



วารสารวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

Rajamangala University of Technology Srivijaya Research Journal

ปีที่ 16 ฉบับที่ 2 (พฤษภาคม - สิงหาคม 2567)

ISSN 3027-7140 (Online)



วารสารวิจัย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์ ดร.สุวัฒน์ ชัยนุส คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
บรรณาธิการ	รองศาสตราจารย์ ดร.ชาติรี หอมเขียว คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
ผู้ช่วยบรรณาธิการ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ทองหนู้อย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ มะเห คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิรักษ์ สงรักษ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรพร ธารางกูร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดคณิ่ง ณ ระนอง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

วารสารวิจัย
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร.อลงกลด แทนออมทอง

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ศาสตราจารย์ ดร.ทวนทอง จุฑาเกตุ

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Professor Ir. Dr. Anuar Mat Safar

University Malaysia Perlis, Malaysia

Professor Mitsuhiko Sano

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Japan

Professor Qinghua Zhang

Chongqing University of Posts and Telecommunications, China

Professor Zhangyong Li

Chongqing University of Posts and Telecommunications, China

Professor Clarissa Yvonne Domingo

Central Luzon State University, Philippines

Professor Virginia Venturina

Central Luzon State University, Philippines

Professor Noraine Medina

Central Luzon State University, Philippines

Professor Ravelina Velasco

Central Luzon State University, Philippines

Professor Ronaldo Alberto

Central Luzon State University, Philippines

Professor Edilyn Lansangan

Central Luzon State University, Philippines

Professor Ariel Mactal

Central Luzon State University, Philippines

Associate Professor Dr. David Crookall

University of Nice Sophia Antipolis, France

Associate Professor Dr. Ir. Wan Arfiani Barus, M.P

Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Indonesia

รองศาสตราจารย์ ดร.ปิ่น จันจุฬา

คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
รองศาสตราจารย์ ญัฐวรัตน์ ปภาวสิทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รองศาสตราจารย์ ดร.ลักษมี วิทยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
รองศาสตราจารย์ ดร.ศศิโรตม์ เกตุแก้ว

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

รองศาสตราจารย์ ดร.อุเทน คำน่าน

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

รองศาสตราจารย์ ดร.เกษรา คูหา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา
รองศาสตราจารย์ประพจน์ พรหมสมบูรณ์

คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิยม กำลังดี

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงศ์ แก้วบุญมา

คณะเทคโนโลยีการจัดการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สหพงศ์ สมวงศ์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิกรม ฉันทรางกูร

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
ดร.กิตติมา ตันดีหาชัย

คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

นางสาวกุลิกา ธนะเสวตร

วิทยาลัยการโรงแรมและการท่องเที่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญ

ขนาดอนุภาคและความคงตัวของน้ำมันพะสเตอร์ไรซ์เสริมแคลเซียมและการ ยอมรับของผู้บริโภค	283 - 295
รุสมิยา อาลี ชรรมรัตน์ สัมมะวัฒนา ดิลา เกาะ ฟารีดา ฮาเว และ พัชรินทร์ ภักดีฉนวน	
การสำรวจแมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิในไก่ไข่ในฟาร์มระบบเปิดในอำเภอ นาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช	296 - 305
พรพิชฌา อุทัยรักษ์ เวชกา ลีละสกุลมีเกียรติ วิภาพร จารุจารีต และ คมปกร ตาณะสุด	
การทดสอบพันธุ์แต่งร้านการค้าในจังหวัดน่าน	306 - 315
บรรจง อุปแก้ว	
ผลของการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสของบราวนี่กรอบ	316 - 329
ตรีรัตน์ เกื้อจันทร์ ชัญวรัตน์ วรรณ ปาริสุทธิ เฉลิมชัยวัฒน์ และ ดวงกมล แสงธีรกิจ	
การเพิ่มการเติบโตของไดอะตอมทะเล <i>Amphora subtropica</i> BUUC1502 โดยเติมฟอสเฟตและซิลิกาในระหว่างการเลี้ยง	330 - 345
สุพรรณิ นวลโกฏ สรวิศ เผ่าทองสุข และ มะลิวัลย์ กุตะโค	
การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าและสารสกัดจากหญ้าหวาน	346 - 363
กรรณิการ์ อ่อนสำลี	
การเปรียบเทียบวิธีการสกัดอินนูลินจากแก่นตะวัน	364 - 374
ศุภลักษณ์ เกตุตากแดด อุไรลักษณ์ พงษ์เกษ ศุภลักษณ์ คมคาย ทรัพย์มณี บุญญโก และ นิตยา ภูงาม	
แอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้ คิวอาร์โค้ด	375 - 388
วันประชา นวนสร้อย สุภาวดี มากอ้น และ วันดี นวนสร้อย	

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการ และจุลินทรีย์บางชนิด ในขนมกลีบลำดวนเสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้าคั่วกลาง สมภพ แซ่เฮง ทวีสิน นาวารัตน์ และ วันฉัตร ศิริสาร	389 - 404
ผลของการเตรียมความพร้อมเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงด้วย <i>Trichoderma harzianum</i> ต่อความสามารถในการงอก การเก็บรักษา และการเจริญเติบโตของต้นกล้า ปัทมาวดี คุณวัลลี และ กนกวัน ปลอดจินดา	405 - 416
การสำรวจความหลากหลายชนิดปลาในแม่น้ำสุมุน จังหวัดน่าน อมรชัย ล้อทองคำ และ เขาวลัย ใจสุข	417 - 433
ผลของสถานะการมาเชื้อระดับสเตอริไลซ์ต่อคุณภาพของเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุ กระป๋อง คฤดี พิษย์รัตน์ และ นพรัตน์ มะเห	434 - 448
การคัดเลือกแฝกทนเค็ม 4 แหล่งพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ มัทนภรณ์ ใหม่คามิ และ พิมพ็นารา นิลฤทธิ	449 - 457
การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ Buserelin Acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ Domperidone (DOM) เพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาชิวข้างขวานเล็ก (<i>Trigonostigma espei</i>) อุทร เจริญเดช และ วรวิภา ฤทธิประสง	458 - 472
Synthesis, Characterization, Theoretical Calculation-Based Density Functional Theory and <i>In vitro</i> Cytotoxicity Against Breast Cancer Cell Lines of Ru (<i>p</i> -cymene)(PPh ₃)Cl ₂ Complex Vannara Some, Thamolwan Songsan, Ekkapong Klaimanee, Thitirat Temrarm, Saowanit Saithong, Adisorn Ratanaphan and Nararak Leesakul	473 - 487
การศึกษาแบบจำลองการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนในเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กร่วมกับ อุปกรณ์ไหลเวียนอากาศเสียเพื่อเพิ่มพลังงานจากการแผ่รังสี อมรรัตน์ แก้วประดับ และ สำเริง จักรใจ	488 - 497

Development of Nitrogen Oxides (NOx) Emission Prediction Model of Nam Phong Power Plant with Machine Learning	498 - 509
Wisit Teerawong, Natee Panagant, Sujin Bureerat, Nantiwat Pholdee and Chanoknun Sookkumnerd	
ผลของอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้ง (<i>Chara corallina</i> Willdenow) ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์ และการป้องกันภาวะออกซิเดชัน ในปลาดุกกรัสเซีย (<i>Clarias gariepinus</i> Burchell)	510 - 525
วรรณิณี จันทร์แก้ว วัฒนา วัฒนกุล มนต์สรวง ยางทอง สุริยะ จันทร์แก้ว และ มณี ศรีชนะนนท์	
คุณลักษณะทางเคมีฟิสิกส์และจลนศาสตร์การสลายตัวของไบอ้อยโดยการใช้การวิเคราะห์เทอร์โมกราวิเมตริก	526 - 544
จารุณี เข้มพิลา ภูมินทร์ คงโต และ ชัชฎาภา เกตุวงศ์	
กลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังสำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ในการสุ่มตัวอย่างอย่างง่าย	545 - 556
ณภัทน์จันท์ ค่านสวัสดิ์	

ขนาดอนุภาคและความคงตัวของน้ำนมแพะสเตอริไลซ์เสริมแคลเซียม และการยอมรับของผู้บริโภค

Particle Size and Stability of Calcium Fortified Sterilized Goat Milk and Consumer Acceptance

รุสมิยา อาลี ชรรมรัตน์ สัมมะวัฒนา ดีลา เถาะ ฟารีดา ฮาเว และ พัชรินทร์ กักดีฉนวน *

Rusmeya Arlee, Thammarat Sammawattana, Deela Thoh, Fareeda Hawae and Patcharin Pakdeechanuan *

Received: 19 August 2022, Revised: 24 August 2023, Accepted: 25 September 2023

บทคัดย่อ

การเติมสารประกอบแคลเซียมมีผลต่อขนาดอนุภาคและเหนียวทำให้เกิดตะกอนในผลิตภัณฑ์นม การศึกษานี้เปรียบเทียบขนาดอนุภาคน้ำนมพร้อมมันเนยของน้ำนมแพะดิบ น้ำนมแพะสเตอริไลซ์ และน้ำนมแพะ สเตอริไลซ์ที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟต 360 mg/L ด้วยเครื่อง Laser diffraction Mastersizer X พบว่า มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 0.543, 1.063 และ 2.603 ไมโครเมตร ตามลำดับ การศึกษาปริมาณตะกอนและสีเพื่อเป็นแนวทางในผลิตภัณฑ์เสริมแคลเซียมที่น้ำนมแพะเป็นส่วนผสมได้เปรียบเทียบ 5 ชุดการทดลอง คือ 1) น้ำนมแพะสเตอริไลซ์ 2) น้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์ คือ 3) น้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์ที่มีการเติมคาร์โบไฮเดรต (C) ร้อยละ 0.025 (w/w) 4) เดมไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (DSHP) ร้อยละ 1 (w/w) และ 5) เดมไตรโซเดียมซิเตรท (TSC) ร้อยละ 1 (w/w) ผลการศึกษา พบว่า การเติม DSHP และ TSC ทำให้ค่าความสว่างของน้ำนมลดลง ค่าสีแดงและสีเหลืองของน้ำนมสูงขึ้น และมีผลให้ปริมาณตะกอนเพิ่มขึ้น การเติมสารเพิ่มความคงตัวทุกชนิดไม่ช่วยลดปริมาณตะกอนในน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมตลอดระยะเวลาการเก็บ 90 วัน ผลการสำรวจผู้บริโภคจำนวน 150 คน มี 4 ปัจจัยหลักที่มีผลต่อพฤติกรรมการเลือกซื้อนม ได้แก่ ประโยชน์ต่อสุขภาพ การหาซื้อได้ง่าย เครื่องหมายรับรองคุณภาพต่าง ๆ และความสะดวกในการบริโภค ในงานวิจัยนี้ ผลิตภัณฑ์น้ำนมแพะสเตอริไลซ์ที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคร้อยละ 88.32

คำสำคัญ: น้ำนมแพะ, แคลเซียม, สเตอริไลซ์, สารเพิ่มความคงตัว

ABSTRACT

Addition of calcium compounds affects particle size and induces sedimentation of milk products. This study compared skim milk particle size of raw goat milk, sterilized goat milk, and sterilized goat milk supplemented with 30 mM tricalcium phosphate by Laser diffraction Mastersizer X. The mean particle sizes were 0.543, 1.063 and 2.603 μm , respectively. A study of sediment content and color to be a guideline for calcium supplements containing goat milk was compared in 5 trials: 1) sterilized goat milk, 2) calcium sterilized goat milk, 3) sterilized goat milk treated with calcium and supplemented with 0.025% (w/w) carrageenan (C), 4) 1% (w/w) disodium hydrogen phosphate (DSHP), and 5) 1% (w/w) trisodium citrate (TSC). The results found that the addition of DSHP and TSC resulted in lower milk lightness, higher in red and yellow value, and greater sediment formation. During 90 days of storage, the sediment content of treatments using stabilizers was not different. Based on the findings of a survey involving 150 consumers, four dominant factors emerged as significant influencers of milk purchasing behavior: health benefits, accessibility, quality certifications, and convenience of consumption. In this study, sterilized goat milk fortified with 30 mM tricalcium phosphate was accepted by 88.32% of consumers.

Key words: goat milk, calcium, sterilization, stabilizer

บทนำ

น้ำนมแพะเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะเป็นแหล่งของโปรตีน แคลเซียมและฟอสฟอรัส น้ำนมแพะในพื้นที่ 3 จังหวัดชายแดนใต้มีปริมาณโปรตีนและไขมันร้อยละ 3.02-3.69 และ 3.72-4.17 มีปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส 1,235-1,280 และ 750-1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Jutanan, 2010) แคลเซียมเป็นส่วนประกอบของกระดูกและฟัน ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาท รักษาภาวะสมดุลของกรด-ด่าง และช่วยในการดูดซึมวิตามินบางชนิด ตามคำแนะนำปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย คือ 800-1,000 มิลลิกรัมต่อวัน (Department of health, 2020) ถ้าในหนึ่งวันได้รับแคลเซียมจากน้ำนมเพียงอย่างเดียว จะต้องรับประทานน้ำนมวันละเกือบ 1 ลิตร ซึ่งจะทำให้ได้รับไขมันสูงและมีค่าใช้จ่ายมาก Palacios *et al.* (2021)

รายงานปริมาณการได้รับแคลเซียมของประชากรหลายประเทศในทวีปเอเชียรวมถึงประเทศไทยเฉลี่ยเพียง 600 มิลลิกรัมต่อวัน การมีผลิตภัณฑ์เสริมแคลเซียมจึงเป็นทางเลือกหนึ่งซึ่งตลาดผลิตภัณฑ์นมเสริมแคลเซียมในประเทศไทยมีมูลค่ามากกว่า 2,500 ล้านบาท (Department of Trade Negotiations, 2022) แต่เครื่องดื่มเสริมแคลเซียมจะมีปัญหาเรื่องความคงตัวของผลิตภัณฑ์และเกิดตะกอน (Deeth and Lewis, 2015) โดยการเกิดตะกอนขึ้นกับชนิดของสารประกอบแคลเซียม ปริมาณของแคลเซียมที่เติมในเครื่องดื่ม ค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ และความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ การผลิตนมสเตอริไลซ์ทางการค้านิยมใช้สารเพิ่มความคงตัวหลายชนิดเพื่อลดปัญหาการเกิดตะกอน เช่น คาราจีแนน โดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ไตรโซเดียมซิเตรท คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส กัวร์กัม โคลัส บีน กัม แซนแทนกัม เพคติน และแป้งข้าวโพด (Deeth and Lewis, 2015) การผลิตเครื่องดื่มน้ำนม

ถั่วเหลืองสเตอริไลซ์ พบว่า การใช้สารเพิ่มความคงตัวชนิดคาร์จีแนน ไตรโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และไตรโซเดียมซิเตรท มีผลให้ผลิตภัณฑ์มีปริมาณตะกอนแห้งหลังการให้ความร้อนน้อยกว่าสารเพิ่มความคงตัวชนิดอื่น (Pathomrungsyounggul *et al.*, 2010) Hawae *et al.* (2019) ศึกษาการเสียดสภาพของโปรตีนด้วยเทคนิค Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) ในน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ที่มีการเติมสารประกอบไตรแคลเซียมฟอสเฟต พบพีกในช่วงเลขคลื่น $1600-1500\text{ cm}^{-1}$ มีขนาดพีกใหญ่กว่าน้ำนมที่ไม่เติมสารประกอบไตรแคลเซียมฟอสเฟต แสดงถึงการเสียดสภาพของโปรตีน Singh and Muthukumarappan (2008) รายงานว่า โปรตีนชนิดเบตาเคซีน (β -casein) ในน้ำนมโคสามารถทำปฏิกิริยากับแคลเซียม เกิดการจับกัน (cross-link) มีผลต่อเนื้อสัมผัสและความคงตัวของผลิตภัณฑ์นม และเนื่องจากปริมาณเบตาเคซีนในน้ำนมโคมีประมาณร้อยละ 50 แตกต่างจากน้ำนมแพะที่มีปริมาณเบตาเคซีนประมาณร้อยละ 70 (Jutanan, 2010) รวมทั้งยังมีสัดส่วนของโปรตีนชนิดแอลฟา-เอส 1 (α -s1) และแอลฟา เอส-2 เคซีน (α -s2 casein) ที่แตกต่างกัน จึงควรมีผลการศึกษาในน้ำนมแพะเพื่อให้มีข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้

ขนาดอนุภาคของน้ำนมสัมพันธ์กับการเกิดตะกอน การเสียดสมมูลของแร่ธาตุในน้ำนมมีผลให้เกิดการจับกันของแร่ธาตุในน้ำนมกับโปรตีนนม ทำให้มีขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นและมีแนวโน้มเกิดตะกอนมากขึ้น งานวิจัยนี้ศึกษาขนาดอนุภาควิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Laser diffraction Mastersizer X เปรียบเทียบอนุภาคของน้ำนมแพะดิบ น้ำนมแพะสเตอริไลซ์ และน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์ รวมทั้งศึกษาผลของสารเพิ่มความคงตัวต่อการเกิดตะกอนในน้ำนมแพะเพื่อเป็นข้อมูลในการทำผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำนมแพะเป็นส่วนผสม และศึกษาทัศนคติของผู้บริโภคต่อ

ผลิตภัณฑ์น้ำนมแพะสเตอริไลซ์เพื่อใช้เป็นข้อมูลการส่งเสริมการบริโภค

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างน้ำนมแพะ

น้ำนมแพะที่ใช้ในการทดลองได้จากแพะนมลูกผสมที่มีระดับสายเลือดของพันธุ์ซาแนน ร้อยละ 75 จากศูนย์วิจัยและพัฒนาแพะแกะ จังหวัดยะลา อยู่ในช่วงการให้นม (lactation number) ที่ 2-3 และให้น้ำนมมาแล้ว (day in milk, DIM) 50-70 วัน เก็บตัวอย่างน้ำนมในตอนเช้า บรรจุในถุงพลาสติกและเก็บในกล่องโฟมบรรจุน้ำแข็งควบคุมอุณหภูมิ 2-6 องศาเซลเซียส ตัวอย่างน้ำนมแพะที่นำเข้าสู่การทดลองผ่านเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติเรื่องน้ำนมแพะดิบ TACFS 6006 - 2008 (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standard, 2008) คือ ค่าพีเอช ปริมาณโปรตีนไขมัน ของแข็งทั้งหมด น้ำตาลแล็กโทส การดัมในน้ำเตีอด ความถ่วงจำเพาะและการเปลี่ยนสีของเมทิลีนบลู

2. การศึกษาผลของความร้อนและการเสริมแคลเซียมต่อขนาดอนุภาคของน้ำนมแพะสเตอริไลซ์

เปรียบเทียบน้ำนมแพะดิบ น้ำนมแพะสเตอริไลซ์ และน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟต (TCP) รวม 3 ชุดการทดลอง ความเข้มข้นของไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ใช้ คือ $360\text{ mg}/100\text{ mL}$ เพื่อให้มีปริมาณแคลเซียม 100% RDI (Recommended Daily Intake) ต่อเสริมฟ น้ำนมทุกชุดการทดลองถูกโฮโมจิไนซ์ด้วยเครื่องโฮโมจิไนซ์ชนิดความดันสูง แบบ 2 สเตจ (Two-stage high pressure homogenizer) (รุ่น PHB-100A, ประเทศไทย) ที่ความดัน 2,500 และ 500 psi แล้วจึงนำไปสเตอริไลซ์ โดยการบรรจุน้ำนมแพะในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 307×112 น้ำหนักน้ำนม 180 กรัมต่อกระป๋อง ไล่อากาศที่อุณหภูมิ $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ในอุโมงค์

ไอน้ำ ปิดฝากระป๋องด้วยเครื่องปิดผนึก และฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 °C ในหม้อฆ่าเชื้อระบบไอน้ำ (Steam retort รุ่น STST50150, ประเทศไทย) มีการบันทึกข้อมูลการแทรกผ่านความร้อน คำนวณเวลาในการฆ่าเชื้อโดยให้การฆ่าเชื้อมีค่า F_0 เท่ากับ 3 นาที ใช้การคำนวณตามวิธี Formula method (Sharma *et al.*, 2000) ในการวิเคราะห์ขนาดอนุภาคน้ำนม (Particle size) นำตัวอย่างน้ำนมแพะไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อกำจัดส่วนที่เป็นไขมันก่อนตรวจสอบขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Laser diffraction Mastersizer X ตามวิธีการของ Ramos and Juarez (2011)

ตารางที่ 1 ชุดการทดลองเพื่อศึกษาผลของสารเพิ่มความคงตัวต่อการเกิดตะกอนและสีของน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์

ชุดการทดลอง	ชนิดและความเข้มข้นของสารเพิ่มความคงตัว (w/w)
น้ำนมแพะดิบ	-
น้ำนมแพะดิบที่เติมสารประกอบ Tri-calcium phosphate ความเข้มข้น 360 mg/mL	-
	0.025% Carrageenan (C)
	1% Tri-sodium citrate (TSC)
	1% Disodium hydrogen phosphate (DSHP)

3.1 วิเคราะห์ปริมาณตะกอนโดยการนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 3,000 g นาน 20 นาที อุณหภูมิ 25 °C แล้วนำตะกอนไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 °C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ คำนวณร้อยละของปริมาณตะกอน (% dry sediment) ต่อน้ำหนักน้ำนม ดัดแปลงจาก Pathomrungsyounggul *et al.* (2010) ตามสมการ

$$\text{Dry sediment (\%)} = \left(\frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ}}{\text{น้ำหนักหลังอบ}} \right) * 100 \quad (1)$$

3. การศึกษาผลของสารเพิ่มความคงตัวต่อการเกิดตะกอนและสีของน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์

เปรียบเทียบการเกิดตะกอนและสีของน้ำนมแพะ 5 ชุดการทดลอง ดังรายละเอียดในตารางที่ 1 ความเข้มข้นของสารเพิ่มความคงตัวชนิดคาร์ราเจนน ไตรโซเดียมซิเตรท และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตใช้ตามงานวิจัยของ Boumpa *et al.* (2008) และ Pathomrungsyounggul *et al.* (2010) สเตอริไลซ์ตามวิธีการในข้อ 2 เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง นาน 90 วัน วิเคราะห์การเกิดตะกอนทุก ๆ 15 วัน วิเคราะห์สีในวันที่ 0 และวันที่ 90

3.2 วิเคราะห์สี ด้วยเครื่อง Hunter Lab Color Quest XE (รุ่น EZ 4500L, ประเทศสวีตเซอร์แลนด์) ระบบสีแบบ CIE รายงานเป็น L^* a^* และ b^* โดยที่แกน L^* หมายถึงความสว่าง (lightness) มีค่า 0 ถึง 100 โดยค่า 0 แสดงถึงสีดำจนไปถึง 100 แสดงถึงสีขาวหรือสว่าง ส่วนแกน a^* หมายถึงแกนสีเขียว ($-a^*$) ไปจนถึงแดง ($+a^*$) และแกน b^* หมายถึงแกนสีจากน้ำเงิน ($-b^*$) ไปเหลือง ($+b^*$) และคำนวณค่าความแตกต่างของค่าสีทั้งหมด (total color change, ΔE) ตามวิธีของ Guerra-Hernandez *et al.* (2002) โดยมีสูตรการคำนวณ คือ

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (2)$$

โดย $\Delta L = L - L_0$, $\Delta a = a - a_0$ และ $\Delta b = b - b_0$
 L , a และ b คือ สีของตัวอย่างน้ำนมเสริม
 แคลเซียมที่เติมสารเพิ่มความคงตัวชนิดต่าง ๆ
 L_0 , a_0 และ b_0 คือ สีของตัวอย่างน้ำนมชุดควบคุม

4. การยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อน้ำนมแพะเสริมแคลเซียม

ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทั่วไปที่มีต่อผลิตภัณฑ์น้ำนมแพะเสริมแคลเซียม จำนวน 150 คน การประเมินได้ให้ผู้บริโภคตอบแบบสอบถามที่มีเนื้อหาแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ 1) ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม 2) ทักษะคิดและพฤติกรรม การซื้อผลิตภัณฑ์นม และ 3) ความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์น้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์ ตามระดับความสำคัญ 5 ระดับคะแนน (1 คือ น้อยที่สุด และ 5 คือ มากที่สุด) และร้อยละการยอมรับของผลิตภัณฑ์ สถานที่ทำการสำรวจเป็นพื้นที่ในอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี

5. สถิติที่ใช้ในการทดลอง

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

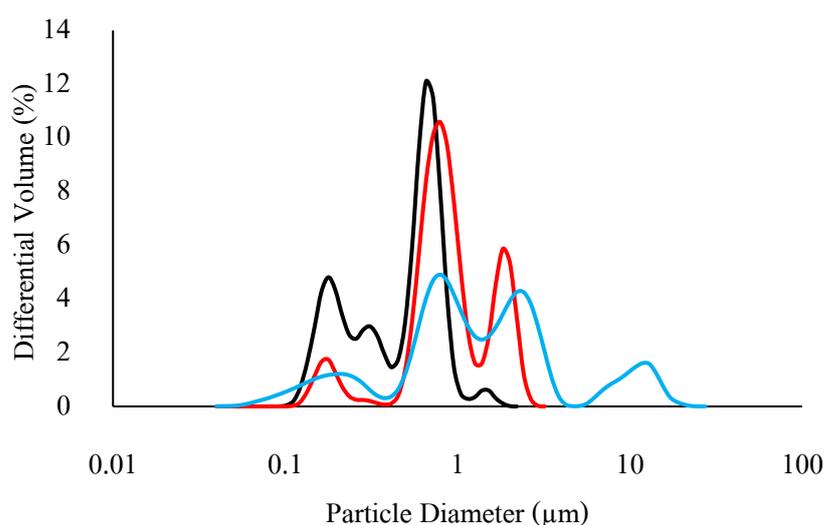
1. ผลของความร้อนและการเสริมแคลเซียมต่อขนาดอนุภาคของน้ำนมแพะสเตอริไลซ์

การเปรียบเทียบขนาดอนุภาค โปรตีนนมของน้ำนมแพะดิบ น้ำนมแพะสเตอริไลซ์ และน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์ พบว่า อนุภาคของน้ำนมแพะที่ไม่ผ่านความร้อนมีการกระจายตัวของ

ขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.084-2.207 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 0.543 ไมโครเมตร น้ำนมแพะสเตอริไลซ์มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.102-3.205 ไมโครเมตร และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 1.063 ไมโครเมตร ซึ่งใหญ่กว่าน้ำนมแพะไม่สเตอริไลซ์ 1.96 เท่า การได้รับความร้อนระดับสเตอริไลซ์ทำให้เวย์โปรตีนเสียสภาพ โครงสร้างเกิดการคลายตัวและแยกส่วนที่ไม่มีขั้วออกมา เช่น หมู่ thiol อิสระในโมเลกุลของ Beta-lactoglobulin ดังนั้นบนผิวของอิมัลชันจึงมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และส่งเสริมให้เกิดการจับกันระหว่างโปรตีนเคซีนกับโปรตีนเวย์ที่เสียสภาพ และระหว่างโปรตีนเวย์ที่เสียสภาพด้วยกัน เกิดสารประกอบเชิงซ้อนทำให้ขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น (Pesic *et al.*, 2012) ส่วนน้ำนมแพะที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟตแล้วสเตอริไลซ์มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคตั้งแต่ 0.040-27.39 ไมโครเมตร มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 2.603 ไมโครเมตร ซึ่งใหญ่กว่าน้ำนมแพะที่ไม่ได้เติมสารประกอบแคลเซียม 2.45 เท่า การเติมสารประกอบไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีผลให้ขนาดของอนุภาคใหญ่ขึ้นส่วนหนึ่งมาจากการละลายน้ำไม่หมดของสารประกอบไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Münchbach and Gerstner, 2010) และอีกเหตุผลหนึ่งคือ เกี่ยวข้องกับการรบกวนสมดุลของแคลเซียมในน้ำนม ซึ่งแคลเซียมไอออนมีบทบาทสำคัญต่อความคงตัวต่อความร้อนของน้ำนม มีผลต่อการทำให้น้ำนมตกตะกอนและมีผลต่อสมบัติเชิงรีโอโลยีของโปรตีนนม น้ำนมที่มีค่าพีเอชปกติจะมีแคลเซียมทั้งหมดน้อยกว่าร้อยละ 10 อยู่ในรูปของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ซึ่งเป็นไอออนประจุบวกที่มีมากที่สุดคือน้ำนมและจะต้านไอออนประจุลบที่บริเวณผิวของเคซีนไมเซลล์ (Lewis, 2010) การเติมแคลเซียมไอออนประจุสองบวกมีผลต่อการกระจายตัวของแร่ธาตุระหว่างเฟสน้ำและเฟสไมเซลล์ ทำให้

เกิดการเสียดสีสมดุล ประจุบวกของแคลเซียมไอออนจับกับประจุลบของแคปซูลเคซีนที่อยู่บริเวณผิวเคซีน ไมเซลล์ส่งผลให้แรงผลักระหว่างอนุภาคเคซีน ไมเซลล์ลดลง ทำให้เคซีนแต่ละไมเซลล์สามารถรวมตัวกันเกิดเป็นกลุ่มอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ (Kaushik *et al.*, 2014) และยังมีรายงานวิจัยว่า สารประกอบแคลเซียมเพิ่มการเสียดสีของโปรตีน โดยในการศึกษาความคงตัวของน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ที่มีการเติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต ด้วยเทคนิค

Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) พบพีกในช่วงเลขคลื่น $1600-1500\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นตำแหน่งที่บ่งบอกถึงโครงสร้างโปรตีนลำดับที่สอง มีขนาดพีกใหญ่กว่าน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ที่ไม่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต แสดงถึงการเสียดสีของโปรตีนนมแพะ (Hawae *et al.*, 2019) เพราะแคลเซียมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมดุลแร่ธาตุในน้ำนม มีผลให้โปรตีนเคซีนเสียดสีสมดุลและเกิดการจับกันเอง (McMahon and Oommen, 2013)



ภาพที่ 1 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคของน้ำนมแพะดิบ (-) น้ำนมแพะสเตอริไลซ์ (-) และน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์ (-)

2. ผลของความร้อน การเสริมสารประกอบแคลเซียม และสารเพิ่มความคงตัวต่อการเกิดตะกอนและสีของน้ำนมแพะระหว่างการเก็บรักษา

2.1 การเกิดตะกอน

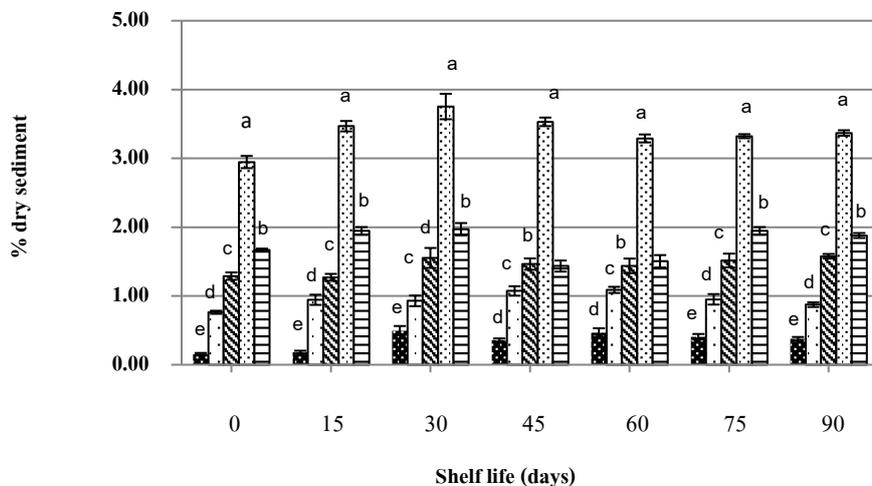
ปัจจัยด้านตะกอนและสีมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บนานอย่างน้ำนมสเตอริไลซ์ การเติมสารประกอบแคลเซียมมีผลต่อขนาดอนุภาคและการเกิดตะกอน เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของน้ำนมแพะที่เสริมแคลเซียม และศึกษาผลของการใช้สารเพิ่มความคงตัวต่อปริมาณตะกอนระหว่างการเก็บ

ของผลิตภัณฑ์สเตอริไลซ์ 5 ชุดการทดลอง เป็นเวลา 90 วัน พบว่า ในวันที่ 0 ชุดการทดลองควบคุมซึ่งเป็นน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ที่ไม่มีการเสริมสารประกอบแคลเซียมมีปริมาณตะกอนน้อยที่สุด ($p \leq 0.05$) เพียงร้อยละ 0.16 ± 0.02 (ภาพที่ 2) ปริมาณตะกอนใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Chen *et al.* (2012) ที่ศึกษาในน้ำนมแพะเช่นกัน เมื่อเก็บเป็นเวลา 90 วัน ชุดการทดลองควบคุมนี้มีปริมาณตะกอนเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บเนื่องจากความร้อนระดับสเตอริไลซ์ทำลายพันธะไดซัลไฟด์ทำให้โครงสร้างของโปรตีนเคซีนเสียดสีภาพจับตัวรวมกัน และจับตัวกันมากขึ้นเมื่อการเก็บ

นานขึ้นจึงเกิดตะกอนเพิ่มขึ้น (Pesic *et al.*, 2014) ชุดการทดลองที่เกิดตะกอนรองลงมาคือน้ำนมแพะที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว มีปริมาณตะกอนร้อยละ 0.76 ± 0.02 การเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตมีผลให้ปริมาณตะกอนเพิ่มขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนเพิ่มขึ้นทำให้ประจุบวกของแคลเซียมไอออนสามารถจับกับประจุลบของแคปซูลเคซีนที่อยู่บริเวณผิวเคซีนไมเซลล์ส่งผลให้แรงผลักระหว่างอนุภาคลดลง โปรตีนเคซีนแต่ละไมเซลล์สามารถรวมตัวกันเกิดเป็นกลุ่มอนุภาคที่มีขนาดใหญ่และมีมวลมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการตกตะกอนเพิ่มขึ้น Tsioulpas *et al.* (2010) รายงานว่าในน้ำนมโคสเตอริไลซ์ปริมาณตะกอนที่เกิดขึ้นสัมพันธ์กับขนาดเคซีนไมเซลล์ที่เพิ่มขึ้น

การทดลองใช้สารเพิ่มความคงตัว 3 ชนิด คือ 1) คาร์ราจีแนน 2) ไคโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และ 3) ไคโซเดียมซิเตรท เติมน้ำนมแพะเสริมแคลเซียม พบว่า การเติมสารทั้ง 3 ชนิด มีผลให้น้ำนมแพะสเตอริไลซ์มีปริมาณตะกอนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 2) การเติมคาร์ราจีแนนมีปริมาณ

ตะกอนน้อยกว่าการเติมไคโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตและไคโซเดียมซิเตรท อาจเนื่องจากไคโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตสามารถแตกตัวเป็นไคโซเดียมไอออน (Na^+) และฟอสเฟตไอออน (PO_4^{3-}) จับกับแคลเซียม เกิดเป็นโมเลกุลของไคโซเดียมฟอสเฟตและแคลเซียมฟอสเฟต ส่งผลให้แรงผลักระหว่างอนุภาคลดลง ทำให้เคซีนแต่ละไมเซลล์สามารถรวมตัวกันเกิดเป็นกลุ่มอนุภาคที่มีขนาดใหญ่และมีมวลมากขึ้น จึงเกิดตะกอนเพิ่มขึ้น ส่วนไคโซเดียมซิเตรทนั้นสามารถแตกตัวเป็นไคโซเดียมไอออน (Na^+) กับซิเตรทไอออน ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$) ไคโซเดียมไอออนจับกับหมู่ฟอสเฟตที่ผิวของเคซีนไมเซลล์ ส่วนซิเตรทไอออนจะจับกับแคลเซียมฟอสเฟต ทำให้แรงผลักระหว่างอนุภาคลดลง (Boumpa *et al.*, 2008) การเก็บน้ำนมแพะสเตอริไลซ์เป็นเวลา 90 วัน และสุ่มตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณตะกอนทุก ๆ 15 วัน พบว่า ปริมาณตะกอนในชุดการทดลองนั้น ๆ ใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 2 ผลของการเสริมแคลเซียมร่วมกับสารเพิ่มความคงตัวต่อร้อยละตะกอนของนมแพะสเตอริไลซ์ ตลอดการเก็บรักษานาน 90 วัน ในชุดการทดลอง Control (■), Tricalcium phosphate (TCP) (□), TCP+Caragenan (▨), TCP+Disodium hydrogen phosphate (▩) และ TCP+Trisodium citrate (▧) * ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันมีความหมายแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของแต่ละแท่งที่แตกต่างกัน ณ วันที่วิเคราะห์เดียวกัน

2.2 ค่าสี

ผลการวิเคราะห์ค่าสีของน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ด้วยเครื่อง Hunter color lab ในวันที่ 0 พบว่า ชุดการทดลองที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟต มีค่า L^* สูงสุดเท่ากับ 82.76 ± 0.46 รองลงมาคือชุดการทดลองที่เสริมแคลเซียมร่วมกับคาราจีแนน เท่ากับ 81.63 ± 0.33 ในขณะที่ตัวอย่างชุดควบคุม (น้ำนมแพะดิบ) ค่า L^* เท่ากับ 78.82 ± 0.54 แตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) สารประกอบไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่มีสีขาวทำให้ผลิตภัณฑ์มีค่า L^* มากขึ้น ในขณะที่การเสริมไตรโซเดียมซิเตรท และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตค่า L^* เท่ากับ 71.19 ± 0.42 และ 67.10 ± 0.41 ตามลำดับ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์นานขึ้นพบว่า ค่า L^* ของน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ ทั้ง 5 ชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลง Devi *et al.* (2015) ได้รายงานสาเหตุที่ทำให้ค่าความสว่าง L^* ของน้ำนมลดลงระหว่างการเก็บเกิดจากการแตกออก (dissociation) ของโครงสร้างโปรตีนเคซีน

ค่าสี a^* ซึ่งหมายถึง สีเขียว (-) หรือความเป็นสีแดง (+) พบว่า ชุดการทดลองควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.71 ± 0.03 เป็นค่าที่น้อยที่สุด ถัดมาเป็นชุดการทดลองของน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมที่มีการเติมคาราจีแนน โดยมีค่า 0.75 ± 0.04 ในขณะที่การเติมไตรโซเดียมซิเตรท และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตมีค่า a^* เท่ากับ 4.75 ± 0.05 และ 6.95 ± 0.06 ตามลำดับ และเมื่อเวลาที่เก็บนานขึ้นค่า a^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น Tsioulpas *et al.* (2010)

รายงานว่าการเติมไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตในนมที่ให้ความร้อนแบบสเตอริไลซ์ระหว่างอายุการเก็บนาน 6 เดือน น้ำนมมีสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นจากสีน้ำตาลของปฏิกิริยาเมลลาร์ด ส่วนค่า b^* แสดงถึงค่าน้ำเงิน (-) หรือความเป็นสีเหลือง (+) ค่า b^* มีแนวโน้มสัมพันธ์กับค่า a^* เมื่อนำค่า a^* และ b^* ของตัวอย่างที่ได้เทียบกับการบรรยายสีในระบบ CIE Lab ที่มองในระนาบ 2 มิติ ตัวอย่างมีลักษณะออกโทนสีเหลืองอ่อน และเมื่อผู้วิจัยสังเกตด้วยสายตา พบว่า น้ำนมสเตอริไลซ์มีสีออกสีเหลือง สอดคล้องกับค่าที่วัดได้ด้วยเครื่อง Hunter color lab การเก็บรักษานาน 90 วัน พบว่า ทุกตัวอย่างมีค่า a^* และ b^* เพิ่มขึ้น

