 ตัวอย่าง

คิดเป็นร้อยละ 80.95 และตักน้ำดื่มที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563 ทั้งทางด้านกายภาพและทางชีวภาพ จำนวน 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 28.57 (ดังแสดงในตารางที่ 6) โดยพบว่าตักน้ำดื่มมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าระดับมาตรฐานจำนวน 2 ตัวอย่าง และพบการปนเปื้อนของ Total coliform เกินเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 4 ตัวอย่าง อย่างไรก็ตามควรมีมาตรการลดความเสี่ยงการเกิดโรคโดยการเฝ้าระวัง ติดตาม คุณภาพน้ำดื่มก่อนเข้าเครื่องกรองน้ำ ประสิทธิภาพเครื่องกรองน้ำ ระยะเวลาการเปลี่ยนไส้กรอง การสุขาภิบาลน้ำดื่มให้ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานและประเมินคุณภาพน้ำดื่มจากตักน้ำดื่มภายในสถานศึกษาด้านต่างๆ รวมถึงการดูแลสิ่งแวดล้อมรอบตักน้ำดื่มให้เหมาะสม นอกจากนี้ควรมีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มในสถานศึกษาด้านอื่นๆ เช่น การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มทางเคมีอื่นๆ โลหะหนัก และโลหะหนักเป็นพิษตามเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำดื่ม

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณท่านผู้อำนวยการโรงเรียน คณะครูและบุคลากรของโรงเรียนในพื้นที่ตำบลบางทราย และวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดชลบุรี ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ ตลอดจนอำนวยความสะดวก และให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

1. Department of Health. Notification of Department of Health on Standard of Drinking Water Quality. Nonthaburi: Ministry of Public Health; 2020.
2. Ninwong B, Mohsani S, Doloh A. Method Development for Determination of Heavy Metals in Drinking Water of Schools in Nakhon Si Thammarat by Paper-Based Microfluidic Devices. *Wichcha Journal* 2016;35(1):1-12.
3. Asa P, Chotigawin R, Suwannahong K, Pibanwong M. Situation Quality of Drinking Water in Primary Schools, Chonburi Province. *KKU Research Journal (Graduate Studies)* 2021;21(4):222-232.
4. Wasana HM, Perera GD, Gunawardena PDS, Fernando PS, Bandara J. WHO water quality standards Vs Synergic effect (s) of fluoride, heavy metals and hardness in drinking water on kidney tissues. *Scientific Reports* 2017;7(1):1-6.
5. Akram S, Rehman F. Hardness in drinking-water, its sources, its effects on humans and its household treatment. *Chem Applications Journal* 2018;4(1):01-04.
6. Nanna H. Epidemiology Surveillance Report Region 6. Chonburi: Office of disease prevention and control 6 Chonburi; 2020 [cited 2022 Aug 30] Available from: <https://ddc.moph.go.th/uploads/files/1692620210205105950.pdf>

7. Chonburi Provincial Public Health Office. Diarrhea morbidity rate per 100,000 population [Internet]. Chonburi: Chonburi Provincial Public Health Office;2022 [cited 2022 Aug 25]. Available from: <https://cbi.hdc.moph.go.th/hdc/main/index.php>
8. Chitpirom K. Laboratory examination in public health. Bangkok: Chulalongkorn University Press; 2014.
9. Blodgett R. BAM Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions. FDA. [cited 2020 October 9]. Available from: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions>
10. Yamasmit N. Quantitative microbial risk assessment of total coliform and fecal coliform in drinking water from public drinking water service around Thammasat University, Rangsit Campus. [Master of Engineering]. Pathumtani: Thammasat University; 2018.
11. Ravadchai N, Wongwarissara P, Tipsantia D, Legkhoksung S, Sukpudsa O, Noinarin P. Water quality and sanitation of drinking water dispensers of secondary school in Mueang District, Nakhon Ratchasima Province. UBRU Journal for Public Health Research 2021;10(2):128–137.
12. Kulladarom R, Maiprasert M. Quality of Drinking Water in Elementary Schools in Ladkrabang, Khlong Sam Wa and Nong Chok Districts in Bangkok. Suthiparithat Journal 2020;34(111):126-134.
13. Yolao A, Sabangban B, Yolao W. The safety situation of water consumption from water filters at the Sirindhorn College of Public Health, Khon Kaen. Thai Dental Nurse Journal 2021;32(2):146-154.



ISSN: 2985-0835

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE
Vol. 46 (1); January-June (2024), pp. 20-26
<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Research Article

Soil Protozoa in forest of Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus

โพรโทซัวดินในพื้นที่ป่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

ขัตติยา มุลไชยสุข^{1*}, จุณจระ ทุยไธสง¹

Khattiya Moonchaisook^{*}, Chunchara Thuythaisong

¹คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ 145 หมู่ 15 ถนนสุรินทร์-ปราสาท ต.นอกเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

¹ Science and Mathematics Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin campus, 145 Moo 15, Surin-Prasart Road, Nokmuang, Surin, 32000

Article Info

Received 1 April 2024

Revised 26 April 2024

Accepted 8 May 2024

Abstract

The aims of this study were to investigate the species diversity and distribution of soil protozoa in the forest of Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus during March to May 2022 and June to August 2022. In total, thirteen classes comprising twenty-eight species of soil protozoa were found. The highest number of protozoa found in the class Tubulinea, with ten species accounting for 35.71% of the total number of species. The frequency of occurrence was analyzed and soil protozoa categorized into four groups; abundant species (found in 90-100% of the sampling sites), which comprised four species; common species (found in 65-89%), totaling six species; moderately common species (found in 31-64%), totaling four species and uncommon species (found in 10-30%), totaling fourteen species. The distribution of soil protozoa across all sampling sites included *Colpoda cucullus*, *Vorticella campanula*, *Arcella vulgaris* and *Amoeba radiosa*.

Keywords: Soil protozoa, forest, investigate, diversity

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจชนิดและการแพร่กระจายของโพรโทซัวดินในพื้นที่ป่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ระหว่างเดือนมีนาคม-พฤษภาคม 2565 และเดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2565 พบโพรโทซัวดินรวมทั้งหมด 13 ชั้น (Class) 28 ชนิด โพรโทซัวดินที่พบอยู่ใน Class Tubulinea มากที่สุด โดยพบ 10 ชนิด คิดเป็น 35.71 % ของจำนวนชนิดทั้งหมด เมื่อวิเคราะห์ความถี่ในการพบโพรโทซัวดิน พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มโพรโทซัวดินได้ 4 กลุ่ม คือโพรโทซัวดินที่พบได้บ่อยมาก (90-100% ของจำนวนจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด) มี 4 ชนิด โพรโทซัวดินที่พบบ่อย (65-89%) มี 6 ชนิด โพรโทซัวดินที่พบปานกลาง (31-64%) มี 4 ชนิด และโพรโทซัวดินที่พบได้น้อย (10-30%) มี 14 ชนิด และโพรโทซัวดินที่มีการแพร่กระจายมากที่สุด โดยพบทุกจุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ *Colpoda cucullus*, *Vorticella campanula*, *Arcella vulgaris* และ *Amoeba radiosa*

คำสำคัญ: โพรโทซัวดิน, ป่า, สำรวจ, ความหลากหลาย

1. บทนำ

โพรโทซัวเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวขนาดเล็กกลุ่มยูคาริโอตดำรงชีวิตอยู่ได้ในบริเวณที่มีความชื้นเป็นปัจจัยหลัก โพรโทซัวมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ โดยทำหน้าที่เป็นผู้ผลิต ผู้บริโภคและผู้ย่อยสลาย ใน

พื้นที่ป่ามีสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่พบในดินหลายกลุ่ม เช่น รา สาหร่าย แบคทีเรีย และโพรโทซัว สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเหล่านี้มีความสำคัญกับสิ่งมีชีวิตอื่น เนื่องจากทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์และทำให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน โพรโทซัวมีประชากรมากเป็นอันดับสามรองลงมาจากแบคทีเรียและรา [1] มีความสำคัญในห่วงโซ่อาหาร โดย

