การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% สำหรับการรักษาสภาพชิ้นเนื้อจากผู้เสียชีวิตทางนิติพยาธิ

Efficiency in Different Concentrations of Lactic acid Compared to 10% Formalin as a Preservative in Forensic Autopsy

ธีมารัตน์ บริชน[1] และ นพรุจ ศักดิ์ศิริ[2]

Teemarut Borichon[1] and Noparuj Saksiri[2]

[1] หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

[2] คณะสังคมศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ

[1] Forensic Science program, Faculty of Science, Silpakorn University

[2] Faculty of Social Science, Royal Police Cadet Academy

E-mail: gamyuy_uhu108@hotmail.com โทร. 091-5728464

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อ 1) เปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันกับฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% สำหรับการรักษาสภาพชิ้นเนื้อจากผู้เสียชีวิตทางนิติพยาธิ 2) เปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในอวัยวะตับและไตของผู้เสียชีวิต เป็นการวิจัยเชิงทดลองใช้แบบแผนการทดลองแบบ Posttest-Only Control Group Design กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้เสียชีวิตคัดเลือกตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ นำมาสุ่มอย่างง่าย โดยวิธีการจับสลากจำนวน 30 ราย เก็บข้อมูลโดยการเก็บชิ้นเนื้อจากอวัยวะตับและไต จากนั้นนำไปเข้าสู่กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีและทำการย้อมสีด้วยเทคนิค Hematoxylin and Eosin Staining วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติบรรยาย ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสถิติอ้างอิง ได้แก่ t-test independent ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ ด้วยวิธีการของ Scheffe ผลการวิจัยตามวัตถุประสงค์ข้อ 1 พบว่า ประเภทของน้ำยาต่างกันมีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 โดยที่น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% และน้ำยาฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อมากที่สุด ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 รองลงมาคือน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.4% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.97 น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.3% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.92 และน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.1% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.67 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพทางด้านเศรษฐศาสตร์ พบว่าน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% มีราคาถูกกว่าน้ำยาฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% และไม่เป็นพิษต่อระบบทางเดินหายใจ รวมถึงไม่มีสารก่อมะเร็งในมนุษย์ ส่วนประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ พบว่า ประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อของกรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% ในอวัยวะตับและไตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 โดยที่อวัยวะไตมีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.95 และอวัยวะตับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.87

คำสำคัญ : กรดแลคติก ฟอร์มาลีน ตับ ไต

Abstract

The objectives of this research are: 1) to compare the efficiency in different concentration of lactic acid and 10% formalin as a preservative in forensic autopsy and 2) to compare the efficiency between liver and kidney in forensic autopsy. This research was implemented in the form of posttest-only control group design and the simple random sampling by the lottery method was used to select 30 cases. In the data collection, the tissue autopsy of livers and kidneys was collected

and prepared by using tissue processing method and Hematoxylin and Eosin Staining technique. Then the data were analyzed in descriptive statistics, i.e. frequency, percentage, means, standard deviation; and in inferential statistics, i.e. t-test independent, one-way ANOVA and the Scheffe's Post Hoc Comparison. The results of this research are as follows 1) Different types of solutions had a different efficiency of tissue autopsy at the significance level of 0.01. Lactic acid with 0.2% concentration and 10% formalin had the most efficiency of the tissue autopsy at the mean of 4.00, followed by lactic acid with 0.4% concentration at 3.97, lactic acid with 0.3% concentration at 3.92 and lactic acid with 0.1% concentration at 3.67, respectively. In the comparison of economic efficiency, lactic acid with 0.2% concentration was cheaper than 10% formalin and lactic acid is nontoxic to the respiratory system and carcinogen to human. 2) Regarding the efficiency between liver and kidney in forensic autopsy, lactic acid with different concentrations and 10% formalin were found different at the significance level of 0.01. Accordingly, the kidney in forensic autopsy was efficiency maintained at the mean of 3.95, whereas the liver in forensic autopsy was efficiency maintained at the mean of 3.87.