ค่าความแตกต่างของค่าสีทั้งหมด (ΔE) ของน้ำนม เปรียบเทียบค่าสีวันที่ 0 กับวันที่ 90 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่มีการเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟต และใช้สารเพิ่มความคงตัวชนิดคาราจีแนนมีค่าความแตกต่างของค่าสีทั้งหมด (ΔE) ของน้ำนมน้อยที่สุดในขณะที่การเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตร่วมกับสารเพิ่มความคงตัวชนิดไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตมีค่า ΔE มากที่สุด เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น พบว่า สีของน้ำนมชุดควบคุมกับน้ำนมที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟต และน้ำนมที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่มีสารเพิ่มความคงตัวชนิดคาราจีแนน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ผลของการเติมไตรแคลเซียมฟอสเฟตร่วมกับสารเพิ่มความคงตัวต่อค่าสี L^* , a^* และ b^* และค่าความแตกต่างของค่าสีทั้งหมด (ΔE) ของน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ที่เก็บนาน 90 วัน

Treatments	CIE	Days	
		0	90
Control		78.82 ± 0.54^c	78.30 ± 0.31^c
TCP		82.76 ± 0.46^a	81.48 ± 0.52^a
TCP+C	L^*	81.63 ± 0.33^b	80.74 ± 0.29^b
TCP+DSHP		67.10 ± 0.41^c	65.20 ± 0.57^c

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Treatments	CIE	Days	
		0	90
TCP+TSC		71.19±0.42 ^d	69.64±0.36 ^d
Control		0.71±0.03 ^c	1.26±0.02 ^d
TCP		0.92±0.03 ^c	1.45±0.07 ^c
TCP+C	a*	0.75±0.04 ^d	1.04±0.03 ^c
TCP+DSHP		6.95±0.06 ^a	7.98±0.21 ^a
TCP+TSC		4.75±0.05 ^b	6.95±0.04 ^b
Control		11.77±0.26 ^c	12.83±0.06 ^c
TCP		12.70±0.18 ^c	14.09±0.36 ^c
TCP+C	b*	12.27±0.08 ^d	13.51±0.11 ^d
TCP+DSHP		19.99±0.15 ^a	21.46±0.65 ^a
TCP+TSC		16.80±0.18 ^b	19.96±0.18 ^b
Control		-	-
TCP		3.97±0.45 ^c	3.43±0.37 ^c
TCP+C	ΔE	2.88±0.64 ^d	2.54±0.06 ^d
TCP+DSHP		15.69±0.55 ^a	12.58±0.68 ^b
TCP+TSC		10.07±0.54 ^b	17.14±0.13 ^a

^{a-e} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกัน มีความหมายแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

TCP= Tricalcium phosphate

C= Carrageenan

TSC= Trisodium citrate

DSHP= Disodium hydrogen phosphate

3. การยอมรับผลิตภัณฑ์น้ำนมแพะเสริมแคลเซียม สเตอริไลซ์ของผู้บริโภค

3.1 การสำรวจปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อ ผลิตภัณฑ์นม

ผลการสำรวจผู้บริโภคในพื้นที่จังหวัดปัตตานี จำนวน 150 คน พบว่า ผู้บริโภคมีภูมิลำเนาอยู่ใน 5 จังหวัดภาคใต้ตอนล่าง คือ สงขลา สตูล ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส ส่วนใหญ่นับถือศาสนาอิสลาม คิดเป็นร้อยละ 83.33 โดยเป็นเพศหญิงร้อยละ 51.33 อยู่ในช่วงอายุ 21-29 ปี มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ

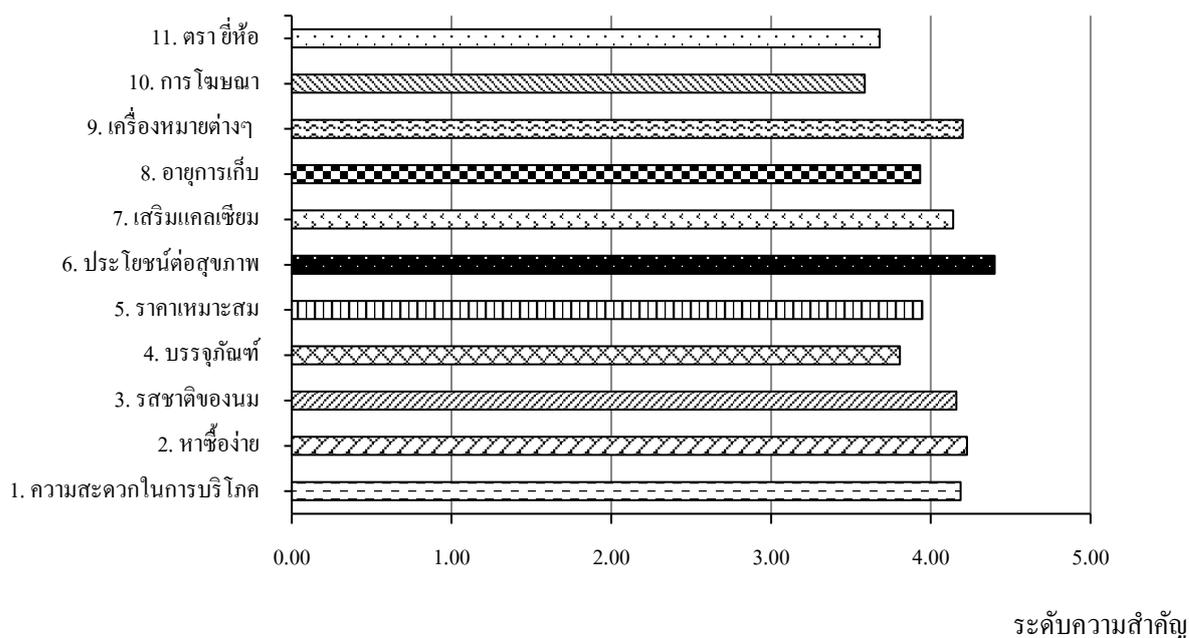
60.67 รองลงมาเป็นช่วงอายุน้อยกว่า 20 ปี และ 30-39 ปี คิดเป็นร้อยละ 22 และร้อยละ 12.67 ตามลำดับ

การสำรวจปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์นมใช้เกณฑ์การให้คะแนน 5 ระดับ ในปัจจัยต่อไปนี้ 1) ความสะดวกในการบริโภค 2) สามารถหาซื้อได้ง่าย 3) รสชาติของนม 4) บรรจุภัณฑ์ 5) ราคาเหมาะสม 6) ประโยชน์ต่อสุขภาพ 7) การเสริมแคลเซียม 8) อายุการเก็บ 9) เครื่องหมายรับรองคุณภาพต่าง ๆ 10) การโฆษณาประชาสัมพันธ์ และ 10) ตราหรือยี่ห้อ จากภาพที่ 3 ผู้บริโภคให้ความสำคัญกับประโยชน์ต่อสุขภาพ

สูงสุด รองลงมาคือ หาซื้อง่าย เครื่องหมายรับรองคุณภาพต่าง ๆ และความสะดวกในการบริโภค ได้คะแนนเท่ากับ 4.40 ± 0.68 , 4.23 ± 0.70 , 4.20 ± 0.77 และ 4.19 ± 0.53 ตามลำดับ ผู้บริโภคให้ความสำคัญต่อสุขภาพมากโดยมักจะเลือกรับประทานสิ่งที่มีประโยชน์ต่อร่างกายซึ่งผลิตภัณฑ์นมเป็นอาหารลำดับแรก ๆ ที่ผู้บริโภคมักจะนึกถึง อีกทั้งความ

สะดวกต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์นมดังกล่าวต้องสามารถหาซื้อได้ง่าย และยังให้ความสำคัญกับเครื่องหมายรับรองคุณภาพต่าง ๆ เช่น เครื่องหมายออย. และเครื่องหมายฮาลาล แสดงถึงความปลอดภัย ความสะอาดของอาหาร ความน่าเชื่อถือและการรับรองสิ่งอนุมัติในทางศาสนาอิสลาม

ปัจจัยที่มีอิทธิพล



ภาพที่ 3 ระดับความสำคัญของปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์นมแพะพาสเจอร์ไรซ์หรือสเตอริไลซ์ของผู้บริโภคจำนวน 150 คน

3.2 การประเมินความชอบและการยอมรับผลิตภัณฑ์ นำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์

ผลการประเมินความชอบในแต่ละคุณลักษณะต่าง ๆ ของนํานมแพะสเตอริไลซ์ที่เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตความเข้มข้น 360 mg/L พบว่า ผู้บริโภคชอบผลิตภัณฑ์นํานมแพะเสริมแคลเซียม ด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส รสชาติ และเนื้อสัมผัส ในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง (ตารางที่ 3) คะแนนด้านกลิ่นรสมีคะแนนความชอบน้อยกว่าคุณลักษณะอื่น ๆ เนื่องจากตามธรรมชาติของนํานม

แพะจะมีกลิ่นสาบ ซึ่งเป็นกลิ่นของสารประกอบกรดไขมันที่มีสายโซ่ข้าง เช่น สารประกอบกรด 4-เมทิล ออกทาโนอิก (4-methyl octanoic acid) และ 4-เอทิล ออกทาโนอิก (4-ethyl octanoic acid) (Chilliard *et al.*, 2003) ทำให้เป็นปัญหาต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ผู้บริโภคบางส่วนได้เสนอให้เพิ่มรสชาติอื่น ๆ เช่น รสช็อกโกแลต รสชาเขียว หรือรสสตรอเบอร์รี่ เพื่อลดกลิ่นสาบนํานมแพะ คะแนนประเมินด้านการยอมรับผลิตภัณฑ์ผู้บริโภครับร้อยละ 88.32 ให้การยอมรับในระดับสูง

ตารางที่ 3 ผลการประเมินความชอบและการยอมรับน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์*

รายการประเมิน	ผลการประเมิน
ระดับความชอบ**	
ลักษณะปรากฏ	7.02 ± 1.72
กลิ่นรส	6.47 ± 1.83
รสชาติ	6.85 ± 1.66
เนื้อสัมผัส	7.02 ± 1.38
ความชอบโดยรวม	7.11 ± 1.14
การยอมรับน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์ (%)	88.32

* ผู้ประเมิน 150 คน

** แบบประเมิน 9-point hedonic scale (1=ไม่ชอบมากที่สุด 9=ชอบมากที่สุด)

สรุป

ความร้อนระดับสเตอริไลซ์ทำให้ขนาดอนุภาคของโปรตีนนมเพิ่มจาก 0.543 ไมโครเมตร เป็น 1.063 ไมโครเมตร น้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์มีขนาดอนุภาค 2.603 ไมโครเมตร ขนาดอนุภาคใหญ่กว่าน้ำนมแพะดิบ 4.79 เท่า และใหญ่กว่าน้ำนมแพะสเตอริไลซ์ 2.45 เท่า ส่งผลให้มีปริมาณตะกอนในผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น การเติมสารเพิ่มความคงตัวชนิด 3 ชนิด คือ คาราจีแนน ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และไตรโซเดียมซิเตรท ทำให้เกิดตะกอนมากกว่าการไม่เติมสารเพิ่มความคงตัว การเก็บน้ำนมแพะเสริมแคลเซียมสเตอริไลซ์เป็นเวลา 90 วัน ปริมาณตะกอนในชุดการทดลองที่มีแคลเซียมและเติมไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตมีตะกอนมากกว่าชุดการทดลองอื่น ($p < 0.05$) และมีผลต่อค่าความสว่าง สีแดง สีเหลืองและความแตกต่างของค่าสีในผลิตภัณฑ์ ผลการสำรวจผู้บริโภคจำนวน 150 คน พบว่า ให้ความสำคัญกับประโยชน์ต่อสุขภาพสูงสุด รองลงมาคือหาซื้อได้ง่าย มีเครื่องหมายรับรองคุณภาพ และมีความสะดวกในการบริโภค โดยผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์น้ำนมแพะสเตอริไลซ์เสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟตความเข้มข้น 360 mg/L ในระดับสูงถึงร้อยละ 88.32

เอกสารอ้างอิง

- Boumpa, T., Tsioulpas, A., Grandison, A. S. and Lewis, M.J. 2008. Effects of phosphates and citrate on sediment formation in UHT goats' milk. **Journal of Dairy Research** 75(2): 160-166.
- Chen, B.Y., Grandison, A.S. and Lewis, M.J. 2012. Comparison of heat stability of goat milk subjected to ultra-high temperature and in-container sterilization. **Journal of Dairy Science** 95(3): 1057-1063.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J. and Lamberet, G. 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. **Journal of Dairy Science** 86(5): 1751-1770.
- Deeth, H.C. and Lewis, M.J. 2015. Practical consequences of calcium addition to and removal from milk and milk products. **International Journal of Dairy Technology** 68(1): 1-11.

- Department of health. 2020. **Thai recommended daily intakes.** A.V. Progressive, Bangkok. (in Thai)
- Department of Trade Negotiations. 2022. **Milk and milk products.** Available source: [https://www.dtn.go.th/th/file/get/file/milk and milk products](https://www.dtn.go.th/th/file/get/file/milk%20and%20milk%20products), August 22, 2022 (in Thai)
- Devi, A.F., Buckow, R., Singh, T., Hemar, Y. and Kasapis, S. 2015. Color change and proteolysis of skim milk during high pressure thermal-processing. **Journal of Food Engineering** 147: 102-110.
- Guerra-Hernandez, E., Leon, C., Garcia-Vaillanova, B. and Romera, J.M. 2002. Chemical changes in powdered infant formulas during storage. **International Journal of Dairy Technol** 55(4): 171-176.
- Hawae, F., Pinkaew, S. and Pakdeechanuan, P. 2019. Application of fourier transform infrared spectroscopy for analysis the stability of calcium fortified sterilized goat, cow and soy milk, pp. 34-41. *In The 21st Food Innovation Asia Conference 2019.* Food Science and Technology Association of Thailand, Bangkok.
- Jutanan, M. 2010. Characteristic of goat milk collected from enterprises in three southern border provinces. Master of Science (Food Science and Nutrition), Prince of Songkla University. (in Thai)
- Kaushik, R., Sachdeva, B. and Arora, S. 2014. Heat stability and thermal properties of calcium fortified milk. **CyTA- Journal of Food** 13(2): 1-7.
- Lewis, J.M. 2010. The measurement and significance of ionic calcium in milk-A review. **International Journal of Dairy Technology** 64(1): 1-13.
- McMahon, D.J. and Oommen, B.S. 2013. **Casein micelle structure, functions and Interactions: Advanced Dairy Chemistry: Proteins.** 4th ed. Springer, New York.
- Münchbach, M. and Gerstner, G. 2010. Calcium fortification in dairy products. **Food Marketing and Technology** 24: 4-8.
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standard. 2008. **Raw goat milk.** Available source: https://www.acfs.go.th/standard/download/raw_goat_milk.pdf, June 2, 2022. (in Thai)
- Palacios, C., Cormick, G., Hofmeyr, G.J., Garcia-Casal, M.N., Peña-Rosas, J.P. and Betrán, A.P. 2021. Calcium-fortified foods in public health programs: considerations for implementation. **Annals of the New York Academy of Science** 1485(1): 3-21.
- Pathomrungsinyounggul, P., Lewis, M.J. and Grandison, A.S. 2010. Effects of calcium-chelating agents and pasteurization on certain properties of calcium-fortified soy milk. **Food Chemistry** 118(3): 808-814.
- Pesic, M.B., Barac, M.B., Stanojevic, S.P., Ristic, N.M., Macej, O.D. and Vrvic, M.M. 2012. Heat induced casein-whey protein interactions at natural pH of milk: A comparison between caprine and bovine milk. **Small Ruminant Research** 108(1): 77-86.
- Pesic, M.B., Barac, M.B., Stanojevic S.P. and Vrvic, M.M. 2014. Effect of pH on heat-induced

- casein- whey protein interactions: A comparison between caprine milk and bovine milk. **International Dairy Journal** 39(1): 178-183.
- Ramos, M. and Juarez, M. 2011. Sheep milk. **Encyclopedia of Dairy Sciences** 3(2): 494-502.
- Sharma, S. K., Mulvaney, S. J. and Rizvi, S. S. H. 2000. **Food Process Engineering**. John Wilen & Son Inc, Toronto, Canada.
- Singh, G. and Muthukumarappan, K. 2008. Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt. **LWT - Food Science and Technology** 41(7): 1145-1152.
- Tsioulpas, A., Koliandris, A., Grandison, A. S. and Lewis, M. J. 2010. Effects of stabilizer addition and in- container sterilization on selected properties of milk related to casein micelle stability. **Food chemistry** 122(4): 1027-1034.

การสำรวจแมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิในไก่ไข่ในฟาร์มระบบเปิด ในอำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช

Survey on the Intermediate Hosts of the Layer Parasites in an Open-Farm System in Na Bon District, Nakhon Si Thammarat Province

พรพิชฌา อุทัยรักษ์ เวชกา ลีละสกุลมีเกียรติ วิภาพร จารุจารีต และ คมปกร ตาณะสุด *

Pornpitcha Uttayarak, Wetaka Leelasakulmeekead, Wipaporn Jarujareet and Khompakorn Thanasut *

Received: 26 April 2022, Revised: 11 January 2023, Accepted: 26 January 2023

บทคัดย่อ

ปรสิตภายในทางเดินอาหารของสัตว์ เป็นสาเหตุสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ไข่ เนื่องจากทำให้สมรรถนะการผลิตลดลง ปรสิตบางชนิดจำเป็นต้องอาศัยโฮสต์กึ่งกลาง ยกตัวอย่างเช่นไส้เดือนดิน แมลงวันบ้าน มด ค้าง และตักแตน เป็นต้น ปรสิตจึงจะสามารถเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตพยาธิเพื่อเพิ่มจำนวนหรือเพียงแค่เป็นพาหะ การศึกษานี้วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของแมลงที่อาจเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิในไก่ไข่ โดยสุ่มตัวอย่างแมลงจากฟาร์มไก่ไข่แห่งหนึ่งที่เลี้ยงระบบเปิดในอำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช ระหว่างเดือนธันวาคม 2563 ถึง เดือนมกราคม 2564 จำนวน 100 ตัวอย่าง โดยทำการผ่าเปิดช่องท้องและส่องตรวจระบบทางเดินอาหารของแมลงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าแมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิตัวกลม *Oxyspirura* spp. หรือเป็นที่รู้จักกันในชื่อพยาธิในตาไก่ ได้แก่ แมลงแกลบ (*Pycnoscelus surinamensis*) ความชุกร้อยละ 8.70 ในแมลงแกลบตัวเต็มวัย และ 9.52 ในแมลงแกลบตัวอ่อน (พบ 2 จาก 23 ตัวอย่าง และ 2 จาก 21 ตัวอย่าง ตามลำดับ) และค้างจี้ไก่ (*Alphitobius diaperinus*) ความชุกร้อยละ 15.39 (พบ 8 จาก 52 ตัวอย่าง) นอกจากนี้แมลงทั้งสองชนิดยังตรวจพบตัวอ่อนของไร ซึ่งแมลงอาจได้รับโดยบังเอิญ ดังนั้นนอกจากจะให้ความสำคัญกับแมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของปรสิตภายในอย่างแมลงแกลบและค้างจี้ไก่แล้ว เกษตรกรจำเป็นต้องให้ความสำคัญกับการกำจัดปรสิตภายนอกอย่าง 'ไร' ด้วย

คำสำคัญ: แมลง, โฮสต์กึ่งกลาง, พยาธิ, ไก่ไข่

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช อำเภอทุ่งใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80240
Faculty of Veterinary Medicine, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat Campus, Thung Yai, Nakhon Si
Thammarat 80240, Thailand.

* ผู้รับผิดชอบประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): khompakorn.t@rmutsv.ac.th

ABSTRACT

Gastrointestinal parasites are a major cause of economic impact on the layers because they will reduce productivity. Some helminths need an intermediate host for multiplication or carriers to be able to complete their life cycle. The objective of this study was to investigate what type of insects could be the intermediate host of parasites in layers. Insects were collected from an open-farm system laying hen farm in Nabon District, Nakhon Si Thammarat Province between December 2020 and January 2021. One hundred insect samples were subjected to dissect and examine parasites in the digestive tract under a light microscope. The result revealed that the intermediate host of *Oxyspirura* spp. was the cockroach (*Pycnoscelus surinamensis*) at 8.70% prevalence in adult and 9.52% prevalence in nymph (2/23 samples and 2/21 samples) and the darkling beetle (*Alphitobius diaperinus*) at 15.39% prevalence (8/52 samples). Moreover, both species would also be accidentally infected by nymph of mites. Therefore, besides focusing on the cockroach and the darkling beetle, farmers must concentrate on mite removal.

Key words: insect, intermediate host, parasite, layer chicken

บทนำ

จากการลงพื้นที่สำรวจฟาร์มไก่ไข่แห่งหนึ่งในอำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งเป็นฟาร์มเลี้ยงไก่ไข่ระบบเปิด พบพยาธิตัวคีดในลำไส้ของไก่ไข่จากการผ่าซากติดต่อกันเป็นเวลานาน หากไม่ทำการแก้ไขจะทำให้เกิดความเสียหายต่อเกษตรกรเจ้าของฟาร์มเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในไก่ไข่สาวทดแทน พยาธิในทางเดินอาหารเหล่านี้จะไปรบกวนกระบวนการเผาผลาญทำให้ไก่ไม่สามารถนำสารอาหารที่กินไปใช้ประโยชน์ได้ ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตลดลง (Gauly *et al.*, 2007; Permin and Hansen, 1998) นอกจากนี้การรักษาแล้วยังจำเป็นต้องมีการตัดวงจรชีวิตของพยาธิตัวคีดเพื่อป้องกันการระบาดซ้ำในอนาคตและยังสามารถช่วยลดการใช้จ่ายในไก่ไข่เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปัญหาการคื้อยาได้อีกด้วย

วงจรชีวิตของพยาธิตัวคีดจำเป็นต้องมีโฮสต์กึ่งกลาง (intermediate host) 1 ชนิด เพื่อให้หนอนพยาธิ

เข้าไปอยู่เจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนและพัฒนาเป็น cysticercoid อยู่ในโฮสต์กึ่งกลางจนกว่าจะถูกกินโดยไก่ พยาธิตัวคีดทุกชนิดจำเป็นต้องมีโฮสต์กึ่งกลาง เช่น ไส้เดือนดิน แมลงวันบ้าน มด ค้าง และด้กัแตน เป็นต้น (Soulsby, 1982; Permin and Hansen, 1998) ซึ่งโฮสต์กึ่งกลางเหล่านี้อาจเป็นโฮสต์ขนส่ง (transport host) ของพยาธิตัวกลมและเป็นพาหะนำเชื้อก่อโรคอื่น ๆ ได้ด้วย เช่น ไส้เดือนดินและแมลงสาบหรือแมลงกลบสามารถเป็นพาหะนำพยาธิตัวกลม เช่น *Ascaridia galli* และ *Heterakis gallinarum* ไปสู่ไก่ โดยไม่มีการพัฒนาของตัวอ่อนภายในตัวของสัตว์พาหะ (Hall, 1985) แมลงสาบเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิตัวกลม *Subulura brumpti* (Ruff *et al.*, 1991) แมลงกลบเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิตัวกลม *Oxyspirura mansoni* ไส้เดือนดินเป็นโฮสต์ขนส่งพยาธิตัวกลม *Syngamus trachea* (Permin and Hansen, 1998) แมลงปีกแข็งหรือด้วงขี้ไก่ (*Alphitobius diaperinus*) เป็นแมลงศัตรูสำคัญในอุตสาหกรรม

สัตว์ปีก (Francisco and Prado, 2001) เป็นพาหะนำเชื้อรา *Aspergillus* spp. เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia* spp. *Salmonella* spp. *Campylobacter* spp. เชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคฝีคาสไ้และโรคนิวคาสเซิลโรคพยาธิ (Roche *et al.*, 2009; Permin and Hansen, 1998) และโรคบิดที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัว *Eimeria* spp. (Lorenzoni, 2010)

จากข้อมูลที่กล่าวมาสังเกตได้ว่าเหล่าโฮสต์กึ่งกลางเป็นปัจจัยสำคัญที่จะทำให้วงจรชีวิตของหนอนพยาธิเหล่านี้สมบูรณ์และทำให้เกิดโรคพยาธิในไก่ มีผลกระทบต่อสัตว์ปีกที่เลี้ยงเป็นเวลานานอย่างไก่ไข่ (Ybanez *et al.*, 2018) ทำให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เป็นอย่างมาก (Puttalakshamma *et al.*, 2008) เนื่องด้วยฟาร์มไก่ไข่ที่พบปัญหาเป็นฟาร์มระบบเปิด ประกอบกับบางช่วงชีวิตขณะเป็นไก่เล็กกระทั่งไก่สาวอาศัยอยู่บนพื้นดิน ไก่ไข่ที่เลี้ยงจึงมีโอกาสสัมผัสกับโฮสต์กึ่งกลางได้ง่ายทำให้มีความเสี่ยงต่อการติดโรคพยาธิได้ง่ายด้วย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้มุ่งเน้นสำรวจชนิดของแมลงที่อาจเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิในไก่ไข่ เพื่อเป็นการเก็บข้อมูลใช้ประโยชน์ช่วยในการหาแนวทางควบคุมและป้องกันการระบาดของโรคพยาธิในฟาร์มต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สถานที่และการสำรวจชนิดแมลง

ดำเนินการเชื่อมฟาร์มไก่ไข่ระบบเปิดแห่งหนึ่งในอำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช เพื่อสำรวจประชากรและประเภทของแมลงภายในฟาร์ม นำไปสู่การเลือกวิธีการเก็บตัวอย่างที่เหมาะสม โดยแมลงที่พบภายในฟาร์มมีทั้งแมลงที่บินได้และแมลงที่อาศัยอยู่ตามพื้นคอกหรือมุมของโรงเรือน จากการใช้สวิงตักแมลงบินได้และกระชอนสแตนเลสตักดินพร้อมวัสดุปูรองเพื่อสำรวจแมลงบนพื้น บริเวณที่

สำรวจในโรงเรือนคือสี่มุมและตรงกลางของโรงเรือน โรงเรือนไก่สาวมีขนาด กว้าง 5 เมตร ยาว 12 เมตร จำนวน 6 โรงเรือน แต่ละโรงเรือนเลี้ยงไก่สาว 1,000 ตัว พื้นคอกเป็นดินปูทับด้วยแกลบ

2. การเก็บตัวอย่างแมลง

แมลงที่ทำการเก็บตัวอย่าง ถูกสุ่มเลือกเก็บจากแมลงที่อาศัยอยู่บนพื้น โดยเฉพาะในคอกไก่สาวทดแทน ระหว่างเดือน ธันวาคม 2563 ถึงมกราคม 2564 เนื่องจากไม่ทราบขนาดประชากรทั้งหมด จึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างแมลงภายในฟาร์ม จำนวน 100 ตัวอย่าง คำนวณด้วยวิธี Power analysis ที่ระดับนัยสำคัญ (α) เท่ากับ 0.05 และ Power of test ที่ 80 เปอร์เซ็นต์ ผ่านโปรแกรมคำนวณออนไลน์ (Kane, 2019) ทำการดักจับแมลงที่เดินบนดินด้วยกับดักแบบ pitfall trap โดยการขุดหลุมที่ดินและใส่ภาชนะเก็บแมลงพร้อมวางพลาสติกรูปกรวยไว้ทางด้านบน เมื่อแมลงเดินผ่านจะตกลงไปยังภาชนะด้านล่าง (Epsky *et al.*, 2008) วางกับดักที่สี่มุมและตรงกลางของโรงเรือน ใช้กระชอนสแตนเลสแยกวัสดุปูพื้นคอกออก เก็บแมลงแล้วนำมาแยกแยะชนิดของแมลงตามลักษณะสัณฐานวิทยาโดยผู้เชี่ยวชาญของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ โรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย แมลงถูกใส่ในบีกเกอร์ที่ทาขอบบีกเกอร์ด้วยวาสลีนเพื่อป้องกันไม่ให้แมลงออกจากบีกเกอร์ขณะทำการทดลอง ซึ่งตัวอย่างของแมลงที่อยู่ตามพื้นคอกที่เก็บได้ส่วนใหญ่ ได้แก่ ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงแกลบ แมลงหางหนีบ และด้วงขี้ไก่ ดำเนินการสุ่มเลือกแมลงแบบกำหนดโควตา (quota sampling) โดยเลือกแมลงแต่ละชนิดข้างต้นชนิดละ 25 ตัวอย่าง

3. การตรวจหาพยาธิในทางเดินอาหารของแมลง

3.1 การแยกระบบทางเดินอาหาร

แมลงที่ถูกคัดแยกชนิดถูกผ่าแยกส่วนของปีก รยางค์ ข้างลำตัว เพื่อแยกส่วนหัวและอกของแมลงออกโดยตัดด้วยกรรไกร ใช้ปากคีบและเข็มฉีดยาเขียวแยกระบบทางเดินอาหารของแมลงออกวางบนสไลด์แก้ว หยคน้ำกลั่นหรือสารละลายปราศจากเชื้อ 0.9% NaCl ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างทันที (Velusamy *et al.*, 2014) หรือเก็บตัวอย่างไว้ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตรที่บรรจุแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อตรึงสภาพของพยาธิไว้สำหรับนำมาส่องตรวจในภายหลัง ก่อนส่องตรวจจะต้องนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 ถึง 2 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้งแล้วใช้ไมโครปิเปตดูดเฉพาะส่วนที่เป็นตะกอน หยดลงบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างต่อไป

3.2 การส่องตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วางสไลด์แก้วบนแท่นใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำการปรับด้วยปุ่มปรับภาพขยายเพื่อให้เห็นสไลด์และหมุนปุ่มปรับภาพละเอียดเพื่อให้เห็นรายละเอียด ทำการตรวจหาระยะต่าง ๆ ของพยาธิภายในทางเดินอาหารของแมลงที่กำลังขยาย 4 ถึง 40 เท่าเลนส์วัตถุตามลำดับ สังเกตและจดบันทึกลักษณะ

สัณฐานวิทยา รูปร่างและขนาด พร้อมด้วยจำแนกประเภทของพยาธิหรือไข่พยาธิที่พบ ตามคู่มือปรสิตวิทยาวินิจฉัยสำหรับนักเทคนิคสัตวแพทย์ (Hendrix and Robinson, 2006)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการเชื่อมฟาร์มและสำรวจชนิดแมลงภายในฟาร์มไก่ไข่แห่งหนึ่งในอำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2563 พบว่าส่วนใหญ่เป็นแมลงที่อาศัยอยู่ตามพื้นดินและตามมุมของโรงเรือน รวมทั้งในแกลบที่นำมาเป็นวัสดุรองพื้นโรงเรือนไก่สาวทดแทน ซึ่งแมลงที่พบในขณะที่ทำการสำรวจ ได้แก่ ตัวอ่อน (nymph) และตัวเต็มวัยของแมลงแกลบ (ภาพที่ 1) ตัวขี้ไก่ (ภาพที่ 2) หนอนตัวขี้ไก่ แมลงหางหนีบ (ภาพที่ 3) มด แมลงวันบ้านและหนอนแมลงวันลาย การสุ่มเลือกแมลงแบบกำหนดโควตา (quota sampling) โดยเลือกแมลงแต่ละชนิด ชนิดละ 25 ตัวอย่าง จากแมลงที่สำรวจพบข้างต้น ยกเว้นมด แมลงวันบ้านและหนอนแมลงวันลายที่มีจำนวนน้อย ข้อดีของการสุ่มเลือกแบบนี้คือ สะดวก ทำได้ง่าย รวดเร็ว ประหยัดทั้งเวลาและงบประมาณ แต่ก็มีข้อจำกัดคือ มีความลำเอียงในการเลือกกลุ่มตัวอย่าง



ภาพที่ 1 ตัวเต็มวัย (ซ้าย) และตัวอ่อน (ขวา) ของแมลงแกลบ (*Pycnoscelus surinamensis*)



ภาพที่ 2 ค้างค้ำไก่ (*Alphitobius diaperinus*)



ภาพที่ 3 แมลงหางหนีบ (*Euborellia annulipes*)

ผลการตรวจหาปรสิตภายในระบบทางเดินอาหารของแมลงที่อาจส่งผลกระทบต่อการใช้ของไก่ไข่สาว จากการเก็บตัวอย่างแมลงบริเวณโรงเรือนของฟาร์มดังกล่าวในช่วงเดือนธันวาคม

พ.ศ.2563 ถึง มกราคม พ.ศ.2564 จำนวน 100 ตัวอย่าง พบปรสิตในทางเดินอาหารของตัวอย่างแมลง 15 ตัว จาก 100 ตัว คิดเป็นร้อยละ 15 โดยชนิดของพยาธิที่พบ ได้แก่ ตัวอ่อนระยะแรก (first stage larva) ของพยาธิในตาไก่ (*Oxyuris* spp.) ร้อยละ 12 (12/100 ตัวอย่าง) ในค้างค้ำไก่ ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงแกลบ และตัวอ่อนของไร ร้อยละ 3 (3/100 ตัวอย่าง) พบได้ในค้างค้ำไก่และตัวเต็มวัยของแมลงแกลบเท่านั้น ส่วนในแมลงหางหนีบตรวจไม่พบปรสิตชนิดใดเลย ความชุกของการติดตัวอ่อนระยะแรกของพยาธิในตาไก่มากที่สุด ในค้างค้ำไกร้อยละ 15.39 (8/52 ตัวอย่าง) รองลงมาในตัวอ่อนแมลงแกลบร้อยละ 9.52 (2/21 ตัวอย่าง) และแมลงแกลบตัวเต็มวัยร้อยละ 8.70 (2/23 ตัวอย่าง) นอกจากนี้ ความชุกของการติดไรในแมลงแกลบตัวเต็มวัยร้อยละ 4.35 (1/23 ตัวอย่าง) และค้างค้ำไกร้อยละ 3.85 (2/52 ตัวอย่าง) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของโฮสต์กึ่งกลาง ปรสิตที่พบในทางเดินอาหารของโฮสต์กึ่งกลาง และความชุกของการติดปรสิตในโฮสต์กึ่งกลางจากฟาร์มไก่ไข่ที่ทำการสำรวจ

ชนิดของโฮสต์กึ่งกลาง	จำนวนโฮสต์กึ่งกลางที่เก็บ (ตัว)	จำนวนโฮสต์กึ่งกลางที่พบปรสิต (ตัว)	ชนิดปรสิตที่พบ	ความชุก
แมลงแกลบระยะตัวเต็มวัย (<i>Pycnoscelus surinamensis</i>)	23	2	ตัวอ่อนระยะแรกของ <i>Oxyuris</i> spp.	8.70
		1	ตัวอ่อนของไร	4.35
แมลงแกลบระยะตัวอ่อน (<i>Pycnoscelus surinamensis</i>)	21	2	ตัวอ่อนระยะแรกของ <i>Oxyuris</i> spp.	9.52
ค้างค้ำไก่ (<i>Alphitobius diaperinus</i>)	52	8	ตัวอ่อนระยะแรกของ <i>Oxyuris</i> spp.	15.39
		2	ตัวอ่อนของไร	3.85
แมลงหางหนีบ (<i>Euborellia annulipes</i>)	4	0	ไม่พบ	0
รวม	100	15		

ตัวอ่อนระยะแรกของพยาธิในตาไก่ (*Oxyuris* spp.) (ภาพที่ 4) ลักษณะลำตัวยาวและเรียว ส่วนหัวค่อนข้างทื่อ ปลายหางเรียวแหลม ลักษณะโครงสร้างภายในสังเกตเห็นได้ยากเนื่องจากขนาดเล็ก หลอดอาหารใส ยาวประมาณ 1 ใน 3 ของลำตัว ลำไส้มีขนาดใหญ่ เต็มไปด้วยถุงที่บรรจุสิ่งคล้ายไขมันอยู่ภายใน ความยาวลำตัว 340-360 ไมโครเมตร ความกว้าง 17.5-22.5 ไมโครเมตร และอยู่ในทางเดินอาหารของโฮสต์กึ่งกลาง ในขณะที่ตัว

อ่อนระยะ late first stage จะเคลื่อนที่ไปยังไขมันของช่องท้องประมาณวันที่ 17 ภายหลังจากเจริญพัฒนาในโฮสต์กึ่งกลาง (Schwabe, 1951) สิ่งที่น่าสนใจคือตัวอ่อนระยะแรกที่ตรวจพบในด้วงขี้ไก่เป็นชนิดเดียวกันกับที่พบในแมลงแกลบ โดยปกติด้วงขี้ไก่ไม่ใช่โฮสต์กึ่งกลางของพยาธิในตาไก่ ในกรณีดังกล่าวนี้ด้วงขี้ไก่สามารถเป็นโฮสต์ขนส่งหรือพาหะนำพยาธิตัวกลมชนิดอื่นได้



ภาพที่ 4 ตัวอ่อนระยะแรกของพยาธิในตาไก่ *Oxyuris* spp. จากแมลงแกลบระยะตัวเต็มวัย ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แสงสว่าง กำลังขยาย 40 เท่าเลนส์วัตถุ

ไรที่พบในทางเดินอาหารของแมลงแกลบ และด้วงขี้ไก่มีขนาดอยู่ที่ 120-180 ไมโครเมตร มี 8 ขา อาจเป็นตัวอ่อนของไรในระยะ protonymph หรือ

deutonymph ซึ่งยังไม่สามารถจำแนกชนิดของไรได้ เนื่องจากลักษณะโครงสร้างไม่ชัดเจน (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ตัวอ่อนของไร ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แสงสว่าง กำลังขยาย 10 เท่าเลนส์วัตถุ

การสำรวจประเภทของแมลงในฟาร์มไก่ไข่ ช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2563 พบทั้งแมลงที่บินได้ และแมลงที่อาศัยอยู่บริเวณพื้นคอก ผู้วิจัยจึงทำกับดัก ล่อแมลงโดยใช้สวิงแต่ไม่สามารถดักจับแมลงที่บินได้ เช่น แมลงวัน แมลงสาบ ตัวอย่างแมลงที่เก็บได้ ทั้งหมดจึงเป็นแมลงที่อาศัยอยู่ตามพื้นคอกและพื้นโรงเรือน เช่น แมลงแกลบ และ ค้างคาวปีกแคบ แสดงให้เห็นว่าแมลงที่มีโอกาสใกล้ชิดและสัมผัสกับตัวไก่ไข่ สวาททดแทนได้มากที่สุดคือแมลงที่อาศัยตามพื้นคอก เหล่านี้