*Corresponding Author. Email: Khattiya.no@rmuti.ac.th

โพธิ์โทหวัดดินที่สังเคราะห์แสงได้ อยู่ในฐานะผู้ผลิตอันดับแรก ส่วนที่สังเคราะห์แสงไม่ได้จะกินชนิดที่เล็กกว่าหรือซากสิ่งมีชีวิตที่ตายไปแล้ว [2] และมีความสำคัญต่อกระบวนการต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อดิน เช่น ควบคุมปริมาณจุลินทรีย์และช่วยเปลี่ยนสภาพของสารอินทรีย์ในดิน [3] นอกจากนี้จะพบโพธิ์โทหวัดในดินประเภทต่างๆ แล้วยังพบได้ในแหล่งน้ำ โดย Bamfort [4] พบว่าโพธิ์โทหวัดน้ำจืดหลายชนิดสามารถพบได้ในดินและบริเวณที่มีอินทรีย์วัตถุ และที่พบได้บ่อยเป็นชนิดที่ปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้นได้ ปัจจุบันประเทศไทยมีการศึกษาความหลากหลายของโพธิ์โทหวัดและมีการนำโพธิ์โทหวัดมาใช้เป็นดัชนีชีวภาพชี้วัดคุณภาพน้ำและดินมากขึ้น โดยดูจากชนิดและปริมาณของโพธิ์โทหวัดที่พบในพื้นที่นั้น ๆ ซึ่งการศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาโพธิ์โทหวัดในแหล่งน้ำแต่ในดินยังมีไม่มากนัก เช่น พินิจและวรรณยุภา [5] ศึกษาความหลากหลายของโพธิ์โทหวัดในบ่อบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพของโรงงานน้ำตาลมิตรภูเวียง ยวรัตน์ [6] ศึกษาปัจจัยทางเคมี-กายภาพของระบบนิเวศน้ำจืดที่สัมพันธ์กับความหลากหลายชนิดของโพธิ์โทหวัดตามฤดูกาล กรณีศึกษาในแม่น้ำเจ้าพระยา เขตจังหวัดนนทบุรี รือฮานา และคณะ [7] ศึกษาการใช้โพธิ์โทหวัดในการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในพื้นที่ตำบลลำพระยา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา พินิจและประสิทธิ์ [2] ศึกษาการพัฒนาตัวชี้วัดชีววิทยาของดินโดยใช้โพธิ์โทหวัดที่อาศัยอยู่ในดิน ชัตติยา [8] ศึกษาความหลากหลายของโพธิ์โทหวัดในดินบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำหนาวและอุทยานแห่งชาติภูเก้า-ภูพานคำ เป็นต้น ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะสำรวจชนิดและการแพร่กระจายของโพธิ์โทหวัดดิน โดยเลือกพื้นที่ป่าอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์ เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวมีความอุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายของพันธุ์ไม้พันธุ์ไม้ที่สำคัญ เช่น ยาง ประดู่ หวาย เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้ทราบความหลากหลายชนิดและการแพร่กระจายของโพธิ์โทหวัดในพื้นที่ป่าดังกล่าว ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านความหลากหลายทางชีวภาพของระบบนิเวศดินต่อไป

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 พื้นที่ศึกษา

ดำเนินการสำรวจพื้นที่ป่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์ ซึ่งเป็นป่าในโครงการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืช มีพื้นที่ 65 ไร่ ลักษณะโดยทั่วไปเป็นป่าดิบแล้ง พันธุ์ไม้ที่สำคัญ เช่น ยาง เหียง หวาย ประดู่ และกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่าง 4 จุด (ภาพที่ 1) ดังนี้

จุดเก็บตัวอย่างที่ 1: 14.8478159, 103.4919973

จุดเก็บตัวอย่างที่ 2: 14.8493941, 103.4887307

จุดเก็บตัวอย่างที่ 3: 14.8508300, 103.4891911

จุดเก็บตัวอย่างที่ 4: 14.8491069, 103.4925744



ภาพที่ 1 จุดเก็บตัวอย่างในพื้นที่ป่า

2.2 การเก็บตัวอย่างดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างดินและวัสดุที่เน่าเปื่อยผุพังบริเวณผิวดินลึกไม่เกิน 5 เซนติเมตร เนื่องจากดินบริเวณดังกล่าวเป็นดินชั้นบน มีอินทรีย์วัตถุเหมาะกับการศึกษาการแพร่กระจายของโพธิ์โทหวัด [26] ทำการเก็บตัวอย่างดิน 4 จุด จุดละ 2 ซ้ำ รวมทั้งหมด 8 ตัวอย่าง ระหว่างเดือน มีนาคม-พฤษภาคม 2565 และระหว่างเดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2565 ตรวจวัดและบันทึกข้อมูลสมบัติของดินเบื้องต้น ได้แก่ สีของดิน อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส ณ จุดเก็บตัวอย่าง นำดินมาตรวจหาโพธิ์โทหวัดด้วยวิธี Non - Flood Petri dish Method [9,10] ซึ่งเป็นการนำดินมาตากให้แห้ง จากนั้นนำดิน 100 กรัม ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ (Petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในดิน จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอตรวจหาชนิดของโพธิ์โทหวัดต่อไป วิธีนี้จะกระตุ้นโพธิ์โทหวัดจากกระยะพักตัวในชีสให้กลับมามีชีวิตอีกครั้ง

2.3 การจำแนกชนิดของโพธิ์โทหวัดดิน

การจำแนกชนิดของโพธิ์โทหวัดดิน ทำโดยตรวจหาโพธิ์โทหวัดในวันที่ 2, 5, 7, 14, 21 และ 28 ตามลำดับ [25] โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสง (Compound microscope) ศึกษาลักษณะภายนอก รูปร่าง และขนาด จากนั้นถ่ายภาพ บันทึกชนิดและความถี่ที่พบ โดยสุ่มตรวจจากสไลด์ที่ใช้หาโพธิ์โทหวัด จำนวน 10 สไลด์ และจำแนกความถี่ในการตรวจพบ ดังนี้

- พบชนิดของโพธิ์โทหวัดตั้งแต่ 8-10 สไลด์ +++
- พบชนิดของโพธิ์โทหวัดตั้งแต่ 4-7 สไลด์ ++
- พบชนิดของโพธิ์โทหวัดตั้งแต่ 1-3 สไลด์ +
- ไม่พบชนิดของโพธิ์โทหวัด -

สำหรับเอกสารที่ใช้ในการจัดจำแนกและจัดหมวดหมู่ เช่น นันทพร [11] บพิท จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์ [12] Golemansky and Todorov [13] บพิท [14] Corliss [15] Smirnov and Brown [16] Lee et al. [17] Adl et al. [18] Cavalier-Smith et al. [19] Adl et al. [20] และเอกสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

2.4 การแพร่กระจายของโพธิ์โทหวัด

การแพร่กระจายของโพธิ์โทหวัดดินทำการวิเคราะห์ความถี่ในการพบ (Frequency of occurrence) ใช้วิธีของ Pettingill [21] ซึ่งคำนวณจาก

$$F (\%) = \frac{\text{จำนวนจุดเก็บตัวอย่างที่พบโพรโทซัวดิน} \times 100}{\text{จำนวนจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด}}$$

เมื่อ F = ร้อยละของความถี่ และใช้เกณฑ์ในการแบ่งระดับของความถี่ 5 ระดับ ดังนี้

- 90-100% หมายถึง โพรโทซัวดินที่พบบ่อยมาก (Abundant)
- 65-89% หมายถึง โพรโทซัวดินที่พบบ่อย (Common)
- 31-64% หมายถึง โพรโทซัวดินที่พบปานกลาง (Moderately Common)
- 10-30% หมายถึง โพรโทซัวที่พบได้น้อย (Uncommon)
- 1-9% หมายถึง โพรโทซัวที่พบได้น้อยมาก (Rare)

3.ผลและอภิปรายผลการวิจัย

3.1 สมบัติของดินเบื้องต้น

จากการศึกษาสมบัติของดินในพื้นที่ป่าอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืช พบว่าบริเวณผิวดินมีเศษซากใบไม้ปกคลุมอยู่เป็นจำนวนมาก ดินมีสีคล้ำ สภาพเป็นกรด โดยความเป็นกรด-เบส มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.9-5.8 ส่วนอุณหภูมิดิน มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 29.0-29.5 องศาเซลเซียส

3.2 ความหลากหลายชนิดของโพรโทซัวดิน

จากการศึกษาความหลากหลายชนิดของโพรโทซัวดินในพื้นที่ป่าอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืช มทร. อีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ พบโพรโทซัวทั้งหมด 28 ชนิด (ตารางที่ 1) ได้แก่ Class Colpodea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Plagiopylea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Oligohymenophorea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Oligotrichea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Spirotrichea 3 ชนิด คิดเป็น 10.71 % Class Peranemea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Chlorophyceae 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Elardia 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Tubulinea 10 ชนิด คิดเป็น 35.71 % Class Discosea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Silicofilosea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Heterolobosea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % และ Class Raphidomonadae 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % (ภาพที่ 2) ซึ่งจุดเก็บตัวอย่างที่ 1 พบโพรโทซัวดินมากที่สุด โดยพบ 20 ชนิด รองลงมาคือจุดเก็บตัวอย่างที่ 4, 3 และ 2 โดยพบ 14, 13 และ 7 ชนิด ตามลำดับ

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของโพรโทซัวที่พบ

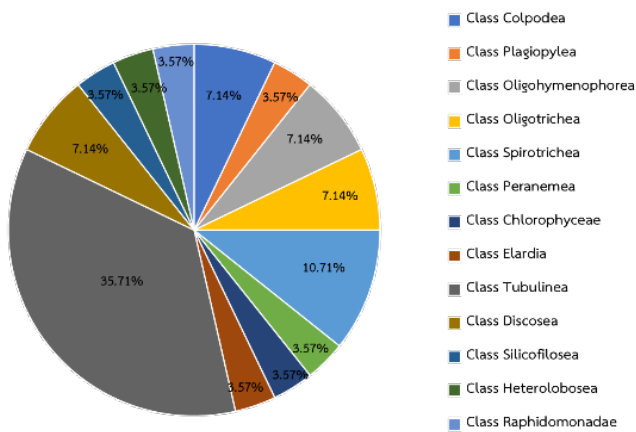
ชนิดของโพรโทซัว	จุดเก็บตัวอย่าง			
	1	2	3	4
Phylum Ciliophora				
Class Colpodea				
<i>Colpoda cucullus</i>	++	+	++	+
<i>C. eudata</i>	+	-	-	-
Class Plagiopylea				
<i>Plagiopyla</i> sp.	+	-	-	-