Keywords : Lactic Acid, Formalin, Liver, Kidney

1. บทนำ

การวิเคราะห์หาสาเหตุการตาย คือ การหาเหตุต้นกำเนิดที่ทำให้เกิดโรคหรือความผิดปกติ หรือการบาดเจ็บจากเหตุการณ์หลายอย่าง เช่น อุบัติเหตุ การถูกทำร้าย เป็นต้น ประกอบกันจนทำให้ตาย สิ่งที่เกี่ยวข้องนี้เป็นสิ่งที่องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ลงในหนังสือรับรองการตายทั้งหมด แต่การที่มีหลายโรคหรือหลายเหตุการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการตายในคนคนเดียว ทำให้มีความยุ่งยากในการเปรียบเทียบหรือทำสถิติสาเหตุการตายระหว่างประเทศ จึงต้องมีนิยามอีกคำหนึ่งคือ สาเหตุการตายต้นกำเนิด (Underlining cause of death) ซึ่งจะมีเพียงโรคหรือเหตุการณ์เดียวเท่านั้นในการตายของแต่ละคน การวิเคราะห์หาสาเหตุการตายของประชากรในประเทศ มีประโยชน์ในการวางแผนป้องกันสาเหตุการตายนั้น ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประเทศไทยมีการรวบรวมข้อมูลสถิติการตายตั้งแต่ปี พ.ศ. 2493 และในปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขได้รับข้อมูลการตายจากข้อมูลมรณบัตรของกระทรวงมหาดไทย มาวิเคราะห์สรุปเป็นรายงานสถิติการตาย โดยจากสถิติพบว่าคนไทยเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งเป็นอันดับ 1 นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 เฉลี่ย 100 คนต่อประชากร 100,000 คน ซึ่งมีผู้ป่วยรายใหม่เกิดขึ้นทุกปี ในขณะที่การเสียชีวิตด้วยอุบัติเหตุเป็นอันดับ 2 อยู่ที่ 50 คนต่อประชากร 100,000 คน (Strategy and Planning Division, 2017) โดยปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งมี 3 ปัจจัยหลัก คือ 1) สิ่งแวดล้อมภายนอกร่างกาย 2) พฤติกรรม 3) พันธุกรรม การวิเคราะห์หาสาเหตุการตายที่กล่าวมาข้างต้นนั้นยังต้องอาศัยวัตถุพยาน ซึ่งวัตถุพยานแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ วัตถุพยานทางกายภาพ เก็บได้จากสิ่งไม่มีชีวิต เช่น อาวุธ เขม่าดินปืน สี เป็นต้น วัตถุพยานทางชีววิทยา เก็บได้มาจากสิ่งมีชีวิตหรือเป็นส่วนของสิ่งมีชีวิตมาก่อน เช่น คราบเลือด เส้นผม เนื้อเยื่อ ลายนิ้วมือ เป็นต้น จากวัตถุพยานทั้ง 2 ประเภทในทางการสืบสวนคดีอาญา ถือว่าวัตถุพยานทางชีววิทยาเป็นวัตถุพยานเพียงประเภทเดียวที่สามารถแสดงความสัมพันธ์โดยตรงขณะที่เกิดเหตุการณ์ขึ้น ระหว่างผู้กระทำความผิดกับผู้เสียหายได้ (Panic, 2021) ซึ่งการเก็บรวบรวมและจัดส่งวัตถุพยานจากสถานที่เกิดเหตุอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการเป็นสิ่งสำคัญที่สุดในชั้นสืบสวนและสอบสวน และในชั้นศาล ดังนั้นในงานนิติพยาธิ ทางด้านวัตถุพยานชิ้นเนื้อได้มีการจัดเก็บรักษาสภาพวัตถุพยานชิ้นเนื้อที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาสาเหตุการตาย ได้แก่ สมอง หัวใจ ตับ ไต ม้าม ฯลฯ ด้วยฟอร์มาลินเข้มข้น 10% ฟอร์มาลินมีชื่อทางการค้าที่หลากหลาย ที่รู้จักกันทั่วไปชื่อว่า ฟอร์มัลดีไฮด์ มีสถานะเป็นก๊าซกลิ่นฉุน และมีความพิษต่อระบบทางเดินหายใจ หากได้รับในรูปของไอระเหยจะทำให้เกิดการระคายเคืองตา แสบจมูก หลอดลมบวม ไอ เจ็บคอ หากได้รับจากสัมผัสโดยตรงจะทำให้ผิวหนังบริเวณนั้นเกิดการระคายเคือง (Chaniphun, 2003)

ซึ่งในบางประเทศได้มีการระบุในข้อกฎหมายเกี่ยวข้องกับอาชีวอนามัยและความปลอดภัย เช่น ประเทศควิเบกและแคนาดา กำหนดค่าในอากาศสูงสุดไม่เกิน 2 ppm ส่วนในพื้นที่อยู่อาศัยกำหนดให้อยู่ในช่วง 0.05 ถึง 0.4 ppm บุคคลที่สัมผัสฟอร์มัลดีไฮด์ในการทำงานต่อวันเฉลี่ยอย่างน้อย 8 ชั่วโมงจะต้องไม่เกิน 0.75 ppm การสัมผัสในระยะสั้นจะต้องไม่เกิน 2 ppm และทางสำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (EPA) ได้กำหนดให้ฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารมลพิษทางอากาศที่เป็นอันตราย ควบคุมภายใต้พระราชบัญญัติอากาศบริสุทธิ์ (Kim, Jahan and Lee, 2011) ทางองค์กรวิจัยมะเร็งนานาชาติ (IARC) ได้จัดให้ฟอร์มัลดีไฮด์เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ กลุ่มที่ 1 หากได้รับในระยะยาวส่งผลให้เกิดมะเร็ง เช่น มะเร็งหลังโพรงจมูก (Cogliano *et al.*, 2005)