เมื่อตรวจหาปรสิตภายในระบบทางเดินอาหารของของแมลงตัวอย่างที่เก็บได้ในช่วงเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2563 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2564 แมลงที่พบปรสิตทั้งภายในและภายนอกในมีทั้งหมด 15 ตัว จาก 100 ตัว คิดเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ ของแมลงทั้งหมด โดยปรสิตภายในที่พบคือตัวอ่อนระยะแรก ของพยาธิตัวกลม *Oxyspirura* spp. ซึ่งมีลักษณะลำตัว ยาวและเรียว ส่วนหัวค่อนข้างทื่อ ปลายหางเรียวแหลม หลอดอาหารใส ความยาวประมาณ 1 ใน 3 ของลำตัว ลำไส้มีขนาดใหญ่ เต็มไปด้วยถุงที่บรรจุสิ่ง คล้ายไขมันอยู่ภายใน ความยาวลำตัว 340-360 ไมโครเมตร ความกว้าง 17.5-22.5 ไมโครเมตร คล้ายคลึงกับสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนระยะแรกของ *Oxyspirura mansoni* (Schwabe, 1951) และ *Oxyspirura petrowi* (Kalyanasundaram et al., 2019) ปรสิตภายนอกที่พบคือตัวอ่อนของไร เมื่อสังเกตทางสัณฐานวิทยา สามารถนับจำนวนขาได้ 8 ขา อาจจะเป็นตัวอ่อนของไร ในระยะ protonymph หรือ deutonymph ของ *Dermanyssus gallinae* (Chauve, 1998) หรือ *Omithonyssus* หรืออาจเป็นไร ชนิดอื่นในสิ่งแวดล้อมที่ไม่มี ความสำคัญในทางสัตวแพทย์ เนื่องจากเมื่อนำไปตรึง ใน 70 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์และส่องตรวจใน ภายหลังพบว่าโครงสร้างตัวอ่อนของไรผิดปกติไปจาก เดิม อาจเป็นผลจากการตรึงและการปั่นเหวี่ยง ทำให้

ไม่สามารถจำแนกชนิดของไรได้ เนื่องจากเห็น โครงสร้างลักษณะไม่ชัดเจน

แมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของ *Oxyspirura* spp. จากการศึกษานี้ได้แก่ แมลงแกลบ (*Pycnoscelus surinamensis*) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Permin and Hansen (1998) ที่กล่าวว่า แมลงแกลบเป็นโฮสต์ กึ่งกลางของ *O. mansoni* และ Kalyanasundaram et al. (2019) กล่าวว่า แมลงแกลบเป็นโฮสต์กึ่งกลางของ *O. petrowi* วงจรชีวิตของพยาธิตัวกลมชนิดนี้เริ่มจาก พยาธิตัวแก่ได้หนึ่งตัวที่สามของไก่วางไข่ ไข่ตกลงมา ตามท่อน้ำตาแล้วปนออกมากับอุจจาระ ถูกกินโดย โฮสต์กึ่งกลางจำพวกแมลงสาบและเจอร์มิเดบโตเป็น ระยะติดต่อก่อนที่ไก่กินแมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลาง ตัวอ่อน ของมันจะเคลื่อนที่ผ่านคอหอย ท่อน้ำตา (nasolacrimal ducts) ไปเจริญเติบโตบริเวณหนังตาที่ สาม (nictitating membrane) หรือ ถุงเยื่อตาขาว (conjunctival sacs) ส่งผลทำให้ไก่ป่วยโดยแสดง อาการตาอักเสบ (ophthalmitis) และมีน้ำตาไหล ไก่จะ รู้สึกระคายเคืองที่ตาและจะเกาโดยใช้เท้าเขี่ย หาก เป็นมากถูกตาอาจถูกทำลายถึงชั้นตาบอด (Sangwaranon, 2017) สร้างความรำคาญและส่งผล ต่อการกินได้ของไก่ทำให้น้ำหนักลง นอกเหนือจาก นี้ข้อมูลต่าง ๆ เป็นที่ทราบกันทั่วไปว่าค้างคาวปีกแคบ สามารถนำโรคพยาธิได้หลายชนิด (Lorenzoni, 2010) และจากการศึกษาค้างคาวปีกแคบอาจเป็นโฮสต์ขนส่งของ พยาธิในตาไก่หรือพยาธิตัวกลมต่าง ๆ ในไก่ได้ ส่วน ไรที่พบในทางเดินอาหารของแมลง อาจเป็นการติด โดยบังเอิญ (accident) จากการที่แมลงกินตัวอ่อนของ ไรดังกล่าวเข้าไป จากการตรวจดูสุขภาพของไก่ไข่ สวาททดแทนในฟาร์มก่อนหน้านี้ไม่พบไรบริเวณคอก และบนตัวไก่ ซึ่งหากเป็นไรของ *D. gallinae* จะ ขึ้นมาอยู่บนตัวของไก่ในเวลากลางคืนเท่านั้น (Permin and Hansen, 1998) ดังนั้น ปัญหานี้จึงไม่ควร มองข้าม เพราะไรดังกล่าวจะก่อให้เกิดการคันและ

ระคายเคืองต่อผิวหนัง ทำให้น้ำหนักลด ผลผลิตลดลง หากมีจำนวนมากจะทำให้เกิดภาวะโลหิตจางและอาจตายได้ นอกจากนี้ยังเป็นตัวนำโรคมิวต์ สไปโรคีโตซิส สมองและไซสันหลังอักเสบและโรคฝีดาษอีกด้วย (Noppawinyuwong and Sukolpong, 1994; Permin and Hansen, 1998)

ความชุกของการติดพยาธิตัวกลม *Oxyspirura* spp. ตัวอ่อนระยะแรกในแมลงแกลบ ระยะตัวเต็มวัย 8.70 (2 จาก 23 ตัวอย่าง) ในแมลงแกลบระยะตัวอ่อน (nymph) 9.52 (2 จาก 21 ตัวอย่าง) และด้วงขี้ไก่ 15.39 (8 จาก 52 ตัวอย่าง) ความชุกของการติดไรในตัวเต็มวัยของแมลงแกลบ 4.35 (1 จาก 23 ตัวอย่าง) และด้วงขี้ไก่ 3.85 (2 จาก 52 ตัวอย่าง) แสดงให้เห็นว่าแมลงพาหะที่เป็นปัญหาสำคัญที่สุดของการติด *Oxyspirura* spp. คือด้วงขี้ไก่ แมลงแกลบระยะตัวเต็มวัยและตัวอ่อน ตามลำดับ การควบคุมและการป้องกันการติดพยาธิตัวกลมในฟาร์มสามารถจัดการโดยยึดเอาวงจรชีวิตที่พยาธิตัวกลมส่วนใหญ่มีช่วงหนึ่งที่ต้องเจริญอยู่นอกโฮสต์ เช่น ในดิน ในอุจจาระ หรือโฮสต์กึ่งกลางจึงจะสามารถเจริญเป็นตัวอ่อนระยะติดต่อกันได้ ดังนั้น การควบคุมป้องกันจำเป็นต้องควบคุมการเข้าสู่โฮสต์กึ่งกลาง เช่น การจัดการสุขาภิบาลที่ดี ลดการปนเปื้อนของอุจจาระไก่สู่สิ่งแวดล้อม อาหาร น้ำดื่ม วัสดุปุ๋ยรอง ดิน การควบคุมประชากรของโฮสต์กึ่งกลางโดยใช้สารเคมี ไก่ที่โตแล้วหรือไก่ที่เป็นโรคสามารถกักเก็บโรคได้ ให้ทำการแยกสัตว์ป่วยออกจากฝูงแล้วนำไปเลี้ยงต่างหาก เผาซากสัตว์ที่ตาย เคลื่อนย้ายสัตว์ไม่ป่วยไปยังพื้นที่ที่ไม่เกิดการระบาด และอย่าเลี้ยงสัตว์หนาแน่นเกินไปเพื่อลดความเครียด (Mullen and Durden, 2009)

เนื่องจากการพบพยาธิตัวตืดในทางเดินอาหารของไก่ไข่สาวทดแทนจากการผ่าซากเป็นสาเหตุหลักที่ทางคณะวิจัยเลือกฟาร์มดังกล่าวเพื่อเก็บ

ตัวอย่างแมลง แต่กลับไม่พบว่ามีระยะ cysticercoids ของพยาธิตัวตืดในทางเดินอาหารของแมลงตัวอย่างเลย เมื่อศึกษาเพิ่มเติมพบว่าพยาธิตัวตืด *Railletina* spp. มีความชุกในช่วงฤดูร้อน (Ghosh *et al.*, 2019) แต่ทางผู้ทำการวิจัยได้ทำการสุ่มตัวอย่างและทำการสำรวจในช่วงเดือนธันวาคมและเดือนมกราคมซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน ประกอบกับการสอบถามจากเกษตรกรเจ้าของฟาร์มพบว่า ได้มีการฉีดยาฆ่าแมลงฉีดพ่นบนวัสดุรองนอน (แกลบ) ในช่วงที่มีการเก็บตัวอย่างด้วย นี่อาจเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้ไม่พบ Cysticercoid ของพยาธิตัวตืด *Railletina* spp. ได้ แสดงให้เห็นว่ายาฆ่าแมลงตัวดังกล่าวช่วยลดโฮสต์กึ่งกลางและอุบัติการณ์การติดพยาธิตัวตืดในไก่ไข่สาวทดแทนได้อย่างไรก็ดี ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในช่วงฤดูร้อนว่ามีอุบัติการณ์การติดพยาธิตัวตืดอีกหรือไม่

สรุป

จากผลสำรวจในครั้งนี้พบว่า ภายในระบบทางเดินอาหารของแมลงที่เก็บตัวอย่างจากฟาร์มไก่ไข่แห่งหนึ่งในอำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราชของแมลงที่อยู่บริเวณฟาร์มจำนวน 100 ตัวอย่าง ไม่พบระยะ cysticercoid ของพยาธิตัวตืด *Railletina* spp. แต่พบพยาธิตัวกลม *Oxyspirura* spp. ใน 12 ตัวอย่าง จาก 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 12 โดยแมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางคือแมลงแกลบ (*Pycnoscelus surinamensis*) และ ด้วงขี้ไก่ (*Alphitobius diaperinus*) นอกจากนี้ยังพบตัวอ่อนของไรใน 3 ตัวอย่าง จาก 100 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3 ในทางเดินอาหารของทั้งแมลงแกลบและด้วงขี้ไก่ เป็นการติดโดยบังเอิญจากการที่แมลงกินตัวอ่อนของไรเข้าไป ดังนั้นไรจึงเป็นอีกหนึ่งปัญหาที่เกษตรกรควรให้ความสำคัญในการควบคุมและป้องกัน นอกเหนือจากการกำจัดแมลงที่เป็นโฮสต์กึ่งกลาง

เอกสารอ้างอิง

- Chauve, C. 1998. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): Current situation and future prospects for control. **Veterinary Parasitology** 73: 239-245.
- Epsky, N.D., Morrill, W.L. and Mankin, R.W. 2008. **Traps for Capturing Insects. Springer Link.** Available Source: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6_2523, January 3, 2023.
- Francisco, O. and Prado, A.P.D. 2001. Characterization of the larval stages of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) using head capsule width. **Revista Brasileira de Biologia** 6: 125-131.
- Gauly, M., Duss, C. and Erhardt, G. 2007. Influence of *Ascaridia galli* infections and anthelmintic treatments on the behavior and social ranks of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). **Veterinary Parasitology** 146: 271-280.
- Ghosh, S., Nandi, A.P. and Chatterjee, S. 2019. Morphology and Seasonal Variation of Fowl Tape Worm, *Raillietina Tetragona* (Molin, 1858) in Purba Bardhaman, West Bengal, India. **Bioscience Biotechnology Research Communications** 12(3): 720-726.
- Hall, H.T.B. 1985. **The Nematode Parasites of Poultry: Diseases and Parasites in Livestock in the Tropics.** 2nd ed. London Scientific and Technical, Longan Group, UK.
- Hendrix, C.M. and Robinson, E. 2006. **Diagnostic parasitology for veterinary technicians.** 3rd ed. Elsevier Mosby, Edinburgh.
- Kane, S.P. 2019. **Sample Size Calculator.** ClinCalc. Available Source: <https://clincalc.com/stats/samplesize.aspx>, January 3, 2023.
- Kalyanasundaram, A., Brym, M.Z., Blanchard, K.R., Henry, C., Skinner, K., Henry, B.J., Herzog, J., Hay, A. and Kendall, R.J. 2019. Life-cycle of *Oxyuris petrowi* (Spirurida: Thelaziidae), an eyeworm of the northern bobwhite quail (*Colinus virginianus*). **Parasites & Vectors** 12(1): 555.
- Lorenzoni, G. 2010. **Poultry Diseases Influenced by Gastrointestinal Health, Traditional Treatments and Innovative Solutions.** Published documents, Nottingham University.
- Mullen, G.R. and Durden, L.A. 2009. **Medical and Veterinary Entomology.** 2nd ed. Academic Press, London.
- Noppawinyuwong, S. and Sukolpong, W. 1994. Ectoparasites in chickens. **KKU Veterinary Journal** 4(1): 42-48. (in Thai)
- Permin, A. and Hansen, J.W. 1998. **Epidemiology, diagnosis and control of poultry parasites.** FAO Animal Health Manual No.4, USA.
- Puttalakshamma, G.C., Ananda, K.J., Prathiush, P.R., Mamatha, G.S. and Suguna, R. 2008. Prevalence of Gastrointestinal parasites of Poultry in and around Bangalore; India. **Veterinary World** 1(7): 201-202.
- Roche, A.J., Cox, N.A., Richardson, L.J., Buhr, R.J., Cason, J.A., Fairchild, B.D. and Hinkle, N.C. 2009. Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Poultry Science** 88(1): 44-48.

- Ruff, M.D., Calneck, B.W., Barnes, H.I., Beard, C.W., Reid, W. M. and Yonder, Jr. H. W. 1991. **Nematodes and Acanthocephalans: Diseases of Poultry**. 3rd ed. Iowa State University Press, Ames.
- Sangwaranon, A. 2017. **An important nematode in pets: Veterinary Parasitology**. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Schwabe, C. W. 1951. Studies on *Oxyspirura mansoni*, the Tropical Eyeworm of Poultry. II. Life History. **Pacific Science** 5(1): 18-35.
- Soulsby, E. 1982. **Helminths, Arthropods and Protozoans of domesticated animals**. 7th ed. Bailliere Tindale, London.
- Velusamy, R., Abdul Basith, S., Harikrishnan, T.J., Ponnudurai, G., Anna, T. and Ramakrishnan, S. 2014. Ground beetle, *Opatroides frater* (Coleoptera) as natural intermediate host for the poultry tapeworm, *Raillietina cesticillus*. **Journal of Parasitic Diseases** 38(1): 128-131.
- Ybanez, R.H.D., Resuelo, K.J.G., Kintanar, A.P.M. and Ybanez, A. P. 2018. Detection of gastrointestinal parasite in small-scale poultry layer farm in Leyte, Philippines. **Veterinary world** 11(11): 1587-1591.

การทดสอบพันธุ์แตงร้านการค้าในจังหวัดน่าน

Yield Trial of Commercial Long Cucumber Cultivars in Nan Province

บรรจง อุปแก้ว *

Bunjong Oupkaew *

Received: 20 July 2022, Revised: 26 January 2023, Accepted: 8 February 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการให้ผลผลิตของพันธุ์แตงร้านการค้าในพื้นที่จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนมกราคม – มีนาคม พ.ศ. 2564 เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับเกษตรกรในการเลือกใช้พันธุ์แตงร้านการค้าให้เหมาะสมกับพื้นที่ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์ ทำ 4 ซ้ำ ประกอบด้วยพันธุ์แตงร้านการค้าจำนวน 20 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กรีนบัส พันธุ์ฟรีเมียม พันธุ์โพไซคอน พันธุ์โซคชัย 5 พันธุ์เขียวแก้ว พันธุ์เขียวอมตะ 2 พันธุ์อมตะ 3 พันธุ์กรีนสตาร์ พันธุ์โลดัส พันธุ์พารากอน พันธุ์ซูเปอร์โนว่า พันธุ์นาตาลิ 5 พันธุ์นาตาลิ 8 พันธุ์แม็คกรีน พันธุ์กรีนภัทรา พันธุ์โซกุน 4x4 พันธุ์รุ่งรวี พันธุ์บีกกรีน พันธุ์บีกกรีนพลัส และพันธุ์จัมโบ้กรีน โดยใช้พันธุ์จัมโบ้กรีน ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรในพื้นที่จังหวัดน่านนิยมปลูกเป็นพันธุ์เปรียบเทียบ ผลการทดลองพบว่า พันธุ์แตงร้านการค้าทั้ง 20 พันธุ์ให้ผลผลิตต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์บีกกรีนพลัสเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุด โดยให้ผลผลิต 7,377 กิโลกรัมต่อไร่ และผลมีคุณภาพดี เหมาะสำหรับการปลูกในพื้นที่จังหวัดน่าน

คำสำคัญ: การทดสอบพันธุ์, แตงร้าน, จังหวัดน่าน

สาขาพืชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา อำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน 55000

Department of Plant Science, Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Phu Phiang, Nan 55000, Thailand.

* ผู้เขียนที่ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): bunjong_19@hotmail.com

ABSTRACT

This research aimed to conduct a yield trial of commercial long cucumber cultivars in Nan province from January to March 2021. These data helped farmers select commercial long cucumber cultivars that were suitable for their growing areas. The experiment was conducted by using Randomized Complete Block Design (RCBD) with four replications. In this experiment, there were 20 commercial long cucumber cultivars including Green Bus, Premium, Big Green, Big Green Plus, Kiaw Phu Kao, Jumbo Green, Amata 3, Green Star, Lotus, Natalie 5, Kiaw Amata 2, Mac Green, Poseidon, Chokchai 5, Green Patra, Shokun 4x4, Supernova, Rungrawee, Paragon, Natalie 8, and, Jumbo Green. Jumbo Green, a popular cultivar in Nan province, was used as the check variety. The results showed that the 20 commercial long cucumber cultivars exhibited statistically significant difference in yield. Big Green Plus cultivar showed the highest yield, producing 7,377 kilograms per Rai. It also had high fruit quality, which was well-suited for cultivation in Nan Province.

Key words: yield trial, long cucumber, Nan Province

บทนำ

แตงร้านหรือแตงกวารับประทานสดผลยาว (long cucumber) (Pokawattana and Chawapradid, 1996) เป็นผักรับประทานผลวงศ์แตง (Cucurbits) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และได้รับความนิยมบริโภคทั่วโลก ทั้งการบริโภคสดและการแปรรูป (Nooprom and Pakdechuan, 2017) แหล่งผลิตอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย (Bunya-atichart *et al.*, 2012) Department of Agricultural Extension (2021) พบว่า ปี 2564 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกแตงร้านทั้งหมด 9,221.50 ไร่ ผลผลิต 19,754 ตัน และผลผลิตเฉลี่ย 1,227.10 กิโลกรัมต่อไร่ แหล่งผลิตที่สำคัญคือ จังหวัดเพชรบุรี พื้นที่ปลูกแตงร้านมากที่สุด 6,448.00 ไร่ รองลงมา จังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ ขอนแก่น และราชบุรีตามลำดับ พื้นที่ปลูก 2,210.00, 496.00, 353.00, 272.00 และ 265.00 ไร่ ตามลำดับ การปลูกแตงร้านในพื้นที่จังหวัดน่านมีพื้นที่ปลูกไม่มากนัก ปี 2564 พบว่ามีพื้นที่ปลูก 102 ไร่ ผลผลิต 353.27 ตัน โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 3,470

กิโลกรัมต่อไร่ และมีการนำเข้าแตงร้านจากต่างจังหวัดจำนวน 175.50 ตัน (Nan Provincial Agriculture Office, 2022) เพื่อการบริโภคและเนื่องจากแตงร้านเป็นพืชที่มีจุดเด่น คือ ที่ใช้น้ำน้อยอายุเก็บเกี่ยวสั้น ตลาดมีความต้องการตลอดทั้งปีสามารถปลูกเป็นพืชเสริมในช่วงฤดูแล้งหรือปลูกระหว่างฤดูการผลิตพืชชนิดอื่น ดังนั้น แตงร้านจึงเป็นพืชทางเลือกพืชหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับการส่งเสริมให้เกษตรกรในพื้นที่จังหวัดน่านปลูกเพื่อสนองความต้องการบริโภคแตงร้านภายในจังหวัดและเป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร อย่างไรก็ตามปัจจุบันมีบริษัทเอกชนผลิตเมล็ดพันธุ์แตงร้านการค้าออกมาจำหน่ายจำนวนมาก แต่ยังไม่มีการศึกษาว่าพันธุ์การค้าพันธุ์ใดเหมาะสำหรับการผลิตในพื้นที่จังหวัดน่าน ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบพันธุ์แตงร้านการค้าในพื้นที่จังหวัดน่าน เพื่อเป็นข้อมูลในการเลือกใช้น้ำพันธุ์แตงร้านของเกษตรกรให้เหมาะสมกับพื้นที่ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สถานที่ทดลองและการวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงเกษตรกรบ้านนาเด่นใหม่ ตำบลไชยสถาน อำเภอเมืองน่าน จังหวัดน่าน ระหว่างเดือนมกราคม – มีนาคม พ.ศ. 2565 วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์

(Randomized Complete Block Design) ทำ 4 ซ้ำ โดยใช้พันธุ์แต่งร้านการค้าจำนวน 20 พันธุ์ ดังรายชื่อใน Table 1 โดยใช้พันธุ์จัมโบ้กรีน ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรในพื้นที่จังหวัดน่านนิยมปลูกเป็นพันธุ์เปรียบเทียบ

Table 1 List of commercial long cucumber cultivars used in this experiment

Names of long cucumber cultivars (Company)	Names of long cucumber cultivars (Company)
1) Green Bus (Goal Eagle Co.,Ltd.)	2) Premium (Advanced Seeds Co.,Ltd.)
3) Poseidon (Advanced Seeds Co.,Ltd.)	4) Chok Chai 5 (Advanced Seeds Co.,Ltd.)
5) Kiaw Phu Koa (Mitraparp Seeds Co.Ltd.)	6) Kiaw Amata 2 (Chia Tai Co.Ltd.)
7) Amata 3 (Chia Tai Co.Ltd.)	8) Green Star (Star Agritech Seeds Co.Ltd.)
9) Lotus (TSA Co.Ltd.)	10) Paragon (TSA Co.Ltd.)
11) Supernova (TSA Co.Ltd.)	12) Natalie 5 (Seeds Tech Marketing Co.Ltd.)
13) Natalie 8 (Seeds Tech Marketing Co.Ltd.)	14) Mc Green (Green Seeds Co.Ltd.)
15) Green Patra (Kamlai Tong Agriculture Co.Ltd.)	16) Shokun 4x4 (Star Agritech Seeds Co.Ltd.)
17) Roong Rawee (Power Seeds Co.Ltd.)	18) Big Green Plus (East West Seeds Co.Ltd.)
19) Big Green (East West Seeds Co.Ltd.)	20) Jumbo Green (East West Seeds Co.Ltd.)

2. การปลูกและการดูแลรักษา

ทำการเพาะกล้าแต่งร้านแต่ละพันธุ์ในกระบะเพาะกล้าที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปากหลุม 3.7 เซนติเมตร ซึ่งบรรจุวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดินร่วนและปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1 : 1 หลังจากนั้นให้น้ำด้วยระบบพ่นฝอย (Mist / Jet Spray) ทุกวัน ในช่วงเวลาเช้าและกลางวัน โดยเริ่มทำการเพาะในวันที่ 4 มกราคม 2565 และย้ายต้นกล้าไปปลูกในแปลงปลูกเมื่อต้นกล้ามีอายุ 7 วันหลังจากเพาะเมล็ด เตรียมแปลงปลูกโดยไถเตรียมดินและตากดินไว้ 7 วัน จึงไถพรวนเพื่อย่อยดิน แปลงย่อยขนาด 1 X 5 ตารางเมตร และคลุมแปลงด้วยพลาสติกคลุมแปลง ทำการปลูกแต่งร้านแต่ละพันธุ์ในแปลงย่อยระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร และระยะปลูกระหว่างแถว 80

เซนติเมตร ปลูกหลุมละ 1 ต้น ให้น้ำแบบให้ตามร่อง (furrow irrigation) สัปดาห์ละครั้ง เมื่อแสงความีอายุ 10 วันหลังจากปลูก จึงทำค้างและจัดเถาให้ขึ้นค้าง ใ้ปุ๋ยรองก้นหลุมก่อนปลูกด้วยปุ๋ยหมักอัตรา 200 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากย้ายกล้าปลูก 7 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ และหลังจากย้ายปลูก 14 และ 21 สัปดาห์ ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ในอัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช นิคมสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงด้วยสารอะบาเม็กติน (abamectin) อัตรา 30 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตร หลังจากย้ายกล้าปลูก 15 วัน

3. การเก็บข้อมูล

3.1 ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต

3.1.1 ผลผลิต เก็บเกี่ยวผลผลิตผล

สดที่มีลักษณะนวลขาวเกาะอยู่และมีหนามอยู่บ้างของแตงร้านแต่ละพันธุ์ทุกวัน โดยเก็บเกี่ยวผลผลิตจากทุกต้นในแปลงปลูก ยกเว้นต้นที่อยู่หัวแถวและท้ายแถวของแปลง นำผลผลิตที่เก็บเกี่ยวแต่ละครั้งมาชั่งน้ำหนัก และรวมน้ำหนักผลผลิตทุกครั้งที่เก็บเกี่ยวแล้วคำนวณเป็นผลผลิตต่อไร่

3.1.2 จำนวนผลมาตรฐานต่อต้น

สุ่มนับจำนวนผลของแตงร้านแต่ละพันธุ์ที่มีลักษณะผลยาวไม่น้อยกว่า 18 เซนติเมตร และมีลักษณะผลตรง ไม่บิดเบี้ยว พันธุ์ละ 5 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.1.3 จำนวนผลไม่ได้มาตรฐานต่อต้น

สุ่มนับจำนวนผลของแตงร้านแต่ละพันธุ์ที่มีลักษณะผลเล็ก ผลบิดเบี้ยว และมีความยาวผลน้อยกว่า 18 เซนติเมตร พันธุ์ละ 5 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.1.4 น้ำหนักของผล สุ่มชั่ง

น้ำหนักผลของแตงร้านแต่ละพันธุ์ ๆ ละ 10 ผล แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.2 คุณภาพของผล

3.2.1 เส้นผ่านศูนย์กลางของผล

สุ่มวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของผลแตงร้าน วัดจากส่วนกลางผล

3.2.2 ความยาวของผล สุ่มวัดความ

ยาวของผลแตงร้านวัดจากขั้วผลจนถึงท้ายผล

3.2.3. ความหนาของเนื้อผล สุ่มวัด

ความหนาของเนื้อผลแตงร้านทำการตัดส่วนกลางผลและวัดส่วนที่เป็นเนื้อ

3.2.4 ความยาวของไส้ผล สุ่มวัด

ความยาวของไส้ผลแตงร้าน ทำการตัดตามส่วนยาวผลและวัดส่วนที่เป็นไส้

3.2.5 เส้นผ่านศูนย์กลางของไส้ผล

สุ่มวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้ผลแตงร้าน ทำการตัดส่วนกลางผลและวัดส่วนที่เป็นไส้

3.3 จำนวนกิ่งแขนงต่อต้น สุ่มนับจำนวนกิ่งแขนงที่มีจำนวนข้อไม่น้อยกว่า 3 ข้อที่เกิดขึ้นทั้งต้นเมื่อแตงร้านอายุ 50 วันหลังจากเพาะเมล็ด

3.4 อายุออกดอก นับจำนวนวันตั้งแต่วันที่เริ่มจำนวนต้นแตงร้านออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนต้นทั้งหมดในแต่ละแปลงย่อย

3.5 อายุเก็บเกี่ยว นับจำนวนวันตั้งแต่วันที่เพาะเมล็ดถึงวันที่เริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตของแตงร้านแต่ละพันธุ์ที่มีจำนวนต้นแตงร้านที่เก็บเกี่ยว 50 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนต้นทั้งหมดในแต่ละแปลง

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติตามแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์ แล้วเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) และวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ STAR 2.0.1 (IRRI, 2013)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากผลการทดลอง (Table 2) พบว่า พันธุ์แตงร้านการค้าทั้ง 20 พันธุ์มีความแปรปรวนเกี่ยวกับการให้ผลผลิต องค์ประกอบของผลผลิต คุณภาพของผลที่เกี่ยวข้องกับความยาวของผลและความยาวของไส้อายุออกดอก และอายุสุกแก่อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แสดงว่าพันธุ์แตงร้านการค้าทั้ง 20 พันธุ์มีความสามารถในการปรับตัวและให้ผลผลิตต่างกันเมื่อปลูกในพื้นที่จังหวัดน่าน และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการให้ผลผลิตของพันธุ์แตงร้านการค้าแต่ละพันธุ์กับพันธุ์จัมโบ้กรีน (พันธุ์เปรียบเทียบ) พบว่า พันธุ์บี๊กกรีนพลัสที่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์

จัมโบ้กรีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยให้ผลผลิต 7,377 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่พันธุ์จัมโบ้กรีนให้ผลผลิต 6,245 กิโลกรัมต่อไร่ และพันธุ์พรีเมียม พันธุ์เขียวแก้ว พันธุ์พาราگون พันธุ์บีกกรีน พันธุ์โชคชัย 5 และพันธุ์นาตาลี 5 ให้ผลผลิตไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์จัมโบ้กรีน โดยให้ผลผลิต 6,754 5,608 5,599 5,591 5,577 และ 5,567 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ ส่วนพันธุ์อื่น ๆ นั้นให้ผลผลิตต่ำกว่าพันธุ์จัมโบ้กรีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

จากการศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับองค์ประกอบของผลผลิต พบว่า ผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับองค์ประกอบของผลผลิต คือน้ำหนักของผลและจำนวนผลที่ได้มาตรฐานต่อต้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีค่าสหสัมพันธ์ 0.8380 และ 0.7656 ตามลำดับ แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับจำนวนผลที่ไม่ได้มาตรฐานต่อต้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีค่าสหสัมพันธ์ -0.5608 (Table 3) สอดคล้องกับงานวิจัยในแดงกวาของ Chantachai (2012); Ene *et al.* (2016); Chinatu *et al.* (2017) ที่รายงานว่า ผลผลิตของแดงกวาจะมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับองค์ประกอบของผลผลิต คือน้ำหนักของผลและจำนวนผลที่ได้มาตรฐานต่อต้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าพันธุ์บีกกรีนพลัสให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ ก็เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีน้ำหนักของผลและจำนวนผลที่ได้มาตรฐานต่อต้นมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ แต่มีจำนวนผลไม่ได้มาตรฐานน้อยกว่าพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งจากผลการทดลอง (Table 2) พบว่า พันธุ์บีกกรีนพลัสมีองค์ประกอบของผลผลิตที่ดีกว่าพันธุ์อื่น ๆ โดยมีน้ำหนักของผล 254.1 กรัม จำนวนผลที่ได้มาตรฐาน 9 ผลต่อต้น และจำนวนผลที่ไม่ได้มาตรฐาน 2 ผลต่อต้น พันธุ์แดงร้านการค้าทั้ง 20 พันธุ์เฉลี่ยมีน้ำหนัก

ของผล 216.0 กรัม จำนวนผลที่ได้มาตรฐาน 7 ผลต่อต้น และจำนวนผลที่ไม่ได้มาตรฐาน 3 ผลต่อต้น

การศึกษาคุณภาพของผล ได้แก่ เส้นผ่านศูนย์กลางของผล ความยาวของผล ความหนาของเนื้อผล ความยาวของไส้ผล และเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้ผล (Table 4) สอดคล้องกับงานวิจัยในแดงร้านของ Pao In (1998); Hanyong (2007) ที่รายงานว่าผลผลิตของแดงร้านที่มีลักษณะผลที่ดีโดยจะมีความกว้างผล ความยาวผล น้ำหนักผลและความหนาเนื้อผลมากที่สุด ความกว้างไส้ผลน้อยที่สุด พบว่า ผลของแดงร้านพันธุ์บีกกรีนพลัสมีความยาวของผลที่ยาวและมีความยาวของไส้ผลยาวปานกลาง เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์แดงร้านการค้าอื่น ๆ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์จัมโบ้กรีน โดยมีความยาวของผล 20.1 เซนติเมตร และความยาวของไส้ผล 16.2 เซนติเมตร พันธุ์แดงร้านการค้าทั้ง 20 พันธุ์เฉลี่ยมีความยาวของผล 19.3 เซนติเมตร และความยาวของไส้ผล 16.3 เซนติเมตร ส่วนพันธุ์จัมโบ้กรีนมีความยาวของผล 20.2 เซนติเมตร และความยาวของไส้ผล 16.3 เซนติเมตร แต่อย่างไรก็ตาม พันธุ์บีกกรีนพลัสจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางของผล ความหนาของเนื้อผล และเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้ผลไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์จัมโบ้กรีนและพันธุ์อื่น ๆ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผล 4.5 เซนติเมตร ความหนาของเนื้อผล 0.8 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้ผล 2.8 เซนติเมตร พันธุ์แดงร้านการค้าทั้ง 20 พันธุ์เฉลี่ยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผล 4.4 เซนติเมตร ความหนาของเนื้อผล 0.8 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้ผล 2.8 เซนติเมตร ดังนั้น ผลจากการทดลองจึงชี้ให้เห็นว่า พันธุ์บีกกรีนพลัสให้ผลผลิตสูง ผลมีคุณภาพดี อายุออกดอก (24 วัน) และอายุเก็บเกี่ยว (37 วัน) (Table 5)

Table 2 Yield components and yield of long cucumber cultivars from yield trial of commercial long cucumber cultivar in Nan Province

Variety	Yield components			Yield (kg/rai)
	Number of commercial fruits per plant	Number of non- commercial fruits per plant	Fruit weight (g)	
	1. Green Bus	7 ^c	3 ^b	
2. Premium	8 ^b	2 ^c	247.9 ^a	6,755 ^{ab}
3. Poseidon	7 ^c	4 ^c	207.8 ^{cde}	5,099 ^d
4. Chok Chai 5	7 ^c	4 ^c	224.9 ^{bcd}	5,577 ^{cd}
5. Kiaw Phu Koa	7 ^c	3 ^b	226.0 ^{bc}	5,608 ^{cd}
6. Amata 3	7 ^c	3 ^b	209.1 ^{cde}	5,134 ^d
7. Kiaw Amata 2	8 ^b	3 ^b	202.5 ^c	5,274 ^d
8. Green star	7 ^c	3 ^b	205.8 ^{de}	5,043 ^d
9. Lotus	7 ^c	3 ^b	207.5 ^{cde}	5,090 ^d
10. Paragon	7 ^c	3 ^b	219.3 ^{b-c}	5,599 ^{cd}
11. Supernova	7 ^c	3 ^b	212.5 ^{cde}	5,230 ^d
12. Natalie 5	8 ^b	3 ^b	212.7 ^{cde}	5,567 ^{cd}
13. Natalie 8	7 ^c	4 ^c	207.8 ^{cde}	5,097 ^d
14. Mc Green	7 ^c	4 ^c	214.5 ^{cde}	5,286 ^d
15. Green Patra	8 ^b	4 ^c	204.5 ^c	5,330 ^d
16. Shokun 4x4	7 ^c	3 ^b	207.8 ^{cde}	5,110 ^d
17. Roong Rawee	7 ^c	4 ^c	204.5 ^c	5,143 ^d
18. Big Green Plus	9 ^a	2 ^c	254.1 ^a	7,377 ^a
19. Big Green	8 ^b	3 ^b	213.5 ^{cde}	5,591 ^{cd}
20. Jumbo Green	8 ^b	3 ^b	235.1 ^{ab}	6,245 ^{bc}
Mean	7	3	216.0	5,510
F-test	**	**	**	**
CV (%)	6.85	10.17	4.75	7.73

Note: ** = highly significant difference ($P < 0.01$) and Means within a column followed by same letter are not significant difference at $P < 0.01$ by DMRT.

Table 3 Correlation between yield and yield components of long cucumber cultivars from yield trial of commercial long cucumber cultivar in Nan Province

Yield components	Yield
Fruit weight	0.8380**
Number of standard fruits per plant	0.7656**
Number of nonstandard fruits per plant	-0.5608**

Note: ** = highly significant difference ($P < 0.01$)

Table 4 Fruit quality of long cucumber cultivars from yield trial of commercial long cucumber cultivar in Nan Province

Cultivar	Fruit quality				
	Fruit diameter (cm)	Fruit length (cm)	Fresh thickness (cm)	Core length (cm)	Core diameter (cm)
1. Green Bus	4.2	20.0 ^{abc}	0.8	16.6 ^{cd}	2.7
2. Premium	4.4	20.2 ^a	0.9	15.6 ^g	2.8
3. Poseidon	4.6	19.1 ^{ef}	0.8	16.4 ^{de}	2.8
4. Chok Chai 5	4.6	19.3 ^{de}	0.8	16.4 ^{de}	2.7
5. Kiaw Phu Koa	4.5	18.6 ^g	0.8	15.5 ^g	2.7
6. Amata 3	4.4	19.4 ^{de}	0.9	16.3 ^{de}	2.8
7. Kiaw Amata 2	4.5	18.7 ^{fg}	0.9	16.7 ^{bcd}	2.7
8. Green Star	4.3	19.4 ^{de}	0.8	16.1 ^{ef}	2.7
9. Lotus	4.3	19.9 ^{abc}	0.8	15.5 ^g	2.8
10. Paragon	4.5	18.6 ^g	0.8	17.2 ^a	2.8
11. Supernova	4.3	19.2 ^c	0.8	17.1 ^{ab}	2.8
12. Natalie 5	4.3	19.7 ^{bcd}	0.8	15.7 ^{fg}	2.8
13. Natalie 8	4.3	19.6 ^{cd}	0.8	17.0 ^{abc}	2.8
14. Mc Green	4.3	18.5 ^g	0.8	16.9 ^{abc}	2.8
15. Green Patra	4.4	19.3 ^{de}	0.8	17.2 ^a	2.8
16. Shokun 4x4	4.4	18.5 ^g	0.8	15.6 ^g	2.8
17. Roong Rawee	4.2	18.7 ^{fg}	0.8	16.6 ^{cd}	2.7
18. Big Green Plus	4.5	20.1 ^{ab}	0.8	16.2 ^c	2.8
19. Big Green	4.3	19.6 ^{cd}	0.8	15.7 ^{fg}	2.8
20. Jumbo Green	4.6	20.2 ^a	0.8	16.3 ^{de}	2.8

Table 4 (Continued)

Cultivar	Fruit quality				
	Fruit diameter (cm)	Fruit length (cm)	Fresh thickness (cm)	Core length (cm)	Core diameter (cm)
Mean	4.4	19.3	0.8	16.3	2.8
F-test	ns	**	ns	**	ns
CV (%)	5.67	1.55	8.00	1.83	2.55

Note: ns = not significant difference ($P > 0.05$), ** = highly significant difference ($P < 0.01$) and Means within a column followed by same letter are not significant difference at $P < 0.01$ by DMRT.

Table 5 Number of branches per plant, days to flowering and days to harvesting of long cucumber cultivars from commercial long cucumber cultivar testing in Nan Province.