ชนิดของโพรโทซัว	จุดเก็บตัวอย่าง			
	1	2	3	4
Class Oligohymenophorea				
<i>Vorticella companula</i>	+	+	+	+
<i>V. convallaria</i>	+	-	+	+
Class Oligotrichea				
<i>Halteria chlorelligera</i>	-	-	+	++
<i>H. grandinella</i>	+	-	+	-
Class Spirotrichea				
<i>Gonostomum affine</i>	+	-	+	+
<i>Gonostomum</i> sp.	++	+	-	+
<i>Uroleptus</i> sp.	-	-	+	-
Phylum Euglenozoa				
Class Peranemea				
<i>Anisonema</i> sp.	-	-	-	+
Phylum Chlorophyta				
Class Chlorophyceae				
<i>Pandorina morum</i>	++	-	-	-
Phylum Amoebozoa				
Class Elardia				
<i>Galeripora bathystoma</i>	-	-	-	++
Class Tubulinea				
<i>Arcella vulgaris</i>	+	+	+	++
<i>Arcella</i> sp.	+	-	-	+
<i>Amoeba diminuta</i>	+	-	-	-
<i>A. gorgonia</i>	-	+	-	-
<i>A. proteus</i>	+	+	+	-
<i>A. radiosa</i>	++	+	+	+
<i>Centropyxis aerophila</i>	++	-	+++	+
<i>C. aculeata</i>	-	-	-	-
<i>C. minuta</i>	+	-	-	-
<i>Diffflugia oblonga</i>	+	-	-	++
Class Discosea				
<i>Thecamoeba terricola</i>	+	-	-	-
<i>T. similis</i>	+	-	-	-

ชนิดของโพรโทซัว	จุดเก็บตัวอย่าง			
	1	2	3	4
Phylum Cercozoa				
Class Silicoflosea				
<i>Euglypha filifera</i>	-	-	+	+
Phylum Percolozoa				
Class Heterolobosea				
<i>Vahlkampfia</i> sp.	+	-	-	-
Phylum Gyrista				
Class Raphidomonadae				
<i>Actinosphaerium eichhornii</i>	-	-	+	-
รวมแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง	20	7	13	14
รวมทั้งหมด	28			

หมายเหตุ

- พบชนิดของโพรโทซัวตั้งแต่ 8-10 สไลด์ +++
- พบชนิดของโพรโทซัวตั้งแต่ 4-7 สไลด์ ++
- พบชนิดของโพรโทซัวตั้งแต่ 1-3 สไลด์ +
- ไม่พบชนิดของโพรโทซัว -

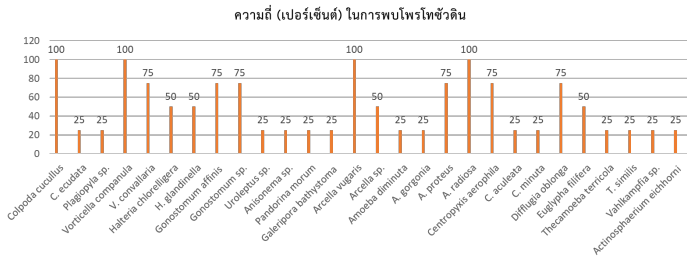


ภาพที่ 2 กลุ่มของโพรโทซัวดินพบในพื้นที่ป่า

การพบโพรโทซัวมากในจุดเก็บตัวอย่างที่ 1 นั้นเนื่องจากบริเวณดังกล่าวเป็นพื้นที่ป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์มากกว่าจุดเก็บตัวอย่างอื่น มีพันธุ์ไม้ปกคลุมหนาแน่น บริเวณผิวดินมีเศษใบไม้แห้งตกอยู่เป็นจำนวนมาก และจากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของดิน พบว่าสีของดินเป็นสีคล้ำแสดงว่าดินมีอินทรีย์วัตถุอยู่มาก [22] ซึ่งดินที่มีอินทรีย์วัตถุจะมีจุลินทรีย์ดินย่อยสลาย ทำให้ดินปล่อยธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ออกมา โดยเฉพาะไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และกำมะถัน [23] นอกจากนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ยังได้ศึกษาคุณสมบัติบางประการของดิน พบว่า ความเป็นกรด-เบส มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.9-5.8 ซึ่งมีสภาพเป็นกรด สอดคล้องกับการศึกษาของจุนจะรา และชัตติยา [3] ที่ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ในดินของระบบนิเวศป่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี แล้วพบว่าความเป็นกรด-เบสของดินป่า อยู่ระหว่าง 4.30-

5.45 จะเห็นได้ว่าเป็นกรด-เบสของดินบริเวณดังกล่าว ไม่ได้เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่ดินส่วนใหญ่มีค่าความเป็นกรด-เบสอยู่ในช่วง 5.0-8.0 [22] ดังนั้นจึงอาจส่งผลต่อจำนวนชนิดของโพรโทซัวดินที่พบ เนื่องจากความเป็นกรด-เบสมีผลต่อการเจริญเติบโตและการทำหน้าที่ของโพรโทซัวและจุลินทรีย์ดินกลุ่มอื่นๆ ส่วนอุณหภูมิดิน พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 29.0-29.5 องศาเซลเซียส อาจมีผลต่อการพบชนิดของโพรโทซัวเช่นกัน เนื่องจากโพรโทซัวส่วนใหญ่ดำรงชีวิตได้ดีที่อุณหภูมิ 16-25 องศาเซลเซียส [14] แต่ก็แตกต่างกันไปในแต่ละชนิด ซึ่งการเพิ่มหรือลดอุณหภูมิจะมีผลต่อโพรโทซัวโดยตรง ถ้าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโพรโทซัวจะตายหรือลดลงอย่างรวดเร็วโพรโทซัวจะเข้าซิสต์ [14] เมื่อวิเคราะห์ความถี่ในการพบโพรโทซัวดิน ตามวิธีของ Pettingill [21] พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มโพรโทซัวดินได้ 4 กลุ่ม คือ โพรโทซัวดินที่พบได้บ่อยมาก (90-100% ของจำนวนจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด) มี 4 ชนิด โพรโทซัวดินที่พบบ่อย (65-89%) มี 6 ชนิด โพรโทซัวดินที่พบบานกลาง (31-64%) มี 4 ชนิด และโพรโทซัวดินที่พบน้อย (10-30%) มี 14 ชนิด (ภาพที่ 3) และโพรโทซัวดินที่มีการแพร่กระจายมากที่สุด โดยพบทุกจุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ *Colpoda cucullus*, *Vorticella campanula*, *Arcella vulgaris* และ *Amoeba radiosa* มีรายงานการพบโพรโทซัวเหล่านี้ในดินหลายประเภท ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาค้นคว้านี้ ได้แก่ การศึกษาของพินิจ และประสิทธิ์ [2] ทำการสำรวจโพรโทซัวดินในพื้นที่ต่างๆ บริเวณโคกภูตากา พบโพรโทซัวหลายชนิดที่เหมือนกับการศึกษาค้นคว้านี้ ได้แก่ *Vorticella convallaria* และมีชนิดที่พบบ่อย คือ *Colpoda cucullus* ซึ่งเหมือนกับการศึกษาของจุนจะราและชัตติยา [3] และมีรายงานว่า *C. cucullus* เป็นโพรโทซัวชนิดเด่นที่พบในดินที่มีการทับถมของซากพืชซากสัตว์ [4] และมีการศึกษาความหลากหลายชนิดของโพรโทซัวดินบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำหนาวและอุทยานแห่งชาติภูเก้า-ภูพานคำ [8] ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ดินมีอินทรีย์วัตถุมาก โพรโทซัวที่พบส่วนใหญ่เป็นชนิดเดียวกัน เช่น *Colpoda cucullus*, *Vorticella campanula*, *Halteria grandinella*, *Arcella vulgaris* และ *Centropyxis aerophila* เป็นต้น แต่มีบางชนิดที่พบแตกต่างกัน เช่น *Pandorina morum*, *Galeripora bathystoma* และ *Arcella* sp. ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า โพรโทซัวเหล่านี้มีแนวโน้มที่จะพบได้ในพื้นที่ป่า นอกจากนี้ยังมีรายงานโพรโทซัวดินที่พบในนาข้าวอินทรีย์ [27] ซึ่งมีชนิดที่พบเหมือนกับการศึกษาในครั้งนี้ เช่น *Colpoda cucullus*, *Vorticella convallaria*, *Arcella vulgaris*, *Amoeba proteus*, *A. radiosa*, *Centropyxis aerophila* เป็นต้น อย่างไรก็ตามยังมีโพรโทซัวดินและจุลินทรีย์ดินกลุ่มอื่นอีกหลายชนิดที่พบในพื้นที่อื่นๆ แต่ไม่พบในพื้นที่ป่าอนุรักษ์พันธุกรรมพืชของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรนารี ซึ่งผลการศึกษาค้นคว้านี้ทำให้เห็นแนวโน้มของการแพร่กระจายและความหลากหลายชนิดของโพรโทซัวในพื้นที่ป่า ซึ่งการแพร่กระจายและความหลากหลายชนิดของโพรโทซัวเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมในดิน เช่น ความเป็นกรด เบส อุณหภูมิ ความชื้น นอกจากนี้จำนวนประชากรของโพรโทซัวและจุลินทรีย์ดินกลุ่มอื่นยังถูกกำหนดด้วยปัจจัยต่างๆ เช่น ความลึกของดิน อินทรีย์วัตถุ ความพรุน ความเข้มข้นของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีอิทธิพลต่อบทบาทของจุลินทรีย์ในการสร้างสารอาหารและการหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน [24] อีกทั้งการนำตัวอย่างดินมาใช้ตรวจหาโพรโทซัวด้วยวิธี Non - Flood Petri dish Method ในปริมาณที่มากขึ้นจะทำให้พบโพรโทซัว