จากงานวิจัยที่มีการใช้กรดแลคติกความเข้มข้น 0.5-1% ในการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในเนื้อเยื่อระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทส่วนปลายของแมว พบว่ากรดแลคติกสามารถรักษาสภาพให้เซลล์มีความกลมและปลอกไมอีลินยังคงความสมบูรณ์ และทำให้การย้อมสีสามารถติดสีได้ดีมากขึ้น แต่เซลล์บวมน้ำเล็กน้อย ลักษณะของเส้นใยไม่ค่อยมีความต่อเนื่อง (Davenport, 2009) จากงานวิจัยที่ศึกษาวิธีการยืดอายุการเก็บไส้กรอกเวียนนาโดยใช้กรดแลคติกเข้มข้น 0%, 1.0%, 1.5% และ 2.0% ประเมินผลจากทางด้านจุลินทรีย์ ลักษณะทางกายภาพ เคมี และลักษณะทางประสาทสัมผัสเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่ากรดแลคติกที่ทดสอบด้วยวิธีแช่ ความเข้มข้นที่ยอมรับได้คือ 1.5% และวิธีฉีดพ่น ความเข้มข้นที่ยอมรับได้คือ 2% นำสองวิธีนี้มาศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ใช้วัตถุกันเสียชนิด benzoate/sorbate 0.08% น้ำหนักโดยน้ำหนักพบว่า กรดแลคติกสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ดีกว่าและให้สีที่เด่นชัดกว่า (Orose, 2017) และจากงานวิจัยที่ศึกษาการลดจำนวนจุลินทรีย์ในเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์โดยการใช้กรดอินทรีย์ พบว่ากรดแลคติกสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถใช้แทนน้ำยาเคมีฆ่าเชื้อได้และไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Suchirat, 2010) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาแนวทางการแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อมโดยใช้จุลินทรีย์จากชีวภาพ โดยใช้กรดแลคติก กรดแลคเตท และกรดอะซิเตทจากกระบวนการหมัก พบว่าในกระบวนการดังกล่าวไม่มีการสูญเสียอะตอมและไม่มีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างการแปลงทางชีวภาพ เมื่อนำมาเป็นสารเคมีใช้ในการผลิตสินค้าโภคภัณฑ์ เช่น พอลิแลคเตท ซึ่งสามารถผสมกับโพลีเอสเตอร์ในรูปแบบต่าง ๆ ได้ ทำให้คุณลักษณะของพลาสติกสามารถย่อยสลายตามธรรมชาติและช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้ (Ishizaki, 1997) และเนื่องด้วยกรดแลคติกสามารถผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีหรือการเมทาบอลิสซึมของจุลินทรีย์ เป็นของเหลว ไม่มีสี ละลายในน้ำและตัวทำละลายได้ดี และสามารถตกผลึกได้หากมีความเข้มข้นสูง และเป็นโมโนเมอร์ของการสังเคราะห์แลคติกโพลิเมอร์ ซึ่งเป็นพลาสติกที่มีคุณสมบัติย่อยสลายได้ทางธรรมชาติ โดยแนวโน้มความต้องการกรดแลคติกสูงขึ้นในแต่ละปี คาดคะเนอาจจะสูงถึง 367.3 แสนเมตริกตัน ในปี พ.ศ. 2560 (Kanokwan, 2013) ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% สำหรับนำมาใช้การรักษาสภาพชิ้นเนื้อจากผู้เสียชีวิตทางนิติพยาธิ ซึ่งกรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกัน ได้แก่ 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% เพื่อเป็นแนวทางในการใช้รักษาสภาพชิ้นเนื้อและลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

2. วิธีการทดลอง

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการเตรียมสารเคมี ได้แก่ กรดแลคติก, ฟอร์มาลีน, ถุงมือ, ผ้าปิดจมูก
2. เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีสำหรับการเตรียมชิ้นเนื้อ ได้แก่ ใบมีดผ่าตัด (Surgical blade), ขวดพลาสติกแบบมีฝาปิด สำหรับใส่ตัวอย่างชิ้นเนื้อ, มีดตัดไมโครโตม, เขียงสำหรับตัดเล็มชิ้นเนื้อ, ไม้บรรทัด, ตลับใส่ชิ้นเนื้อ, กล้องจุลทรรศน์, เครื่องย้อมสไลด์ชิ้นเนื้ออัตโนมัติ รุ่น INTELSINT-AUS1, เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีอัตโนมัติ รุ่น Tissue-Tek VIP6, เครื่องตัดชิ้นเนื้อ รุ่น AEM 480, เครื่องหล่อบล็อกชิ้นเนื้อ รุ่น MEDITE TES VALIDA, สไลด์ฝา ขนาด 25.4x76.2 mm, กระจกสไลด์ (cover glasses) ขนาด 24x50 mm, สี Hematoxylin, สี Eosin, 95% alcohol, Ethanol, น้ำยา Xylene, น้ำยา Bluing, น้ำยา Ottix plus, ขี้ผึ้งเหลวสังเคราะห์, น้ำยา permount media