Cultivar	Number of branches per plant	Days to flowering (days)	Days to harvesting (days)
1. Green Bus	6 ^c	25 ^d	39 ^b
2. Premium	7 ^b	27 ^b	37 ^d
3. Poseidon	5 ^d	24 ^e	38 ^c
4. Chok Chai 5	5 ^d	26 ^c	38 ^c
5. Kiaw Phu koa	6 ^c	25 ^d	37 ^d
6. Amata 3	6 ^c	27 ^b	38 ^c
7. Kiaw Amata 2	6 ^c	24 ^e	40 ^a
8. Green Star	6 ^c	27 ^b	37 ^d
9. Lotus	6 ^c	28 ^a	38 ^c
10. Paragon	7 ^b	26 ^c	40 ^a
11. Supernova	6 ^c	26 ^c	39 ^b
12. Natalie 5	6 ^c	24 ^e	39 ^b
13. Natalie 8	5 ^d	28 ^a	39 ^b
14. Mc Green	6 ^c	25 ^d	38 ^c
15. Green Patra	6 ^c	25 ^d	38 ^c
16. Shokun 4x4	6 ^c	25 ^d	38 ^c
17. Roong Rawee	5 ^d	24 ^e	39 ^b
18. Big Green Plus	7 ^b	24 ^e	37 ^d
19. Big Green	6 ^c	24 ^e	38 ^c
6. Jumbo Green	8 ^a	26 ^c	38 ^c

Table 5 (Continued)

Cultivar	Number of branches per plant	Days to flowering (days)	Days to harvesting (days)
Mean	6	25	38
F-test	**	**	**
CV (%)	7.63	3.97	1.84

Note: ** = highly significant difference ($P < 0.01$) and Means within a column followed by same letter are not significant difference at $P < 0.01$ by DMRT.

สรุป

ผลการทดสอบพันธุ์แตงร้านการค้าพันธุ์กรีนบัส พันธุ์พีริเมียม พันธุ์โพไซคอน พันธุ์โซคชัย 5 พันธุ์เขียวภูเก้า พันธุ์เขียวอมตะ 2 พันธุ์อมตะ 3 พันธุ์กรีนสตาร์ พันธุ์โลดัส พันธุ์พารากอน พันธุ์ซูเปอร์โนว่า พันธุ์นาดาลี 5 พันธุ์นาดาลี 8 พันธุ์แม่กรีน พันธุ์กรีนภัทรา พันธุ์โซกุน 4x4 พันธุ์รุ่งรวี พันธุ์บีกกรีน พันธุ์บีกกรีนพลัส และพันธุ์จัมป๋อกรีน (เปรียบเทียบ) ในจังหวัดน่าน พบว่า พันธุ์แตงร้านทั้งหมดมีความแปรปรวนเกี่ยวกับผลผลิตองค์ประกอบผลผลิต คุณภาพของผลที่เกี่ยวกับความยาวของผลและความยาวของไส้ อายุออกดอก และอายุเก็บเกี่ยวอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ยกเว้นลักษณะเส้นผ่านศูนย์กลางของผล ความหนาของเนื้อผล และความกว้างของไส้ผล พันธุ์บีกกรีนพลัสเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุด (7,377 กิโลกรัมต่อไร่) เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์อื่น ๆ ผลมีคุณภาพดี และเป็นพันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น 37 วัน เหมาะสำหรับการปลูกในพื้นที่จังหวัดน่าน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกลุ่มเกษตรกรบ้านเด่นใหม่ ตำบลไชยสถาน อำเภอเมืองน่าน จังหวัดน่าน ที่เอื้อเฟื้อพื้นที่ทำแปลงทดสอบพันธุ์แตงร้านในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Bunya-atichart, K., Montri, N., Donkanha, N. and Sudmee, R. 2012. Growing Conditions on Fruit Set and Fruit shape of Japanese Cucumber (*Cucumis sativus* L.) in Soilless Culture. **Taksin University Journal** 15(3): 200-206. (in Thai)
- Chantachai, D. 2012. Effect of Location and Planting Season on Agricultural Characteristics and Productivity of Commercial Cucumber. Master Thesis of Scienc, kasetsart University. (in Thai)
- Chinatu, L.N., Onwuchekwa-Henry, C.B. and Okoronkwo, C. M. 2017. **Assessment of Yield and Yield Components of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) in Southeastern Nigeria.** Available Source: <https://iiardpub.org/get/IJAES/VOL.%202020NO.%207%202016/PHYSICOCHEMICAL, May 8, 2022>.
- Department of Agricultural Extension. 2021. **Report on long cucumber production conditions in the year of cultivation 2021.** Available Source: <http://production.doae.go.th/>

- report/ report_main2 . php?report_type= 1,
May 8, 2021. (in Thai)
- Ene, C.O., Ogbonna, P.E., Agbo, C.U. and Chukwudi,
U. P. 2016. Evaluation of Sixteen
Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Genotypes in
Derived Savannah Environment Using Path
Coefficient Analysis. **Notulae Scientia
Biologicae** 8 (1): 85-92.
- Hanyong, S. 2007. Varietal Trial of F1 Hybrid Long
Cucumber. Master Thesis of Scienc, kasetsart
University. (in Thai)
- IRRI. 2013. **Statistical Tool for Agricultural
Research**. Available Source: www.irri.org,
May 10, 2022.
- Nan Provincial Agriculture Office. 2022. **Situation
of Vegetable Production and Consumption,
Nan Province, Basic Agricultural Information.
Agricultural Extension and Development
Department**. Available Source: <http://www.nan.doe.go.th/>, April 16, 2022. (in Thai)
- Nooprom, K. and Pakdeechnuan, P. 2017. Growth
efficiency and yield of 9 varieties of long
cucumbers in Songkhla Province. **Science
and Technology Journal** 25: 35-45. (in Thai)
- Pao In, K. 1998. Yield Trail of Four Cucumber
Varieties (*Cucumis sativus* Linn.). Master
Thesis of Scienc, kasetsart University. (in Thai)
- Pokawattana, C. and Chawapradid, P. 1996. **Cucumber
Planting**. Available Source: [www.eto.ku.ac.th/
neweto/e-book/ plant/herb_gar/cocomber.pdf](http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/herb_gar/cocomber.pdf),
December 16, 2017. (in Thai)

ผลของการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำ
ต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัสของบราวนี่กรอบ
Effects of Wheat Flour Substitution with Cricket Powder
(*Gryllus bimaculatus*) on Physical, Chemical and Sensory Properties of
Brownie Brittle

ตรีรัตน์ เกื้อจันทร์¹ ธัญวรัตน์ วรรณรัตน์¹ ปาริสุทธิ์ เฉลิมชัยวัฒน์^{1*} และ ดวงกมล แสงธีรกิจ²

Treerat Kueachan¹, Thanvarat Worrarat¹, Parisut Chalermchaiwat^{1*} and Duangkamon Sangteerakij²

Received: 29 November 2022, Revised: 28 January 2023, Accepted: 8 February 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปริมาณผงจิ้งหรีดต่อคุณภาพและการยอมรับของบราวนี่กรอบ ผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำที่เป็นวัตถุดิบในการทดลองนี้มีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 57.30 และมีปริมาณฮีสตามีน 17.59 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งปลอดภัยต่อการบริโภค ศึกษาการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำในบราวนี่กรอบที่ร้อยละ 0 (สูตรควบคุม), 10, 20 และ 30 ของน้ำหนักแป้ง ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (ค่าสี และค่าความแข็ง) คุณภาพทางเคมี (ปริมาณน้ำอิสระ ความชื้น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เส้นใยหยาบ เถ้า และพลังงาน) พบว่าปริมาณผงจิ้งหรีดที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณ โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ และเถ้าเพิ่มขึ้น แต่ค่าความสว่าง (L*) ปริมาณน้ำอิสระ และคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์ลดลง บราวนี่กรอบที่มีปริมาณผงจิ้งหรีดมากที่สุด (ร้อยละ 30) ให้ค่าความแข็งน้อยที่สุด ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale พบว่าบราวนี่กรอบทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดที่ร้อยละ 20 มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุด (7.90) บราวนี่กรอบผสมผงจิ้งหรีดที่พัฒนาได้มีปริมาณน้ำอิสระ และค่าความแข็ง เท่ากับ 0.34 และ 10.49 นิวตัน (N) ตามลำดับ นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้ประกอบไปด้วย ความชื้น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เส้นใยหยาบ และเถ้า เท่ากับร้อยละ 3.57, 52.92, 21.89, 9.40, 10.15 และ 1.76 (น้ำหนักเปียก) ตามลำดับ ค่าพลังงานที่วิเคราะห์จากเครื่อง Bomb Calorimeter เท่ากับ 5.35 กิโลแคลอรีต่อกรัม

คำสำคัญ: บราวนี่กรอบ, ผงจิ้งหรีด, โปรตีน, ประสาทสัมผัส

¹ สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

¹ Food and Nutrition program, Department of Home Economics, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

² สาขาวิชาการจัดการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000

² Food management program, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University, Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): fagrpsch@ku.ac.th

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the effect of cricket powder content on the quality and acceptance of brownie brittle. Tong-Dam cricket powder, used as a raw material in this experiment, had a protein content of 57.30 and 17.59 mg/kg of histamine, which is safe for consumption. The research also aimed to investigate the effect of substituting wheat flour with cricket powder in brownie brittle at 0 (control formula), 10, 20 and 30% of the total flour weight. The result from physical analysis (color and texture) and chemical analysis (a_w , moisture, carbohydrate, fat, protein, crude fiber, ash and energy) showed that increasing the cricket powder increased the protein, fat, crude fiber, and ash content. However, it decreased the lightness (L^*), a_w and carbohydrate content of the product. Brownie brittle with the highest amount of cricket powder (30%) had the least hardness. The sensory evaluation conducted using a 9-point hedonic scale revealed that brownie brittle products with 20% replacement of wheat flour with cricket powder had the highest overall liking score (7.90). The developed brownie brittle with cricket powder had the a_w and hardness value of 0.34 and 10.49 N, respectively. In addition, the developed products contained moisture, carbohydrate, fat, protein, crude fiber and ash of 3.57%, 52.92%, 21.89%, 9.40%, 10.15%, and 1.76% (wet basis), respectively. The energy value determined by Bomb calorimeter was found to be 5.35 Kcal/g.

Key words: brownie brittle, cricket powder, protein, sensory

บทนำ

จิ้งหรีด เป็นแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ (Edible insects) จัดเป็นแหล่งอาหารที่มีศักยภาพที่สำคัญในอนาคต เนื่องจากเป็นแหล่งของโปรตีนที่สามารถทดแทนเนื้อสัตว์ได้ (Van Huis *et al.*, 2013; Levia and Martinezb, 2017) ประกอบด้วยโปรตีนที่มีกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกายครบทุกชนิด โดยจิ้งหรีดสด 100 กรัม ให้โปรตีนอยู่ในช่วง 13.10 - 17.15 กรัม (Ritvanen *et al.*, 2020) ในขณะที่ผงจิ้งหรีดให้โปรตีนร้อยละ 46.76 - 70.00 น้ำหนักแห้ง (Ghosh *et al.*, 2017) นอกจากนั้นยังประกอบด้วยไขมันคุณภาพดี โดยมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) สูง จึงเป็นแหล่งพลังงานให้แก่ร่างกายได้ อีกทั้งยังมีแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส และสังกะสี เป็นต้น (Zielinska *et al.*,

2015; Kouřimská and Adámková, 2016) จิ้งหรีดจัดเป็นหนึ่งในแมลงเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถเพาะเลี้ยงได้ทุกภาคของประเทศ แต่นิยมเพาะเลี้ยงมากในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ขอนแก่น บุรีรัมย์ นครราชสีมา สกลนคร และนครพนม เป็นต้น โดยเฉพาะจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำ (*Gryllus bimaculatus*) เป็นจิ้งหรีดขนาดกลาง บางพื้นที่เรียก จิโหล่น ลำตัวกว้างประมาณ 0.70 เซนติเมตร ยาวประมาณ 3 เซนติเมตร ตามธรรมชาติมี 3 สี คือ สีดำ สีทอง และสีอำพัน โดยลักษณะที่เด่นชัดคือ จะมีจุดสีเหลืองที่โคนปีก 2 จุด (Association for the Development of Environmental Quality, 2020) เป็นจิ้งหรีดพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงเนื่องจากเลี้ยงง่าย ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว และพบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและมี

ปริมาณโปรตีนมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับจิ้งหรีดพันธุ์ทองแดง (Ritvanen *et al.*, 2020) การรับประทานโปรตีนทางเลือกจากแมลงนับเป็นการช่วยลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gas) ที่เป็นสาเหตุของการเกิดภาวะโลกร้อน โดยการเลี้ยงโคที่มีน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ผลิตก๊าซเรือนกระจก 2.80 กิโลกรัม การเลี้ยงสุกรน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ผลิตก๊าซเรือนกระจก 1.13 กิโลกรัม ในขณะที่แมลงที่รับประทานน้ำหนัก 1 กิโลกรัม นั้นผลิตก๊าซเรือนกระจกเพียง 2 กิโลกรัม นั่นเป็นเพราะการเลี้ยงแมลงใช้อาหาร น้ำ และพื้นที่น้อยกว่า (Fleming, 2018) รวมถึงกระแสความนิยมของโปรตีนทางเลือก และอาหารแห่งอนาคตที่เพิ่มมากขึ้นในปัจจุบันจึงทำให้ผู้คนหันมาสนใจ โปรตีนทางเลือกจากแมลงที่รับประทานได้มากขึ้น โดยผลิตภัณฑ์จิ้งหรีดที่ได้รับความนิยมในตลาดโลกมีหลายชนิด ทั้งในรูปแบบการบริโภคทั้งตัว เช่น การนำไปทำเป็นจิ้งหรีดทอด คั่ว อบกรอบ เป็นต้น และในรูปแบบอาหารแปรรูปด้วยการนำผงจิ้งหรีดไปใส่ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ขนมปัง (Andrea *et al.*, 2018) พาสต้า (Carcea, 2020) โปรตีนบาร์ (Ribeiro *et al.*, 2019) บิสกิต (Smarzyński *et al.*, 2021) และเครื่องดื่ม (French, 2020) เป็นต้น ซึ่งตลาดผงจิ้งหรีดทั่วโลกมีมูลค่า 10 ล้านดอลลาร์สหรัฐในปี พ.ศ. 2561 และคาดการณ์ว่าจะมีมูลค่าสูงถึง 30 ล้านดอลลาร์สหรัฐภายในสิ้นปี พ.ศ. 2568 โดยในช่วงปี พ.ศ. 2562 - 2568 มีอัตราเติบโตเฉลี่ยสะสมต่อปีอยู่ที่ร้อยละ 16.80 (Sarawit, 2020; Market watch, 2022) แสดงให้เห็นถึงโอกาสในการทำธุรกิจทางด้านแมลงทั้งของเกษตรกรและผู้ประกอบการ ทั้งนี้การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารว่างจากผงจิ้งหรีดทั้งในและต่างประเทศยังคงมีขีดจำกัดเนื่องจาก สี กลิ่น กลิ่นรส และรสชาติเฉพาะตัวของจิ้งหรีด ดังนั้นการเสริมผงจิ้งหรีดในผลิตภัณฑ์จึง

ควรคำนึงถึงความเข้ากันได้ผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภคเป็นสำคัญด้วย

บราวนี่กรอบ (brownie brittle) เป็นรูปแบบหนึ่งของบราวนี่ ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบางกรอบ เป็นของว่างที่นิยมของผู้บริโภคกลุ่มวัยรุ่นและวัยทำงาน Mordor Intelligence (2023) รายงานว่าบราวนี่อยู่ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ขนมหวานที่มีแนวโน้มอัตราการเติบโตรายปีแบบผสม ตั้งแต่ พ.ศ. 2561 - 2571 อยู่ที่ร้อยละ 7.70 และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในแถบเอเชียแปซิฟิก โดยได้แรงหนุนจากความตระหนักด้านสุขภาพของผู้บริโภคที่เพิ่มขึ้น ซึ่งบราวนี่โดยทั่วไปมีส่วนผสมหลักคือ แป้งสาลี ช็อกโกแลต เนย ไข่ น้ำตาล และนมสด (PhoI, 2017) ซึ่งมีแป้งสาลีเป็นส่วนประกอบหลัก มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตสูง หากรับประทานในปริมาณมากอาจจะส่งผลให้เกิดโรคอ้วน และโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ ปัจจุบันจึงมีการพัฒนาบราวนี่กรอบ เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่รักสุขภาพในรูปแบบต่าง ๆ เช่น บราวนี่กรอบที่ผลิตจากแป้งกล้วยน้ำว้าทดแทนแป้งสาลี บราวนี่กรอบเพื่อสุขภาพจากถั่วสามสี บราวนี่ทดแทนแป้งสาลีบางส่วนด้วยพิวรีนแทนเทสตีว่ง และผลิตภัณฑ์บราวนี่ปราศจากกลูเตน เป็นต้น (Khumme *et al.*, 2017; Boonsean *et al.*, 2021; Hongpan *et al.*, 2021) แต่จะเห็นได้ว่ายังไม่มียานวิจัยที่มีการนำผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองแดงมาใช้ในบราวนี่กรอบ ซึ่งจากการตรวจสอบเอกสารในช่วงต้นนั้นจะเห็นได้ว่าผงจิ้งหรีดสามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีน โยอาหาร และแร่ธาตุ ในผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบได้อีกทั้งลักษณะของผงจิ้งหรีดที่มีสีน้ำตาล สามารถเข้ากันได้ดีกับสีของบราวนี่กรอบด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบที่มีส่วนผสมของผงจิ้งหรีด โดยการทดแทนแป้งสาลีบางส่วนในผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบ และเป็นการสร้างความหลาย

หลายให้กับผลิตภัณฑ์อาหารว่างจากจังหวัด เป็นการเพิ่มมูลค่าและเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภค

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมผงจังหวัดพันธุ์ทองคำ

ผงจังหวัดเตรียมได้จากการนำจังหวัดพันธุ์ทองคำโตเต็มวัย จากเป็ยมสุขฟาร์ม จังหวัดชัยนาท ไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดเป็นผงด้วยเครื่องบด Fitz mill (Fitzpatrick, รุ่น E-187 India) และร่อนผ่านตะแกรงที่ความละเอียด 60 Mesh (250 ไมครอน) บรรจุใส่ถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27 ± 2 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณภาพต่าง ๆ ดังนี้

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีการของ AOAC (2019) วัดค่าตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีการของ Kjeldahl Method (AOAC, 2019) คำนวณหาปริมาณโปรตีนได้จากร้อยละของโปรตีน = ร้อยละไนโตรเจน x Kjeldahl factor (6.25) วัดค่าตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

วิเคราะห์ปริมาณฮิสตามีน (Histamine) ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (AOAC, 2019) รายงานหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) วัดค่าตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2. ศึกษาการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจังหวัดพันธุ์ทองคำในผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบ

2.1 การเตรียมสูตรบราวนี่กรอบ

ในการทดลองนี้บราวนี่กรอบมีการใช้สูตรและกรรมวิธีการผลิตตามวิธีการของ Phol (2017) เนื่องจากมีรายงานวิจัยของ Jintananaruemit *et al.* (2020) ได้ทำการศึกษาก่อนหน้านี้และพบว่าบราวนี่กรอบสูตรนี้ได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุด วัตถุประสงค์ในการผลิตบราวนี่กรอบ ประกอบไปด้วย

แป้งสาลีเนกประสงค์ เนย ช็อกโกแลตชิพ น้ำตาลทราย ผงโกโก้ ไข่ขาว กลิ่นวานิลลา เบกกิ้งโซดา เกลือ นมสด และน้ำเปล่า (Table 1) กรรมวิธีในการผลิตเริ่มจากการเปิดเตาอบที่ 180 องศาเซลเซียส เตรียมถาดอบรองด้วยแผ่นซีลีโคน นำเนย และช็อกโกแลตชิพใส่ในชาม สแตนเลส นำไปตั้งบนหม้อน้ำร้อน คนให้ละลายดี ใส่ผงโกโก้ น้ำตาลทราย ไข่ขาว ร่อนแป้ง เบกกิ้งโซดา และเกลือใส่ลงไปในชามให้เข้ากัน แล้วใส่กลิ่นวานิลลา คนให้เข้ากันดี ตามด้วยนมสด และน้ำสะอาด นำส่วนผสมบราวนี่ไปตลงบนถาดอบขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 55x42 เซนติเมตร โดยให้เนื้อบราวนี่มีความหนา 1 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปอบเป็นเวลา 13 นาที แล้วใช้มีดตัดแป้ง ตัดแบ่งบราวนี่ขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 1x1.5 นิ้ว พักให้เย็นลงบนถาด 3 นาที แล้วนำมาบรรจุใส่ถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน ปิดสนิท เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพในขั้นตอนต่อไป

2.2 ศึกษาการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจังหวัดพันธุ์ทองคำในผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบ

ศึกษาการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจังหวัดพันธุ์ทองคำในบราวนี่กรอบ โดยวางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (Complete Block Design; CRD) ศึกษาปริมาณผงจังหวัด 3 ระดับ คือร้อยละ 10 (B1), 20 (B2) และ 30 (B3) ของน้ำหนักแป้ง โดยมีสูตรที่ไม่ใส่ผงจังหวัดเป็นสูตรควบคุม (Control) ส่วนผสมของบราวนี่กรอบ แสดงดัง Table 1 จากนั้นนำไปประเมินคุณภาพต่าง ๆ ดังนี้

2.2.1 คุณภาพทางกายภาพ

วัดค่าสี ด้วยเครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Colourflex ประเทศสหรัฐอเมริกา วัดค่าสีในระบบ CIE Lab โดยค่าสี L* (ค่าความสว่างมีค่า 0-100 โดย 0 หมายถึง วัตถุที่มีความสว่างสีดำ ค่า 100 หมายถึง วัตถุที่มีค่าความสว่างสีขาว) ค่าสี a* (+ หมายถึง วัตถุที่มีสีแดง, - หมายถึง วัตถุที่มีสีเขียว) ค่าสี b* (+ หมายถึง

วัตถุที่มีสีเหลือง, - หมายถึง วัตถุที่มีสีน้ำเงิน) วัดค่าตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

วัดค่าเนื้อสัมผัส ด้วยเครื่องวัดค่าเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) รุ่น TA.XT plus, Stable Micro Systems Texture analyzer ประเทศอังกฤษ ตามวิธีการของ Keeratipibul *et al.* (2008) โดยนำบราวนี่กรอบขนาดกว้าง × ยาว 1×1.5 นิ้ว มาวัดค่าความแข็ง ด้วยหัววัด cylinder probe (P/2) รายงานผลเป็นหน่วยนิวตัน (N) วัดค่าตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

2.2.2 คุณภาพทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า ไขมัน โปรตีน เส้นใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีการของ AOAC (2019) วัดค่าตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

วัดค่าปริมาณน้ำอิสระ ด้วยเครื่องวัดวอเตอร์แอกทิวิตี (Water activity) ยี่ห้อ Aqualab รุ่น RS-232 ประเทศสหรัฐอเมริกา วัดค่าตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

วัดค่าพลังงานสะสม โดยใช้เครื่อง Bomb Calorimeter ยี่ห้อ PARR รุ่น 6100 ประเทศสหรัฐอเมริกา รายงานเป็นหน่วยกิโลแคลอรีต่อกรัม (kcal/g) วัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.2.3 การประเมินทางประสาทสัมผัส

การประเมินทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) กับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนกลุ่มเป้าหมาย อายุระหว่าง 18-35 ปี จำนวน 50 คน ซึ่งเป็นนิสิตและบุคลากรของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร โดยมีข้อกำหนดว่าต้องเป็นผู้ที่สามารถบริโภคมะเร็งได้และไม่มีอาการแพ้ต่อส่วนผสมของบราวนี่กรอบ และต้องเป็นผู้ทดสอบชิมที่เคยรับประทานบราวนี่กรอบมาก่อน คุณลักษณะที่ทำการประเมินความชอบ ได้แก่ สี ความกรอบ รสชาติ กลิ่นรส และความชอบโดยรวม

Table 1 Brownie brittle recipe

Ingredients	Control	B1	B2	B3
Wheat flour (g)	110	99	88	77
Cricket powder (g)	-	11	22	33
Unsalted butter (g)	60	60	60	60
Chocolate chips (g)	160	160	160	160
Sugar (g)	150	150	150	150
Cocoa powder (g)	15	15	15	15
Egg white (eggs)	2	2	2	2
Vanilla extract (g)	5	5	5	5
Baking soda (g)	1.25	1.25	1.25	1.25
Salt (g)	1.25	1.25	1.25	1.25
Milk (g)	10	10	10	10
Water (g)	5	5	5	5

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) สำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัส นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลการเตรียมผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองคำ

ผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองคำที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีปริมาณความชื้น เท่ากับ ร้อยละ 5.24 ± 0.01 มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ ร้อยละ 57.30 ± 0.05 ใกล้เคียงกับรายงานการศึกษาของ Mafu *et al.* (2022) ที่พบว่าจิ้งหรีดพันธุ์ทองคำมีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 55.11 และ Phesatcha *et al.* (2022) พบว่ามีปริมาณโปรตีนเท่ากับ ร้อยละ 54.10 ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าการศึกษาของ Montowska *et al.* (2019) ที่รายงานว่าผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองแดงลาย (สะตั้ง) *Acheta domesticus* มีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 42–45.80 จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนในผงจิ้งหรีดพันธุ์ต่าง ๆ จะอยู่ในช่วงร้อยละ 46.76 – 70 (Ghosh *et al.*, 2017)

สำหรับฮีสตามีนเป็นเอมีนชนิดหนึ่งมีคุณสมบัติที่ทนความร้อนได้ สามารถผลิตได้จากแบคทีเรียบางชนิดโดยจะเปลี่ยนฮิสทีดีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งไปเป็นฮีสตามีน ซึ่งเป็นสารก่อภูมิแพ้ในระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินหายใจ อาจทำให้เกิดอาการผื่นคันตั้งแต่เล็กน้อย เช่น เกิดผื่นแดง ลมพิษ อาเจียน หอบหืด หรือมีอาการ

มากจนถึงขั้นเสียชีวิตได้ สามารถพบในอาหารประเภทโปรตีนรวมถึงแมลงที่อาจเกิดการปนเปื้อนในขั้นตอนการประกอบอาหาร (Department of medical science, 2013) ผลการวิเคราะห์ปริมาณฮีสตามีนในผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองคำที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีปริมาณ เท่ากับ 17.59 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคตามรายงานขององค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติและองค์การอนามัยโลก (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013) ที่รายงานว่าปริมาณฮีสตามีนที่ปลอดภัยต่อการบริโภคจะต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2. ผลของปริมาณผงจิ้งหรีดต่อคุณภาพทางกายภาพเคมี และประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบ

2.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบ

ผลการวัดค่าสี พบว่า บราวนี่กรอบสูตร control มีค่าความสว่าง (L*) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับบราวนี่กรอบที่มีผงจิ้งหรีดทั้ง 3 สูตร โดยบราวนี่กรอบสูตร control มีค่าความสว่าง (L*) มากที่สุด และค่าความสว่างลดลงเมื่อมีการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีด (Table 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tassanaudom *et al.* (2021) พบว่าการเพิ่มปริมาณผงจิ้งหรีดทดแทนแป้งสาลีในคุกกี้ข้าวพองแปรผันโดยตรงกับค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์ โดยการเพิ่มของปริมาณผงจิ้งหรีดส่งผลให้ค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม แต่เมื่อทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดจนถึงร้อยละ 30 พบว่า ค่าความเป็นสีแดง (a*) และ ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ไม่มีความแตกต่างกันกับบราวนี่กรอบสูตร control

ผลการวัดค่าความแข็ง แสดงดัง Table 2 พบว่าสูตรที่มีการทดแทนด้วยปริมาณผงจิ้งหรีดมาก

ที่สุด (ร้อยละ 30) ทำให้ความสามารถในการยึดเกาะกันของวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบลดน้อยลง ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่าความแข็งลดลง การทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าบราวนี่กรอบสูตร B3 มีค่าความแข็งน้อยที่สุด (6.74 N) เนื่องจากมีปริมาณผงจิ้งหรีดมากที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Sanom and Jangchud (2020) รายงานว่าปริมาณของผงจิ้งหรีดที่เพิ่มขึ้นมีผลให้ค่าความแข็งของคุกกี้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และรายงานการศึกษา

ของ Pauter *et al.* (2018) พบว่าการเติมผงจิ้งหรีดลงในมัพฟินทำให้ค่าความแข็งของผลิตภัณฑ์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม เนื่องจากความแข็งของผลิตภัณฑ์เบเกอร์ขึ้นอยู่กับปริมาณอะมิโนเพคตินและอะมิโลสของผลิตภัณฑ์เป็นหลัก ดังนั้นปริมาณของแป้งสาลีที่ลดลงจึงส่งผลต่อความแข็งของผลิตภัณฑ์ (Gómez *et al.*, 2003; Martínez-Cervera *et al.*, 2011; Pauter *et al.*, 2018)

Table 2 Physical properties of brownie brittle

Treatment	Physical properties			Hardness (N)
	Color value			
	L*	a*	b*	
Control	27.46 ± 0.31 ^a	7.94 ± 0.70 ^a	5.42 ± 0.79 ^a	9.62 ± 0.27 ^a
B1	26.75 ± 0.07 ^b	6.61 ± 0.16 ^b	4.26 ± 0.24 ^b	10.02 ± 0.23 ^a
B2	25.83 ± 0.12 ^c	6.56 ± 0.36 ^b	4.29 ± 0.25 ^b	10.49 ± 0.41 ^a
B3	27.05 ± 0.11 ^b	7.34 ± 0.52 ^{ab}	5.21 ± 0.61 ^a	6.74 ± 1.43 ^b

Mean ± SD with different lowercase superscripts in each column are significantly ($p \leq 0.05$) different.

2.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี แสดงดัง Table 3 พบว่า ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของสูตร control สูตรที่ทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดร้อยละ 10 (B1) และ 20 (B2) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่สูตรที่ทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดร้อยละ 30 (B3) มีค่า a_w น้อยที่สุด สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Tassanaudom *et al.* (2021) และ Sanom and Jangchud (2020) ที่รายงานว่าค่าปริมาณน้ำอิสระของผลิตภัณฑ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณของผงจิ้งหรีดที่เติมลงไปมีปริมาณเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามค่า a_w ของบราวนี่กรอบทั้ง 4 สูตรอยู่ในช่วง 0.30 - 0.35

ใกล้เคียงกับค่า a_w ของผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองคำที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ที่เท่ากับ 0.36 ซึ่งมีค่า a_w ตรงตามเกณฑ์มาตรฐานของขนมปังกรอบ (มพช. 523/2563 และ มอก.เอส 96-2563) (Ministry of Industry, 2020a; 2020b) โดยค่าปริมาณน้ำอิสระของอาหาร มีความเกี่ยวข้องกับการเจริญของจุลินทรีย์ ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ดังนั้นเมื่อลดค่า a_w ให้ต่ำกว่า 0.60 ซึ่งเป็นช่วงที่จุลินทรีย์ทุกชนิดไม่สามารถเจริญได้ แสดงให้เห็นว่าจะทำให้อาหารปลอดภัยจากการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้นานขึ้น (Public Health England, 2020) การเติมผงจิ้งหรีดลงไปในส่วนผสมทำให้มีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจาก

ในผงจิ้งหรีดมีปริมาณของใยอาหารถึงร้อยละ 10 (Udomsil *et al.*, 2019) ซึ่งมีความสามารถในการเก็บกักความชื้นไว้ได้มากกว่าแป้งสาลีที่มีปริมาณของใยอาหารเพียงร้อยละ 3 (Jaekel *et al.*, 2012; Suten *et al.*, 2021)

ผลการศึกษาระดับคาร์โบไฮเดรตของบราวนี่กรอบพบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อปริมาณของผงจิ้งหรีดในส่วนผสมเพิ่มขึ้น โดยบราวนี่กรอบสูตร control มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดเนื่องจากมีส่วนผสมของแป้งสาลีมากที่สุด และเมื่อเพิ่มปริมาณของผงจิ้งหรีดร้อยละ 10, 20 และ 30 ส่งผลให้ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในผลิตภัณฑ์ลดลงจากร้อยละ 58.31 เป็นร้อยละ 56.32, 52.92 และ 50.70 น้ำหนักเปียก ตามลำดับ สอดคล้องกับปริมาณของโปรตีนที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มปริมาณของผงจิ้งหรีดในสูตร โดยบราวนี่กรอบสูตร B3 ซึ่งเป็นการทดแทนด้วยผงจิ้งหรีดปริมาณมากที่สุด (ร้อยละ 30) มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด และ บราวนี่กรอบสูตร control มีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุด สอดคล้องกับ Phupinyokul *et al.* (2020) ที่ประยุกต์ใช้จิ้งหรีดทองแดงลายในผลิตภัณฑ์คุกกี้จิ้งหรีด ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเติมผงจิ้งหรีดลงในผลิตภัณฑ์คุกกี้จิ้งหรีดทำให้ปริมาณโปรตีนของคุกกี้เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 6.69 เป็น 12.91 ซึ่งผลการศึกษาระดับไขมันเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือมีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณผงจิ้งหรีดเนื่องจากผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำมีปริมาณไขมันร้อยละ 23.40 น้ำหนักแห้ง Udomsil *et al.* (2019) ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาการใช้ผงจิ้งหรีดทดแทนแป้งสาลีในขนมปังของ Mafu *et al.* (2022) รายงานว่าเมื่อทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดในปริมาณที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเกลือแร่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

โดยสูตรที่ทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดมากที่สุดคือ ร้อยละ 30 จากน้ำหนักแป้งมีปริมาณโปรตีนไขมัน และเกลือแร่มากที่สุด เนื่องจากจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำมีปริมาณโปรตีน ไขมันและเกลือแร่ ร้อยละ 60.7, 23.4 และ 2.80 น้ำหนักแห้ง (Udomsil *et al.*, 2019) ถึงแม้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะลดลงแต่พบว่าปริมาณของเส้นใยหยาบของบราวนี่กรอบมีเพิ่มขึ้น ตามรายงานการศึกษาของ Udomsil *et al.* (2019) พบว่าจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำมีปริมาณเส้นใยหยาบ ร้อยละ 10 น้ำหนักแห้ง ผลการศึกษาพบว่าบราวนี่กรอบที่เติมผงจิ้งหรีด ร้อยละ 10, 20 และ 30 ของน้ำหนักแป้ง มีปริมาณเส้นใยหยาบเพิ่มขึ้นเท่ากับ ร้อยละ 9.36, 9.65, 10.15 และ 11.61 ตามลำดับ Stull *et al.* (2018) ได้ศึกษาการเติมผงจิ้งหรีดลงในอาหารเช้า ซึ่งประกอบไปด้วยมัทฟฟิน 1 ชั้นและผงช็อกโกแลตมอลต์ซังคิม 1 แก้ว โดยอาหารเช้าสูตรที่มีการเติมผงจิ้งหรีดมีปริมาณใยอาหาร ร้อยละ 5.57 ต่อสูตร และอาหารเช้าที่ไม่ได้เติมผงจิ้งหรีด มีปริมาณใยอาหาร ร้อยละ 3.37 ต่อสูตร ผลการศึกษาพบว่าการบริโภคผงจิ้งหรีด 25 กรัมต่อวัน และบริโภคต่อเนื่องเป็นเวลา 14 วันมีความปลอดภัยและไม่พบผลข้างเคียง อีกทั้งผงจิ้งหรีดยังช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium animalis* spp. ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติก (Probiotic) ได้อีกด้วย

ผลการศึกษาระดับไขมันของผลิตภัณฑ์พบว่าเมื่อมีการทดแทนแป้งสาลีด้วยผงจิ้งหรีดส่งผลให้ปริมาณของไขมันเพิ่มขึ้นเช่นกัน เนื่องจากจิ้งหรีดอุดมไปด้วยไขมัน 450.1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง ฟอสฟอรัส 906.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง โพแทสเซียม 1065.2 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง (Phesatcha *et al.*, 2021) บราวนี่กรอบทั้ง 4 สูตร มีปริมาณพลังงานไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เนื่องจากการทดลอง

ครั้งนี้ ผงจิ้งหรีดที่นำมาใช้ในการทดแทนแป้งสาลีให้พลังงานใกล้เคียงกับแป้งสาลี โดยผงจิ้งหรีด 1 กรัมให้พลังงาน 4.47 กิโลแคลอรี (Phesatcha *et al.*, 2022)

แป้งสาลี 1 กรัมให้พลังงาน 3.39 กิโลแคลอรี (Ministry of Public Health, 2018)

Table 3 Chemical properties of brownie brittle with cricket powder

Chemical properties	Treatment			
	Control	B1	B2	B3
Water activity (a_w)	0.35±0.01 ^a	0.33±0.01 ^a	0.34±0.02 ^a	0.30±0.01 ^b
Moisture content (%wet basis)	1.87±0.02 ^d	2.21±0.02 ^c	3.57±0.01 ^a	2.59±0.02 ^b
Carbohydrate (%wet basis)	58.31±0.01 ^a	56.32±0.01 ^b	52.92±0.01 ^c	50.70±0.01 ^d
Fat (%wet basis)	21.08±0.43 ^b	21.64±0.48 ^{ab}	21.89±0.33 ^{ab}	22.60±0.34 ^a
Protein (%wet basis)	7.78±0.18 ^d	8.44±0.40 ^c	9.40±0.08 ^b	10.47±0.44 ^a
Crude fiber (%wet basis)	9.36±0.00 ^d	9.65±0.00 ^c	10.15±0.00 ^b	11.61±0.00 ^a
Ash (%wet basis)	1.61±0.02 ^c	1.66±0.01 ^{bc}	1.76±0.03 ^{ab}	1.83±0.10 ^a
Energy ^{ns} (Kcal/g)	5.24±0.03	5.36±0.10	5.35±0.06	5.36±0.07

Mean ± SD with different lowercase superscripts in each row are significantly ($p \leq 0.05$) different.

ns = indicates a non-significant effect ($p > 0.05$).