เพิ่มขึ้นด้วย [25] อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมให้ได้ข้อมูลที่มากขึ้น เพื่อนำไปใช้เปรียบเทียบกับพื้นที่อื่นๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อระบบนิเวศดินอย่างมาก



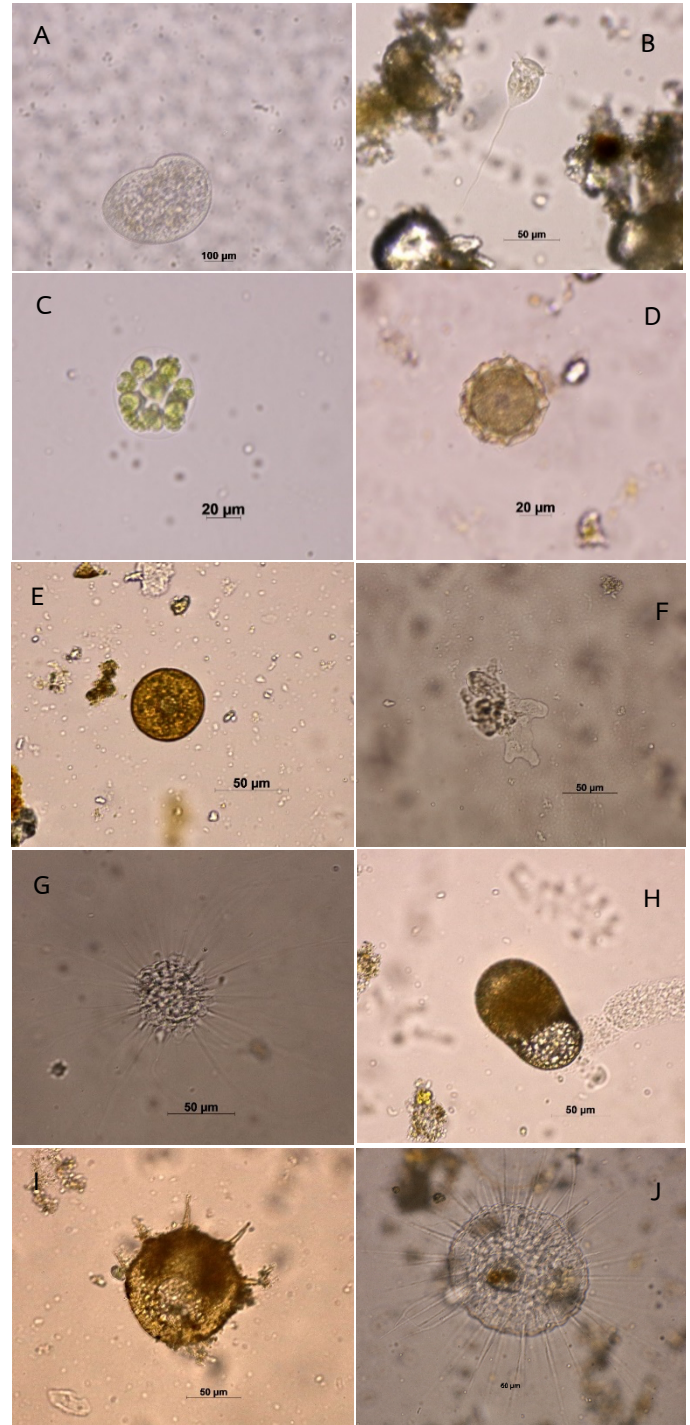
ภาพที่ 3 ความถี่ในการพบโพรโทซัวดิน

4. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความหลากหลายชนิดของโพรโทซัวดินในพื้นที่ป่าอนุรักษ์พันธุ์กรรมพีช มทร. อีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ พบโพรโทซัวทั้งหมด 28 ชนิด ได้แก่ Class Colpodea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Plagiopylea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Oligohymenophorea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Oligotrichea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Spirotrichea 3 ชนิด คิดเป็น 10.71 % Class Peranemea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Chlorophyceae 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Elardia 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Tubulinea 10 ชนิด คิดเป็น 35.71 % Class Discosea 2 ชนิด คิดเป็น 7.14 % Class Silicofilosea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % Class Heterolobosea 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % และ Class Raphidomonadae 1 ชนิด คิดเป็น 3.57 % ตัวอย่างโพรโทซัวที่พบอยู่ในภาพที่ 4 เมื่อวิเคราะห์ความถี่ในการพบโพรโทซัวดิน พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มโพรโทซัวดินได้ 4 กลุ่ม คือ โพรโทซัวดินที่พบได้บ่อยมาก (90-100% ของจำนวนจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด) มี 4 ชนิด โพรโทซัวดินที่พบบ่อย (65-89%) มี 6 ชนิด โพรโทซัวดินที่พบปานกลาง (31-64%) มี 4 ชนิด และโพรโทซัวดินที่พบได้น้อย (10-30%) มี 14 ชนิด โพรโทซัวดินที่มีการแพร่กระจายมากที่สุด โดยพบทุกจุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ *Colpoda cucullus*, *Vorticella campanula*, *Arcella vulgaris* และ *Amoeba radiosa* ส่วนการศึกษาสมบัติของดินเบื้องต้น พบว่าบริเวณผิวดินมีเศษซากใบไม้ปกคลุมอยู่เป็นจำนวนมาก ดินมีสีคล้ำ สภาพเป็นกรด โดยความเป็นกรด-เบส มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.9-5.8 ส่วนอุณหภูมิดิน มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 29.0-29.5 องศาเซลเซียส

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพีชอันเนื่องมาจากพระราชดำริที่ให้ทุนสนับสนุนการการวิจัย ประจำปี 2565 และสาขาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ที่อนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้



ภาพที่ 4 ตัวอย่างโพรโทซัวดินที่พบในพื้นที่ป่า

A. *Colpoda cucullus*, B. *Vorticella convallaria*, C. *Pandorina morum*, D. *Galeripora bathystoma*, E. *Arcella vulgaris*, F. *Amoeba proteus*, G. *A. radiosa*, H. *Centropyxis aerophila*, I. *C. aculeata*, J. *Actinosphaerium eichhornii*