การเตรียมสารเคมี

กรดแลคติกเข้มข้น 0.1% เตรียมได้จากกรดแลคติก (ที่ความเข้มข้น 85%) 1.2 ml ผสมกับน้ำ 998.8 ml
กรดแลคติกเข้มข้น 0.2% เตรียมได้จากกรดแลคติก (ที่ความเข้มข้น 85%) 2.4 ml ผสมกับน้ำ 997.6 ml
กรดแลคติกเข้มข้น 0.3% เตรียมได้จากกรดแลคติก (ที่ความเข้มข้น 85%) 3.5 ml ผสมกับน้ำ 996.5 ml
กรดแลคติกเข้มข้น 0.4% เตรียมได้จากกรดแลคติก (ที่ความเข้มข้น 85%) 4.7 ml ผสมกับน้ำ 995.3 ml
ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% เตรียมได้จากฟอร์มัลดีไฮด์ 100 ml ผสมกับน้ำ 900 ml

กลุ่มตัวอย่าง

ผู้เสียชีวิต มีเกณฑ์การคัดเลือกคือ มีลักษณะการเสียชีวิตแบบปกติและไม่มีการคั่งเลือด เก็บจากอวัยวะตับและไต ได้กลุ่มตัวอย่างที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์จำนวน 80 ราย จากนั้นสุ่มอย่างง่ายโดยวิธีการจับสลาก (Lottery) ให้ได้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 30 ราย

การเตรียมชิ้นเนื้อและการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. การเตรียมชิ้นเนื้อ นำกลุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อที่เก็บจากอวัยวะตับและไต มาตัดเล็มให้มีขนาดเท่า ๆ กัน โดยมีขนาด 10x10x3 มิลลิเมตร ซึ่งแต่ละรายตัดเล็มอย่างละ 5 ชุด ใส่ลงในน้ำยาที่เตรียมไว้ในขวดพลาสติกแบบมีฝาปิด ได้แก่ กรดแลคติกเข้มข้น 0.1% กรดแลคติกเข้มข้น 0.2% กรดแลคติกเข้มข้น 0.3% กรดแลคติกเข้มข้น 0.4% และฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% แช่ทิ้งไว้ 6-8 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำตัวอย่างชิ้นเนื้อใส่ลงในตลับใส่ชิ้นเนื้อ เพื่อเตรียมเข้าสู่กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue Processing)

2. การเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (Tissue Processing) โดยใช้เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมีอัตโนมัติ รุ่น Tissue-Tek VIP6 มีขั้นตอนดังนี้ 1) การตรึงชิ้นเนื้อ (Fixation) ขั้นตอนนี้ไม่ได้ถูกนำมาใช้ในการวิจัยนี้ 2) การนำน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (Dehydration) โดยใช้น้ำยา ethanol จากความเข้มข้นต่ำไปสูง 3) การทำให้เนื้อเยื่อใส (Clearing) โดยการนำสารเคมีตัวใหม่เข้ามาแทนที่ และเป็นตัวกลางที่จะนำขี้ผึ้งเหลวสังเคราะห์เข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อ โดยจะใช้น้ำยา Ottix plus 4) การแทรกซึมของพาราฟิน (Infiltration) คือการนำขี้ผึ้งเหลวสังเคราะห์เข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อ เพื่อให้เกิดการคงรูป มีความแข็งและสม่ำเสมอเท่ากัน

3. การหล่อบล็อกชิ้นเนื้อ (Embedding)

4. การตัดบล็อกชิ้นเนื้อ (Sectioning) เป็นการตัดชิ้นเนื้อให้เป็นแผ่นบาง ขนาด 3-5 ไมครอน

5. การย้อมสีสไลด์ชิ้นเนื้อ (Staining) โดยการย้อมสีด้วยเทคนิค Hematoxylin and Eosin Staining ใช้เครื่องย้อมสีอัตโนมัติ รุ่น INTELSINT-AUS1 มีขั้นตอนดังนี้ 1) การนำพาราฟินออก (Deparaffinization) โดยนำสไลด์อบในตู้อบ hot air oven ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที และนำพาราฟินออกด้วยน้ำยา Xylene อีกครั้ง 2) การนำน้ำเข้าสู่เซลล์ (Rehydration) เพื่อทำให้เนื้อเยื่อชุ่มน้ำและเตรียมให้เซลล์สามารถติดสีได้ดีขึ้น โดยใช้น้ำยา ethanol alcohol จากความเข้มข้นสูงไปต่ำ 3) การทำให้นิวเคลียสติดสี (Nuclear stain) ด้วยสี Hematoxylin ซึ่งนิวเคลียสจะติดสีน้ำเงิน 4) การย้อมสีซ้ำ (Counter stain) เพื่อทำให้เซลล์ซึ่งถูกล้างสีออกไปมีสีที่แตกต่างจากสีที่ใช้ในตอนเริ่มต้น ด้วยสี Eosin ซึ่งไซโทพลาสซึมจะติดสีแดง 5) การนำน้ำออกจากเซลล์ (Dehydration) โดยใช้น้ำยา ethanol alcohol จากความเข้มข้นต่ำไปสูง 6) การทำให้เนื้อเยื่อใส (Clearing) โดยใช้น้ำยา Xylene