2.3 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัส

ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของบราวนี่กรอบ พบว่าการใช้ผงจิ้งหรีดทดแทนแป้งสาลีในบราวนี่กรอบไม่ส่งผลต่อคะแนนความชอบด้านสี โดยคะแนนความชอบทางด้านสีของบราวนี่กรอบทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่ด้านความกรอบ รสชาติ กลิ่นรส และความชอบโดยรวมมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสูตร control ได้รับคะแนนความชอบด้านรสชาติ กลิ่นรส และความชอบโดยรวมน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับบราวนี่กรอบสูตรอื่น และบราวนี่กรอบสูตร B2 (ผงจิ้งหรีด ร้อยละ 20) ได้รับคะแนนความชอบด้านรสชาติ กลิ่นรส และความชอบโดยรวมมากที่สุด โดยมีระดับคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลาง (7.90) แสดงดัง Table 4 ผล

การศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานการศึกษาของ Mafu *et al.* (2022) ที่พบว่า การเพิ่มปริมาณของผงจิ้งหรีด ร้อยละ 20 ในขนมปังได้รับคะแนนความชอบทางด้านกลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมไม่แตกต่างจากสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่เมื่อนำสูตรนี้มาเปรียบเทียบกับขนมปังทางการค้าพบว่ายังได้รับคะแนนความชอบน้อยกว่าในทุกคุณลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส สี กลิ่นรส รสชาติ และความชอบโดยรวม ในขณะที่ผลจากการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองคำทดแทนแป้งสาลีในผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบทำให้ผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากขึ้น นั่นอาจเป็นเพราะผงจิ้งหรีดทองคำเข้ากันได้ดีกับผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบส่งผลให้ลักษณะทางประสาทสัมผัส ด้านความ

กรอบ รสชาติ กลิ่นรส และความชอบโดยรวมเป็นที่ยอมรับมากขึ้นกว่าสูตรที่ไม่มีผงจิ้งหรีด

ดังนั้น ผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบที่พัฒนาได้ และได้รับคะแนนความชอบสูงสุด คือ สูตรที่มีปริมาณผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำทดแทนแป้งสาลี ร้อยละ

20 ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นสี่เหลี่ยมขนาด 1 x 1.5 นิ้ว ความหนา 1 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้ม กลิ่นรสช็อกโกแลต มีความกรอบ แสดงดัง Figure 1 ผลิตภัณฑ์มีปริมาณน้ำอิสระ และค่าความแข็ง เท่ากับ 0.34 และ 10.49 นิวตัน (N) ตามลำดับ

Table 4 Sensory evaluation of brownie brittle with cricket powder

Treatment	Sensory attributes				
	Color ^{ns}	Crispiness	Taste	Flavor	Overall liking
Control	7.70±1.26	7.48 ± 1.66 ^b	6.58±1.87 ^b	6.62±1.66 ^b	6.72 ± 1.44 ^c
B1	7.60±1.26	8.12 ± 1.17 ^a	7.56±1.50 ^a	7.38±1.49 ^a	7.62 ± 1.19 ^{ab}
B2	7.82±1.11	7.84 ± 1.21 ^{ab}	7.76±1.15 ^a	7.58±1.12 ^a	7.90 ± 0.91 ^a
B3	7.84±1.26	7.94± 1.50 ^{ab}	7.12±1.81 ^{ab}	7.02±1.78 ^{ab}	7.12± 1.71 ^{bc}

Mean ± SD with different lowercase superscripts in each column are significantly ($p \leq 0.05$) different.

ns = indicates a non-significant effect ($p > 0.05$).



Figure 1 Developed brownie brittle with cricket powder

สรุป

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถนำผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำมาใช้ในการทดแทนแป้งสาลีในผลิตภัณฑ์ บราวนี่กรอบให้มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับได้ โดยการใส่ผงจิ้งหรีดที่ปริมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักแป้ง สามารถเข้ากันได้ดีกับสี เนื้อสัมผัส กลิ่นรส และรสชาติของผลิตภัณฑ์บราวนี่กรอบ ได้รับการยอมรับโดยมีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบปานกลาง อีกทั้งในด้านคุณค่าทางโภชนาการส่งผลให้ปริมาณ โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ และเถ้า

เพิ่มขึ้นจากสูตรบราวนี่กรอบปกติถึง 1.2, 1.04, 1.08 และ 1.09 เท่า ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นแนวทางการนำผงจิ้งหรีดพันธุ์ทองดำของไทยมาพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารว่างจากแมลง ซึ่งเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากจิ้งหรีด แหล่งโปรตีนแห่งอนาคต ช่วยเพิ่มมูลค่า และความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์ และส่งเสริมสุขภาพได้อีกทางหนึ่ง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาอาหารและโภชนาการ ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Andrea, O., Milanović, V., Cardinali, F., Roncolini, A., Garofalo, C., Clementi, F., Pasquini, M., Mozzon, M., Foligni, R., Raffaelli, N., Zamporlini, F. and Aquilanti, L. 2018. Bread enriched with cricket powder (*Acheta domestica*): A technological, microbiological and nutritional evaluation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies** 48: 150-163.
- AOAC. 2019. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis of AOAC International**. 21sted. Washington DC.
- Association for the Development of Environmental Quality. 2020. **Two-spotted Cricket**. Available Source: <https://adeq.or.th/two-spotted-cricket/>, November 11, 2022. (in Thai)
- Boonsean, S., Boonbai, N., Poonyim, S., Sirisubjareon, A., Ngamnikom, P. and Surin, S. 2021. Development of healthy brownie from three colored beans. **RMUTT Research Journal** 20(1): 30-39. (in Thai)
- Carcea, M. 2020. Quality and Nutritional/Textural Properties of Durum Wheat Pasta Enriched with Cricket Powder. **Foods** 9(9): 1-4.
- Department of medical science. 2013. **Department of Science warns allergic patients eating fried insects is dangerous**. Available Source: http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/wp-content/uploads/2017/Publish_consumer-report/2557/14%20ct%2056.pdf, January 20, 2023. (in Thai)
- Fleming, S. 2018. **Good grub: why we might be eating insects soon**. Available Source: <https://www.weforum.org/agenda/2018/07/good-grub-why-we-might-be-eating-insects-soon/>, November 1, 2022.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. **Public Health Risks of Histamine and other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products; Meeting report**. Available Source: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Histamine/Histamine_AdHocfinal.pdf, October 11, 2022.
- French, P. 2020. **Tokyo startup launches cricket-flavoured beer**. Available Source: <https://www.thedrinksbusiness.com/2020/02/tokyo-startup-launches-cricket-flavoured-beer/>, January 20, 2023.
- Ghosh, S., Lee, S.M., Jung, C. and Meyer-Rochow, V.B. 2017. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. **Journal of Asia-Pacific Entomology** 20: 686-694.
- Gómez, M., Ronda, F., Blanco, C.A., Caballero, P.A. and Apesteguia, A. 2003. Effect of dietary fiber on dough rheology and bread quality.

- European Food Research and Technology** 216: 51-56.
- Hongpan, N., Chainarong, K. and Kalawong, S. 2021. Study of partial substitution levels of wheat flour with purple sweet potato puree on qualities of brownies. **Burapha Science Journal** 26(3): 1745-1761. (in Thai)
- Jaekel, L.Z., Batista da Silva, C., Steel, C.J. and Chang, Y.K. 2012. Influence of xylanase addition on the characteristics of loaf bread prepared with white flour or whole grain wheat flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas** 32(4): 844-849.
- Jintananaruemit, P., Techakriengkrai, T., Jamphon, A., Duangnum, S., Maneerattanasuporn, T. and Pasukamonset, P. 2020. Product development of crispy brownies fortified with bio calcium from Tuna bone powder. **Journal of science KKU** 48(4): 492-501. (in Thai)
- Keeratipibul, S., Luangsakul, N. and Lertsachayarn, T. 2008. The effect of Thai glutinous rice cultivars grain length and cultivating locations on the quality of rice cracker (arare). **LWT-Food Science and Technology** 41: 1934-1943.
- Khummee, V., Akaraeaktalin, A., Lauraj, C. and Rungrueang, C. 2017. Development of brownies cracker by using banana flour substituted wheat flour, pp. 937-946. *In The 4th National Academic Conference*. Research and development institute, Kamphaeng Phet Rajabhat University. (in Thai)
- Kouřimská, L. and Adámková, A. 2016. Nutritional and sensory quality of edible insects. **NFS Journal** 4: 22-26.
- Levia, A.J. and Martinezb, J.J.I. 2017. The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated. **Journal of Food Composition and Analysis** 62: 184-188.
- Mafu, A., Ketnawa, S., Phongthai, S., Schönlechner, R. and Rawdkuen, S. 2022. Whole wheat bread enriched with cricket powder as an alternative protein. **Foods** 11 (2142): 1-13.
- Market watch. 2022. **Cricket Protein Powders Market Share 2022 Trends, Growth Rate Analysis, Industry Demand, Development Plans, Strategies and Top Regions Forecast till 2025**. Available Source: <https://www.marketwatch.com/press-release/cricket-protein-powders-market-share-2022-trends-growth-rate-analysis-industry-demand-development-plans-strategies-and-top-regions-forecast-till-2025-2022-06-03>, August 1, 2022.
- Martinez-Cervera, S., Salvador, A., Muguerza, B., Moulay, L. and Fiszman, S.M. 2011. Cocoa fibre its application as a fat replacer in chocolate muffins. **Journal of Food Science and Technology** 44: 729-736.
- Ministry of Industry. 2020a. **Thai Community Product Standard: Crackers and Biscuits (523/2563)**. Available Source: [https://tcps.tisi.go.th/pub/tcps0523_63\(%E0%B8%82%E0%B8%99%E0%B8%A1%E0%B8%9B%E0%B8%B1%E0%B8%87%E0%B8%81%E](https://tcps.tisi.go.th/pub/tcps0523_63(%E0%B8%82%E0%B8%99%E0%B8%A1%E0%B8%9B%E0%B8%B1%E0%B8%87%E0%B8%81%E)

- 0%B8%A3%E0%B8%AD%E0%B8%9A). pdf, August 4, 2022. (in Thai)
- Ministry of Industry. 2020b. **Thai SMEs Standard: Biscuits and Crackers (96–2563)**. Available Source: <https://www.tisi.go.th/assets/website/pdf/tiss/96-2563.pdf>, August 4, 2022. (in Thai)
- Ministry of Public Health. 2018. **Food composition table of Thai foods**. Bureau of Nutrition, Ministry of Public Health, Bangkok. (in Thai)
- Montowska, M., Kowalczewski, P., Rybicka, I. and Fornal, E. 2019. Nutritional value, protein and peptide composition of edible cricket powders. **Food Chemistry** 289: 130-138.
- Mordor Intelligence. 2023. **Global Dessert Mixes Market – Growth, Trends, Covid-19 impact, and Forecasts (2023-2028)**. Available Source: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-dessert-mixes-market>, January 20, 2023.
- Pauter, P., Różańska, M.B., Wiza, P., Dworzak, S., Grobelna, N., Sarbak, P. and Kowalczewski, P. 2018. Effects of the replacement of wheat flour with cricket powder on the characteristics of muffins. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria** 17(3):227-233.
- Phesatcha, B., Phesatcha, K., Viennaxay, B., Matra, M., Totakul, P. and Wanapat, M. 2022. Cricket meal (*Gryllus bimaculatus*) as a protein supplement on in vitro Fermentation characteristics and methane mitigation. **Insects** 13(2): 129: 1-10.
- Phesatcha, K., Phesatcha, B., Chunwijittra, K. and Wanapat, M. 2021. Effect of local feed resources on the production performance and nutritional composition of the cricket (*Gryllus bimaculatus* De Geer). **Khon Kaen Agriculture Journal** 50(1): 548-557. (in Thai)
- Phol. 2017. **Brownie Brittle**. Available Source: <https://bit.ly/3zW6xmx>, August 12, 2022. (in Thai)
- Phupinyokul, M. Morkya, P. and Treesuwan, W. 2020. Physical properties and chemical composition of cricket and application in Chinese cookie, pp. 1-8. **In Proceedings of the 10th National and International Graduate Study Conference**. Silpakorn University, Graduate School. (in Thai)
- Public Health England. 2020. **Determination of water activity in food. National Infection Service Food Water and Environmental Microbiology Standard Method**. Available Source: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/864740/Determination_of_Water_Activity_in_Food__4_.pdf, January 22, 2023.
- Ribeiro, J.C., Lima, R.C., Maia, M.R.G., Almeida, A.A., Fonseca, A.J.M., Cabrita, A.R.J. and Cunha, L.M. 2019. Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllodes sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. **LWT- Food Science and Technology** 113: 1-7.
- Ritvanen, T., Pastell, H., Welling, A. and Raatikainen, M. 2020. The nitrogen-to-protein conversion factor of two cricket species - *Acheta domesticus*

- and *Gryllus bimaculatus*. **Agricultural and Food Science** 29: 1-5.
- Sanom, P. and Jangchud, K. 2020. Effect of cricket (*Acheta Domesticus*) powder, soy protein isolate and xanthan gum on the qualities of rice flour based cookies. **RMUTP Research Journal** 14(2): 72-84. (in Thai)
- Sarawit. 2020. "Cricket" is a hot alternative protein. Thai business opportunity to hit the world market. Available Source: <https://www.nstda.or.th/sci2pub/cricket-business/>, August 2, 2022. (in Thai)
- Smarzyński, K., Sarbak, P., Kowalczewski, P. Ł., Róžańska, M.B., Rybicka, I., Polanowska, K., Fedko, M., Kmiecik, D., Masewicz, Ł., Nowicki, M., Lewandowicz, J., Jeżowski, P., Kačániová, M., Ślachciński, M., Piechota, T. and Baranowska, H.M. 2021. Low-field NMR study of shortcake biscuits with cricket powder, and their nutritional and physical characteristics. **Molecules** 26(17): 1-18.
- Stull, V.J., Finer, E., Bergmans, R.S., Febvre, H.P., Longhurst, C., Manter, D.K., Patz, J.A. and Weir, T.L. 2018. **Scientific Report** 8 (10762): 1-13.
- Suten, S., Fuengkajhornfung, N., Hirunyophat. P., Weenuttranon, J. and Sanphom, T. 2021. Effects of house cricket (*Acheta domesticus*) powder on the texture, sensory properties and nutritional values of cassava flour-brownies. **PBRU Science Journal** 18(1): 42-51. (in Thai)
- Tassanaudom, U., Homchan, S. and Srapiinkomburee, W. 2021. Effects of partial substitution of wheat flour with Cricket (*Acheta domesticus* L.) powder on the physicochemical characteristics of puffed Jasmine rice cookies. **RMUTI Journal Science and Technology** 14(3): 117-134. (in Thai)
- Udomsil, N., Imsoonthornruksa, S., Gosalawit, C. and Ketudat-Cairns, M. 2019. Nutritional Values and Functional Properties of House Cricket (*Acheta domesticus*) and Field Cricket (*Gryllus bimaculatus*). **Food Science and Technology Research** 25(4): 597-605.
- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G. and Vantomme, P. 2013. **Edible insects: future prospects for food and feed security**. Food and agriculture organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Zielinska, Y., Baraniak, B., Karas, M., Rybczynska, K. and Akubczyk, A. 2015. Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. **Food Research International** 77: 460-466.

การเพิ่มการเติบโตของไดอะตอมทะเล *Amphora subtropica* BUUC1502 โดยเติมฟอสเฟตและซิลิเกตในระหว่างการเลี้ยง

Growth Improvement of a Marine Diatom *Amphora subtropica* BUUC1502 by Adding Phosphate and Silicate during the Cultivation

สุพรรณิ นวลโกฏ¹ สรวิต เพ้าทองสุข^{2,3} และ มะลิวัลย์ กุตะโก^{1*}

Supanee Nualkot¹, Sorawit Powtongsook^{2,3} and Maliwan Kutako^{1*}

Received: 25 May 2022, Revised: 12 October 2022, Accepted: 10 March 2023

บทคัดย่อ

ในอาหารเพาะเชื้อไดอะตอมมีไนเตรท ฟอสเฟตและซิลิเกตเป็นสารอาหารที่สำคัญสำหรับการเติบโต งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการเติบโตของไดอะตอมทะเล *Amphora subtropica* BUUC1502 ที่เลี้ยงโดยมีการเติมสารอาหารเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง การทดลองแรกได้ศึกษาการเติบโตและการใช้สารอาหารของไดอะตอมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรมาตรฐาน F/2 ความเค็ม 30 พีเอสยู พบว่าในระหว่างการเลี้ยงมีการลดลงของไนเตรท แต่ยังคงมีปริมาณเพียงพอ (> 8 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร) ในขณะที่ฟอสเฟตและซิลิเกตลดลงอย่างรวดเร็วจนเกือบหมดในเวลา 5 วัน การทดลองที่สองได้ทดลองเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ที่มีการเติมฟอสเฟตและซิลิเกตแตกต่างกัน 6 ชุดการทดลอง ได้แก่ [1] อาหารสูตร F/2 [2] อาหารสูตร F/2 ที่ไม่เติมฟอสเฟต (F/2-P) [3] อาหารสูตร F/2 ที่ไม่เติมซิลิเกต (F/2-Si) [4] อาหารสูตร F/2 ที่มีการเติมสารละลายฟอสเฟตเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง (F/2+P) [5] อาหารสูตร F/2 ที่มีการเติมซิลิเกตเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง (F/2+Si) และ [6] อาหารสูตร F/2 ที่เติมทั้งฟอสเฟตและซิลิเกตเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง (F/2+P+Si) สารอาหารถูกเติมเพิ่มลงในขวดเลี้ยงระหว่างวันที่ 2-13 และมีการเพิ่มความเข้มข้นของ

¹ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี 22170

¹ Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi Campus, Tha Mai, Chanthaburi 22170, Thailand.

² ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

² Center of Excellence for Marine Biotechnology (CEMB), Marine Science Department, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Patumwan, Bangkok 10330, Thailand.

³ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อำเภอลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

³ National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Khlong Luang, Pathum Thani 12120, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): maliwan@buu.ac.th

การเติมสารอาหารขึ้นอีกในระหว่างวันที่ 14-19 เพื่อตอบสนองต่อปริมาณเซลล์ที่มีความหนาแน่นสูงขึ้น ผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงไดอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ด้วยอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2 ที่มีการเติมฟอสเฟตและซิลิเกตเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง สามารถเพิ่มการเติบโตของไดอะตอมได้สูงกว่าอาหารสูตร F/2 โดยมีความหนาแน่นสูงสุด 609.44×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ในขณะที่การเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ไดอะตอมมีความหนาแน่นสูงสุด 318.33×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม การเพิ่มสารอาหารด้วยความเข้มข้นสูงขึ้นในช่วงท้ายของการทดลอง (วันที่ 14-19) ไม่ช่วยให้เซลล์เพิ่มความหนาแน่นขึ้นได้

คำสำคัญ: การเติมสารอาหาร, ฟอสเฟต, ซิลิเกต, ไดอะตอมทะเล, *Amphora subtropica* BUUC1502

ABSTRACT

Nitrate, phosphate, and silicate are important nutrients in the culture medium for diatom cultivation. This study investigated the growth of a marine diatom *Amphora subtropica* BUUC1502 cultured with an addition of nutrients alongside the culture period. The first experiment was to evaluate the growth and nutrient consumption of the diatom when cultured in the standard F/2 medium at 30 PSU salinity. The results showed that a decrease in nitrate concentration was found but the total concentration was still sufficient for the diatom cultivation (>8 mg-N/L). On the other hand, phosphate and silicate were substantially decreased to almost zero within 5 days. The second experiment was to investigate the effect of an addition of nitrate and phosphate during cultivation on the growth of diatom by cultivation of diatom in 6 different treatments including 1) standard F/2 medium, 2) F/2 medium without phosphate (F/2-P), 3) F/2 medium without silicate (F/2-Si), 4) F/2 medium with phosphate addition alongside the culture (F/2+P), 5) F/2 medium with silicate addition alongside the culture (F/2+Si), and 6) F/2 medium with phosphate and silicate addition alongside the culture (F/2+P+Si). The nutrient addition was performed during days 2-13 and the nutrient concentration was increased between days 14-19 to compensate higher cells density. It was found that an addition of both phosphate and silicate alongside the cultivation could enhance the growth of the diatom with the highest density of 609.44×10^4 cells/ml whereas culturing with F/2 medium alone resulted in a maximum cell density of 318.33×10^4 cells/ml. However, an increment in nutrient addition during the final period (days 14-19) did not provide further growth of the diatom.

Key words: nutrient addition, phosphate, silicate, marine diatom, *Amphora subtropica* BUUC1502

บทนำ

ไดอะตอมเป็นแพลงก์ตอนพืชที่มีบทบาทสำคัญในฐานะผู้ผลิตเบื้องต้นของระบบนิเวศทางน้ำ (Scala and Bowler, 2001) และมวลชีวภาพของ

ไดอะตอมยังมีประโยชน์ด้านพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพ ยา อาหารเพื่อสุขภาพ วัสดุที่เกี่ยวข้องกับนาโนเทคโนโลยี และการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์และสัตว์น้ำ รวมถึงใช้บำบัดน้ำเสียบางประเภท เป็นต้น

(Bozarth *et al.*, 2009) การเพิ่มผลผลิตมวลชีวภาพของไดอะตอมเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านที่กล่าวในข้างต้น จำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเติบโตของไดอะตอม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ปัจจัยทางด้านสารอาหารที่เป็นปัจจัยจำกัดต่อผลผลิตของผู้ผลิตเบื้องต้นในทะเลซึ่งรวมถึงไดอะตอม คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซิลิกา (Brembu *et al.*, 2017) ไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์สารประกอบทางชีวภาพที่สำคัญในเซลล์ เช่น กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) โปรตีนและคลอโรฟิลล์ (Govindan *et al.*, 2021) ฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) และฟอสโฟลิพิด (phospholipids) ที่เชื่อมหุ้มเซลล์ (cell membrane) แหล่งฟอสฟอรัสหลักที่ไดอะตอมนำมาใช้ในการเติบโตจะอยู่ในรูปสารอนินทรีย์ออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate, PO_4^{2-}) และซิลิกาเป็นสารอาหารที่สำคัญที่สุดสำหรับไดอะตอมเพราะเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ (frustule) และเมื่อไดอะตอมตายจะทำให้เกิดการทับถมเป็นไดอะตอมไมท์ (diatomite) ที่มีซิลิกาออกไซด์เป็นองค์ประกอบหลักมากถึง 95% โดยน้ำหนัก (Trainor, 1978; Lee, 1999) การเพิ่มสารอาหารที่สำคัญที่กล่าวในข้างต้นจึงเป็นแนวทางสำหรับการเลี้ยงไดอะตอมเพื่อให้ได้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้น เช่น ไดอะตอม *Entomoneis* sp. ที่เลี้ยงด้วยอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2 ที่เพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจน เป็น 5 เท่า และฟอสฟอรัส 2 เท่า ของอาหารสูตร F/2 ร่วมกับการเติมซิลิกา 3.97 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร เป็นประจำทุกวัน ไดอะตอมมีการเติบโตเพิ่มขึ้น 2.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร F/2 (Viriyayingsiri, 2009) และการเติมซิลิกาและฟอสเฟตปริมาณ 30 และ 7.5 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับในการเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros muelleri* ส่งผลให้ไดอะตอมมีผลผลิตมวลชีวภาพมากกว่าการเลี้ยง

ด้วยอาหารสูตร F/2 ถึง 3.22 เท่า (Kumaran *et al.*, 2017) นอกจากนี้มีรายงานว่าอาหารเพาะเชื้อที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอม *Chaetoceros* sp. มาแล้ว สามารถนำกลับมาเลี้ยงไดอะตอมได้อีก โดยเติมเพียงซิลิกา 12.49 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร เท่านั้น ก็สามารถทำให้ไดอะตอมเติบโตได้เป็น 2.6 เท่า ของการเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ที่เตรียมจากน้ำใหม่ แสดงให้เห็นว่าในอาหารเพาะเชื้อที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอม ยังคงมีปริมาณสารอาหารอื่นที่เพียงพอสำหรับใช้เลี้ยงไดอะตอมได้อีกรอบ แต่ปริมาณซิลิกาไม่เพียงพอจึงจำเป็นต้องเติมซิลิกาลงในอาหารเพาะเชื้อที่ผ่านการเลี้ยงไดอะตอมก่อนที่จะนำอาหารเพาะเชื้อดังกล่าวไปเลี้ยงไดอะตอมอีกครั้ง (Kutako *et al.*, 2014)

ไดอะตอมทะเล *Amphora* เป็นไดอะตอมท้องน้ำ (benthic diatom) ที่พบได้ทั่วไปในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และสามารถนำมาเลี้ยงได้ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ ซึ่งไดอะตอมเติบโตได้ดีและอุดมไปด้วยสารประกอบทางชีวภาพที่มีประโยชน์ เช่น มีปริมาณโปรตีนและไขมันในช่วง 430-490 และ 230-260 กรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (Khatoon *et al.*, 2009) อีกทั้งยังมีสารประกอบทางชีวภาพที่มีมูลค่าสูง เช่น ฟูโคแซนทิน (Fucoxanthin) ที่มีถึง 32.98 มิลลิกรัม/ลิตร (Prasopwong *et al.*, 2020) กรดไขมันไม่อิ่มตัวมากถึง 55.1% ของกรดไขมันทั้งหมด และชนิดที่พบมาก คือ กรดพาลมิโตเลอิก (Palmitoleic acid, C16:1 ω 3) และกรดอีโคซะเพนตะอีโนอิก (Eicosapentaenoic acid, C20: ω 3) (Govindan *et al.*, 2021; Hogan *et al.*, 2021) ซึ่งกรดไขมันดังกล่าวมีบทบาทสำคัญในด้านการแพทย์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีความสำคัญและจำเป็นต่อการเติบโตของสัตว์น้ำ เช่น ปลาทะเล เพราะปลาทะเลไม่สามารถสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ จึงต้องได้รับกรดไขมันดังกล่าวจาก

อาหารเท่านั้น (Frigolet and Gutiérrez-Aguilar, 2017; Tiwari *et al.*, 2021; Sargent *et al.*, 1999)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของการเติมฟอสเฟต และซิลิเกตระหว่างการเลี้ยงต่อการเติบโตของ ไดอะตอมทะเล *Amphora subtropica* BUUC1502 โดยทดลองเลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารเพาะเชื้อสูตร F/2 (Guillard's medium) อาหารสูตร F/2 ที่ไม่เติม ฟอสเฟตและซิลิเกต และอาหารสูตร F/2 ที่เติม ฟอสเฟตหรือซิลิเกต และเติมฟอสเฟตร่วมกับ ซิลิเกตระหว่างการเลี้ยง โดยมีการปรับความเข้มข้น ของสารอาหารที่เติมในระหว่างการทดลองร่วมด้วย เพื่อพัฒนาวิธีการเลี้ยงไดอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ให้ไดอะตอมมีการเติบโตมากกว่าการ เลี้ยงแบบแบทช์ (batch culture) ที่เลี้ยงด้วยอาหาร สูตร F/2 ซึ่งสามารถใช้ผลิตไดอะตอมเพื่อเป็นอาหาร สัตว์น้ำ หรือใช้ประโยชน์ในด้านที่เกี่ยวข้องใน อนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ไดอะตอมที่ใช้ในการทดลอง

ไดอะตอมทะเล *A. subtropica* BUUC1502 แยกได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว (Chenchankhan, 2015) และเก็บรักษาสายพันธุ์ไว้ ณ หน่วยปฏิบัติการ เทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

2. อาหารสำหรับเลี้ยงไดอะตอม

การทดลองนี้ได้ใช้อาหารเพาะเชื้อสูตร F/2 (Guillard *et al.*, 1973) ที่เตรียมจากน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู โดยอาหารปริมาณ 1 ลิตร ต้องเติม สารละลายเข้มข้น 5 ชนิด ซึ่งสารละลายชนิดที่ 1-4 เติม 1 มิลลิลิตร ส่วนชนิดที่ 5 เติม 0.5 มิลลิลิตร สารละลายเข้มข้นดังกล่าวข้างต้น ประกอบด้วย (1) สารละลายไนเตรต ที่มี NaNO_3 75 กรัม/ลิตร (2) สารละลายฟอสเฟต ที่มี $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 5 กรัม/ลิตร

(3) สารละลายซิลิเกต ที่มี $\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 30 กรัม/ ลิตร (4) สารละลาย trace elements ประกอบด้วย Na_2 EDTA, $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ และ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปริมาณ 0.436, 0.315, 0.010, 0.022, 0.010 และ 0.006 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และ (5) สารละลายวิตามิน ประกอบด้วย Thiamine-HCl, Biotin และ Cyanocobalamin 0.2, 1 และ 1 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

3. การเตรียมหัวเชื้อไดอะตอมเพื่อใช้ในการทดลอง

เลี้ยงหัวเชื้อไดอะตอมในขวดรูปชมพู่ที่ บรรจุน้ำทะเล 100 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย หม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเติมสารละลายเข้มข้นของ อาหารสูตร F/2 (Guillard *et al.*, 1973) และหัวเชื้อ ไดอะตอม 10% ของปริมาตรการเลี้ยง วางขวดเลี้ยง ไดอะตอมบนชั้นเขย่า (Shaker) ในห้องปฏิบัติการที่ ให้แสงด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent lamp) ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ และควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตลอด 24 ชั่วโมง เมื่อไดอะตอมเติบโต ในระยะทวีคูณ (log phase) จึงใช้เป็นหัวเชื้อในการ ทดลอง

4. การเติบโตและการเปลี่ยนแปลงสารอาหารใน ระหว่างการเลี้ยงไดอะตอม *A. subtropica* BUUC1502

การทดลองนี้ได้เลี้ยงไดอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 แบบปลอดเชื้อ ในขวดแก้ว ที่บรรจุอาหาร F/2 ปริมาตร 2 ลิตร ที่มีหัวเชื้อ ไดอะตอม 10% ของปริมาตรการเลี้ยง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ไดอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเฉลี่ย 22.78×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร วางขวดเลี้ยงไดอะตอม ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงความเข้ม 5,000 ลักซ์ และเติม อากาศที่ผ่านการกรองด้วยตัวกรองที่มีขนาดรูพรุน

0.22 ไมครอน ตลอดระยะเวลา 6 วัน ที่ทำการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างจากขวดเลี้ยงไคอะตอม ขวดละ 20 มิลลิลิตร เป็นประจำทุกวัน เพื่อนับจำนวนเซลล์ วิเคราะห์น้ำหนักรเซลล์แห้ง และวัดปริมาณไนเตรท ฟอสเฟต และซิลิเกตในอาหารเลี้ยงไคอะตอม รวมทั้งติดตามความเข้มแสงโดยใช้เครื่องวัดแสง (Lux Meter) (840006, Sper Scientific, USA) และ pH ด้วย pH meter (EcoSense, YSI, CHINA)

5. การศึกษาผลของการปรับความเข้มข้นฟอสเฟต และซิลิเกตต่อการเติบโตของไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502

เลี้ยงไคอะตอมในขวดแก้วปริมาตร 2 ลิตร ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเฉลี่ย เท่ากับ $2.50 \pm 0.35 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร และวางขวดเลี้ยงไคอะตอม ภายใต้สภาวะเช่นเดียวกันกับการทดลองที่ได้กล่าวมา

ในช่วงต้น แบ่งเป็น 6 ชุดทดลอง คือ [1] อาหารสูตร F/2 [2] อาหารสูตร F/2 ที่ไม่เติมฟอสเฟต (F/2-P) [3] อาหารสูตร F/2 ที่ไม่เติมซิลิเกต (F/2-Si) [4] อาหารสูตร F/2 ที่มีการเติมสารละลายฟอสเฟตเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง (F/2+P) [5] อาหารสูตร F/2 ที่มีการเติมซิลิเกตเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง (F/2+Si) และ [6] อาหารสูตร F/2 ที่เติมทั้งฟอสเฟตและซิลิเกตเพิ่มในระหว่างการเลี้ยง (F/2+P+Si) โดยสารอาหารถูกเติมเพิ่มลงในขวดเลี้ยงระหว่างวันที่ 2-13 และมีการเพิ่มความเข้มข้นของการเติมสารอาหารขึ้นอีกในระหว่างวันที่ 14-19 ทำการทดลองชุดทดลองละ 3 ซ้ำ (รายละเอียดแต่ละชุดทดลองแสดงในตารางที่ 1) ติดตามการเติบโตของไคอะตอม ตรวจวัดปริมาณไนเตรท ฟอสเฟตและซิลิเกต ตลอดระยะเวลาการทดลอง 19 วัน

ตารางที่ 1 รายละเอียดการทดลองผลของการปรับความเข้มข้นฟอสเฟตและซิลิเกตต่อการเติบโตของไคอะตอม

A. *subtropica* BUUC1502 ที่เลี้ยงในขวดแก้ว 2 ลิตร

ชุดทดลอง	รายละเอียดในการทดลอง
F/2	เลี้ยงไคอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2
F/2-P	เลี้ยงไคอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ที่ไม่เติมสารละลายฟอสเฟต
F/2-Si	เลี้ยงไคอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ที่ไม่เติมสารละลายซิลิเกต
F/2+P	ช่วงที่ 1 (วันที่ 0-1 ของการทดลอง) ใช้อาหารสูตร F/2 จากนั้นช่วงที่ 2 (วันที่ 2-13) เติมสารละลายฟอสเฟต 0.23 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (หรือ 25% ของอาหาร F/2) และช่วงที่ 3 (วันที่ 14-19) เติมฟอสเฟต 0.97 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (100% ของอาหาร F/2) วันละ 1 ครั้ง
F/2+Si	ช่วงที่ 1 (วันที่ 0-1 ของการทดลอง) ใช้อาหารสูตร F/2 จากนั้นช่วงที่ 2 (วันที่ 2-13) เปลี่ยนเป็นเติมสารละลายซิลิเกต 0.81 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (25% ของอาหาร F/2) และช่วงที่ 3 (วันที่ 14-19) เติมเพิ่มเป็น 3.23 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร หรือ 100% ของอาหาร F/2 วันละ 1 ครั้ง
F/2+P+Si	ช่วงที่ 1 (วันที่ 0-1 ของการทดลอง) เลี้ยงไคอะตอมในอาหารสูตร F/2 จากนั้นช่วงที่ 2 (วันที่ 2-13) เติมสารละลายฟอสเฟต 0.23 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และสารละลายซิลิเกต 0.81 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (25% ของอาหาร F/2) และช่วงที่ 3 (วันที่ 14-19) ปรับการเติมสารละลายฟอสเฟตเป็น 0.97 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และสารละลายซิลิเกตเป็น 3.23 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร หรือ 100% ของอาหารสูตร F/2 วันละ 1 ครั้ง

6. วิธีการวิเคราะห์

6.1 การนับเซลล์และผลผลิตไคอะตอม

เก็บตัวอย่างไคอะตอมและวางใน Ultrasonic bath นาน 5 นาที นับจำนวนไคอะตอมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยหยดไคอะตอมลงบน Haemocytometer ที่มีความลึกของ chamber เท่ากับ 0.1 มิลลิเมตร จากนั้นคำนวณความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์/มิลลิลิตร) และอัตราการเติบโตจำเพาะของไคอะตอม (ต่อวัน) (Guillard and Sieracki, 2005)

6.2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักรวม

กรองน้ำเลี้ยงไคอะตอมผ่านกระดาษกรอง GF/C (อบจนน้ำหนักรวมที่) ล้างเซลล์บนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ให้น้ำหนักคงที่ และคำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร) (Parsons *et al.*, 1984)

6.3 วิเคราะห์ไนเตรท

ใช้วิธี UV-Visible screening method (APHA, 1992) โดยนำน้ำที่ผ่านการกรองมาวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (SP-8001, Metertech, TAIWAN) ที่ความยาวคลื่น 220 และ 275 นาโนเมตร

6.4 วิเคราะห์ฟอสเฟต

ใช้วิธี Ascorbic acid method (Strickland and Parsons, 1972) นำน้ำที่ผ่านการกรอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม Mixed reagent 0.1 มิลลิลิตร (Mixed Reagent ประกอบด้วย Ammonium molybdate solution, Sulfuric acid solution, Ascorbic acid solution และ Potassium antimonyl-tartrate solution อัตราส่วน 2:5:2:1 ตามลำดับ) เขย่าและวางไว้ 10 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร

6.5 วิเคราะห์ซิลิเกต

ใช้วิธี Molybdosilicate method (Strickland and Parsons, 1972) โดยใช้ น้ำเลี้ยงไคอะตอมที่ผ่านการกรอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติม Molybdate

solution 0.4 มิลลิลิตร เขย่าและวางไว้ 10 นาที เติม Mixed Reagent 0.6 มิลลิลิตร (Mixed reagent ประกอบด้วยสารละลาย Metol-sulphite: Oxalic acid:Sulfuric acid เข้มข้น 50% อัตราส่วน 10:6:6 ตามลำดับ และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) เป็น 30 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และวางไว้ 2 ชั่วโมง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 810 นาโนเมตร

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลที่ได้จากการทดลองมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel และวิเคราะห์ความแปรปรวนและความแตกต่างของข้อมูลที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ด้วยวิธี One-Way ANOVA และ Tukey HSD ตามลำดับ โดยใช้โปรแกรมสถิติ R (R Core Team, 2020)

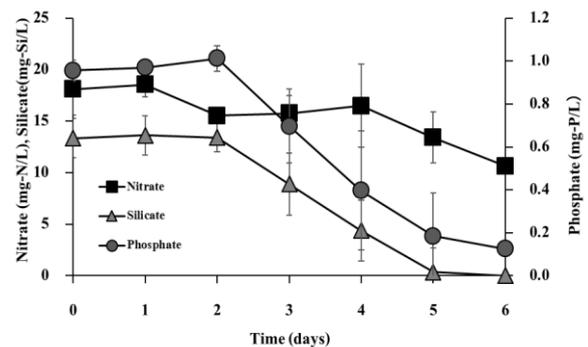
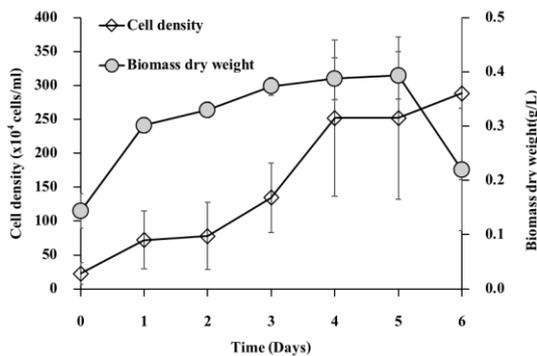
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การเติบโตและการเปลี่ยนแปลงสารอาหารในระหว่างการเลี้ยงไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502

จากการเลี้ยงไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร ด้วยอาหาร F/2 เป็นเวลา 6 วัน พบว่าไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ $22.78 \pm 16.17 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร จากนั้นไคอะตอมมีการเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้น และในวันที่ 6 ของการทดลอง ไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 288.61×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร (ภาพที่ 1A) ซึ่งไคอะตอมมีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.95 ต่อวัน (วันที่ 2-4 ของการทดลอง) มีผลผลิตเซลล์เท่ากับ 64.65×10^7 เซลล์/ลิตร/วัน หรือ 0.05 กรัม/ลิตร/วัน ทั้งนี้ตลอดระยะเวลาที่ทดลอง พบว่า pH ของน้ำเลี้ยงไคอะตอมมีค่าในช่วง 7.5-8.2 ส่วนปริมาณไนเตรท ฟอสเฟตและซิลิเกต ในวันแรกมีค่า

เท่ากับ 18.10, 0.96 และ 13.36 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ และวันสุดท้ายของการทดลองพบว่า สารอาหารดังกล่าวลดลง โดยมีไนโตรเจนเหลือในน้ำเลี้ยงมากถึง 8.92 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร แต่ฟอสเฟตเหลืออยู่เพียง 0.11 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร ส่วนซิลิเกตได้หมดจากขวดเลี้ยงไคอะตอมตั้งแต่วันที่ 5 ของการทดลอง (ภาพที่ 1B) โดยในช่วงวันที่ 0-2 เห็นได้ชัดเจนว่า สารอาหารทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณคงที่ ทั้งนี้เนื่องจากไคอะตอมยังเพิ่มจำนวนเซลล์ได้น้อย (อยู่ระหว่าง 22.78×10^4 - 78.06×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร) และวันที่ 2-5 พบว่าสารอาหารฟอสเฟตและซิลิเกตลดลงอย่างรวดเร็ว เพราะไคอะตอมมีการใช้ฟอสเฟตและซิลิเกตในการสร้างเซลล์ใหม่ จึงส่งผลให้ไคอะตอมเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างต่อเนื่อง จาก 22.78×10^4 เป็น 263.06×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งฟอสฟอรัสจำเป็นต่อไคอะตอมเพราะเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก อะดีโนซีนไตรฟอสเฟตและฟอสโพลิพิด ส่วนซิลิกาเป็นสารอาหาร