เอกสารอ้างอิง

- Weidner S, Agaras ELB, Valverde C, *et al.* Protozoa stimulate the plant beneficial activity of rhizospheric pseudomonads. *Plant Soil*. 2017; 410: 509-515.
- พินิจ หวังสมนึกและประสิทธิ์ ใจศิลป์. การพัฒนาตัวชี้วัดชีววิทยาของดินโดยใช้โพรโทซัวที่อาศัยอยู่ในดิน. การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนเกี่ยวพัน. 2548; 20-22 ตุลาคม 2548: 449-451.
- จุญจระ พุยไธสงและชัตติยา มูลไชยสุข. ความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ในดินของระบบนิเวศป่า มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 8 ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. 2560; 29 พฤศจิกายน-1 ธันวาคม: 664-669.
- Bamfort S.S. Population Dynamics of Soil and Vegetation Protozoa. *American Zoologist*. 1973; 13(1): 171-176.
- พินิจ หวังสมนึกและวรุณยุพา เย็นเฉื่อย. ความหลากหลายของโพรโทซัวในบ่อบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพของโรงงานน้ำตาลมิตรภูเวียง. *ว.วิทย. มข.* 2550; 35(4): 264-276.
- ยุวรัตน์ ปรมิตนารณ์. ปัจจัยทางเคมี-กายภาพของระบบนิเวศน้ำจืดที่สัมพันธ์กับความหลากหลายชนิดของโพรโทซัวตามฤดูกาล กรณีศึกษาในแม่น้ำเจ้าพระยา เขตจังหวัดนนทบุรี. 2551; SDU Res J 3(1): Jan-Dec 2010.
- รอรานา ดาคาเฮง วัสสา คงนครและพงศ์ศักดิ์ เหล่าดี. การใช้โพรโทซัวในการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำในพื้นที่ตำบลลำพระยา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา การประชุมวิชาการการพัฒนาชนบทที่ยั่งยืน ประจำปี 2555 “ชุมชนท้องถิ่น ฐานรากการพัฒนาประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน”. 2555; 16-19 กุมภาพันธ์: 412-422.
- ชัตติยา หนองหาร. ความหลากหลายของโพรโทซัวในดินบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำหนาวและอุทยานแห่งชาติภูเก้า-ภูพานคำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2549.
- Foissner W. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators, and guide to the literature. *Prog. Protistol.* 1987; 2: 69-212.
- Foissner W., Agatha S. and Berger H. Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (Southwest Africa), with emphasis on two contrasting environment, the Etosha region and the Namib Desert. *Denisia* 5; 2002: 1-1459.
- นันทพร จารุพันธุ์. โพรโทซัวและจุลินทรีย์ในน้ำจืด. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร; 2547.
- บพิท จารุพันธุ์และนันทพร จารุพันธุ์. โพรโทซัวในแหล่งน้ำจืด. พิมพ์ครั้งที่ 2: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร; 2549.
- Golemansky V.G. and Todorov M.T. Testate Amoebae (Protozoa : Rhizopoda) from Thailand. *Acta Protozoologica*. 2000: 39; 337-344.
- บพิท จารุพันธุ์. โพรโทซัววิทยา. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร; 2546.
- Corliss J.O. Protozoa Taxonomy and Systematics. *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group; 2001.
- Smirnov A.V. and Brown S. Guide to the methods of study and identification of soil gymnamoebae. *Protistology*. 2004: 3(3); 148-190.
- Lee J.J, Leedale G.F. and Bradbury P. The Illustrated guide to the protozoa. 2nd Edition. Society of protozoologists. 2000.
- Adl S.M., Simpson A.G.B, Lane C.E, Lukeš J., Bass D., Bowser S.S., Brown M.W., Burki F., Dunthorn M., Hampl V., Heiss A., Hoppenrath M., Lara E., le Gall L., Lynn D.H., McManus H., Mitchell E.A.D, Mozley-Stanridge S.E., Parfrey L.W., Pawlowski J., Rueckert S., Shadwick L., Schoch C.L., Smirnov A. and Spiegel F.W. (2012) The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2012:59(5); 429-493.
- Cavalier-Smith, Thomas; Scoble, Josephine Margaret. Phylogeny of Heterokonta: Incisomonas marina, a uniciliate gliding opalozoan related to Solenicola (Nanomonadea), and evidence that Actinophryida evolved from raphidophytes. *European Journal of Protistology*. 2013:49(3); 328-353.
- Adl S.M, Bass D., Lane C.E., Lukeš J., Schoch C.L., Smirnov A., Agatha S., Berney C., Brown M.W., Burki F., Cárdenas P., Čepička I., Chistyakova L., del Campo J., Dunthorn M., Edvardsen B., Eglit Y., Guillou L., Hampl V., Heiss A.A., Hoppenrath M., James T.Y., Karnkowska A., Karpov S., Kim E., Kolisko M., Kudryavtsev A., Lahr D.J.G., Lara E., Gall L., Lynn D.H., Mann D.G., Massana R., Mitchell E.A.D., Morrow C., Park J.S., Pawlowski J.W., Powell M.J., Richter D.J., Rueckert S., Shadwick L., Shimano S., Spiegel F.W., Torruella G., Youssef N., Zlatogursky V. and Zhang Q. Revisions to the Classifications, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2019:66; 4-119.
- Pettingill O.S. A Laboratory and Field Manual of Ornithology. United States, Bures Publishing Company; 1969.
- กรมพัฒนาที่ดิน. ดินของประเทศไทย. กระทรวงเกษตรศาสตร์และสหกรณ์: กรุงเทพฯ; 2556.
- สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. โครงการการศึกษาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน. แหล่งที่มา :<https://www.rdpb.go.th>. สืบค้นเมื่อ 19 มี.ค 2566.

24. Bhattarai A., Bhattarai B. and Pandey S. Variation of soil microbial population in different soil horizons. *Journal of Microbiology & Experimentation*. 2015: 2(2); 75-78.
25. Foissner W., Berger H. and Zechmeister-Boltenstern S. A hug, undescribed soil ciliate (Protozoa: Ciliophora) diversity in natural forest stands of Central Europe. *Biodiversity and Conservation*. 2005:14; 617-701.
26. Esteban G. F., Clarke K. J., Olmo J. L. and Finlay B. J. An intensive study of population dynamics and community structure in an upland grassland. *Applied Soil Ecology*. 2006:33; 137-151.
27. พินิจ หวังสมนึก ปรียา หวังสมนึก ชัตติยา หนองหาร และอนันต์ พลธานี. นิเวศวิทยาของโปรโตซัวดินในถิ่นนาข้าวอินทรีย์: เพื่อการตรวจสอบระบบนิเวศของดิน. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2550.



ISSN 2985-0835

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE
Vol. 46 (1); January-June (2024), pp. 27-33
<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Research Article

Antioxidant and Anti-acne Causing Bacteria (*Cutibacterium acnes*) Activities of Essential Oil from Marigold Flower (*Tagetes erecta* L.)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*Cut bacterium acnes*) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.)

ณัฏพร มโนใจ¹, เทยูน โรห์², ปณิตตา เดชนันธุ์³, รัชชานนท์ อติศักดิ์ภิรมย์⁴, จินห์นิภา จินวรรณ⁵, ชวยศ อนุรักษ์วงศ์ศรี⁶, จุฑามาศ ดวงกลม¹, สาทิด เอี่ยมจงจันทร์^{1*}

Natthaporn Manojai¹, Taeyoon Roh², Pundita Detnattawut³, Ratchanon Adisakpirom⁴, Jinnipa Jinwan⁵, Chawayot Anurakwongsri⁶, Chuthamat Duangkamol¹, Sathid Aiemjongjan^{1*}

¹สาขาวิทยาศาสตร์พื้นฐานและวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยปทุมธานี 140 หมู่ 4 ถ.ติวานนท์ ต.บ้านกลาง อ.เมือง จ.ปทุมธานี 10200

²โรงเรียนนานาชาติบรอมส์โกรฟ 55 หมู่ 9 ถ.สุวินทวงศ์ 15 เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร 10510

³โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร (ฝ่ายมัธยม) 176 ซอยสุขุมวิท 23 แขวงคลองเตยเหนือ เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

⁴โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 138 หมู่ที่ 12 ต.ฉลุง อ.เมืองสตูล จ. สตูล 91140

⁵โรงเรียนสาธิตจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ฝ่ายมัธยม) 254 ซอยจุฬาฯ 11 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

⁶โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ 364 หมู่ 5 ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

¹Division of Basic and Medical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Pathumthani University, 140 Moo 4, Tiwanon Road, Ban Klang, Mueang, District, Pathumthani, Thailand 12000

²Bromsgrove International School, 55 Moo9, Windsor Park Golf Club, Suwinthawong 15 Road, Minburi, Bangkok, Thailand 10510

³Srinakharinwirot University Prasarnmit Demonstration School 176 Soi Sukhumvit 23, Khlong Toei Nuea, Watthana, Bangkok, Thailand 10110

⁴Princess Chulabhorn Science High School Satun, 138 Moo 12, Muang Satun, Satun, Thailand 91140

⁵Chulalongkorn University Demonstration Secondary School, 254 Soi Chula 11, Phaya Thai Road, Wang Mai, Pathumwan, Bangkok, Thailand 10330

⁶Mahidol Wittayanusorn School, 364 Moo 5, Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom, Thailand 73170

Article Info

Received 5 March 2024

Revised 7 May 2024

Accepted 12 May 2024

Abstract

The objectives of this research are to study antioxidant activity by DPPH assay, total phenolic content, and anti-acne causing bacteria (*C. acnes*) activity of essential oil extracted from the seed and petal of marigold flower using disc diffusion assay. The essential oil's antioxidant activities were tested using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and the total phenolic content was tested by Folin-Ciocalteu's reagent method using gallic acid as a standard. The results found that the essential oil from petal has antioxidant activity. The percentage of free radical inhibition was 50. The total phenolic content of the essential oil extracted from petal was higher than that of seed extracts. The inhibition zone of essential oils from petals was 19.79 ± 2.45 mm. These results show that essential oil from petals has both antioxidant and antibacterial activities. Therefore, this information can be used for further development in medical and cosmetic science.

Keywords: Marigold Flower, Essential Oil, Antioxidants, Antibacterial Activity

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ด้วยวิธี disc diffusion assay จากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองแห้ง โดยนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

(DPPH) และทดสอบปริมาณฟีนอลิกรวมด้วย Folin-Ciocalteu's reagent โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 50 และพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดาวเรือง ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวด้วยวิธี disc diffusion assay พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีพื้นที่การยับยั้ง 19.79 ± 2.45 จากการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิวซึ่งสามารถนำข้อมูลจากการวิจัยนี้ไปพัฒนาในทางการแพทย์และวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางต่อไป

คำสำคัญ: ดอกดาวเรือง, น้ำมันหอมระเหย, สารต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

1. บทนำ

ดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) นอกจากสีที่สวยงามแล้ว ยังมีประโยชน์และสรรพคุณมากมาย มีสารพฤกษเคมีที่สำคัญ ไม่ว่าจะเป็นสารลูทีน (Lutein) และซีแซนทีน (Zeaxanthin) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ปกป้องดวงตาบริเวณจุดศูนย์กลางของจอประสาทตา จะช่วยดูดซับแสงสีน้ำเงินก่อนที่จะส่งผลเสียต่อดวงตาได้ มีสารแซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังถูกนำมาทำเป็นอาหารเสริมแก่สัตว์ การเสริมสารสีจากธรรมชาติบางชนิดในอาหารไก่ไข่ [1-2] พบว่าไม่มีผลต่อไข่ปริมาณอาหารที่กิน และน้ำหนักฟองไข่ และยังให้สีของไข่แดงมากขึ้นจากคุณสมบัติของดาวเรืองจึงมีการศึกษาสารสกัดดาวเรืองในหลากหลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ [3-7] การสกัดของไหลวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid extraction) [8] การสกัดโดยวิธีไมโครอิมัลชัน (micro-emulsion extraction) [9] รวมไปถึงการสกัดด้วยอัลตราโซนิก (ultrasonic extraction) [10]