6. เคลือบสไลด์ชิ้นเนื้อด้วยน้ำยา permount media

7. การอ่านผลเพื่อประเมินคุณภาพสไลด์ชิ้นเนื้อ ใช้เกณฑ์การประเมินคุณภาพสไลด์ของภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี โดยประสิทธิภาพของการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ หมายถึง ผลการรักษาสภาพชิ้นเนื้อซึ่งประเมินจากลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คือ 1) การติดสีน้ำเงินของ Hematoxylin 2) การติดสีแดงของ Eosin และ 3) ความสมบูรณ์ของเซลล์ โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ แบ่งออกเป็น 5 ระดับ ดังนี้ 1) ระดับ 1 หมายถึง Unsatisfactory (ควรปรับปรุง) 2) ระดับ 2 หมายถึง Poor (พอใช้) 3) ระดับ 3 หมายถึง Moderate (ปานกลาง) 4) ระดับ 4 หมายถึง Good (ดี) 5) ระดับ 5 หมายถึง Excellent (ดีมาก)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การกำหนดค่าตัวแปร การกำหนดตัวแปรต่างๆ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง มีดังนี้

1) ชนิดของอวัยวะที่นำมาทดลอง ข้อมูลระดับนามบัญญัติโดยกำหนดให้ 1 = ตับ, 2 = ไต

2) ประเภทของน้ำยาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ข้อมูลระดับนามบัญญัติโดยกำหนดให้ 1 = กรดแลคติกเข้มข้น 0.1%, 2 = กรดแลคติกเข้มข้น 0.2%, 3 = กรดแลคติกเข้มข้น 0.3%, 4 = กรดแลคติกเข้มข้น 0.4%, 5 = ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10%

2. คะแนนเฉลี่ย ใช้สูตรการคำนวณช่วงความกว้างของอันตรภาคชั้น แบ่งออกเป็น 5 ระดับ ได้แก่ มากที่สุด (4.21 - 5.00) มาก (3.41 - 4.20) ปานกลาง (2.61 - 3.40) น้อย (1.81 - 2.60) น้อยที่สุด (1.00 - 1.80)

3. วิเคราะห์หาค่าสถิติพื้นฐาน ด้วยสถิติบรรยาย ได้แก่ ค่าร้อยละ ความถี่ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. วิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อระหว่างประเภทของน้ำยา โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ ด้วยวิธีการของ Scheffe

5. วิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในอวัยวะตับและไต โดย t-test Independent

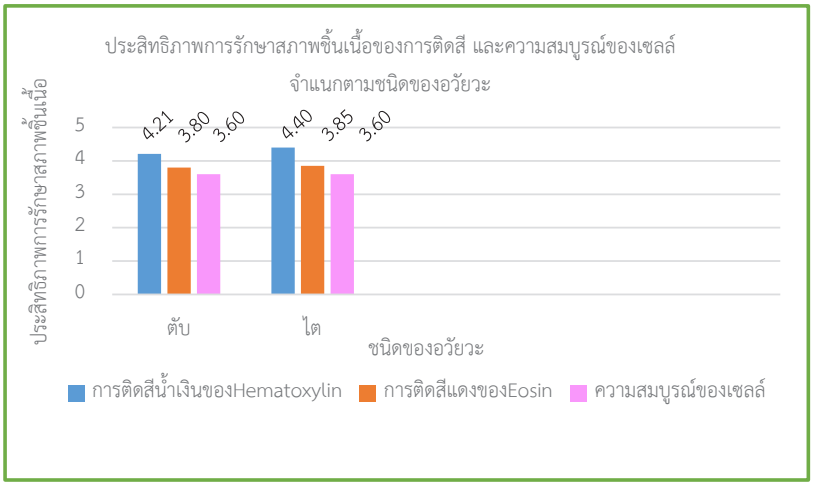
3. ผลการศึกษา

3.1 วิเคราะห์หาค่าสถิติพื้นฐาน ด้วยสถิติบรรยาย (ค่าร้อยละ ความถี่ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าระดับประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อของการติดสีและความสมบูรณ์ของเซลล์ จำแนกตามชนิดของอวัยวะ

การติดสีและความสมบูรณ์ของเซลล์	ชนิดของอวัยวะ	Mean	S.D.	ค่าระดับ
การติดสีน้ำเงินของ Hematoxylin	ตับ	4.21	0.60	มากที่สุด
	ไต	4.40	0.50	มากที่สุด
การติดสีแดงของ Eosin	ตับ	3.80	0.40	มาก
	ไต	3.85	0.48	มาก
ความสมบูรณ์ของเซลล์	ตับ	3.60	0.49	มาก
	ไต	3.60	0.49	มาก
ประสิทธิภาพ	ตับ	3.87	0.22	มาก
	ไต	3.95	0.16	มาก

จากตารางที่ 1 พบว่า ประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในการติดสีน้ำเงินของ Hematoxylin ที่อวัยวะไต มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าที่อวัยวะตับเท่ากับ 4.40 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.50 อยู่ในค่าระดับมากที่สุด การติดสีแดงของ Eosin ที่อวัยวะไต มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าที่อวัยวะตับเท่ากับ 3.85 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.48 อยู่ในค่าระดับมาก และความสมบูรณ์ของเซลล์ที่อวัยวะไตและตับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากัน ซึ่งเท่ากับ 3.60 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.49 อยู่ในค่าระดับมาก ซึ่งประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในอวัยะตับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.87 และอวัยวะไต มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.95 แสดงดังภาพที่ 1