ที่สำคัญในการสร้างผนังเซลล์ (Trainor, 1978; Lee, 1999) เมื่อสารอาหารเริ่มลดลงในวันที่ 4 ของการทดลอง ไคอะตอมจึงเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) และระยะตาย (death phase) ตามลำดับ เมื่อประเมินแล้วพบว่า ไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 มีอัตราการใช้นิโตรเจน ฟอสเฟตและซิลิเกต เท่ากับ 1.31, 0.12 และ 1.91 มิลลิกรัม/ลิตร/วัน ตามลำดับ ผลจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าในช่วงวันที่ 2-5 ปริมาณซิลิเกตและฟอสเฟตลดลงจากปริมาณเริ่มต้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งปริมาณที่เหลืออยู่อาจไม่เพียงพอต่อการเติบโตของไคอะตอม ในขณะที่ไนโตรเจนยังคงมีเหลือในน้ำเลี้ยง ดังนั้น ในการทดลองลำดับต่อไปจึงได้ทดลองเติมฟอสเฟต ซิลิเกต และเติมฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกต ทั้งนี้เพื่อเป็นการทดลองว่าการเติมสารอาหารดังกล่าวในช่วงเวลาที่สารอาหารลดลง สามารถช่วยเพิ่มการเติบโตของไคอะตอมได้หรือไม่



(A)

(B)

ภาพที่ 1 ความหนาแน่นเซลล์และน้ำหนักแห้งไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 (A) ปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟต และซิลิเกต (B) ในระหว่างที่เลี้ยงไคอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2

2. ผลของการปรับความเข้มข้นฟอสเฟตและซิลิเกตต่อการเติบโตของไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502

จากการทดลองเลี้ยงไคอะตอมในอาหารสูตร F/2 พบว่าได้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 242.78×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ส่วนอาหาร F/2 ที่ไม่เติมฟอสเฟต (F/2-P) และอาหาร F/2 ที่ไม่เติมซิลิเกต

(F/2-Si) ไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 290.00×10^4 และ 217.22×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ระหว่างการเลี้ยงสังเกตพบว่าไคอะตอมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 ของช่วงวันที่ 14-18 มีความหนาแน่นเซลล์มากกว่าการเลี้ยงไคอะตอมที่เลี้ยงในสูตรอาหาร F/2-Si และ F/2-P (ภาพที่ 2A) อาจเป็นผลเนื่องจากสารอาหารทั้งฟอสเฟตและซิลิเกตในขวดเลี้ยงไคอะตอมหมดลง (ภาพที่ 3) ทำให้ไคอะตอมไม่สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้และเข้าสู่ระยะตาย เพราะฟอสเฟตและซิลิเกตเป็นสารอาหารหลักที่จำเป็นสำหรับไคอะตอม และเมื่อขาดฟอสเฟตจะทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของไคอะตอมลดลง (Alipanah *et al.*, 2018) อีกทั้งจากผลการทดลองพบว่าไคอะตอมที่เลี้ยงในอาหารสูตร F/2-Si และ F/2-P มีจำนวนเซลล์ลดลงถึง 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 (ภาพที่ 2A) และในช่วงที่ 2 (วันที่ 2-13) สามารถคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะของทุกชุดทดลองได้ โดยไคอะตอมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2, F/2-P, F/2-Si, F/2+P, F/2+Si และ F/2+P+Si มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.24, 0.26, 0.21, 0.31, 0.14 และ 0.22 ต่อวันตามลำดับ และพบว่าอัตราการเติบโตจำเพาะของทุกชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) ส่วนอัตราการเติบโตจำเพาะของไคอะตอมในช่วงที่ 3 ของการทดลอง ไม่สามารถคำนวณได้เนื่องจากไคอะตอมมีการเติบโตอยู่ในระยะคงที่ (stationary phase)

การเลี้ยงไคอะตอมในช่วงที่ 1 (วันที่ 0-1) เป็นเทคนิคการเลี้ยงสาหร่ายแบบแบทช์ โดยทั่วไปจะนิยมเติมหัวเชื้อสาหร่ายในอาหารเลี้ยงสาหร่ายและเมื่อสาหร่ายเติบโตจึงเก็บเซลล์ทั้งหมด ซึ่งจากการทดลองเรื่องการเติบโตและการเปลี่ยนแปลงสารอาหารในระหว่างการเลี้ยงไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ทำให้ทราบว่าปริมาณสารอาหารฟอสเฟตและซิลิเกตในอาหารที่ลดลง และ

อาจไม่เพียงพอต่อการเติบโตของไคอะตอม จึงได้ทดลองเลี้ยงสาหร่ายโดยเติมสารอาหารบางชนิดลงไป ในอาหารเพาะเชื้อไคอะตอม ซึ่งช่วยให้ไคอะตอมสามารถเติบโตได้ดีขึ้น เช่นเดียวกับการเลี้ยงไคอะตอม *Pseudo-nitzschia multiseries* ในอาหารที่มีความเข้มข้นซิลิเกต 190.5, 95.3 และ 60.9 μM พบว่าการเติมซิลิเกตให้เข้มข้น 190.5 μM ทำให้ไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 18.7×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (95.3 μM) และชุดที่เติมซิลิเกตในปริมาณที่ต่ำ (60.9 μM) (Pan *et al.*, 1996) ทั้งนี้ผลจากการทดลองในวันที่ 6 ของการเลี้ยง *A. subtropica* BUUC1502 พบว่าฟอสเฟตและซิลิเกตลดลงเหลือ 0.12 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และซิลิเกตหมดลง (ผลจากการทดลองที่ 1) ดังนั้นจึงได้ทดลองเติมฟอสเฟตและซิลิเกตเพิ่มในอาหารเลี้ยงไคอะตอมเป็นประจำทุกวัน โดยในช่วงที่ 2 (วันที่ 2-13) ได้เติมสารละลายฟอสเฟต (F/2+P) หรือซิลิเกตเพียงชนิดเดียว (F/2+Si) หรือเติมฟอสเฟตและซิลิเกตร่วมกัน (F/2+P+Si) ด้วยปริมาณที่ปรับความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 0.23 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 0.81 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (25% ของอาหาร F/2) พบว่าไคอะตอมที่เลี้ยงด้วยอาหาร F/2+Si และ F/2+P+Si มีการเติบโตเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 12 ของการทดลอง (ภาพที่ 2B) โดยไคอะตอมมีจำนวนเซลล์สูงที่สุดมากกว่าอาหารสูตร F/2 ในขณะที่การเลี้ยงไคอะตอมในอาหารสูตร F/2+P+Si (0.23 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 0.81 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร หรือ 25% ของอาหารสูตร F/2) มีความหนาแน่นเซลล์มากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ($p < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 532.78×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร (ตารางที่ 2) ซึ่งมากกว่าอาหารสูตร F/2, F/2-P และ F/2-Si ผลการทดลองนี้แตกต่างจาก Viriyayingsiri (2009) ที่รายงานว่าการเลี้ยงไคอะตอม *Entomoneis* sp. โดยเติมสารละลาย

ฟอสเฟตเข้มข้น 1.12 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ ซิลิกาเข้มข้น 3.97 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ร่วมกันทุกวัน ส่งผลให้ไคอะตอมมีการเติบโตน้อยกว่าการเติมซิลิกาเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเพราะความต้องการสารอาหารของไคอะตอมจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของไคอะตอม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสัดส่วนซิลิกาต่อฟอสเฟต (Si:P) ก็มีผลต่อการเติบโตของไคอะตอมอีกด้วย โดยอัตราส่วน Si:P ที่ส่งเสริมการเติบโตของไคอะตอม คือ 80:1 เนื่องจากซิลิกาและฟอสเฟตเป็นสารอาหารที่เป็นปัจจัยสำคัญในการเติบโตของไคอะตอม (Grover, 1989) เพราะซิลิกาเป็นแหล่งซิลิกาที่ไคอะตอมใช้สร้างผนังเซลล์หรือเปลือก ดังนั้น ซิลิกาจึงจำเป็นมากสำหรับกระบวนการแบ่งเซลล์ เพราะเซลล์ของไคอะตอมต้องใช้ในการสร้างเปลือก ส่วนฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส ซึ่งไคอะตอมใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญของกรดนิวคลีอิก อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต และฟอสโฟลิพิด (Trainor, 1978; Lee, 1999; Lebeau and Robert, 2003)

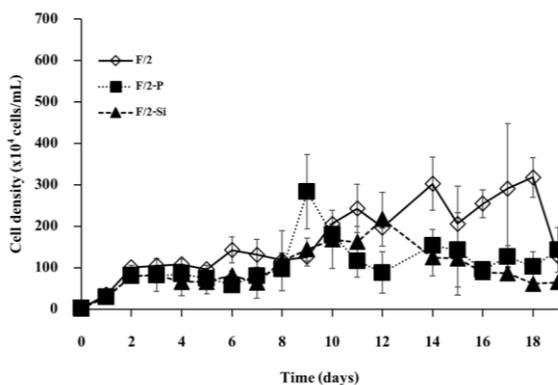
ไคอะตอมที่เลี้ยงในอาหารสูตร F/2+P+Si มีความหนาแน่นเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยวันที่ 12 ของการทดลอง มีค่าเท่ากับ 532.78×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อเข้าสู่ในช่วงที่ 3 ของการเลี้ยง คือ ช่วงวันที่ 14-19 จึงเพิ่มปริมาณการเติมฟอสเฟตและซิลิกาเป็นชนิดละ 1 มิลลิกรัม/ลิตร (0.97 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 3.23 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร หรือ 100% ของอาหาร F/2) ลงในอาหารเพาะเชื้อไคอะตอมเป็นประจำทุกวัน พบว่าการเติมฟอสเฟตและซิลิกาในช่วงที่ 3 ไม่สามารถเพิ่มความหนาแน่นเซลล์ไคอะตอมได้อีก อาจเนื่องจากไคอะตอมมีความหนาแน่นสูงในระบบเพาะเลี้ยง เซลล์เกิดการบดบังแสงกันเอง (self-shading) ทำให้ตัวเซลล์ได้รับแสงไม่เพียงพอ ซึ่งในประเด็นนี้เป็นประเด็นที่น่าสนใจและควรมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยอาจเพิ่มความเข้ม

แสงในช่วงที่เซลล์มีความหนาแน่นสูง ($377.22 \times 10^4 - 609.44 \times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลองที่มีการเติมสารละลายเข้มข้นฟอสเฟตและซิลิกา 25% กับชุดทดลองที่มีการเติม 100% ของอาหารสูตร F/2 พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์และน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเพิ่มขึ้น ซึ่งเห็นได้จากการเพิ่มความเข้มข้นฟอสเฟตและซิลิการ่วมกันเป็น 100% ของอาหารสูตร F/2 ช่วยให้ไคอะตอมเพิ่มจำนวนได้จาก 532.78×10^4 เป็น 609.44×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร หรือเพิ่มขึ้นเป็น 1.14 เท่า และน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นจาก 0.43 เป็น 0.54 กรัม/ลิตร หรือเพิ่มขึ้นเป็น 1.26 เท่า ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มปริมาณการเติมซิลิกาเพียงอย่างเดียวเพื่อให้มีซิลิกามากขึ้นเป็น 100% ของอาหารสูตร F/2 ทำให้ไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์ใกล้เคียงกับการเติมฟอสเฟตเพียงชนิดเดียว อาจเนื่องจากทั้งซิลิกาและฟอสเฟตจำเป็นต่อการเติบโตของไคอะตอม โดยไคอะตอมใช้ซิลิกาเป็นองค์ประกอบหลักของเปลือก และมีรายงานว่าหากไคอะตอมอยู่ในสภาวะที่มีปริมาณซิลิกามากเกินไปจะส่งผลให้ไคอะตอมมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง (Lippemeier *et al.*, 1999) และไคอะตอมใช้ฟอสฟอรัสเพื่อเป็นส่วนประกอบของสารพันธุกรรม ฟอสโฟลิพิดและน้ำตาลฟอสเฟต (phosphate sugar) เมื่อไคอะตอมขาดฟอสฟอรัสจะส่งผลให้ปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์ และสารพันธุกรรมลดลง (Brembu *et al.*, 2017)

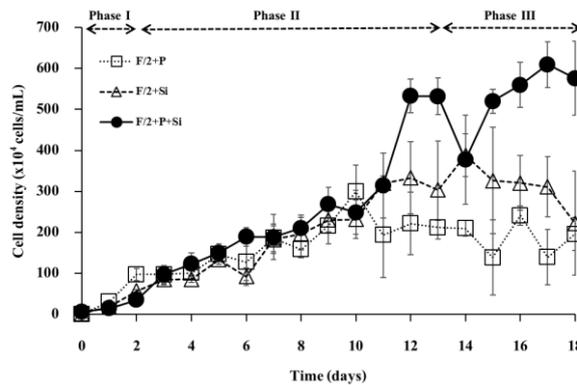
จากผลจากการทดลองการปรับความเข้มข้นฟอสเฟตและซิลิกาต่อการเติบโตของไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 แสดงให้เห็นว่าความถี่ในการเติมฟอสเฟตหรือซิลิกาเพียงชนิดเดียวเป็นประจำทุกวัน ทั้งการปรับเติมเพื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 25% และ 100% ของสูตรอาหาร F/2 ไม่ได้ช่วยส่งเสริมให้ไคอะตอมมีจำนวนเพิ่มขึ้นมากกว่าการ

เลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2 (เติมผสมฟอสเฟตและซิลิเกตเพียงครั้งเดียวลงในอาหาร) แต่การเติมทั้งฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกต โดยปรับเพิ่มฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกตให้มีความเข้มข้นเป็น 25% และ 100% ของอาหารสูตร F/2 สามารถทำให้ไคอะตอมเติบโตและเพิ่มจำนวนได้มากกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2

ถึง 2.18 เท่า และ 1.73 เท่า ตามลำดับ ซึ่งการเติมฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกตให้มีความเข้มข้นเป็น 25% ของอาหารสูตร F/2 และปรับเพิ่มเป็น 100% ของอาหารสูตร F/2 ไม่ได้ช่วยส่งเสริมให้ไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้น



(A)



(B)

ภาพที่ 2 การเติบโตของไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร F/2, F/2-P และ F/2-Si (A) และอาหาร F/2+P, F/2+Si และ F/2+P+Si ที่เริ่มเติมสารอาหารระหว่างการเลี้ยงในช่วงที่ 2 (Phase II) โดยเติมสารละลายฟอสเฟต หรือซิลิเกต หรือฟอสเฟตผสมกับซิลิเกต เทียบเท่ากับ 25% ของอาหารสูตร F/2 เป็นประจำทุกวัน และช่วงที่ 3 (Phase III) ได้ปรับเพิ่มสารละลายเข้มข้นดังกล่าวเป็น 100% ของอาหารสูตร F/2 เป็นประจำทุกวัน (B)

ตารางที่ 2 ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดและน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดของไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2, F/2-P, F/2-Si, F/2+P, F/2+Si และ F/2+P+Si

ชุดทดลอง	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด (กรัม/ลิตร)
ช่วงที่ 2 (วันที่ 2-13)		
F/2	242.78 \pm 58.56 ^b (วันที่ 11)	0.34 \pm 0.06 ^{ac}
F/2-P	290.00 \pm 10.14 ^b (วันที่ 9)	0.26 \pm 0.04 ^{cd}
F/2-Si	217.22 \pm 65.52 ^b (วันที่ 12)	0.20 \pm 0.02 ^d
F/2+P ^{II}	299.44 \pm 64.56 ^b (วันที่ 10)	0.29 \pm 0.01 ^{bcd}
F/2+Si ^{II}	333.11 \pm 87.68 ^b (วันที่ 12)	0.38 \pm 0.03 ^{ab}
F/2+P+Si ^{II}	532.78 \pm 41.31 ^a (วันที่ 12)	0.43 \pm 0.03 ^a

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชุดทดลอง	ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ($\times 10^4$ เซลล์/มิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด (กรัม/ลิตร)
ช่วงที่ 3 (วันที่ 14-19)		
F/2	318.33 \pm 47.52 ^{bc} (วันที่ 18)	0.40 \pm 0.13 ^{ab}
F/2-P	142.78 \pm 21.21 ^c (วันที่ 14)	0.25 \pm 0.00 ^b
F/2-Si	122.78 \pm 44.78 ^c (วันที่ 14)	0.26 \pm 0.05 ^b
F/2+P ^{III}	241.11 \pm 23.82 ^{bc} (วันที่ 16)	0.30 \pm 0.02 ^b
F/2+Si ^{III}	388.33 \pm 52.52 ^b (วันที่ 14)	0.38 \pm 0.02 ^{ab}
F/2+P+Si ^{III}	609.44 \pm 55.54 ^a (วันที่ 17)	0.54 \pm 0.01 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) และตัวอักษรที่แตกต่างกันของข้อมูลในแนวตั้งของตาราง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

^{II} คือ เติมสารละลายเข้มข้นฟอสเฟต หรือซิลิเกต หรือฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกต เทียบเท่า 25% ของอาหารสูตร F/2 เป็นประจำทุกวัน

^{III} คือ เติมสารละลายเข้มข้นฟอสเฟต หรือซิลิเกต หรือฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกต เทียบเท่า 100% ของอาหารสูตร F/2 เป็นประจำทุกวัน

การเลี้ยงไคอะตอมด้วยอาหาร F/2-P พบฟอสเฟต 0.13 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และหมดลงในวันที่ 7 ส่วนอาหารสูตร F/2-Si พบซิลิเกต 10.62 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร และหมดลงในวันที่ 6 (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ซึ่งสารอาหารดังกล่าวมาจากหัวเชื้อไคอะตอม ส่วนอาหาร F/2 มีฟอสเฟตและซิลิเกตเริ่มต้นที่ 1.10 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 15.54 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับสารอาหารเริ่มต้นในทุกการทดลองที่เติมฟอสเฟตหรือซิลิเกต และสารอาหารฟอสเฟตเริ่มหมดไปจากขวดเลี้ยงไคอะตอมในวันที่ 7-19 ของการทดลอง

ในช่วงที่ 2 ของการเลี้ยงไคอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2+P และ F/2+Si ที่เติมสารละลายเข้มข้นฟอสเฟตหรือซิลิเกต ปริมาตร 0.23 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 0.81 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (25% ของอาหารสูตร F/2) เป็นประจำทุกวัน เริ่มจากในวันที่ 2 จากที่มีฟอสเฟต 0.83 มิลลิกรัม-

ฟอสฟอรัส/ลิตร เมื่อเติมเพียงสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น ทำให้ฟอสเฟตเพิ่มขึ้นเป็น 1.03 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (ภาพที่ 3B) และพบว่าไคอะตอมมีจำนวนเซลล์ สูงสุดในวันที่ 10 ของการทดลองเท่ากับ 299.44×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งในช่วงวันที่ 4-19 ของการทดลอง พบว่าในแต่ละวันมีฟอสเฟตน้อยกว่า 1 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (ภาพที่ 3B) และในช่วงที่ 3 ของการเลี้ยงไคอะตอม ที่มีการเติมสารละลายฟอสเฟตเข้มข้นเพิ่มเป็น 0.97 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (100% ของอาหารสูตร F/2) (ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง) ซึ่งก่อนเดิมนั้นไม่มีฟอสเฟตเหลือในขวดเลี้ยงไคอะตอม เมื่อเติมสารละลายฟอสเฟตทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น 0.10 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร (วันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง) และมีจำนวนเซลล์สูงสุดในวันที่ 16 เท่ากับ 241.11×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ใกล้เคียงกับรายงานของ Tapanceyaworawong *et al.* (2018) ที่

เลี้ยงไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ในอาหารสูตร F/2 และไม่มีการเติมฟอสเฟตเพิ่มระหว่างเลี้ยงพบว่าไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 204.72×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าการเติมสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น 25% และ 100% ของอาหารสูตร F/2 ไม่ช่วยให้ไคอะตอมเติบโตเพิ่มจำนวนได้ดีขึ้น เนื่องจากมีจำนวนไคอะตอมสูงสุดใกล้เคียงกับอาหารสูตร F/2 ซึ่งสอดคล้องกับ Li *et al.* (2017) ที่พบว่าซิลิเกตมีอิทธิพลสูงสุดต่อการเติบโตของไคอะตอม ลำดับรองลงมา คือ ฟอสเฟตและเหล็ก

ซิลิกาในน้ำมี 2 รูปแบบ คือ แบบที่ละลายในน้ำ และแบบที่ไม่ละลายน้ำหรือเป็นสารแขวนลอย ไคอะตอมสามารถใช้ซิลิกาแบบที่ละลายน้ำ คือ ออโรซิลิเกต (SiO_2^{-3}) เพื่อการเติบโต และโดยทั่วไปไคอะตอมจะมีซิลิกาเป็นองค์ประกอบ 95% ของน้ำหนักเซลล์ (Trainor, 1978; Lee, 1999) ซึ่งอาหารสูตร F/2 ที่ใช้เลี้ยงไคอะตอมมีซิลิเกตประมาณ 3.23 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ดังนั้น การเลี้ยงไคอะตอมในอาหารสูตร F/2+Si ช่วยให้เซลล์ไคอะตอมมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด เท่ากับ 333.11×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร (ในวันที่ 12) และเมื่อเพิ่มปริมาณการเติมสารละลายซิลิเกตเข้มข้นเป็น 3.23 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ในวันที่ 14 ซึ่งก่อนเติมซิลิเกตในขวดเลี้ยงไคอะตอมพบว่ามีซิลิเกตเพียง 0.13 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร และหลังจากที่เติมสารละลายซิลิเกตเข้มข้น ส่งผลให้มีซิลิเกตในขวดเลี้ยงไคอะตอมเพิ่มขึ้นเป็น 2.54 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ซึ่งอาหาร F/2 มีซิลิเกตประมาณ 11.14 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร จึงสังเกตได้ว่าการเติมสารละลายซิลิเกตเข้มข้นลงในขวดเลี้ยงไคอะตอมไม่สามารถปรับความเข้มข้นของซิลิเกตให้เพิ่มขึ้นได้ใกล้เคียงกับปริมาณซิลิเกตที่มีในอาหารสูตร F/2 อาจเนื่องมาจากสารละลายซิลิเกตที่เติมลงไปอาจจะเปลี่ยนรูปเป็นแบบที่ไม่ละลายน้ำ อย่างไรก็ตาม การ

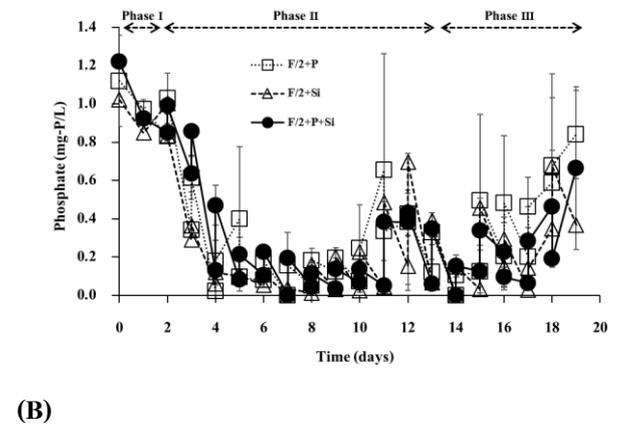
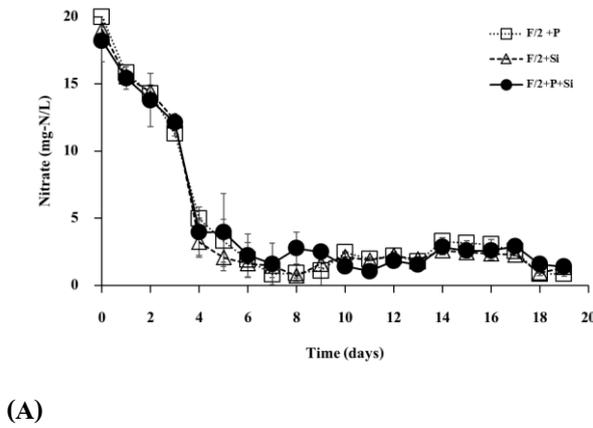
เติมซิลิเกตลงในอาหารระหว่างที่เลี้ยงไคอะตอมสามารถทำให้ไคอะตอมเติบโตได้ดีกว่าสูตรอาหาร F/2 เพราะไคอะตอมจะนำซิลิเกตไปสร้างเปลือกหรือผนังเซลล์ (Martin-Jézéquel *et al.*, 2000)

ในวันที่ 2 ของการทดลอง ไคอะตอมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร F/2+P+Si มีฟอสเฟตและซิลิเกตคงเหลือ 0.85 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 6.36 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ตามลำดับ และเมื่อเติมสารละลายฟอสเฟตและซิลิเกตเข้มข้น 0.23 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 0.81 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (25% ของอาหารสูตร F/2) ทำให้มีฟอสเฟตและซิลิเกตเพิ่มขึ้น 0.99 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 11.30 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (ภาพที่ 3C) ซึ่งในวันที่ 12 ของการทดลอง ไคอะตอมมีจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ 532.78×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร และในวันที่ 13 จำนวนไคอะตอมมีแนวโน้มคงที่ และสังเกตพบว่าซิลิเกตและฟอสเฟตที่เหลือในขวดเลี้ยงยังคงมีปริมาณน้อย (ภาพที่ 3B และ 3C) ดังนั้นจึงเพิ่มปริมาณการเติมสารละลายเข้มข้นฟอสเฟตและซิลิเกตเป็น 0.97 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 3.23 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (100% ของอาหารสูตร F/2) เป็นประจำทุกวัน ในช่วงวันที่ 14 ที่ปรับเติมสารอาหารฟอสเฟตและซิลิเกตเป็น 100% พบว่าหลังจากที่เติมสารอาหารฟอสเฟตและซิลิเกต ในวันที่ 14 ของการทดลอง ส่งผลทำให้ฟอสเฟตและซิลิเกตในขวดเลี้ยงไคอะตอมเพิ่มขึ้นเป็น 0.15 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 1.83 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร ตามลำดับ ทำให้ไคอะตอมเพิ่มจำนวนเซลล์โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดในวันที่ 17 เท่ากับ 609.44×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร (ตารางที่ 2) แต่เนื่องจากไคอะตอมเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่แล้ว ทำให้ความหนาแน่นเซลล์ไม่ได้เพิ่มขึ้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับกรเพิ่มอาหารในช่วงที่ 2 ของการทดลอง หากเพิ่มสารอาหารเป็น 100% ของอาหาร

สูตร F/2 ตั้งแต่วันที่ 2 ของการทดลอง อาจทำให้ได้ความหนาแน่นเซลล์ที่มากขึ้น เพราะปริมาณสารอาหารที่เติมเพิ่ม 25% ของอาหารสูตร F/2 ยังไม่เพียงพอสำหรับไดอะตอม (ภาพที่ 3) ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าการใช้อาหารสูตร F/2+P+Si ที่เติมสารละลายฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกตเข้มข้น 100% ของอาหารสูตร F/2 เป็นประจำทุกวัน ไม่ช่วยให้ไดอะตอมเพิ่มความหนาแน่นได้อีก

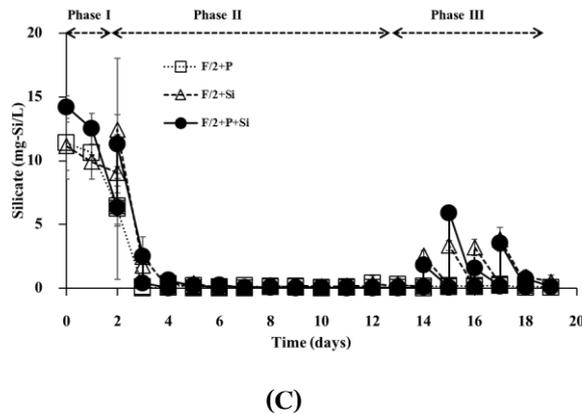
ถึงแม้ว่าการเพาะเลี้ยงไดอะตอมแบบที่ต้องมีการเติมสารอาหารเป็นประจำทุกวัน อาจมีข้อเสีย

คือต้นทุนอาหารเพิ่มขึ้น แต่ผลจากการทดลองนี้พบว่าการเลี้ยงไดอะตอมด้วยเทคนิคดังกล่าวทำให้ได้ผลผลิตไดอะตอมที่มากขึ้นกว่าเทคนิคแบบปกติที่เลี้ยงไดอะตอมด้วยอาหารสูตร F/2 ที่ไม่มีการเติมสารอาหารเพิ่มเติมในระหว่างการเลี้ยง ซึ่งไดอะตอมสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งผลิตสารที่มีมูลค่าสูง เช่น ฟุโคแซนทิน ที่สามารถใช้ประโยชน์ทางการแพทย์หรืออาหารเสริมสุขภาพได้ (Frigolet and Gutiérrez-Aguilar, 2017; Tiwari *et al.*, 2021)



(A)

(B)



(C)

ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนเตรท (A) ฟอสเฟต (B) และซิลิเกต (C) ในระหว่างการเลี้ยงไดอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ในอาหารสูตร F/2 ที่เติมสารละลายฟอสเฟตหรือซิลิเกต และฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกตเข้มข้นเทียบเท่า 25% ของอาหารสูตร F/2 (Phase II) และ 100% ของอาหารสูตร F/2 (Phase III)

สรุป

การเลี้ยงไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ด้วยอาหารสูตร F/2 พบว่าปริมาณฟอสเฟตและซิลิเกตลดลงอย่างรวดเร็ว ในช่วงที่ไคอะตอมเติบโตแบบทวีคูณ และเมื่อไคอะตอมเติบโตคงที่ (ให้เซลล์สูงสุด 242.78×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร) พบว่ามีฟอสเฟตเหลืออยู่ในระบบ 0.11 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และซิลิเกตไม่เหลือในระบบ ส่วนไนโตรเจนยังมีปริมาณมากถึง 8.92 มิลลิกรัม-ไนโตรเจน/ลิตร แสดงให้เห็นชัดเจนว่าฟอสเฟตและซิลิเกตอาจไม่เพียงพอต่อการเติบโตของไคอะตอม เมื่อทดลองเลี้ยงไคอะตอม *A. subtropica* BUUC1502 ด้วยอาหารสูตร F/2+P+Si ที่มีการเติมฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกตลงในอาหารเลี้ยงไคอะตอมเป็นประจำทุกวัน ส่งผลให้ไคอะตอมเติบโตได้ดีกว่าการไม่เติมสารอาหารเพิ่ม หรือการเติมฟอสเฟตหรือซิลิเกตเพียงชนิดเดียว ซึ่งการเติมฟอสเฟตร่วมกับซิลิเกตในอาหารให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.23 มิลลิกรัม-ฟอสฟอรัส/ลิตร และ 0.81 มิลลิกรัม-ซิลิกา/ลิตร (หรือ 25% ของอาหารสูตร F/2) ให้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด 532.78×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร และการเติมฟอสเฟตและซิลิเกตในช่วงท้ายของการเลี้ยงไคอะตอม ไม่ช่วยส่งเสริมให้ไคอะตอมเพิ่มความหนาแน่นเซลล์ได้อีก ฉะนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตของไคอะตอมจึงควรเติมฟอสเฟตและซิลิเกตเพิ่มระหว่างการเพาะเลี้ยงในช่วงวันเริ่มต้นของการเลี้ยง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ในการทดลองและเครื่องมือสำหรับการตรวจวิเคราะห์ และ อ.ดร.เมธิณี จามกระโทก คณะวิทยาศาสตร์และ

ศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่อง Spectrophotometer

เอกสารอ้างอิง

- Alipanah, L., Winge, P., Rohloff, J., Najafi, J., Brembu, T. and Bones, A. M. 2018. Molecular adaptations to phosphorus deprivation and comparison with nitrogen deprivation responses in the diatom *Phaeodactylum tricorutum*. **PLoS one** 13(2): e0193335.
- APHA. 1992. **Standard for examination of water and wastewater**. Victor Graphics, Maryland.
- Bozarth, A., Maier, U. G. and Zauner, S. 2009. Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology** 82(2): 195-201.
- Brembu, T., Mühlroth, A., Alipanah, L. and Bones, A.M. 2017. The effects of phosphorus limitation on carbon metabolism in diatoms. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences** 372(1728): 20160406.
- Chenchankhan, P. 2015. Isolation of culturable marine microalgae from aquaculture ponds, Chanthaburi province. Bachelor of science, Burapha University. (in Thai)
- Frigolet, M.E. and Gutiérrez-Aguilar, R. 2017. The role of the novel lipokine palmitoleic acid in health and disease. **Advances in Nutrition** 8(1): 173S-181S.
- Govindan, N., Maniam, G. P., Sulaiman, A. Z., Ajit, A., Chatsungnoen, T. and Chisti, Y. 2021. Production of renewable lipids by the

- diatom *Amphora copulate*. **Fermentation** 7(1): 37.
- Grover, J.P. 1989. Effects of Si: P supply ratio, supply variability, and selective grazing in the plankton: An experiment with a natural algal and protistan assemblage. **Limnology and Oceanography** 34(2): 349-367.
- Guillard, R. R., Kilham, P. and Jackson, T. A. 1973. Kinetics of silicon limited growth in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* hasle and heimdal (= *Cyclotella nana* Hustedt) 1, 2. **Journal of Phycology** 9(3): 233-237.
- Guillard, R.R. and Sieracki, M.S. 2005. Counting cells in cultures with the light microscope, pp. 239-252. In Andersen, R.A., eds. **Algal culturing techniques**. Elsevier, UK.
- Hogan, P., Otero, P., Murray, P. and Saha, S.K. 2021. Effect of biomass pre-treatment on supercritical CO₂ extraction of lipids from marine diatom *Amphora* sp. and its biomass evaluation as bioethanol feedstock. **Heliyon** 7(1): e05995.
- Khatoun, H., Banerjee, S., Yusoff, F. and Shariff, M. 2009. Evaluation of indigenous marine periphytic *Amphora*, *Navicula* and *Cymbella* grown on substrate as feed supplement in *Penaeus monodon* postlarval hatchery system. **Aquaculture Nutrition** 15(2): 186-193.
- Kumaran, J., Jose, B., Joseph, V. and Bright Singh, I.S. 2017. Optimization of growth requirements of marine diatom *Chaetoceros muelleri* using Response Surface Methodology. **Aquaculture research** 48(4): 1513-1524.
- Kutako, M., Khamtongdee, S., Setthamongkol, P., Jamkratoke, M. and Yuvanatemiy, V. 2014. The effect of nutrients on growth of a marine diatom, *Chaetoceros* sp., in recycled diatom cultured water. **Journal of Fisheries Technology Research** 8(1): 74-83. (in Thai)
- Lebeau, T. and Robert, J. M. 2003. Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. Part I: Cultivation at various scales. **Applied Microbiology and Biotechnology** 60(6): 612-623.
- Lee, R.E. 1999. **Phycology**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Li, X. L., Marella, T.K., Tao, L., Li, R., Tiwari, A. and Li, G. 2017. Optimization of growth conditions and fatty acid analysis for three freshwater diatom isolates. **Phycological Research** 65(3): 177-187.
- Lippemeier, S., Hartig, P. and Colijn, F. 1999. Direct impact of silicate on the photosynthetic performance of the diatom *Thalassiosira weissflogii* assessed by on- and off- line PAM fluorescence measurements. **Journal of Plankton Research** 21(2): 269-283.
- Martin-Jézéquel, V., Hildebrand, M. and Brzezinski, M.A. 2000. Silicon metabolism in diatoms: implications for growth. **Journal of Phycology** 36(5): 821-840.
- Pan, Y., DV, S. R., Mann, K., Brown, R. and Pocklington, R. 1996. Effects of silicate limitation on production of domoic acid, a neurotoxin, by the diatom *Pseudo-nitzschia multiseries*. I. Batch culture studies. **Marine Ecology Progress Series** 131: 225-233.