ในปัจจุบันสารสกัดจากดอกดาวเรืองถูกนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ในยาและเครื่องสำอาง เนื่องจากประกอบด้วยสารฟีนอลิก (phenolic compounds) ที่ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) [11] และลดการเกิดริ้วรอย [12-13] จากการศึกษาสารสกัดดอกดาวเรืองบนผิวหนังมนุษย์พบว่าทำให้เกิดการสังเคราะห์คอลลาเจน [14] และปกป้องผิวหนังจากการทำลายผิวหนังจากแสงแดด [15] อีกทั้งยังช่วยเสริมการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 (alpha-1 type I collagen) [16] ไม่ทำให้ผิวหนังเกิดการระคายเคือง [17] และมีความปลอดภัยสูงในการใช้กับผิวหนัง [18]

สารสกัดจากดอกดาวเรืองช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้เป็นอย่างดี เนื่องจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายน้ำตาลในลำไส้เล็ก โดยสารสกัดจากดอกดาวเรืองจะช่วยลดการดูดซึมน้ำตาล ทำให้น้ำตาลในเลือดลดลง ซึ่งถือได้ว่าเป็นผลดีต่อผนังหลอดเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน ทำให้เกิดความเสียหายโรคแทรกซ้อนน้อยลง จากการศึกษาสารสกัดด้วยน้ำจากดอกดาวเรืองพันธุ์ฝรั่งเศส พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับดาวเรืองพันธุ์อเมริกันและพันธุ์พื้นเมือง แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (alpha-amylase) นั้น ผลการทดลองยังไม่เด่นชัดมากนัก [19-20] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรือง (*Calendula officinalis*) ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือด น้ำตาลในปัสสาวะ และไขมันในเลือดในหนูทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยผลของสารสกัดมีความคล้ายคลึงกับผลของอินซูลิน [21-23] และพบสารเคอเซทาเจติน (quercetagenin) ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุม

โรคเบาหวานและโรคอ้วนได้ดี [24] ใบดอกดาวเรืองพบสารแคมเฟอรอล ได-โอ-แรมโนไซด์ (kaempferol di-O-rhamnoside), แคมเฟอรอล โอ-แรมโนไซด์-โอ-เพนโตไซด์ (kaempferol O-rhamnoside-O-pentoside) และแคมเฟอรอล โอ-แรมโนไซด์ (kaempferol O-rhamnoside) โดยสารแคมเฟอรอล โอ-แรมโนไซด์ (kaempferol O-rhamnoside) มีฤทธิ์ต้านเบาหวานสูงที่สุด [25]

ในทางการแพทย์ สารสกัดจากดอกดาวเรืองถูกนำมาใช้ด้านการอักเสบ และด้านเชื้อแบคทีเรีย [26-28] ช่วยในการสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) และไฟโบรบลาสต์ (Fibroblast) ในระยะการอักเสบ [29-30] สารสกัดจากดอกดาวเรือง (*Calendula officinalis*) มีฤทธิ์ด้านการอักเสบต่ออาการบวมที่อุ้งเท้าแบบเฉียบพลันที่เกิดจากคาราจีแนน (Carrageenan) และเดกซ์แทรน (Dextran) [31] นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการป้องกันและรักษาโรคผิวหนังอักเสบที่เกิดจากรังสี [32] และมีประสิทธิภาพไม่ต่างจากมาตรฐานการปกป้องผิวหนังที่เกิดจากรังสีอีกด้วย [33]

ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง [34-36] โดยนำสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งที่พบได้ในมนุษย์ 13 ชนิด พบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง [37] อีกทั้งยังสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์เนื้องอกในหลอดทดลอง หยุดวงจรชีวิตของเซลล์ในระยะ G0/G1 และ Caspase-3 induced apoptosis รวมถึงยังการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอกของเซลล์ Ando-2 melanoma ทำให้ยืดเวลาการอยู่รอดของหนูได้ [38]

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าดอกดาวเรืองมีสรรพคุณหลากหลายที่นอกจากจะนำมาปลูกประดับตกแต่งบ้านแล้ว ยังนิยมนำมาไหว้พระและบูชาสิ่งศักดิ์สิทธิ์อีกด้วย นอกจากนี้ดาวเรืองมีสรรพคุณมากมายทั้งในทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและทางการแพทย์ ในแต่ละวันเราจะพบเห็นดอกดาวเรืองที่ผู้คนนำมาไหว้พระ หรือขอพรสิ่งศักดิ์สิทธิ์ตามสถานที่ต่างๆ มากมาย จึงทำให้ดาวเรืองกลายเป็นพืชที่ต้องกำจัดทิ้งในแต่ละวัน หากเราสามารถที่จะนำพวงมาลัยดอกดาวเรืองที่ต้องทิ้งให้เป็นขยะ มาสร้างมูลค่าให้กับพวงมาลัยดอกดาวเรืองเหล่านั้น ก็จะเป็นการลดขยะและเป็นการสร้างมูลค่าให้ดอกดาวเรืองได้อย่างยั่งยืน

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) แห่งที่เก็บจากศาลพระภูมิและสถานที่ศักดิ์สิทธิ์

3. วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1 การเตรียมตัวอย่างเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

คัดเลือกพวงมาลัยดอกดาวเรืองสายพันธุ์ฝรั่งเศสที่เก็บจากศาลพระภูมิ และสถานที่ศักดิ์สิทธิ์ มาแยกส่วนเมล็ดและกลีบดอก นำไปล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดฝุ่นละออง แล้วนำไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเป็นผงโดยใช้เครื่องบด

3.2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ

ชั่งผงเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองอย่างละ 20 g ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 ml เติมน้ำกลั่น 100 ml และนำไปกลั่นด้วยไอน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไประเหยโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ นำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มาคำนวณร้อยละผลได้ (percent yield) จากสูตร

$$\text{ร้อยละผลได้} = \frac{\text{น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ (g)}}{\text{น้ำหนักของผงดาวเรืองแห้ง (g)}} \times 100$$

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

3.3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay [39]

นำน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองที่สกัดได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) โดยเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.25 mM ในเอทานอล 80% และเตรียมสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (10000 µg/ml) โดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.063, 0.125, 0.250, 0.500 และ 1.000 mg/ml ตามลำดับ

เตรียมน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ โดยชั่งสารสกัดหยาบ 10 mg แล้วเติม DMSO 1 ml (10 mg/ml) เป็น stock solution นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.063, 0.125, 0.250, 0.500 และ 1.000 mg/ml โดยนำสารสกัด 20 µl ใส่ลง 96-well microplate จากนั้นเติมสารละลายที่มีสารละลาย DPPH 180 µl ผสมกับสารมาตรฐานสารสกัดตัวอย่างหรือ blank ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ BioTek รุ่น Synergy H1 จากนั้นนำค่า

การดูดกลืนแสงมาคำนวณร้อยละ free radical scavenging activity หรือ % scavenging activity ซึ่งค่าที่ได้จะหมายถึงเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือค่าที่แสดงถึงการจับกันระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระ ซึ่งหาได้จากสูตร

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3.3.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Compound) โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric assay [40]

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) 0 - 1000 µg/ml โดยเจือจางด้วยเอทานอล 95% ให้ได้ความเข้มข้น 0.031, 0.062, 0.125, 0.250, 0.500 และ 1.000 mg/ml เตรียมสารสกัดโดยเจือจางด้วยเอทานอล 95% ตามความเข้มข้นของ Gallic acid จากนั้นนำสารสกัด 20 µl ใส่ลง 96-well microplate เติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent (FCR) (w/v) 100 µl ลงใน 96-well microplate ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เติม 15 % Sodium Carbonate (Na_2CO_3) (w/v) ปริมาตร 80 µl ตั้งทิ้งไว้ 90 นาที ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader ยี่ห้อ BioTek รุ่น Synergy H1 แล้วนำไปหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัด เปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ด้วยวิธี Disc Diffusion Assay [41]

เตรียมอาหารแข็ง Miller Hilton Agar (MHA) ในจานเพาะเลี้ยง ใช้ไม้พินสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบแบคทีเรีย *C. acnes* ที่ปรับความชื้นไว้โดยมีปริมาณเชื้อประมาณ $10^5 - 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทำการ swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA จากนั้นวางแผ่น paper disc (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA หยดสารสกัดที่จะทดสอบลงบนแผ่น paper disc ตำแหน่งละ 10 µl โดยใช้ความเข้มข้น 0.4 mg/paper disc และใช้ตัวทำละลาย DMSO เป็น control รวมถึงใช้ยา clindamycin 0.03 mg/paper disc เป็น positive control จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) โดยใช้ Vernier caliper ในหน่วยมิลลิเมตร (mm) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย mean score โดยใช้การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ independent t-test

ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบแบบรวมกลุ่ม เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้โดยใช้กระบวนการทางสถิติ independent t-test ที่ตัวอย่างแต่ละตัวเป็นอิสระต่อกัน เพื่อทดสอบข้อมูล 2 กลุ่มว่า mean score ที่ได้มีความแตกต่างกันหรือไม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ผลการวิจัย