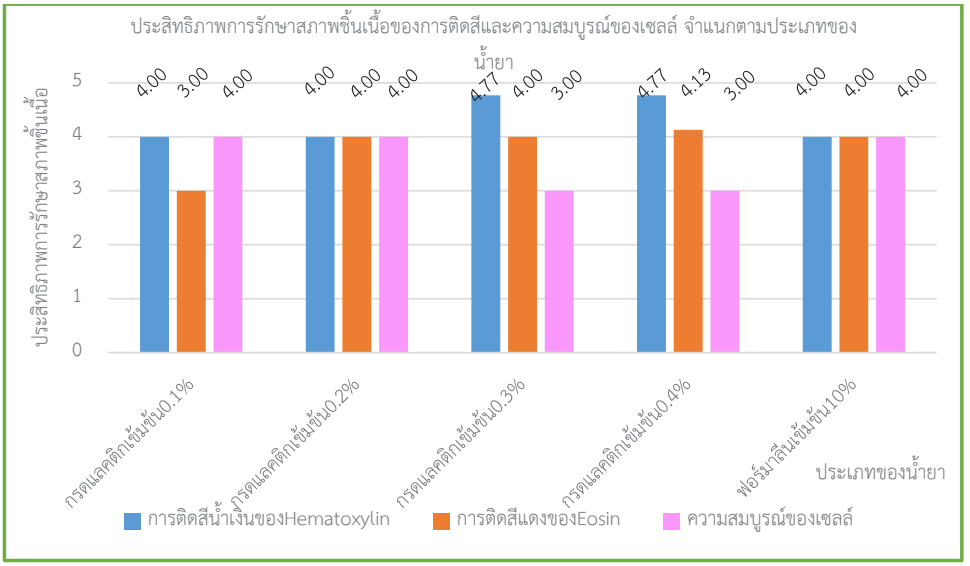


ภาพที่ 1 กราฟแสดงประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อของการติดสี และความสมบูรณ์ของเซลล์ จำแนกตามชนิดของอวัยวะ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าระดับประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อของการติดสีและความสมบูรณ์ของเซลล์ จำแนกตามประเภทของน้ำยา

การติดสีและความสมบูรณ์ของเซลล์		Mean	S.D.	ค่าระดับ
การติดสีน้ำเงินของ Hematoxylin	กรดแลคติกเข้มข้น 0.1%	4.00	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.2%	4.00	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.3%	4.77	0.65	มากที่สุด
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.4%	4.77	0.65	มากที่สุด
	ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10%	4.00	0.00	มาก
การติดสีแดงของ Eosin	กรดแลคติกเข้มข้น 0.1%	3.00	0.00	ปานกลาง
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.2%	4.00	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.3%	4.00	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.4%	4.13	0.34	มาก
	ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10%	4.00	0.00	มาก
ความสมบูรณ์ของเซลล์	กรดแลคติกเข้มข้น 0.1%	4.00	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.2%	4.00	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.3%	3.00	0.00	ปานกลาง
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.4%	3.00	0.00	ปานกลาง
	ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10%	4.00	0.00	มาก
ประสิทธิภาพ	กรดแลคติกเข้มข้น 0.1%	3.67	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.2%	4.00	0.00	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.3%	3.92	0.29	มาก
	กรดแลคติกเข้มข้น 0.4%	3.97	0.29	มาก
	ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10%	4.00	0.00	มาก

จากตารางที่ 2 พบว่า ประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อประเมินจากการติดสีน้ำเงินของ Hematoxylin ในน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.3% และน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.4% มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 4.77 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.65 อยู่ในระดับมากที่สุด การติดสีแดงของ Eosin ในน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.4% มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 4.13 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.34 อยู่ในระดับมาก ส่วนความสมบูรณ์ของเซลล์ ในน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.1% น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% และน้ำยาฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 4.00 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.00 อยู่ในระดับมาก ซึ่งประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% และน้ำยาฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.4% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.97 น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.3% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.92 และน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.3% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.67 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กราฟแสดงประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อของการติดสีและความสมบูรณ์ของเซลล์ จำแนกตามประเภทของน้ำยา

3.2 วิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อระหว่างประเภทของน้ำยา โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ ด้วยวิธีการของ Scheffe

สมมติฐานข้อที่ 1 กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$$
$$H_1 : \mu_1 \# \mu_2 \# \mu_3 \# \mu_4 \# \mu_5$$

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ จำแนกตามประเภทของน้ำยา

แหล่งความแปรปรวน	SS	Df	MS	F	p
ระหว่างกลุ่ม	4.726	4	1.181	52.165	.000*
ภายในกลุ่ม	6.681	295	.023		
รวม	11.407	299			

*p < 0.01

จากตารางที่ 3 พบว่า ค่า p ที่คำนวณได้เท่ากับ .000 มีค่าน้อยกว่า 0.01 จึงปฏิเสธ H_0 ยอมรับ H_1 สรุปได้ว่า กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 จึงทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ ด้วยวิธีการของ Scheffe แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ของประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ จำแนกตามประเภทของน้ำยา