- Parsons, T.R., Maita, Y. and Lalli, C.M. 1984. **A manual of chemical and biological methods for seawater analysis.** Pergamon Press, Oxford.
- Prasopwong, A., Nootong, K. and Kutako, M. 2020. Effect of water from shrimp pond on growth and fucoxanthin production of a diatom *Amphora subtropica* BUUC1502. **Khon Kaen Agriculture Journal** 48(1): 123-128. (in Thai)
- R Core Team. 2020. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J. and Tocher, D. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. **Aquaculture** 179(1-4): 217-229.
- Scala, S. and Bowler, C. 2001. Molecular insights into the novel aspects of diatom biology. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS** 58(11): 1666-1673.
- Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. 1972. **A Practical Handbook of Seawater Analysis.** Fisheries Research Board of Canada Bulletin, Ottawa.
- Tiwari, A., Melchor-Martínez, E.M., Saxena, A., Kapoor, N., Singh, K.J., Saldarriaga-Hernández, S., Iqbal, H.M. 2021. Therapeutic attributes and applied aspects of biological macromolecules (polypeptides, fucoxanthin, sterols, fatty acids, polysaccharides, and polyphenols) from diatoms-A review. **International Journal of Biological Macromolecules** 171: 398-413.
- Trainor, F.R. 1978. **Introductory Phycology.** John Wiley and Sons, New York.
- Tapaneeyaworawong, P., Pantong, P., Chumtong, P., Kutako, M., Hiransuchalert, R., Paibulkichakul, C. and Powtongsook, S. 2018. Batch and continuous cultures of marine benthic diatom *Amphora subtropica* BUUC1502 isolated from Pacific white shrimp pond. **Walailak Procedia** 2(13): 1-8. (in Thai)
- Viriyayingsiri, T. 2009. Optimal conditions for diatom *Entomoneis* sp. cultivation in batch and continuous cultures. Master's thesis, Chulalongkorn University. (in Thai)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าและสารสกัดจากกล้วยหาวาน

Development of Nam-Prik-Pao Supplemented with Namwa Banana

(*Musa sapientum* Linn.) Product and Stevia Extract

กรรณิการ์ อ่อนสำลี*

Gannigar Onsamlee*

Received: 3 July 2022, Revised: 1 June 2023, Accepted: 12 June 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าและสารสกัดจากกล้วยหาวาน โดยศึกษาลักษณะและปริมาณของเนื้อกล้วย ปริมาณสารสกัดจากกล้วยหาวาน และปริมาณน้ำมันที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาและศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้ายของน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าโดยใช้สารสกัดจากกล้วยหาวาน ผลวิจัยพบว่า ลักษณะและปริมาณของเนื้อกล้วยที่เหมาะสม คือ กล้วยน้ำว้าสับหยาบ ร้อยละ 10 ของส่วนผสมทั้งหมด ปริมาณสารสกัดจากกล้วยหาวานที่เหมาะสม คือ ร้อยละ 0.10 ของส่วนผสมทั้งหมด และปริมาณน้ำมันที่เหมาะสม คือ การลดปริมาณน้ำมันรำข้าว ร้อยละ 70 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด ส่วนผสมของน้ำพริกเผาสุดท้าย ได้แก่ กล้วยน้ำว้าสับหยาบ กุ้งแห้ง พริกชี้ฟ้าแห้ง หอมแดง กระเทียม น้ำมันรำข้าว สารสกัดกล้วยหาวาน น้ำมะขามเปียก กะปิ เกลือ น้ำปลา และน้ำเปล่า ร้อยละ 11.72, 8.21, 3.52, 17.58, 15.24, 13.13, 0.13, 14.07, 9.38, 0.23, 2.11 และ 4.69 ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เถ้า กากใย และความชื้น เท่ากับร้อยละ 54.94, 8.22, 13.20, 4.91, 0.09, 18.64 ตามลำดับ และพลังงานทั้งหมดเท่ากับ 371.14 กิโลแคลอรี/100 กรัม มีพลังงานลดลงจากสูตรควบคุม ร้อยละ 15.43 ปริมาณกรดทั้งหมด เทียบสมมูลกรดชนิดริก ร้อยละ 0.09 ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.5 น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมด ร้อยละ 0.29 และ 0.85 ปริมาณทีบีเอ (TBA) เท่ากับ 1.32 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม คุณภาพทางด้านกายภาพ ค่าสี $L^* a^* b^*$ มี เท่ากับ 11.69, 12.45, 6.80 ตามลำดับ ปริมาณน้ำอิสระ เท่ากับ 0.850 ความแน่นเนื้อ และค่าการเกาะติด 11.69 และ -8.89 นิวตัน ผู้บริโภค ให้คะแนนในระดับชอบมากที่สุด (8.8 คะแนน) คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และราอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา มพช. 4/2556

คำสำคัญ: น้ำพริกเผา, กล้วยน้ำว้า, สารสกัดกล้วยหาวาน, ผลิตภัณฑ์

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี 15000

Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thepsatri Rajabhat University, Mueang, Lopburi 15000, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): gannigar.w@lawasri.tru.ac.th

ABSTRACT

The objective of this research was to develop a Nam-Prik-Pao product enhanced with Namwa bananas and stevia extract as a substitute for sugar in the product. Additionally, the aim was to reduce the quantity of oil in the ingredients and study the quality characteristics of the final product of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa bananas and stevia extract. The research findings indicate that suitable characteristics and quantities are achieved with coarse minced banana, which accounts for 10% w/w of the total ingredients. The appropriate quantity of stevia extract was 0.10 % w/w of the total ingredients. Additionally, the optimal amount of oil was a reduction of 70% w/w of the total oil content. The final Nam-Prik-Pao is composed of coarse minced banana, dried shrimp, dried chili, shallot, garlic, rice bran oil, stevia extract, Tamarind juice, shrimp paste, salt, fish sauce, and water, with their contents being 11.72 %, 8.21 %, 3.52 %, 17.58 %, 15.24 %, 13.13 %, 0.13 %, 14.07 %, 9.38 %, 0.23 %, 2.11%, and 4.69%, respectively. The content of the chemical compositions, carbohydrate, protein, fat, ash, crude fiber and moisture, was 54.94 %, 8.22 %, 13.20 %, 4.91 %, 0.09 %, 18.64 %, respectively. Total calorie was 371.14 kcal/100 g. The total calorie was reduced by 15.43% as compared to the control sample. The chemical qualities included a total titratable acid of 0.09% (w/w citric acid), with a pH of 5.5. The contents of reducing sugar and total sugar were 0.29% and 0.85%. TBA was 1.32 mg malonaldehyde/kg. The physical qualities included color values (L*, a* and b*) of 11.69, 12.45 and 6.80, respectively. The water activity (a_w) was 0.850. The firmness and cohesiveness were 11.69 and -8.89 N. Consumers rated the liking score very highly, giving it a score of 8.8 points. The total plate count, yeast and mold were within the acceptable range according to the Thai community product standard Nam-Prik-Pao (4/2566).

Key words: Nam-Prik-Pao, Namwa Banana (*Musa sapientum* Linn.), stevia extract, product

บทนำ

กล้วยน้ำว้า (Namwa banana) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* Linn. เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยสามารถส่งขายทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ทำการเพาะปลูกได้ทั่วไปทุกภาค กล้วยน้ำว้ามีคุณสมบัติแป้งน้อยและมีแร่ธาตุ ได้แก่ โพแทสเซียม โซเดียม สังกะสี ทองแดง และ เหล็ก (Borges *et al.*, 2020) กล้วยสุกหอมมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 296.17 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง และน้ำตาลทั้งหมด 724.35 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (Zhou *et al.*, 2022) นอกจากนี้

กล้วยน้ำว้าสุกมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ (Chaipai *et al.*, 2018) ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากกล้วยโดยการนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายรูปแบบ เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทขนมอบ เช่น คุกกี้ (Agama-Acevedo *et al.*, 2012) บราวนี่ เค้ก (Saragih and Saragih, 2021) และขนมปัง (Adebayo-Oyetero *et al.*, 2016) ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทขนมไทย คือ ข้าวเกรียบ ดอกจอก ขนมบัวลอย ขนมชั้น ขนมบัวป็น ใช้เป็นส่วนประกอบในการทำอาหารประเภทซูป อาหารเด็ก อาหารผู้ป่วย เครื่องดื่มและอาหารไทย (Urassaya, 2020) จึงมีแนวคิดในการพัฒนา

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้กล้วยน้ำว้ามาเพิ่มมูลค่าให้กับพืชท้องถิ่นด้วย น้ำพริกเผาเป็นผลิตภัณฑ์ที่คนไทยนิยมบริโภค มักนำน้ำพริกเผาเป็นส่วนประกอบของอาหารไทยหลายชนิด ได้แก่ ต้มยำกุ้ง กุ้งผัดน้ำพริกเผา ขนมปังใส่น้ำพริกเผาไก่หยอง ฯลฯ มีส่วนผสมที่ใช้ไขมันและน้ำตาลเป็นตัวปรุงรส ทำให้ผลิตภัณฑ์มีพลังงานสูง เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอ้วน ความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดแข็งตัว ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงรวมเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งและโรคอื่น ๆ สำหรับกลุ่มโรคไม่ติดต่อ (Non communicable diseases ; NCDs) ซึ่งประกอบไปด้วยโรคหลัก ได้แก่ โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคทางเดินหายใจเรื้อรัง และโรคเบาหวาน (Angkurawaranon *et al.*, 2013) ปัจจุบันการบริโภคอาหารต้องใส่ใจในเรื่องของสุขภาพมากขึ้น โดยเฉพาะกล้วยซึ่งมีคุณค่าโภชนาการสูง โดยอาหารเพื่อสุขภาพเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความสนใจและมีประโยชน์ต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลดพลังงาน เช่น ลดการใช้ไขมันจากการแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร เพราะส่วนผสมและกรรมวิธีการผลิตเป็นปัจจัยหนึ่งส่งผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ และอายุเก็บรักษา เช่น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากมีส่วนผสมของไขมันในผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดกลิ่นหืน (Rattanapanon, 2007)

หญ้าหวาน หรือ สตีเวีย (Stevia) เป็นสารสกัดจากธรรมชาติ มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ ใบหญ้าหวานเป็นสารประกอบไกลโคไซด์ของสารกลุ่มโคเทอพิน ที่เรียกว่า สตีวียออล ไกลโคไซด์ให้รสหวานกว่าน้ำตาลถึง 150-300 เท่า (Gupta *et al.*, 2016) ใบหญ้าหวานมีคุณสมบัติให้ความหวานมากกว่าน้ำตาล และมีแนวโน้มว่าจะเป็นแหล่งสำคัญของสารให้ความหวานตามธรรมชาติที่กำลังเติบโตของตลาดด้านอาหาร (Goyal *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2016)

สำหรับวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ พัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าและสารสกัดจากหญ้าหวานทดแทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์จะได้คุณค่าโภชนาการที่สูงจากกล้วยน้ำว้า นำผลผลิตที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นมาเพิ่มมูลค่าให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ และการลดปริมาณไขมัน เพื่อลดการบริโภคไขมันในผลิตภัณฑ์ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้แก่ผู้บริโภคที่ห่วงใยในด้านสุขภาพและเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับเกษตรกรมีรายได้เพิ่มมากขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาคุณลักษณะทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำพริกเผาสูตรพื้นฐาน

ทำการผลิตน้ำพริกโดยส่วนผสมดังนี้ กล้วยแห้ง ร้อยละ 7.00 พริกชี้ฟ้าแห้ง ร้อยละ 3.00 หอมแดง ร้อยละ 15.00 กระเทียม ร้อยละ 13.00 ไขมันพืช ร้อยละ 16.00 น้ำตาลมะพร้าว ร้อยละ 20.00 น้ำมันมะพร้าว ร้อยละ 12.00 กะปิ ร้อยละ 8.00 เกลือ ร้อยละ 0.20 น้ำปลา ร้อยละ 1.80 น้ำเปล่า ร้อยละ 4.00 (Thasanon, 1990) โดยเริ่มจากการปอกเปลือกหอมแดงและกระเทียม ล้างทำความสะอาดพริกแห้ง จากนั้นนำพริกชี้ฟ้าแห้ง หอมแดง กระเทียมไปคั่ว ก่อนปั่นให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า ยี่ห้อ SHARP รุ่น EM-Ice power ใช้ระดับความเร็วที่ 2 ปั่นเป็นเวลา 10 วินาที นำส่วนผสมทั้งหมดผัดกับน้ำมันโดยค่อย ๆ ทอยยกลงไป แล้วปรุงรสด้วย เกลือ น้ำตาลมะพร้าว และน้ำมันมะพร้าว ผัดให้ส่วนผสมแห้งโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ จุลินทรีย์และการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Color measure quality ระบบ CIE ยี่ห้อ Hunter lab รุ่น Color Flex EZ วิเคราะห์ลักษณะเนื้อ

สัมผัส (Texture Profile Analysis) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัสยี่ห้อ Stable micro systems รุ่น TA.TX.plus วัดความแน่นเนื้อ (Firmness) และค่าการเกาะติด (Cohesiveness) โดยใช้หัววัด Part Code A/ BE Backward Eusion Rig, Batch No 11625 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กากใย คาร์โบไฮเดรตและพลังงาน ทั้งหมด (AOAC, 2005) ความเป็นกรด-ด่าง (AOAC, 2005) ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Titratable acidity; TTA) (AOAC, 2005) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมด (Lane and Eynon, 1934) ค่าความหืน (Thiobarbituric acid; TBA) (Pearson, 1999) ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2005) ปริมาณยีสต์ และรา (AOAC, 2005) และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9-point hedonic scale (1=ไม่ชอบมากที่สุด, 9=ชอบมากที่สุด) ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวม เติร์มน้ำพริกเผา เสิร์ฟกับข้าวสวย กับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน (Viriyajaree, 2002)

2. การศึกษาลักษณะและปริมาณที่เหมาะสมของกล้วยต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา

คัดเลือกกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* Linn. (ABB group) 'KluaiNam Wa') ที่มีระดับความแก่ร้อยละ 80 หรือมีระยะการสุกแบ่งตามดัชนีการเปลี่ยนสีเปลือกของ ระยะที่ 5 มีสีเหลืองมากกว่าสีเขียว (Mendoza and Aguilera, 2004) ซึ่งมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total Soluble Solid, TSS) อยู่ในช่วง 23.60-23.80 (Etienne *et al.*, 2013) นำกล้วยน้ำว้ามาทำความสะอาด และลวกในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส ประมาณ 1-2 นาที และแช่น้ำเย็นเพื่อให้สามารถแกะเปลือกได้ง่าย จากนั้นทำการปอกเปลือกแช่กล้วยในน้ำผสมสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.20 กรัม ผสม

กับน้ำ 1 ลิตร เพื่อรักษาผิวของเนื้อกล้วยไม่ให้คล้ำก่อนจะนำกล้วยส่วนหนึ่งไปบดด้วยเครื่องบดปั่นไฟฟ้า ยี่ห้อ SHARP รุ่น EM-Ice power ใช้ระดับความเร็วที่ 2 บ่นเป็นเวลา 10 วินาที และนำกล้วยอีกส่วนหนึ่งด้วยมีดให้มีขนาด (3×3×3) มิลลิเมตร ศึกษาลักษณะและปริมาณเนื้อกล้วยในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา ใช้ลักษณะเนื้อกล้วย 2 แบบ คือ เนื้อกล้วยบด และเนื้อกล้วยสับหยาบ โดยเพิ่มปริมาณเนื้อกล้วยร้อยละ 10, 20 และ 30 ของส่วนผสมทั้งหมด โดยส่วนผสมของสูตรพื้นฐานไม่เปลี่ยนแปลง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD)

หลังจากทำการผลิตโดยการเพิ่มลักษณะและปริมาณ กล้วยต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา นำผลิตภัณฑ์ไปศึกษาคุณภาพทางเคมีกายภาพ ได้แก่ ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) วัดค่าสี $L^* a^* b^*$ การวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis) ได้แก่ ความแน่นเนื้อ (Firmness) และค่าการเกาะติด (Cohesiveness) โดยทำการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ร้อยละความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Titratable acidity; TTA) (AOAC, 2005) วิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ยีสต์และรา (Yeast and mold) (AOAC, 2005) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9-point hedonic scale กับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน (Viriyajaree, 2002) และวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) แล้วนำผลทดสอบมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วย Analysis of variance (ANOVA) จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS เลือกสูตรที่ดีที่สุดจากผลิตภัณฑ์ที่มีผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

กายภาพ จุลินทรีย์ และคะแนนการยอมรับจากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสสูงสุด

3. การศึกษาปริมาณสารสกัดจากหญ้าหวานที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา

ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการศึกษามาแล้วจากข้อ 2 มาเปรียบเทียบกับสูตรพื้นฐาน วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) ค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ ความแน่นเนื้อ (Firmness) และค่าการเกาะติด (Cohesiveness) องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กากใย คาร์โบไฮเดรต และพลังงานทั้งหมดโดยการคำนวณ (AOAC, 2005) ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2005) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมด ตามวิธี (Lane and Eynon, 1934) ค่าความหืน (Pearson, 1999) ปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2005) ปริมาณยีสต์ และ รา (AOAC, 2005) และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9-point hedonic scale กับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน (Viriyajaree, 2002)

4. การศึกษาปริมาณน้ำมันที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา

จากสูตรที่ได้รับการคัดเลือกข้อที่ 3 นำมาทำการศึกษารลดปริมาณน้ำมันรำข้าวในกรรมวิธีการผลิตโดยลดปริมาณน้ำมัน ร้อยละ 50, 60, 70 และ 80 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด ศึกษาคุณภาพทางเคมีและกายภาพ ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) ค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ความแน่นเนื้อ (Firmness) และค่าการเกาะติด (Cohesiveness) ร้อยละความชื้น ไขมัน ตามวิธี (AOAC, 2005) การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการ

ทดสอบแบบ 9-point hedonic scale กับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน (Viriyajaree, 2002)

5. การศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้ายของผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผากลิ้ว

นำผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาแล้วจากข้อ 4 มาเปรียบเทียบกับสูตรพื้นฐาน วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) ค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) ลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ ความแน่นเนื้อ (Firmness) และค่าการเกาะติด (Cohesiveness) องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า กากใย คาร์โบไฮเดรต และพลังงานทั้งหมดโดยการคำนวณ (AOAC, 2005) ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2005) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมด ตามวิธี (Lane and Eynon, 1934) ค่าความหืน (Pearson, 1999) ปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2005) ปริมาณยีสต์ และ รา (AOAC, 2005) และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9-point hedonic scale กับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน (Viriyajaree, 2002)

6. การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) สำหรับการวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพโดยวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของตัวอย่างทั้งหมด 5 ซ้ำ และคุณภาพทางเคมีของตัวอย่างทั้งหมด 3 ซ้ำ ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ Randomized Completed Block Design (RCBD) วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จากนั้นเปรียบเทียบหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ทำการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาที่มีการใช้กล้วยน้ำว้าสับหยาบเป็นการเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตร และเป็นผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มคุณค่าโภชนาการจากกล้วย มีการใช้สารสกัดหญ้าหวานทดแทนน้ำตาลและการลดปริมาณน้ำมันลง นำผลิตภัณฑ์ศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

1. ผลการศึกษาคุณภาพทางกายภาพ และการศึกษาคุณภาพทางเคมี จุลินทรีย์และคุณภาพทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาสูตรพื้นฐาน

ทำการผลิตน้ำพริกเผาตามส่วนผสม ได้แก่ กุ้งแห้ง ร้อยละ 7.00 พริกชี้ฟ้าแห้ง ร้อยละ 3.00 หอมแดง ร้อยละ 15.00 กระเทียม ร้อยละ 13.00 น้ำมันพืช ร้อยละ 16.00 น้ำตาลมะพร้าว ร้อยละ 20.00 น้ำมันมะเขือ ร้อยละ 12.00 กะปิ ร้อยละ 8.00 เกลือ ร้อยละ 0.20 น้ำปลา ร้อยละ 1.80 น้ำเปล่า ร้อยละ 4.00 (Thasanon, 1990) นำมาศึกษาคุณภาพพบว่า ค่าสี $L^* a^* b^*$ ของน้ำพริกเผาสูตรพื้นฐาน มีค่าความสว่าง (L^*) 10.57 ซึ่งมีค่าไปทางมืด มีค่าแดง (a^*) เท่ากับ 9.02 และค่าสีเหลือง b^* มีค่าเท่ากับ 6.64 ปริมาณอิสระ Water activity (a_w) เท่ากับ 0.660 เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา ม.พ.ช. 4/2556 ไม่เกิน 0.850 (Thai community product standard, 2016) ค่าความแน่นเนื้อ มีค่าเท่ากับ 10.05 นิวตัน และค่าการเกาะติด มีค่าเท่ากับ -12.03 นิวตัน

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำพริกเผาสูตรพื้นฐาน พบว่า ปริมาณความชื้น ร้อยละ 14.29 ไขมัน ร้อยละ 19.43 โปรตีน ร้อยละ 6.63 เถ้า ร้อยละ 2.05 คากาย ร้อยละ 0.08 คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 57.52 และมีพลังงานทั้งหมด 428.89 กิโลแคลอรี/100 กรัม ปริมาณกรดทั้งหมดเทียบสมมูลกรดซิตริก ร้อยละ 0.06 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.42 ปริมาณน้ำตาล

ทั้งหมด มีค่าเท่ากับร้อยละ 1.47 และน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งมีค่าร้อยละ 0.26 สำหรับค่าทีบีเอ (TBA) มีค่าเท่ากับ 1.83 มิลลิกรัม มาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม มีค่าต่ำกว่าผู้บริโภคนจะสามารถรับรู้กลิ่นได้ หากปริมาณทีบีเอ (TBA) มากกว่า 3 มิลลิกรัมมาลอนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม จะทำให้ผู้รับรู้กลิ่นแปลกปลอมทางประสาทสัมผัสต่อผลิตภัณฑ์ได้ (Papastergiadis *et al.*, 2012) คุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวม เท่ากับ 7.8, 7.1, 7.5, 7.2, 7.1, 7.9 และ 7.4 ตามลำดับ

คุณภาพทางจุลินทรีย์ พบว่า มีปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 2×10^3 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัม และมีปริมาณยีสต์และรา น้อยกว่า 10 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัม ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา ม.พ.ช. 4/2556 (Thai community product standard, 2016) ต้อง ไม่เกิน 1×10^4 โคโลนี ต่อตัวอย่าง 1 กรัม จากผลการศึกษาสูตรพื้นฐานเป็นสูตรที่เหมาะสมในการนำไปศึกษาการเสริมเนื้อกล้วยน้ำว้าในตอนต่อไป

2. ผลการศึกษาลักษณะและปริมาณที่เหมาะสมของเนื้อกล้วยน้ำว้าต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา

ศึกษาลักษณะของกล้วยน้ำว้าที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา 2 แบบ คือ เนื้อกล้วยบด และเนื้อกล้วยสับหยาบ โดยเพิ่มปริมาณเนื้อกล้วยน้ำว้า ร้อยละ 10, 20 และ 30 ของส่วนผสมทั้งหมด จากข้อที่ 1 (สูตรพื้นฐาน) จากนั้นนำน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้า วิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ คุณภาพทางเคมี และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส 6 สิ่งทดลอง ได้แก่ น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าบด ร้อยละ 10 (สูตรที่ 1) น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าบด ร้อยละ 20 (สูตรที่ 2) น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าบด ร้อยละ 30 (สูตรที่ 3) น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าสับหยาบ ร้อยละ 10 (สูตรที่ 4) น้ำพริกเผาเสริม

กล้วยน้ำว้าสับหยาบ ร้อยละ 20 (สูตรที่ 5) และ (สูตรที่ 6) แสดงดังตารางที่ 1
 น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าสับหยาบ ร้อยละ 30

Table 1 The average color values (L^* , a^* , and b^*), water activity (a_w), firmness, and cohesiveness of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana product.

Formula	color values			A_w	firmness (N)	cohesiveness (N)
	L^{*ns}	a^*	b^*			
1	16.65±0.28	3.43 ^c ±0.32	6.30 ^b ±0.16	0.75 ^c ±0.11	18.04 ^d ±0.40	-10.70 ^a ±0.23
2	16.78±0.22	6.74 ^c ±0.53	5.89 ^c ±0.61	0.84 ^b ±0.12	21.01 ^c ±1.25	-13.92 ^{bc} ±0.37
3	17.21±0.23	7.15 ^b ±0.48	6.27 ^b ±0.36	0.87 ^a ±0.11	26.90 ^a ±2.14	-15.64 ^c ±0.66
4	16.68±0.28	4.76 ^d ±0.17	6.62 ^b ±0.30	0.81 ^b ±0.14	16.71 ^d ±1.54	-10.38 ^a ±1.11
5	16.88±0.14	7.17 ^b ±0.47	5.38 ^b ±0.92	0.85 ^b ±0.20	22.03 ^{bc} ±0.79	-12.92 ^b ±0.48
6	17.83±0.13	8.24 ^a ±0.56	7.44 ^a ±0.35	0.88 ^a ±0.17	23.88 ^b ±0.37	-14.85 ^c ±1.75

Mean value of 5 replicate measurements ± standard deviation

^{abcde} different letters in a column are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

^{ns} letters in a column are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple-range test

ค่าสี L^* a^* b^* ของน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าทั้ง 6 สิ่งทดลอง โดยค่าความสว่าง (L^*) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ค่าสีแดง (a^*) มีค่าอยู่ระหว่าง 3.43–8.24 ค่าสีเหลือง (b^*) มีค่าอยู่ระหว่าง 5.38–7.44 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากผลการวิจัยพบว่าใช้เนื้อกล้วยทั้ง 2 ลักษณะ ส่งผลต่อค่าสีแดง (a^*) ค่าสีเหลือง (b^*) การใช้เนื้อกล้วยสับหยาบมีค่าสีแดง (a^*) สีเหลือง (b^*) สูงกว่าการใช้เนื้อกล้วยน้ำว้าบดละเอียด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในส่วนผสมกล้วยเปลี่ยนมีสารประกอบฟีนอลที่ออกซิไดซ์ได้ซึ่งสารประกอบเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) (Mohamed *et al.*, 2010) และในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผามีการใช้ความร้อน ส่งผลให้เนื้อพริกเกิดการเปลี่ยนแปลงเม็ดสีแคปแซนทินซึ่งเป็นสารสีโต

แคโรทีนอยด์ที่ไม่คงตัวเมื่อได้รับความร้อนจากการแปรรูป (Cheok *et al.*, 2017; Sobhi *et al.*, 2012) ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) อยู่ระหว่าง 0.750-0.880 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปริมาณเนื้อกล้วยที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) เพิ่มขึ้นในขณะที่เกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา มพช. 4/2556 กำหนดไม่เกิน 0.850 (Thai community product standard, 2016) กล้วยน้ำว้ามีเส้นใยอาหารทำให้สามารถดูดซับน้ำได้ดี ใยอาหารชนิดที่ละลายน้ำและชนิดที่ไม่ละลายน้ำมีความสามารถในการจับกับไฮโดรเจนไอออนได้ดีผ่านแรงดึงดูดระหว่างหมู่ที่ไม่มีขั้ว ส่วนใยอาหารที่ละลายน้ำจะจับน้ำทำให้ความหนืดของระบบเพิ่มขึ้นส่งผลให้มีการอุ้มน้ำได้มาก (Staffolo *et al.*, 2012) การใช้เนื้อกล้วยทั้ง 2 ลักษณะ ส่งผลต่อความแน่นเนื้อน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าทั้ง 6 สิ่งทดลอง มีค่าระหว่าง 16.71-26.90

นิวตัน ค่าการเกาะติด มีค่าระหว่าง (-10.38)-(-15.64) นิวตัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การใช้เนื้อกล้วยน้ำว้าบดละเอียดส่งผลให้ค่าการเกาะติดสูงกว่าสิ่งทดลองที่ใช้เนื้อกล้วยน้ำว้า

สับหยาบ มีรายงานการใช้กล้วยในส่วนผสมสปันจ์เค้กเพื่อเสริมใยอาหาร การใช้กล้วยละเอียดทำให้เกิดอิมัลชันที่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน ส่งผลให้เนื้อสัมผัสแน่นและแรงยึดเกาะเพิ่มขึ้น (Segundo *et al.*, 2017)

Table 2 The average chemical properties were compared to the textural types of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana product.

Formula	Factors	Banana pulp (%)	Moisture (%)	pH	TTA (%)
1	Banana puree	10	15.91 ^b ±1.93	5.61 ^b ±0.05	0.08 ^{bc} ±0.10
2	Banana puree	20	17.11 ^b ±0.56	5.53 ^b ±0.13	0.10 ^b ±0.11
3	Banana puree	30	18.03 ^b ±1.88	5.41 ^c ±0.10	0.11 ^{ab} ±0.11
4	Coarse minced banana	10	16.38 ^b ±0.67	5.86 ^a ±0.13	0.09 ^b ±0.12
5	Coarse minced banana	20	19.70 ^a ±0.44	5.47 ^{bc} ±0.13	0.10 ^b ±0.11
6	Coarse minced banana	30	20.29 ^a ±0.52	5.42 ^c ±0.06	0.12 ^a ±0.11

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{abc} different letters in a column are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test

จากตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ลักษณะและผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมเนื้อกล้วย พบว่า ปริมาณความชื้น ร้อยละ 15.91-20.29 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การเพิ่มปริมาณเนื้อกล้วยส่งผลให้ความชื้นสูงขึ้น เนื่องจากกล้วยน้ำว้าประกอบด้วยเส้นใยอาหารและมีสตาร์ท ร้อยละ 61.0-76.5 สามารถดูดซับน้ำได้ดี (Segundo *et al.*, 2017) ในผลิตภัณฑ์แปรรูปอาหารปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) จะสัมพันธ์ทางตรงกับปริมาณความชื้น (Troller, 2012)

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด พบว่าน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าทั้ง 6 สิ่งทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปริมาณเนื้อกล้วยส่งผลต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา ในเนื้อกล้วยประกอบด้วยกรดอินทรีย์ที่สำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ กรดมาลิก กรดซิตริก และกรด

ออกซาลิก ดังนั้นจึงส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณกล้วยเพิ่มขึ้น (Etienne *et al.*, 2013)

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสมีค่าคะแนนความชอบ สิ่งทดลองที่ 4 ระหว่าง 7.0-8.0 คะแนน คะแนนความชอบปานกลาง พบว่า กลิ่นรสชาติ ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวมสูงสุดโดยได้คะแนน 7, 6, 7.8, 7.8 และ 8.0 ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ลักษณะปรากฏ สี และลักษณะเนื้อสัมผัส ของน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าทั้ง 6 สิ่งทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

เมื่อพิจารณาจากคุณภาพทางกายภาพ และคุณภาพทางเคมี ร่วมกับคะแนนความชอบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า สีของ

ผลิตภัณฑ์ ปริมาณ น้ำอิสระ water activity (a_w) เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา มพช. 4/2556 ลักษณะเนื้อสัมผัส ด้านความแน่นเนื้อ การเกาะติด ร้อยละความชื้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด สอดคล้องกับการทดสอบ คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ที่ผู้บริโภคให้คะแนน ความชอบ กลิ่น รสชาติลักษณะเนื้อสัมผัสและความเป็นเนื้อเดียว ในสิ่งทดลองที่ 4 (การเสริมกล้วยน้ำว้า สับหยาบ ร้อยละ 10) คะแนนความชอบโดยรวม 8.0 คะแนน จึงใช้สิ่งทดลองนี้สำหรับการศึกษาปริมาณ สารสกัดกล้วยน้ำว้าที่เหมาะสมในขั้นตอนต่อไป

3. ผลการศึกษาปริมาณสารสกัดจากกล้วยน้ำว้าที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา

ศึกษาปริมาณ สารสกัดจากกล้วยน้ำว้า 3 ระดับ แบ่งเป็น 4 สิ่งทดลอง ได้แก่ น้ำพริกเผาเสริม กล้วยน้ำว้าที่ใช้น้ำตาลมะพร้าว สิ่งทดลองที่ 1 (สูตรควบคุม) ปริมาณสารสกัดกล้วยน้ำว้า ร้อยละ 0.05 ของส่วนผสมทั้งหมด (สิ่งทดลองที่ 2) ปริมาณสารสกัดกล้วยน้ำว้า ร้อยละ 0.10 ของส่วนผสมทั้งหมด (สิ่งทดลองที่ 3) ปริมาณสารสกัดกล้วยน้ำว้า ร้อยละ 0.15 ของส่วนผสมทั้งหมด (สิ่งทดลองที่ 4) นำไปศึกษาคุณภาพทางเคมีกายภาพ ได้แก่ ค่าสี L^* a^* b^*

ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) ปริมาณน้ำตาล ริควิชัย ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าความชื้น การทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า ค่าความสว่าง (L^*) ของน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าที่ใช้ สารสกัดกล้วยน้ำว้าแทนน้ำตาลทั้ง 3 ระดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสูตรควบคุมมีค่าความสว่างต่ำสุด ในขณะที่การใช้สารสกัดจากกล้วยน้ำว้ามีค่าความสว่างมากกว่า เพราะในสูตรควบคุมใช้น้ำตาลมะพร้าวซึ่งมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อกระบวนการผลิตได้ผ่าน ความร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) (Rattanapanon, 2007) สำหรับ ปริมาณ สารสกัดจากกล้วยน้ำว้าไม่มีผลต่อค่าสีแดง (a^*) สีเหลือง (b^*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) พบว่า น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าทั้ง 4 สิ่งทดลอง มีค่าระหว่าง 0.810 -0.860 การใช้สารสกัดกล้วยน้ำว้าใน ผลิตภัณฑ์ในระดับต่างกันไม่มีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่แตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับสูตรควบคุมที่มีการใช้ น้ำตาลมะพร้าวในส่วนผสมเนื่องจากปริมาณสารสกัด จากกล้วยน้ำว้าที่เติมลงไปน้อยมาก แสดงดังตารางที่ 3

Table 3 The average of the color values (L^* , a^* and b^*) water activity (a_w) of Nam-Prik-Pao supplemented with namwa banana product using different levels of Stevia extract

Formula	Stevia extract (%)	Colors			A_w
		L^*	a^{*ns}	b^{*ns}	
1	0.00 (control)	16.78 ^c ±0.28	4.80±0.17	6.59±0.10	0.811 ^b ±0.12
2	0.05	19.81 ^b ±0.49	4.65±0.69	6.49±0.15	0.840 ^a ±0.21
3	0.10	19.46 ^b ±0.11	4.66±1.14	6.42±0.25	0.851 ^a ±0.23
4	0.15	20.80 ^a ±0.20	4.70±0.17	6.44±0.41	0.860 ^a ±0.17

Mean value of 5 replicate measurements ± standard deviation

^{abc} different letters in a column are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

^{ns} letters in a column are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

คุณภาพทางเคมี ของผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา พบว่าความชื้น อยู่ระหว่างร้อยละ 16.37-21.44 การใช้สารสกัดปริมาณสารสกัดหูก้านในน้ำพริกเผา ส่งผลปริมาณน้ำตาลทั้งหมด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับสูตรควบคุม ผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาสูตรควบคุมมีการใช้น้ำตาล

มะพร้าวประกอบด้วย ซูโครส และน้ำตาลอิสระ (Radam *et al.*, 2016; Laksameethanasana *et al.*, 2012) ในขณะที่สิ่งทดลองที่ 2, 3 และ 4 ใช้สารสกัดหูก้าน พบว่า ไม่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4

Table 4 The average of the chemical properties of Nam-Prik-Pao supplemented with namwa banana product using different levels of Stevia extract

Formula	Stevia extract (%)	Moisture (%)	Total sugar (%)	Reducing sugar ^{ns} (%)
1	0.00 (control)	16.37 ^b ±0.67	1.48 ^a ±0.15	0.26±0.13
2	0.05	20.24 ^a ±0.77	0.83 ^b ±0.11	0.26±0.20
3	0.10	20.21 ^a ±0.65	0.84 ^b ±0.14	0.27±0.21
4	0.15	21.44 ^a ±0.35	0.84 ^b ±0.12	0.27±0.22

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{ab} different letters in a column are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

^{ns} letters in a column are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส ผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าที่ใช้สารสกัดหูก้านทดแทนน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธี 9 point hedonic scale จากผู้ทดสอบชิมที่กับผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 30 คน

พบว่า การใช้สารสกัดหูก้านที่ระดับร้อยละ 0.10 ของส่วนผสมทั้งหมด มีคะแนนความชอบอยู่ระหว่าง 7.6-8.4 คะแนน โดยมีคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมมากกว่าระดับอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 5

จากคุณภาพทางกายภาพ และคุณภาพทางเคมี ร่วมกับคะแนนความชอบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า คุณภาพทางเคมีที่เป็นปัจจัยสำคัญ ได้แก่ ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา มพช. 4/2556 กับ การทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ที่ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบในทุกคุณลักษณะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในสิ่งทดลองที่ 3 (สารสกัดหูก้าน ร้อยละ 0.10) สำหรับการศึกษาน้ำมันที่เหมาะสมในขั้นตอนต่อไป

Table 5 Means hedonic scale of sensory evaluation of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana product using different levels of Stevia extract

sensory evaluation (scores)	Stevia extract (% total weight of all ingredient)			
	(Control)	0.05	0.10	0.15
Appearance	7.4 ^{ab} ±0.73	6.9 ^c ±0.63	7.6 ^a ±0.72	7.1 ^{bc} ±0.68
Color	7.7 ^a ±0.46	7.3 ^{ab} ±0.83	7.6 ^{ab} ±0.89	7.2 ^b ±0.71
Odor	7.5 ^a ±0.62	7.6 ^a ±0.62	7.6 ^a ±0.77	7.2 ^b ±0.74
Taste	7.7 ^b ±0.44	6.9 ^c ±0.71	7.7 ^a ±0.67	7.0 ^c ±0.76
Texture	7.6 ^b ±0.62	6.9 ^c ±0.71	7.7 ^a ±0.56	7.2 ^c ±0.74
Overall liking	7.9 ^b ±0.68	6.8 ^c ±0.62	8.4 ^a ±0.67	6.9 ^c ±0.71

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{abc} different letters in the same row are significantly different level ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test

^{ns} letters in the same row are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple range test

4. ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผา

จากการศึกษาการเสริมเนื้อกล้วยและการทดแทนสารสกัดหญ้าหวานแทนน้ำตาล ทำการศึกษาการลดปริมาณน้ำมันทั้งหมดโดยคิดต่อปริมาณน้ำมันทั้งหมด คือ ร้อยละ 17.76 ที่ใช้ใน 1 ครั้งการผลิต โดยแบ่งสิ่งทดลองออกเป็น 4 สิ่งทดลอง ได้แก่ การลดปริมาณน้ำมันร้อยละ 50 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด (สูตรที่ 1 ลดลงร้อยละ 8.88) การลดปริมาณน้ำมันร้อยละ 60 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด (สูตรที่ 2 ลดลงร้อยละ 9.50) การลดปริมาณน้ำมัน ร้อยละ 70 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด (สูตรที่ 3 ลดลงร้อยละ 10.70) และ การลดปริมาณน้ำมัน ร้อยละ 80 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด (สูตรที่ 4 ลดลงร้อยละ 14.20) พบว่า ค่าสี L^* a^* b^* พบว่าทุกสิ่งทดลองมีค่าความสว่าง (L^*) ระหว่าง 11.96-15.80 สิ่งทดลองที่ 2 และ 3 ไม่แตกต่างกันแต่แตกต่างจากสิ่งทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าสีแดง (a^*) มีค่าระหว่าง 7.87-12.43 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าสีเหลือง (b^*) มีค่า

ระหว่าง 3.89 - 6.78 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) มีค่าลดลงระหว่าง 0.830-0.850 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากกระบวนการผลิตที่ใช้ไขมันมีผลต่อน้ำบางส่วนที่ผิวหน้าของอาหารระเหยไปส่งผลให้เกิดการเคลื่อนของน้ำมันเข้าไปแทนที่น้ำได้ (Adedeji *et al.*, 2009)

ค่าความแน่นเนื้อ อยู่ระหว่าง 9.27-14.33 นิวตัน และเกาะติดอยู่ระหว่าง (-7.38)-(-11.16) นิวตัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การลดปริมาณน้ำมันในส่วนผสมให้น้อยลงส่งผลให้ลักษณะเนื้อสัมผัสด้านค่าความแน่นเนื้อสูงขึ้น ส่วนประกอบของอาหารถูกดูดซับด้วยน้ำมันบริเวณผิวแทรกเข้าไปในช่องว่างอาหารทำให้การรวมตัวมากขึ้น (Adedeji *et al.*, 2009) ในขณะที่น้ำพริกมีส่วนผสมที่มีน้ำตาลมีส่วนช่วยลดน้ำให้แห้งด้วยวิธีออสโมซิส (Osmotic Dehydration) ส่งผลทำให้ส่วนผสมเกาะรวมกันสูงขึ้น (Tylewicz *et al.*, 2020)

Table 6 The average of the physical properties of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana products using different levels of vegetable oil

Formula	Colors			A_w	Firmness (N)	Cohesiveness (N)
	L*	a*	b*			
1	15.80 ^a ±0.20	7.87 ^c ±0.42	3.89 ^b ±0.61	0.85 ^a ±0.17	9.27 ^c ±0.13	-7.38 ^a ±1.10
2	11.69 ^b ±0.29	10.17 ^b ±0.47	3.92 ^b ±0.65	0.84 ^a ±0.11	9.91 ^c ±0.36	-7.41 ^a ±0.09
3	11.69 ^b ±0.31	12.43 ^a ±0.37	6.78 ^a ±0.32	0.83 ^b ±0.16	11.72 ^b ±0.46	-8.91 ^b ±0.27
4	13.51 ^c ±0.74	18.22 ^a ±0.97	6.77 ^a ±0.39	0.83 ^b ±0.20	14.33 ^a ±0.14	-11.16 ^c ±0.18

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{abc} different letters in a column are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