4.1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ

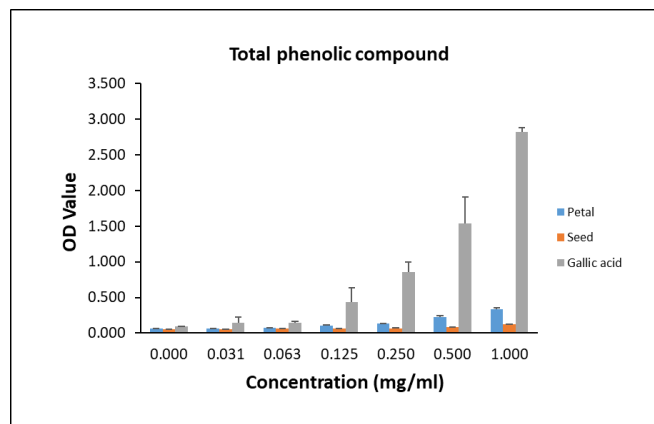
การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากส่วนประกอบของดอกดาวเรือง ได้แก่ เมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองมีลักษณะเป็นของเหลว สี สี เหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น ซึ่งแตกต่างจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองที่เป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหอมคล้ายดอกดาวเรืองตากแห้ง เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับร้อยละผลได้ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองมีค่าร้อยละผลได้เท่ากับร้อยละ 0.05 และ 1.00 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ลักษณะของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองแห้งโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

ลักษณะ	เมล็ดดาวเรือง	กลีบดาวเรือง
สถานะ	ของเหลว สี	ของเหลว
สี	สีเหลืองอ่อน	สีน้ำตาลเข้ม
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น	มีกลิ่นดอกดาวเรืองแห้ง
ร้อยละผลได้	0.05	1.00

4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

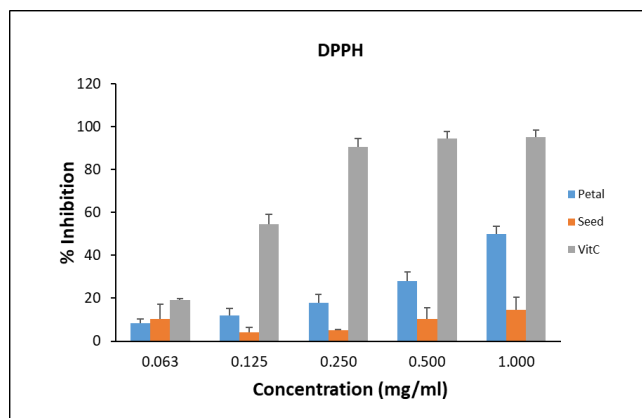
การศึกษาการต้านออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay เปรียบเทียบกับสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) (ภาพที่ 1) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ 0.125 mg/ml มีค่าร้อยละการต้านออกซิเดชันของ DPPH radicals อยู่ที่ 54.6% ความเข้มข้นของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกดาวเรืองที่ 0.25, 0.5, และ 1 mg/ml มีค่าร้อยละการต้านออกซิเดชันมีค่าเป็น 17, 28, และ 50 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเมล็ดดอกดาวเรืองที่มีความเข้มข้นที่ 0.25, 0.5 และ 1 mg/ml มีค่าร้อยละการต้านออกซิเดชันเป็น 4, 10, และ 14 ตามลำดับ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกดาวเรืองมีค่าการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันมากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองในทุกความเข้มข้นที่ทดลอง



ภาพที่ 1 กราฟแสดงร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) กับความเข้มข้น (mg/ml) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองเปรียบเทียบกับกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid)

4.3 การหาสารประกอบฟีนอลิกรวมของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง

การทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองที่มีอยู่ในแต่ละตัวอย่างเมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่ใช้เป็น positive control (ภาพที่ 2) จากผลการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้นของ Gallic acid ที่ 0.125, 0.25, 0.5, และ 1 mg/ml มีค่า OD อยู่ที่ 0.43, 0.85, 1.53, และ 2.82 ตามลำดับ โดยค่า OD ที่สูงขึ้นแปรผันตรงกับปริมาณสารฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองพบว่าที่ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, และ 1 mg/ml มีค่า OD อยู่ที่ 0.06, 0.06, 0.08, และ 0.12 ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองพบว่าที่ความเข้มข้น 0.1, 0.13, 0.23, และ 0.33 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีปริมาณสารฟีนอลิกมากกว่าที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรือง ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยมีค่า OD ที่สูงกว่าในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 2 กราฟแสดงปริมาณค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดที่แสดงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในแต่ละความเข้มข้น (mg/ml) ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองเปรียบเทียบกับกรดแกลลิก (gallic acid)

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*)

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ด้วยวิธี disc diffusion assay ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรือง แสดงผลลัพธ์ที่ต่างกัน ดังตารางที่ 2 พบว่าค่าเฉลี่ยของ inhibition zone ของยา clindamycin ที่ความเข้มข้น 30 ug/ml มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 57.55 mm สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกลีบดอกดาวเรืองที่ความเข้มข้น 0.4 mg/ml มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 19.79 mm และน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรือง ไม่พบการยับยั้งเชื้อก่อสิว แสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อสิว แต่มีความสามารถในการยับยั้งต่ำกว่ายา clindamycin ซึ่งเป็นยาต้านเชื้อก่อสิวนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย

ตารางที่ 2 แสดงพื้นที่การยับยั้ง (inhibition zone) ของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดดอกดาวเรือง กลีบดอกดาวเรือง และยาคลินดาไมซิน

สาร	พื้นที่การยับยั้ง (inhibition zone)
น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเมล็ดดอกดาวเรือง	0
น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากกลีบดอกดาวเรือง	19.79 ±2.45
ยาคลินดาไมซิน (clindamycin)	57.55 ±0.94

5. สรุปผลการวิจัย

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดแยกจากเมล็ดและกลีบดอกดาวเรืองแห้ง สายพันธุ์ฝรั่งเศส โดยเก็บดอกดาวเรืองแห้งจากศาลพระภูมิและสถานที่ศักดิ์สิทธิ์ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้มีสีและกลิ่นที่แตกต่างกัน ร้อยละผลได้ของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดาวเรือง จากการทดลองศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วย Folin-Ciocalteu's reagent พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเมล็ดดาวเรือง ปริมาณสารฟีนอลิกที่พบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากกลีบดอกดาวเรืองมีปริมาณมากกว่าที่สกัดจากเมล็ดดอกดาวเรืองอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า OD ที่สูงกว่าในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อสิว (*C. acnes*) ด้วยวิธี disc diffusion assay มีค่าเฉลี่ย inhibition zone ที่มีความเข้มข้น 0.4 mg/ml มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 19.79 ±2.45 mm จากผลการวิจัยนี้ สามารถที่จะนำไปพัฒนากระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยหรือสารสกัดจากดอกดาวเรือง ซึ่งอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระหรือเป็นตัวยาด้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิวต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Manuela G, Zlata K, Gordana K, Olivera G. Effects of Dietary Marigold Extract on Lutein Content, Yolk Color

and Fatty Acid Profile of Omega-3 Eggs. J. Sci. Food. Agric. 2019; 99(5): 2292-2299.

2. N Rajput, M Naeem, S Ali, Y Rui, W Tian. Effect of Dietary Supplementation of Marigold Pigment on Immunity, Skin and Meat Color and Growth Performance of Broiler Chickens. Braz. J. Poultry. Sci. 2012; 14(4): 233-304.

3. Rattanaporn P, Manthana M, Arom S. Study on Chemical Compositions of Marigold (*Tagetes erecta*). The 39th Kasetsart University Annual Conference: Plants, Agricultural Extension and Communication. 2001; 404-409.

4. Suphod T, Kongsak B, Laddawan P, Onuma C. Phytochemical Contents and Antioxidants Activity of Extracts from Rocco Deep Gold Marigold Flowers (*Tagetes erecta* L.). J. Phranakhon Rajabhat: Science and Technology. 2022; 17(2): 13-25.

5. Maša H, Mojca Št, Željko K. Extraction of Lutein from Marigold Flower Petals Experimental Kinetics and Modelling. Food. Sci. Tech. 2008; 41(10): 2008-2016.

6. Shaziya M, Rubiya R, Bibhu P.P, Vasudha S, Mohd A. Green Extraction of Lutein from Marigold Flower Petals, Process Optimization and Its Potential to Improve the Oxidative Stability of Sunflower Oil. Ultrason. Sonochem. 2022; 85: 105994.

7. P Kasemwattananarot, S Chuachang, P Ramakul. Extraction of Lutein from Marigold Flower Using Solvent Extraction. International Conference on Engineering and Industrial Technology (ICEIT 2020), Pattaya, Thailand. 2020; 965.

8. Wisinee P, Phatthanon P, Motonobu Go, Artiwan S. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Marigold Lutein Fatty Acid Esters: Effects of Cosolvents and Saponification Conditions. Sep. Sci. Technol. 2011; 46(4): 605-610.

9. Qingsong L, Yanting L, Jianwen L, Yunchun W, Shengnan L, Huixi B, Wencheng Z, Zeyu W. Microemulsion-Based Lutein Extraction from Marigold Petals: Process Optimization and Stabilization Evaluation. Ind. Crops. Prod. 2023; 195: 116454.