ประเภทของน้ำยา	Mean	กรดแลคติก เข้มข้น 0.1%	กรดแลคติก เข้มข้น 0.2%	กรดแลคติก เข้มข้น 0.3%	กรดแลคติก เข้มข้น 0.4%	ฟอร์มาลีน เข้มข้น 10%
กรดแลคติกเข้มข้น 0.1%	3.67	-	-3.3333*	-.25556*	-.30000*	-3.3333*
กรดแลคติกเข้มข้น 0.2%	4.00		-	.07778	.03333	.00000
กรดแลคติกเข้มข้น 0.3%	3.92			-	-.04444	-.07778
กรดแลคติกเข้มข้น 0.4%	3.97				-	-.03333
ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10%	4.00					-

*p < 0.01

จากตารางที่ 4 เมื่อทดสอบค่าเฉลี่ยรายคู่ พบว่า รายคู่ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 มี 4 คู่ ได้แก่ 1) น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.1% กับน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% 2) น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.1% กับน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.3% 3) น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.1% กับน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.4% และ 4) น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.1% กับน้ำยา ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% นอกนั้นไม่แตกต่างกัน

3.3 วิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในอวัยวะตับและไต โดย t-test Independent

สมมติฐานข้อที่ 2 กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในอวัยวะตับและไตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

$H_0 : \mu_{ไต} = \mu_{ตับ}$

$H_1 : \mu_{ไต} > \mu_{ตับ}$

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ ระหว่างอวัยวะตับและไต

ชนิดของอวัยวะ	N	Mean	S.D.	t	p
ตับ	150	3.87	0.60	-3.618	.000*
ไต	150	3.95	0.50		

*p< 0.01

จากตารางที่ 5 พบว่า ค่า p ที่คำนวณได้ = .000 มีค่าน้อยกว่า 0.01 จึงปฏิเสธ H_0 ยอมรับ H_1 สรุปได้ว่า กรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อในอวัยวะตับและไตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

ตารางที่ 6 สรุปผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ ระหว่างน้ำยากรด

การเปรียบเทียบ	กรดแลคติกเข้มข้น 0.2%	ฟอร์มาลีนเข้มข้น 10%
ราคา	0.50 บาท/1 ครั้ง	25 บาท/1 ครั้ง
สารก่อมะเร็งในมนุษย์	ไม่มี	มี
พิษต่อระบบทางเดินหายใจ	ไม่มี	มี
ประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อ	4.00	4.00
- การติดสีน้ำเงินของ Hematoxylin - การติดสีแดงของ Eosin - ความสมบูรณ์ของเซลล์	ไม่แตกต่างกัน	ไม่แตกต่างกัน

จากตารางที่ 6 พบว่า ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อระหว่างน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% และน้ำยาฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% มีค่าประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อเท่ากัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันในการติดสีและความสมบูรณ์ของเซลล์ แต่ที่แตกต่างกันคือกรดแลคติกเข้มข้น 0.2% มีราคาถูกกว่า ซึ่งราคาการใช้ต่อครั้งเท่ากับ 0.50 บาท ไม่มีสารก่อมะเร็งในมนุษย์ และไม่มีความเป็นพิษต่อระบบทางเดินหายใจ

4. สรุปผลและอภิปรายผล

1. ประเภทของน้ำยาต่างกัน มีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 โดยน้ำยาที่มีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อเท่ากันกับน้ำยาฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% คือ น้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 และพบว่าประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อของการติดสีในน้ำยากรดแลคติกที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีค่าประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อเพิ่มมากขึ้น โดยที่การติดสีน้ำเงินของ Hematoxylin ในน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.3% และน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.4% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.77 และที่การติดสีแดงของ Eosin ในน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.4% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.13 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Davenport (2009) ได้ศึกษาประสิทธิภาพระหว่างกรดกับสารละลายฟอร์มาลีนที่เป็นกลางในการรักษาสภาพเซลล์ของระบบประสาทส่วนกลางและระบบประสาทส่วนปลายของแมว พบว่ากรดแลคติกความเข้มข้น 0.5-1% สามารถรักษาสภาพให้เซลล์มีความกลมและปลอกไมอีลีนยังคงความสมบูรณ์ และทำให้การย้อมสีสามารถติดสีได้ดีมากขึ้น แต่เซลล์บวมน้ำเล็กน้อย และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพทางด้านเศรษฐศาสตร์ พบว่าน้ำยากรดแลคติกเข้มข้น 0.2% มีราคาถูกกว่าน้ำยาฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% ซึ่งมีราคาในการใช้ต่อครั้งเท่ากับ 0.50 บาท และไม่เป็นพิษต่อระบบทางเดินหายใจ รวมถึงไม่มีสารก่อมะเร็งในมนุษย์

2. ประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อของกรดแลคติกที่มีความเข้มข้นต่างกันและฟอร์มาลีนเข้มข้น 10% ในอวัยวะตับและไต แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 โดยที่อวัยวะไตมีประสิทธิภาพการรักษาสภาพชิ้นเนื้อค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.95 และอวัยวะตับมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.87 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kiernan (2008) ได้ศึกษาระบบสำหรับการประเมินเชิงปริมาณของการรักษาสภาพชิ้นเนื้อผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจากอวัยะไตและสมองของหนู เนื่องจากโครงสร้างของเซลล์แต่ละอวัยวะมีความแตกต่างกันมากจึงต้องคำนึงถึงอวัยวะที่จะเลือกใช้ในการศึกษา โดยเลือกศึกษาในอวัยวะไตและสมอง เนื่องจากมีโครงสร้างที่หลากหลายประกอบอยู่ด้วยกันและสามารถเห็นลักษณะการรักษาสภาพเซลล์ที่ไม่ดีได้ชัดกว่าอวัยวะอื่น ดังนั้นจึงต้องปรับเกณฑ์การให้คะแนนเพื่อให้มีความเหมาะสมและไปในทางเดียวกัน

ข้อเสนอแนะ

จากปัญหาที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยขอเสนอแนะโดยแยกเป็น 2 ด้าน ดังนี้

1. ด้านการแพทย์ โดยนำมาประยุกต์ใช้เป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับสารที่ใช้ทดแทนฟอร์มาลีน เพื่อลดอันตรายและปัจจัยเสี่ยงที่อาจเกิดจากการใช้ฟอร์มาลีนลง แต่อย่างไรก็ตามยังคงต้องการข้อมูลที่ถูกต้องและมากเพียงพอทั้งด้าน

กลไกการออกฤทธิ์ ความปลอดภัย และประสิทธิผลทางคลินิก เพื่อส่งเสริมปรับใช้เป็นทางเลือก

2. ด้านพยาธิวิทยา เนื่องจากกรดแลคติกมีผลทำให้การย้อมสีติดดีมากขึ้น ควรส่งเสริมให้มีการนำกรดแลคติกมาปรับใช้ร่วมด้วย แต่อย่างไรก็ตามยังคงต้องการข้อมูล ผลดี และผลเสียที่อาจเกิดขึ้นต่อการนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับน้ำยาประเภทอื่น

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

ด้านประเด็นด้านการศึกษา ควรมีการนำตัวแปรควบคุมในงานวิจัยนี้ มาเป็นตัวแปรต้นในการศึกษา เช่น ขนาดของอวัยวะ ปริมาณน้ำยาที่แช่ชิ้นเนื้อ และการย้อมสีสไลด์ เป็นต้น และควรมีการดำเนินการวิจัยโดยใช้เครื่องมือการวิจัยอื่น เช่น แบบทดสอบทางกายภาพ แบบสำรวจความพึงพอใจ และการย้อมสีทางอิมมูโนฮีสโตเคมีในด้านเทคนิคต่าง ๆ เช่น Gomori's methenamine silver (GMS) และแอนติบอดี เป็นต้น เพื่อดูผลกระทบและประสิทธิภาพของกรดแลคติกในด้านอื่น ๆ

5. เอกสารอ้างอิง

Chaniphun, B. 2003. **Magazine topic: Know before you eat formalin and food**. Moh-Chao-Ban Magazine. 165. (in Thai)

Cogliano, V., Y. Grosse, R. Baan, and et al. 2005. **Meeting report: summary of IARC monographs on formaldehyde, 2-butoxyethanol, and 1-tert-butoxy-2-propanol**. Environmental Health Perspectives. 113(9): 1205-1208.

Davenport, H. A. 2009. **Acid Versus Neutral Formalin Solution as a Neurological Fixative**. Stain Technology. 9(2): 49-52.

Kanokwan, Y. 2013. **Production of lactic acid from starches with lactic bacteria**. Applied Microbiology Journal. 40(4): 40-46. (in Thai)

Kiernan, J. A. 2008. **A system for quantitative evaluation of fixatives for light microscopy using paraffin sections of kidney and brain**. Biotechnic and Histochemistry. 84(1): 1-10.

Kim, K. H., S. A. Jahan, and J. T. Lee. 2011. **Exposure to Formaldehyde and Its Potential Human Health Hazards**. Environmental Science and Health. 29(4): 277-299.

Orose, R. 2017. **Prolonged storage life of vienna Sausage using lactic acid**. Master's thesis. Deparment of Food Technology Chulalongkorn University, Bangkok. (in Thai)

Panic, W. 2021. **Biological evidence**. Microbiology Journal. The institute for the Promotion of Teaching Science and Technology. http://biology.ipst.ac.th/?p=102. Accessed 3 January. 2021.

Strategy and Planning Division. 2017. **The importance of death and Cause of Death**. Death Certificate Record Guide Ministry of Public Health. 1(1): 1-3. (in Thai)

Suchirat, K. 2010. **Reduction of microbial load on chicken meat and products using non-hazardous organic compound in production line**. Master's thesis. Deparment of Microbiology King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok. (in Thai)

(Received: 14/May/2021, Revised: 24/Dec/2021, Accepted: 27/Dec/2021)