10. Neha M, Vishal V. K, Ashwin K. Green Ultrasound-Assisted Extraction and Life Cycle Assessment of Lutein from Marigold Flowers Using Biocompatible Surfactants, Int. J. Chem. React. Eng. 2023; 19-24.

11. Diana M, Joaquín N.D.H., David V.B., Ramón F.R., Tiziana F., Guillermo R. Bio-Accessibility and Antioxidant Activity of *Calendula officinalis* Supercritical Extract as Affected by in Vitro Co-Digestion with Olive Oil. J. Agric. Food. Chem. 2016; 64(46): 8828-8837.

12. Ivan M.S., Ivana M.S.G., Physical, Chemical and Antioxidant Stability Studies of a Topical Formulation Containing Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) Flowers Extract. Adv. Technol. 2021; 0(1): 11-19.
13. K.C. Preethi, Girija K, Ramadasan K. Antioxidant Potential of an Extract of *Calendula officinalis* Flowers in Vitro and in Vivo. Pharm. Biol. 2006; 44(9): 691-697.
14. Chul H.K., Chul H.K., Sung J.R., Y. C.K. Antioxidant and Skin Anti-Aging Effects of Marigold Methanol Extract, Toxicol. Res. 2018; 34(1): 31-39.
15. Molly C, Elma B. Anti-Aging Effects of Select Botanicals: Scientific Evidence and Current Trends. Cosmetics. 2018; 5(3): 54.
16. Chul H.K, Sung J.R, Young C.K. Antioxidant and Skin Anti-Aging Effects of Marigold Methanol Extract. Toxicol. Res. 2018; 34(1): 31-39.
17. Arya P.G., Fathima R., Nanditha Das P.M, Noufira P.N, N. Tamilselvan. Formulation and Evaluation of Marigold Anti-aging Cream. Int. J. Adv. Eng. Manag. 2023; 5(6): 673-678.
18. Raquel M, Elisa L, M. Rosa P.O, Jose S.U, Ana M.M, Concentration of Antioxidant Compounds from *Calendula officinalis* through Sustainable Supercritical Technologies, and Computational Study of Their Permeability in Skin for Cosmetic Use. Antioxidants. 2022; 11(1).
19. Jamnian C, Shetshutchai N, Jutamas M, Ratri B. Effect of Aqueous Extract of Marigold Flowers on Antioxidants and Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase Activities, Khon Kaen Agr. J. 2019; 47(2): 293-306.
20. Wason P, Sakaewan O, Kanokwan K, Kongsak B. In Vitro α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Effects, Antioxidant Activities, and Lutein Content of Nine Different Cultivars of Marigold Flowers. Molecules. 2023; 28: 3314.
21. Guno S.C, Rachna A, Chandana M. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effect of Hydro-Alcoholic Extract of *Calendula officinalis*. Int. Res. J. Pharm. 2011; 2(1): 61-65.
22. Esmaeel E, Saeed S, Rahman T, The Protective Effect of Marigold Hydroalcoholic Extract in STZ-Induced Diabetic Rats: Evaluation of Cardiac and Pancreatic Biomarkers in the Serum. J. Bot. 2016.
23. Kusmiati, Wiobet C, Fifi A, Rahmi H. Effect Lutein of Marigold Flower (*Tagetes erecta* L.) on Decreasing Glucose and Malondialdehyde Levels in Alloxan-Induced Blood Mice. International Conference on Biology and Applied Science (ICOBAS), 13–14 March 2019, Malang, Indonesia.
24. Weiyou W, Honggao X, Hua C, Kedong T, Fuguo L, Yanxiang G. In Vitro Antioxidant, Anti-Diabetic and Antilipemic Potentials of Quercetagenin Extracted from Marigold (*Tagetes erecta* L.) Inflorescence Residues. J. Food. Sci. Technol. 2016; 53: 2614–2624.
25. Nellippatta D, Basavan D, Salma K, Divanji M, Hebbani N.S., Tripathy A. Bioactive Compounds from Marigold Processing Waste: Extraction, Isolation, and Antidiabetic Activity, J. Appl. Pharm Sci. 2023; 13(1).
26. Diva S, Marta S.F, José M.S.L, Maria T.C, Isabel F.A. Anti-Inflammatory Activity of *Calendula officinalis* L. Flower Extract. J. Cosmet. 2021; 8(2).
27. V Duran, M Matic, M Jovanovć, N Mimica, Z Gajinov, M Poljacki, P Boza, Results of the Clinical Examination of an Ointment with Marigold (*Calendula officinalis*) Extract in the Treatment of Venous Leg Ulcers, Comparative Study. Int. J. Issue. React. 2005; 27(3): 101-106.
28. M Buzzi, F de Freitas, M de Barros Winter, Therapeutic Effectiveness of a *Calendula officinalis* Extract in Venous Leg Ulcer Healing, J. Wound. Care. 2016; 25(12): 732-739.
29. Leila M. L. P, Ruy S. L. J, Leonice M. F. T, Marina C. V, José R. P, Neusa M. P. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Calendula officinalis* L. Growing in Brazil. Evid. Based. Comp. Alternat. Med. 2012; 375671.
30. Deeksheetha P. V, Gheena S, Pratibha R, Rajeshkumar S, Karthikeyan R. In Vitro Evaluation of Antioxidant and Anti-Inflammatory Potentials of Herbal Formulation Containing Marigold Flower (*Calendula officinalis* L.) Tea. Cureus. 2023; 15(8).
31. Korengath C. P, Girija K, Ramadasan K. Anti-Inflammatory Activity of Flower Extract of *Calendula officinalis* Linn. and Its Possible Mechanism of Action. Indian. J. Exp. Biol. 2009; 47(2): 113-20.
32. Fabiana V. S, Valdete O. S, Rodrigo N. S, Rafael C. S. Effectiveness of Skin Protectors and *Calendula officinalis* for Prevention and Treatment of Radiodermatitis: an Integrative Review, Review Rev. Bras. Enferm. 2020.
33. Shihab S, Margaret A. M, Andrew D. V, Eileen G, Robyn C, Scott C, Michael P. Efficacy of Topical *Calendula officinalis* on Prevalence of Radiation-Induced Dermatitis: A Randomized Controlled Trial. Australas. J. Dermatol. 2021; 62(1): 35-40.
34. De Cedron M. G, Mouhid L, Garcia-Carrascosa E, Fornari T, Reglero G, De Molina A. R. Marigold Supercritical Extract as Potential Co-Adjuvant in Pancreatic Cancer: The Energetic Catastrophe Induced via BMP8B Ends up

with Autophagy-Induced Cell Death, Front. Bioeng. biotechnol. 2019.

- 35 Mouhid L, De Cedron M. G, Vargas T, Garcia-Carrascosa E, Herranz N, Garcia-Risco M. R, Reglero G., Fornari T, De Molina A. R. Identification of Antitumoral Agents Against Human Pancreatic Cancer Cells from Asteraceae and Lamiaceae Plant Extracts. BMC Compl. Alt. Med. 2018; 18(1).
36. Sak K, Nguyen H. T. H, Thao D. T, Raal A. Cytotoxic Effect of Chamomile (*Matricaria recutita*) and Marigold (*Calendula officinalis*) Extracts on Human Melanoma SK-MEL-2 and Epidermoid Carcinoma KB Cells. Cogent. Med. 2017; 4(1): 1333218.
37. Abdoul-Latif F. M, Elmi A, Mérito A, Nour M, Risler A, Ainane A, Bignon J, Ainane T, Essential Oils of *Tagetes minuta* and *Lavandula coronopifolia* from Djibouti: Chemical Composition, Antibacterial Activity and Cytotoxic Activity against Various Human Cancer Cell Lines. Int. J. Plant. Biol. 2022; 13(3): 315–329.
38. Jiménez-Medina E, García-Lor A, Paco L, Algarra I, Collado A, Garrido F. A New Extract of the Plant *Calendula officinalis* Produces a Dual in Vitro Effect: Cytotoxic Anti-tumor Activity and Lymphocyte Activation. BMC Cancer. 2006; 6(1).
39. Kanathip S, Apitsada S, Kanokpich W, Asamaporn M, The Comparison of Phenolic Compounds, Flavonoids and Antioxidant Activities of the Ethanolic Extracts of Shoots, Leaves, Fruit and Seeds of *Leucaena leucocephala*. Naresuan Phayao J. 2020; 13(3): 66-73.
40. Andressa B, Gisely C. L, João C. P. M. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium brasiliense* L. 2013; 18(6): 6852–6865.
41. Amornrat S, Kanlayaporn J, Srisuda H. The Study of Antibacterial in Weed Extracts. VRU Research and Development Journal of Science and Technology. 2016; 1: 69-72.



คณะผู้จัดทำ

กองจัดการและพิสูจน์อักษร

ผศ.ดร.ธงชัย เจือจันทร์

ผศ.ดร.น้องนุช สารภี

ผศ.ยุพเยาว์ โตศิริ

นางยุริรัตน์ ดวงแก้ว

ฝ่ายออกแบบและสารสนเทศ

นายกฤษฎา นวลนาง

นางยุริรัตน์ ดวงแก้ว

นายชัยวัฒน์ งามงอน

โรงพิมพ์

บริษัท โรงพิมพ์รุ่งธนเกียรติออฟเซต จำกัด

253, 253/1 ถ.เทศบาล3 ต.ในเมือง อ.เมือง จ.สุรินทร์ โทรศัพท์ 044-512128