สำหรับปริมาณความชื้นและปริมาณไขมันจากการศึกษาพบว่า ความชื้นของน้ำพริกเผาทั้ง 4 สิ่งทดลอง มีค่าระหว่างร้อยละ 18.26-19.77 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการศึกษาการลดปริมาณน้ำมันส่งผลให้ความชื้นลดลงด้วย เนื่องจากส่วนผสมอาหารที่เป็นน้ำมันจากความร้อนที่ผัดน้ำพริกส่งผลให้น้ำมันผลิตภัณฑ์ระเหยได้มาก ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้

โครงสร้างอาหารเกาะรวมตัวกันมากขึ้น ส่วนประกอบของอาหารบางส่วนถูกดูดซับด้วยน้ำมันบริเวณผิวแทรกเข้าไปในช่องว่างอาหารได้ (Adedeji *et al.*, 2009; Saguy and Dana, 2003) แสดงดังตารางที่ 7

Table 7 The average of chemical properties of Nam-Prik-Pao supplemented with namwa banana using different levels of vegetable oil

Formula	Reduce of vegetable oil	Moisture (%)	Fat (%)
	(% of the total oil content)		
1	50	19.77 ^a ±0.21	15.32 ^a ±0.19
2	60	19.43 ^a ±0.47	14.96 ^a ±0.06
3	70	18.64 ^b ±0.15	13.20 ^b ±0.32
4	80	18.26 ^b ±0.26	12.52 ^b ±0.28

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{ab} different letters in a column are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

คุณภาพทางประสาทสัมผัสของการลดปริมาณน้ำมันในน้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าที่ใช้สารสกัดหญาหวาน ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9 point hedonic scale จากผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 30 คน พบว่า การลดปริมาณน้ำมันในผลิตภัณฑ์

ร้อยละ 70 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด โดยมีคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม 7.5, 7.6, 7.6, 7.6, 8.1, 8.2 และ 8.50 คะแนน มากกว่าการลดปริมาณน้ำมันในผลิตภัณฑ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 8

Table 8 Means hedonic scale of sensory evaluation of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana product with reduced vegetable oil.

sensory evaluation (scores)	Reduce of vegetable oil (% of the total oil content)			
	50	60	70	80
Appearance	7.0 ^b ± 0.63	7.5 ^a ± 0.57	7.5 ^a ± 0.57	7.2 ^{ab} ± 0.71
Color ^{ns}	7.3 ± 0.83	7.4 ± 0.71	7.6 ± 0.72	7.3 ± 0.83
Odor ^{ns}	7.6 ± 0.62	7.5 ± 0.62	7.6 ± 0.54	7.4 ± 0.41
Taste	6.9 ^c ± 0.71	7.6 ^b ± 0.13	8.1 ^a ± 0.24	7.7 ^b ± 0.32
Texture	6.9 ^c ± 0.62	7.5 ^b ± 0.22	8.2 ^a ± 0.33	7.3 ^b ± 0.15
Overall liking	6.9 ^c ± 0.52	7.4 ^b ± 0.36	8.5 ^a ± 0.18	7.2 ^b ± 0.26

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{abc} different letters in the same row are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

^{ns} letters in the same row are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

5. ผลการศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้ายในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าโดยใช้สารสกัดหญาหวาน

ผลิตภัณฑ์สุดท้ายในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าโดยใช้สารสกัดหญาหวานนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีกายภาพ น้ำพริกเผาสูตรที่พัฒนาเปรียบเทียบกับน้ำพริกเผาสูตรพื้นฐาน คือ ค่าสี L* a* b* ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) ความแน่นเนื้อ (Firmness) และค่าการเกาะติด

(Cohesiveness) พบว่า ค่าสี L* a* b* ปริมาณน้ำอิสระ water activity (a_w) และค่าความแน่นเนื้อ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ค่าการเกาะติด ในผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาสูตรที่พัฒนาแล้วมีค่าน้อยกว่าน้ำพริกเผาสูตรพื้นฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เพราะมีการเสริมกล้วยน้ำว้าและทดแทนสารสกัดหญาหวานในส่วนผสม ทำให้ความสามารถในการเกาะติดลดลง แสดงดังตารางที่ 9

Table 9 Physical properties of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana using stevia extract

Physical properties	Nam-Prik-Pao product	
	Control	Stevia extract 0.10%
L* ^{ns}	10.60 ± 0.56	10.67 ± 0.58
a* ^{ns}	9.03 ± 0.22	9.08 ± 0.26
b* ^{ns}	6.68 ± 0.25	6.69 ± 0.26
Water activity (a _w)	0.66 ^b ± 0.01	0.85 ^a ± 0.01
Firmness (N)	10.08 ^a ± 0.36	9.91 ^b ± 0.46
Cohesiveness (N)	-12.06 ^b ± 0.77	-7.24 ^a ± 0.03

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{ab} different letters in the same row are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

^{ns} letters in the same row are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณทีบีเอ (TBA) ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้อยกว่าน้ำพริกเผาสูตรพื้นฐาน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ไม่เกินมาตรฐาน

ผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา มพช. 4/2556 ผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาสูตรที่พัฒนาแล้วมีความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตสูงกว่า ขณะเดียวกันปริมาณไขมันและพลังงานทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 10

Table 10 Chemical properties of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana using stevia extract

Chemical composition (%)	Nam-Prik-Pao product	
	Control	Stevia extract 0.10%
Moisture ^{ns}	14.29 ± 0.67	14.64 ± 0.55
Protein	6.63 ^b ± 0.21	8.22 ^a ± 0.23
Fat	19.43 ^a ± 1.13	13.20 ^b ± 0.27
Ash	2.05 ^b ± 0.60	4.91 ^a ± 0.33
Crude fiber ^{ns}	0.08 ± 0.11	0.09 ± 0.73
Carbohydrate	57.52 ^b ± 0.76	58.94 ^a ± 0.27
Energy (kg calorie /100 g))	428.89 ^a ± 0.93	371.14 ^b ± 0.43

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{ab} different letters in the same row are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

^{ns} letters in the same row are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ความชอบโดยรวม ผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าโดยใช้สารสกัดหญ้าหวานร้อยละ 0.10 เท่ากับ 8.0, 8.2, 7.3, 8.5, 8.5, 8.5 และ 8.8 คะแนน ตามลำดับ สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับสูตรที่ใช้น้ำตาลมะพร้าว (สูตรควบคุม) แสดงดังตารางที่ 11

Table 11 Means hedonic scale of sensory evaluation of Nam-Prik-Pao supplemented with Namwa banana product using Stevia extract 0.1%

sensory evaluation (scores)	Nam-Prik-Pao product	
	Control	Stevia extract 0.1%
Appearance ^{ns}	7.9 ± 0.63	8.0 ± 0.76
Color	7.7 ^b ± 0.24	8.2 ^a ± 0.63
Odor	7.1 ^b ± 0.61	7.3 ^a ± 0.90
Taste	7.7 ^b ± 0.35	8.5 ^a ± 0.90
Texture	7.6 ^b ± 0.44	8.5 ^a ± 0.50
Overall liking	7.9 ^b ± 0.17	8.8 ^a ± 0.12

Mean value of 3 replicate measurements ± standard deviation

^{ab} different letters in the same row are significantly different levels ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

^{ns} letters in the same row are not significantly different ($P > 0.05$) according to Duncan's multiple ranges test

สรุป

ผลิตภัณฑ์น้ำพริกเผาเสริมกล้วยน้ำว้าโดยใช้สารสกัดจากหญ้าหวาน ลักษณะและปริมาณของเนื้อกล้วยที่เหมาะสม คือ การใช้กล้วยน้ำว้าสับหยาบร้อยละ 10 ของส่วนผสมทั้งหมด ปริมาณสารสกัดจากหญ้าหวานที่เหมาะสม ร้อยละ 0.10 ของส่วนผสมทั้งหมด และการลดปริมาณน้ำมันรำข้าวร้อยละ 70 ของปริมาณน้ำมันทั้งหมด พลังงานทั้งหมด เท่ากับ 371.14 กิโลแคลอรี/100 กรัม มีพลังงานลดลงจากสูตรควบคุม ร้อยละ 15.43 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำพริกเผา มผช. 4/2556

ข้อเสนอแนะ

1. น้ำพริกเผาสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเจได้โดยใช้ผลผลิตทางการเกษตรทดแทนเนื้อสัตว์
2. ศึกษาสารให้ความหวานชนิดอื่นในผลิตภัณฑ์
3. ควรศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เนื่องจากมีการลดปริมาณน้ำมันในส่วนผสม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้และ ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้การสนับสนุนและสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Adebayo-Oyetero, A.O., Ogundipe, O.O. and Adeeko, K.N. 2016. Quality assessment and consumer acceptability of bread from wheat and fermented banana flour. **Food Science & Nutrition** 4(3): 364-369.
- Adedeji, A.A., Ngadi, M.O. and Raghavan, G.S.V. 2009. Kinetics of mass transfer in microwave precooked and deep-fat fried chicken nuggets. **Journal of food Engineering** 91(1): 146-153.
- Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J.J., Pacheco-Vargas, G., Osorio-Díaz, P. and Bello-Pérez, L.A. 2012. Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour. **LWT - Food Science and Technology** 46(1): 177-182.
- Angkurawaranon, C., Wattanachariya, N., Doyle, P. and Nitsch, D. 2013. Urbanization and Non-communicable disease mortality in Thailand: an ecological correlation study. **Tropical Medicine & International Health** 18(2): 130-140.
- AOAC. 2005. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland.
- Borges, C.V., Maraschin, M., Coelho, D.S., Leonel, M., Gomez, H.A.G., Belin, M.A.F. and Lima, G.P.P. 2020. Nutritional value and antioxidant compounds during the ripening and after domestic cooking of bananas and plantains. **Food Research International** 132: 109061.
- Chaipai, S., Kriangsinyot, W. and Srichamnong, W. 2018. Effects of ripening stage and cooking methods on available glucose, resistant starch and estimated glycemic index of bananas (*Musa sapientum*; Namwa variety). **Malaysian Journal of Nutrition** 24(2): 269-279.
- Cheok, C.Y., Sobhi, B., Adzahan, N.M., Bakar, J., Rahman, R.A., Ab Karim, M.S. and Ghazali, Z. 2017. Physicochemical properties and volatile profile of chili shrimp paste as affected by irradiation and heat. **Food Chemistry** 216: 10-18.
- Etienne, A., Génard, M., Bancel, D., Benoit, S. and Bugaud, C. 2013. A model approach revealed the relationship between banana pulp acidity and composition during growth and post harvest ripening. **Scientia Horticulturae** 162: 125-134.
- Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S., Tripathi, P. and Rai, G. 2016. Stevioside and rebaudioside A—predominant ent-kaurene diterpene glycosides of therapeutic potential: a review. **Czech Journal of Food Sciences** 34(4): 281-299.
- Goyal, S.K., Samsher and Goyal, R.K. 2010. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a biosweetener: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition** 61(1): 1-10.
- Laksameethanasana, P., Somla, N., Janprem, S. and Phochuen, N. 2012. Clarification of sugarcane juice for syrup production. **Procedia Engineering** 32: 141-147.
- Lane, J.H. and Eynon, L. 1934. **Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator London**. Norman Rodger, London.

- Mendoza, F. and Aguilera, J.M. 2004. Application of image analysis for classification of ripening bananas. **Journal of Food Science** 69(9): E471-E477.
- Mohamed, A., Xu, J. and Singh, M. 2010. Yeast leavened banana -bread: formulation, processing, colour and texture analysis. **Food Chemistry** 118(3): 620-626.
- Pearson, D. 1999. **The Chemical Analysis of Food**. 7th ed. Churchill Livingstone, New York.
- Papastergiadis, A., Mubiru, E., Van Langenhove, H. and De Meulenaer, B. 2012. Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 60(38): 9589-9594.
- Rattanapanon, N. 2007. **Food chemistry**. 2nd ed. Chiang Mai University Press, Chiang Mai. (in Thai)
- Radam, R.R., Sari, N.M. and Lusyani, L. 2016. Chemical compounds of granulated palm sugar made from sap of nipa palm (*Nypa fruticans* Wurmb) growing in three different places. **Journal of Wetlands Environmental Management** 2(1) :108-114.
- Saguy, I.S. and Dana, D. 2003. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. **Journal of Food Engineering** 56(2-3) : 143-152.
- Saragih, B. and Saragih, N.A.D. 2021. FTIR (Fourier Transform Infra Red) profile of banana corm flour, nutritional value and sensory properties of resulting brownies. **Journal of Physics: Conference Series** 1882(1): 012112.
- Segundo, C., Román, L., Gómez, M. and Martínez, M.M. 2017. Mechanically fractionated flour isolated from green bananas (*M. cavendishii* var. *nanica*) as a tool to increase the dietary fiber and phytochemical bioactivity of layer and sponge cakes. **Food Chemistry** 219: 240-248.
- Sobhi, B., Noranizan, M., Karim, A.S., Rahman, A.R., Bakar, J. and Ghazali, Z. 2012. Microbial and quality attributes of thermally processed chili shrimp paste. **International Food Research Journal** 19(4): 1705.
- Staffolo, M.D., Bevilacqua, A.E., Rodriguez, M.S. and Albertengo, L. 2012. Chapter 17 dietary fiber and availability of nutrients: A case study on yoghurt as a food model, pp. 455-490. In Karunaratne, D.N., ed. **The Complex World of Polysaccharides**. InTech. IntechOpen Limited, London.
- Troller, J. 2012. **Water activity and food**. Academic Press Inc., New York.
- Thai community product standard. 2016. **Nam prik Phao (TCPS. 4/ 2016)**. Thai industrial standard institute (TISI), Ministry of industry, Bangkok. (in Thai)
- Thasanon, J. 1990. **Thai food**. Siri Wattana Printing, Bangkok. (in Thai)
- Tylewicz, U., Oliveira, G., Almingier, M., Nohynek, L., Dalla Rosa, M. and Romani, S. 2020. Antioxidant and antimicrobial properties of

organic fruits subjected to PEFassisted osmotic dehydration. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 62: 102341.

Urassaya, M. 2020. **The Complete Thai Dessert Cookbook**. Independently published, Bangkok.

Viriyajaree, P. 2002. **Sensory evaluation**. Chiang Mai University Press, Chiang Mai. (in Thai)

Zhou, Y.H., Pei, Y.P., Sutar, P.P., Liu, D.H., Deng, L.Z., Duan, X. and Xiao, H.W. 2022. Pulsed vacuum drying of banana: Effects of ripeness on drying kinetics and physicochemical properties and related mechanism. **LWT - Food Science and Technology** 161: 113362.

การเปรียบเทียบวิธีการสกัดอินนูลินจากแก่นตะวัน

The Comparison of Inulin Extraction Methods from Jerusalem

Artichoke (*Helianthus tuberosus*)

ศุภลักษณ์ เกตุตากแดด¹ อุไรลักษณ์ พงษ์เกษ¹ ศุภลักษณ์ กมคาย¹ ทรัพย์มณี บุญญโก² และ นิตยา ภูงาม^{1*}
Supalug Kattakdad¹, Urailuck Pongket¹, Supalug Komkhai¹, Submanee Bunyako² and Nittaya Phungam^{1*}

Received: 4 July 2022, Revised: 29 November 2022, Accepted: 26 January 2023

บทคัดย่อ

การเปรียบเทียบวิธีการสกัดอินนูลินจากแก่นตะวัน 4 วิธี คือ 1) การใช้ น้ำกลั่น อุณหภูมิ 80°C 2) การใช้ เอทานอล 80% (v/v) อุณหภูมิ 80°C 3) การสกัดด้วยไมโครเวฟ (406 วัตต์) เป็นเวลา 60 นาที และ 4) การสกัดด้วย อัลตราโซนิก อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 60 นาที จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผงแก่นตะวัน พบว่า ปริมาณ ความชื้นของผงแก่นตะวัน มีค่าเท่ากับ 14.01±0.04% และปริมาณ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 2.93±0.09, 1.27±0.01, 3.98±0.04, 1.03±0.05 และ 76.78±0.04 ตามลำดับ การศึกษาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณอินนูลินจากผงแก่นตะวัน ด้วยสารละลายเอทานอล น้ำกลั่น และวิธีการสกัด ไมโครเวฟ และอัลตราโซนิก พบว่า วิธีการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณ อินนูลินสูงที่สุด เท่ากับ 136.867±10.22 mg/ml และ 66.526±6.10% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ การสกัดด้วย ไมโครเวฟส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (6.689±1.86 mg/ml) (p≤0.05) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของ สารสกัดอินนูลินที่สกัดด้วยสารละลายเอทานอล น้ำกลั่น และเทคนิคไมโครเวฟ มีค่าสูงกว่าการสกัดด้วยเทคนิค อัลตราโซนิก (p≤0.05) ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารสกัดอินนูลินไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) การ วิเคราะห์ค่าสี L* a* และ b* พบว่า สารสกัดอินนูลินจากวิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่นมีค่าความสว่าง (L*) สูงที่สุด (29.37±0.13) (p≤0.05) การศึกษาค่าความเป็นสีแดง (a*) พบว่า วิธีการสกัดทั้ง 4 วิธี ไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) พบว่า สารที่สกัดจากน้ำกลั่นมีค่าสีเหลืองสูงที่สุด (4.79±0.02) (p≤0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยสารละลายเอทานอลและการสกัดด้วยไมโครเวฟ และการสกัดด้วยอัลตราโซนิก (4.55±0.16, 3.84±0.06 และ 3.74±0.07 ตามลำดับ) ดังนั้นวิธีการสกัดโดยใช้เอทานอล ความเข้มข้น 80% (v/v) ที่อุณหภูมิ 80°C ให้ปริมาณสารสกัดอินนูลินสูงที่สุดและไม่มีผลต่อการทำลายคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแก่นตะวัน

¹ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000

¹ Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus, Mueang, Surin 32000, Thailand.

² ศูนย์บ่มเพาะวิสาหกิจ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

² Business Incubator, Nakhon Ratchasima Rajabhat University, Mueang, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand.

* ผู้เขียนที่ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): nittaya.ph@rmuti.ac.th

คำสำคัญ: อินนูลิน, การสกัด, แก่นตะวัน

ABSTRACT

The comparison of inulin extraction methods from Jerusalem artichoke was investigated. The extraction methods consisted of 1) distilled water at 80°C, 2) 80% ethanol (v/v) at 80°C, 3) microwave extraction (406W) for 60 minutes, and 4) ultrasonic extraction at 80°C for 60 minutes. The study of the chemical composition of Jerusalem artichoke powder revealed the moisture content of 14.01±0.04% with crude protein, crude fat, crude fiber, ash and carbohydrates content of 2.93±0.09, 1.27±0.01, 3.98±0.04, 1.03±0.05 and 76.78±0.04, respectively. Total sugar, reducing sugar and inulin content of Jerusalem artichoke extract solution were analyzed. It was found that the extraction method using ethanol solution showed the highest of total sugar (136.867±10.22 mg/ml) and the inulin content (66.526±6.10%) compared to other methods. The microwave extraction resulted in the highest reducing sugar content (6.689±1.86 mg/ml) ($p \leq 0.05$). The total soluble solids (TSS) of inulin extracted using ethanol, distilled water and microwave extraction showed higher than ultrasonic extraction methods ($p \leq 0.05$). However, pH of the inulin extracted solution was non significantly different ($p > 0.05$). Color analysis of L^* , a^* and b^* was also investigated. Inulin extracted solution from distilled water displayed the highest brightness (L^*) (29.37±0.13) ($p \leq 0.05$). The redness value (a^*) of inulin extracted solution using the four extraction methods was not significantly different ($p > 0.05$). Inulin extracted solution using distilled water showed the highest yellowness value (b^*) (4.79±0.02) ($p \leq 0.05$), followed by ethanol, microwave and ultrasonic extraction methods (4.55±0.16, 3.84±0.06 and 3.74±0.07, respectively). Therefore, the extraction method using 80% ethanol (v/v) at 80°C provided the highest inulin content and did not eliminate physical and chemical properties of Jerusalem artichoke.

Key words: inulin, extraction, Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*)

บทนำ

แก่นตะวัน หรือ หัวบัวตอง (Jerusalem artichoke, *Helianthus tuberosus* L.) เป็นพืชล้มลุก อายุสั้น วงศ์เดียวกับเบญจมาศ และเก๊กฮวย สกุลเดียวกับทานตะวัน มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาเหนือ ปลูกมากแถบตะวันออกเฉียงเหนือ ยุโรป และออสเตรเลีย โดยแก่นตะวันมีดอกสีเหลืองคล้ายดอกบัวตอง แต่มีขนาดเล็กกว่า มีหัวใต้ดินลักษณะคล้ายขิง หรือข่า เปลือกมีสีน้ำตาลอ่อน เนื้อใน มีสีขาว มีรสหวาน มัน กรอบ คล้ายเห็ดและมันแกว แก่นตะวันเป็นพืชหัวที่

มีคุณค่าทางโภชนาการและสรรพคุณทางสมุนไพรหลายอย่าง หัวของแก่นตะวัน มีเส้นใยอาหารสูง มีความหวานกว่าน้ำตาลซูโครส 1.5 เท่า และเป็นแหล่งสะสมของอินนูลิน (Inulin) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร ในแก่นตะวัน 100 กรัม จะให้พลังงาน 73 กิโลแคลอรี คาร์โบไฮเดรต 17.44 กรัม โปรตีน 2 กรัม ไขมัน 0.01 กรัม ใยอาหาร 1.6 กรัม โพลีฟีนอล 13 ไมโครกรัม ไนอาซีน 1.3 มิลลิกรัม กรดแพนโทเทนิค 0.397 มิลลิกรัม บีตาแคโรทีน 12 ไมโครกรัม ไรโบฟลาวิน 0.06 มิลลิกรัม ไทอามีน 0.2

มิลลิกรัม วิตามินเอ 1 ไมโครกรัม วิตามินซี 4 มิลลิกรัม วิตามินอี 0.19 มิลลิกรัม วิตามินเค 0.1 ไมโครกรัม ไพรดอกซิน 0.077 มิลลิกรัม โซเดียม 4 มิลลิกรัม โพแทสเซียม 429 มิลลิกรัม แคลเซียม 14 มิลลิกรัม ทองแดง 0.14 มิลลิกรัม เหล็ก 3.4 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 17 มิลลิกรัม แมงกานีส 0.06 มิลลิกรัม สังกะสี 0.12 มิลลิกรัม ซีลีเนียม 0.7 ไมโครกรัม (Phiwsaxad and Sripaya, 2017) จากข้อมูลข้างต้น บ่งชี้ว่าแก่นตะวันเป็นแหล่งสะสมของสารอินนูลิน ซึ่งอินนูลินจะมีคุณสมบัติในการช่วยลดปริมาณของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร เช่น เชื้อ *Escherichia coli* และ Coliforms ช่วยเพิ่มการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย นอกจากการใช้อินนูลินเป็นอาหารเสริมสุขภาพของมนุษย์แล้วยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่น ๆ เช่น เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ ทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นโทษและปริมาณแอมโมเนียในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ลดลง มีภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น จึงช่วยลดการใช้สารปฏิชีวนะและมูลสัตว์มีกลิ่นเหม็นน้อยลง (Changhelik, 2012; Phiwsaxad and Sripaya, 2017) โดยทั่วไปสารอินนูลินจะเป็นสารประกอบของคาร์โบไฮเดรตกลุ่มโพลีแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีสายยาว ร่างกายของมนุษย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ เมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมีของคาร์โบไฮเดรตกลุ่มนี้จะมีโมเลกุลเป็นกลุ่มที่มีขั้ว (Polar) ดังนั้นกระบวนการสกัดสารอินนูลินจากแก่นตะวันจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายที่เป็นกลุ่มมีขั้วเช่นเดียวกัน ทั้งนี้สารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ ส่วนใหญ่ที่ได้มาจากพืชนั้น นิยมใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น สารละลายเอทานอล (Ethanol) และน้ำ เนื่องจากโพลีแซ็กคาไรด์จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สามารถละลายน้ำได้ แต่มีรายงานการวิจัยเลือกใช้ตัวทำละลายเอทานอล เนื่องจากหากใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดอาจมีการละลาย

สารอื่นที่ละลายในน้ำ เช่น โอลิโกแซ็กคาไรด์ หรือ โปรตีน ร่วมด้วย การสกัดเหล่านี้จึงใช้สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นตัวทำละลาย (Johansen *et al.*, 1996) แต่เมื่อพิจารณาจากการใช้น้ำกลั่นในการสกัดอาจช่วยลดต้นทุนที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตอินนูลินได้

นอกจากนี้ ยังมีวิธีการสกัดที่นิยมใช้งานในการสกัดสารสำคัญ ได้แก่ การสกัดด้วยไมโครเวฟ (Microwave extraction) วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยคลื่นนี้จะเปลี่ยนไปเป็นความร้อนด้วยการทำให้อนุภาค หรือ โมเลกุลที่มีขั้วเสียดสีกันและเกิดความร้อนขึ้น เมื่อนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้าและด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัดจะเกิดแรงด้านการเคลื่อนที่หรือเสียดสีกันทำให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งมีผลต่อเซลล์พืชและเกิดการสกัดออกมาของสารสำคัญ (Suedee, 2017) โดยกระบวนการนี้ต้องทำงานร่วมกันกับตัวทำละลาย เช่น น้ำ หรือ ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดอินนูลินจากแก่นตะวัน เมื่อนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัดจะเกิดแรงด้านการเคลื่อนที่ทำให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งมีผลต่อเนื้อเยื่อเซลล์ของสารสกัด และมีผลต่อการละลายของสารสำคัญที่ต้องการและด้วยคุณสมบัติของตัวทำละลายที่แตกต่างกันจึงทำให้มีลักษณะที่แตกต่างกันไปเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้าหรืออาจกล่าวได้ว่ากระบวนการทำความร้อนของคลื่นไมโครเวฟเกิดจากกระบวนการถ่ายเทพลังงานจนทำให้สารสกัดที่ต้องการหลุดออกมาจากโครงสร้างภายในของพืช (Afoakwah *et al.*, 2012; Azwanida, 2015) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก Ultrasound extraction (UAE) หรือ Sonication เป็นการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในช่วง 20 กิโลเฮิรตซ์ ถึง 2,000 kHz เพื่อทำให้เกิด

การสั้นสะเทือนหรือเสียดสีกันเป็นความร้อนทำให้เกิดการสกัดและเกิดการปลดปล่อยสารสำคัญ เช่น อินนูลินจากแก่นตะวัน ในปัจจุบันมีการนำคลื่นอัลตราซาวด์มาประยุกต์ใช้ร่วมกับการใช้ตัวทำละลาย เช่น น้ำ หรือ สารละลายอินทรีย์ มาใช้ในการสกัดตัวอย่าง ซึ่งวิธีการนี้ช่วยลดระยะเวลา และใช้อุณหภูมิต่ำในการสกัดเหมาะสำหรับการสกัดสารในกลุ่มที่ไม่ทนต่อความร้อน (Rodrigues and Pinto, 2007) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดอินนูลินจากแก่นตะวันด้วยการใช้ความร้อน โดยใช้น้ำและสารละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลายและการสกัดด้วยไมโครเวฟและอัลตราโซนิก

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่างแก่นตะวัน

แก่นตะวันสด อายุ 12 สัปดาห์ สายพันธุ์ แก่นตะวัน 50-4 (JA 102 x JA 89(8)) จากไร่บ้านแก่นตะวันทอง ตำบลอรพิมพ์ อำเภอบรรพตพิสัย จังหวัดนครราชสีมา นำมาล้างทำความสะอาด และหั่นตามแนวขวางของหัวแก่นตะวัน ให้มีความหนา 3-5 mm แล้ววางเรียงและเกลี่ยให้บางบนตะแกรงคู่อบ นำเข้าอบด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven ยี่ห้อ Binder รุ่น FED 115) ที่อุณหภูมิ 60°C จนมีน้ำหนักคงที่ (ความชื้นร้อยละ 10-12) จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง (ยี่ห้อ Mitsuta 4 รุ่น MFC301) ทำการร่อน

ร้อยละการสกัดอินนูลิน = (ผลต่างของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์) x (ปริมาณอินนูลินที่สกัดได้/น้ำหนักแห้งของหัวแก่นตะวัน) × 100

2.2 การใช้เอทานอล ความเข้มข้น 80% (v/v) สกัดที่อุณหภูมิ 80°C

ชั่งน้ำหนักผงแก่นตะวัน 10 g ผสมในสารละลายเอทานอล 80% (v/v) ปริมาตร 100 ml บ่มตัวอย่างในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 60

แยกกากด้วยตะแกรงที่มีขนาดรูพรุน 80 mesh บรรจุในถุงอลูมิเนียมฟรอยด์ (Nadir *et al.*, 2011) และเก็บในโถดูดความชื้น ก่อนนำไปวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้าเยื่อ และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีการ AOAC (2000) และศึกษาการสกัดอินนูลินต่อไป

2. การศึกษากระบวนการสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวัน

นำผงแก่นตะวันจากหัวข้อที่ 1 มาคัดเลือกกระบวนการสกัดสารอินนูลินที่เหมาะสม ด้วยกระบวนการดังต่อไปนี้ 1) การใช้น้ำกลั่นอุณหภูมิ 80°C 2) การใช้เอทานอล 80% (v/v) อุณหภูมิ 80°C 3) การสกัดด้วยไมโครเวฟ 4) การสกัดด้วยอัลตราโซนิก

2.1 การใช้น้ำกลั่น สกัดที่อุณหภูมิ 80°C

ชั่งน้ำหนักผงแก่นตะวัน 10 g ผสมในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 ml บ่มตัวอย่างในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 60 min จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการหมุนเหวี่ยงสารสกัดอินนูลินที่ความเร็ว 6000 rpm เป็นเวลา 15 min เก็บตัวอย่างส่วนใสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลิน โดยคำนวณจากผลต่างของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลินจากสมการที่ 1

นาที่ จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการหมุนเหวี่ยงสารสกัดอินนูลินที่ความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนใสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลิน โดยคำนวณจากผลต่าง

ของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลินจากสมการที่ 1

2.3 การใช้ไมโครเวฟ ในการสกัด

ชั่งน้ำหนักผงแก่นตะวัน 10 g ในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 ml บ่มตัวอย่าง ในเครื่องไมโครเวฟ (ยี่ห้อ Beko รุ่น MOC20100W) กำลังไฟ 406 วัตต์ เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำ

2.4 การใช้อัลตราโซนิก ในการสกัด

ชั่งน้ำหนักผงแก่นตะวัน 10 g ผสมในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 ml บ่มตัวอย่าง ในเครื่องอัลตราโซนิก (ยี่ห้อ Velvo clear รุ่น VS-32545) อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 60 min จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการหมุนเหวี่ยงสารสกัดอินนูลินที่ความเร็ว 6000 rpm เป็นเวลา 15 min เก็บตัวอย่างส่วนใส เพื่อวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลิน โดยคำนวณจากผลต่างของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลิน จากสมการที่ 1

3. ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวัน

3.1 ศึกษาลักษณะทางเคมีและกายภาพของสารสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวัน

นำสารสกัดอินนูลินที่ได้ มาทำการวิเคราะห์ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solid) ด้วยเครื่องแฮนรีเฟ็คโตมิเตอร์ (Refractometer ยี่ห้อ MicroPro รุ่น RHBN-32ACT), ปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter (ยี่ห้อ W&J รุ่น PHS-25 ดิจิตอล bench top ph meter) และวิเคราะห์ค่าสี L* a* และ b* ด้วยเครื่อง Color meter รุ่น CRM-WR-100 ด้วยยี่ห้อ Precise Color Reader รุ่น WR-100

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี

3,5 Dinitrosalicylic (Chatchawanphan *et al.*, 2010)

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี phenol-sufuric (Sangchoat *et al.*, 2012)

การหมุนเหวี่ยงสารสกัดอินนูลินที่ความเร็ว 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างส่วนใสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลิน โดยคำนวณจากผลต่างของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และคำนวณร้อยละการสกัดอินนูลินจากสมการที่ 1

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completed Randomized Design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan, s New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 26.0

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากผลการศึกษาค่าประกอบทางเคมีของผงแก่นตะวัน พบว่า ปริมาณความชื้นของผงแก่นตะวัน มีค่าเท่ากับ 14.01±0.04% (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานในการเตรียมแป้ง หรือผลิตภัณฑ์อาหารของแห้งที่เป็นผงจะต้องมีความชื้น ไม่เกิน 14.00% (National Food Institute, 2007) ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย ใย และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 2.93±0.09, 1.27±0.01, 3.98±0.04, 1.03±0.05 และ 76.78±0.04% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงแก่นตะวัน มีค่าองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับผงแก่นตะวันจากงานวิจัย ของ Malai *et al.* (2013) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงปริมาณไขมัน เยื่อใย ใย และคาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 1.00, 5.28, 0.87 และ 73.63% ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด, น้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณอินนูลินจากผงแก่นตะวัน พบว่า การสกัดผงแก่นตะวันด้วยสารละลายเอทานอลทำให้มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

และปริมาณอินนูลินสูงที่สุด เนื่องจากสารสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวัน มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตกลุ่ม พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่มาจัดเป็นเส้นใยอาหาร (Dietary fiber) นอกจากนี้ โครงสร้างโมเลกุลของอินนูลินเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharide) กล่าวคือ มีโมเลกุลของน้ำตาลมากกว่า 1 ชนิดมาเชื่อมต่อกัน จึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลอยู่ในจำนวนมาก และโมเลกุลของอินนูลินเป็นประเภทที่ละลายได้ในน้ำ (Soluble fiber) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นประเภทมีขั้ว (Polar) (Phuakrai *et al.*, 2012) ดังนั้นการใช้สารละลายเอทานอลที่เป็นตัวทำละลายที่มีโมเลกุลเป็นประเภทมีขั้วมาใช้ในการสกัดผงแก่นตะวันจึงส่งผลให้สารละลายเอทานอลสามารถละลายอินนูลิน และน้ำตาลทั้งหมดออกมาจากภายใน

โครงสร้างของผงแก่นตะวันได้ (Warinhomhaun *et al.*, 2018) ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้วิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่นก็ส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และอินนูลินในปริมาณสูงรองจากการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล แม้ว่าอินนูลิน และน้ำตาลทั้งหมดที่เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์จะมีความสามารถในการละลายน้ำได้ แต่เนื่องด้วยโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในอินนูลินเป็นพวกที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ หรือมวลโมเลกุลสูงจึงจะละลายน้ำได้น้อย (Luthria *et al.*, 2006) ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณอินนูลินที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่นรวมทั้งวิธีการไมโครเวฟ และอัลตราโซนิค ที่มีการเติมน้ำเข้าไปร่วมด้วย มีปริมาณน้อยกว่าวิธีการที่ใช้สารละลายเอทานอล

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของผงแก่นตะวัน

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (%)
ความชื้น	14.01±0.04
โปรตีน	2.93±0.09
ไขมัน	1.27±0.01
เถ้า	1.03±0.05
เยื่อใย	3.98±0.04
คาร์โบไฮเดรต	76.78±0.04

หมายเหตุ: ค่า Mean±SD

การศึกษาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar), ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) และปริมาณอินนูลินจากผงแก่นตะวัน ด้วยการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 80% (v/v) และน้ำกลั่น โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 80°C และการสกัดด้วยไมโครเวฟและการสกัดด้วยอัลตราโซนิค พบว่าวิธีการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล มีปริมาณน้ำตาล

ทั้งหมด และปริมาณอินนูลินสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เท่ากับ 136.867 ± 10.22 mg/ml และ $66.526\% \pm 6.10$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบกับการสกัดด้วยน้ำกลั่น การสกัดด้วยไมโครเวฟ และการสกัดด้วยอัลตราโซนิค โดยการสกัดด้วยน้ำกลั่น มีค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณอินนูลินรองลงมาจากการสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งมีค่าเท่ากับ

80.563±13.14 mg/ml และ 52.792%±2.32 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า การสกัดด้วยไมโครเวฟส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (6.689±1.86 mg/ml) รองลงมา คือ การสกัดด้วยน้ำกลั่น (5.146±3.77 mg/ml) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางด้านสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วยไมโครเวฟส่งผลให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ เนื่องจากน้ำตาลรีดิวซ์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคส (Glucose) น้ำตาลกาแล็กโทส (Galactose) และน้ำตาลฟรุกโทส (Fructose) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มี

โมเลกุลขนาดเล็กที่สามารถละลายน้ำได้ดี (Ponchalermwong and Rattanapanon, 2019) ดังนั้นวิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟที่มีการเติมน้ำเพื่อเป็นตัวทำละลาย ส่งผลให้เมื่อนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า จากนั้นด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัดจะเกิดแรงดันการเคลื่อนที่ทำให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งมีผลต่อเนื้อเยื่อเซลล์ของสารสกัด และมีผลต่อการละลายของสารสำคัญที่อยู่ภายในเซลล์ออกมาได้มากขึ้น (Afoakwah *et al.*, 2012; Azwanida, 2015) จึงทำให้วิธีการนี้ได้สารสกัดที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด, น้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณอินนูลิน ที่สกัดจากผงแก่นตะวันด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

วิธีการสกัด	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	ปริมาณอินนูลิน
อินนูลินจากผงแก่นตะวัน	(mg/mL)	(mg/mL)	(%)
เอทานอล	136.867±10.22 ^a	3.815±3.51 ^c	66.526±6.10 ^a
น้ำกลั่น	80.563±13.14 ^b	5.146±3.77 ^b	52.792±2.32 ^b
ไมโครเวฟ	51.870±20.11 ^c	6.689±1.86 ^a	51.104±3.86 ^b
อัลตราโซนิค	29.067±2.34 ^d	3.571±0.62 ^c	25.498±3.10 ^c
p-value	0.045	0.043	0.047

หมายเหตุ: ค่า Mean±SD

ตัวอักษร ^{a, b, c และ d} ในตารางแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของสารสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวัน พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของสารสกัดอินนูลินที่สกัดด้วยวิธีการใช้สารละลายเอทานอล น้ำกลั่น และไมโครเวฟ ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.02±0.00, 4.04±0.02 และ 4.00±0.00 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิคซึ่งมีค่าต่ำที่สุด (เท่ากับ 3.93±0.05) ดังแสดงในตารางที่ 3 การสกัดอินนูลินด้วยวิธีการเอทานอล น้ำกลั่นและไมโครเวฟทำให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำสูงกว่า

การสกัดด้วยอัลตราโซนิค เนื่องจากสารสกัดอินนูลินมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีและจากวิธีการสกัดด้วยเอทานอล และน้ำกลั่นได้มีกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C ร่วมด้วย ซึ่งความร้อนจะส่งผลให้โครงสร้างภายในเนื้อเยื่อเซลล์ของผงแก่นตะวันเกิดความอ่อนตัวและมีความยืดหยุ่นจึงทำให้ตัวทำละลายประเภทเอทานอล และน้ำกลั่นสามารถแทรกซึมเข้าไปและสามารถละลายอินนูลิน และน้ำตาลประเภทต่าง ๆ ออกมาได้ (Khan *et al.*, 2015) สอดคล้องกับการใช้ไมโครเวฟที่มีการเติมน้ำกลั่น

ร่วมด้วย เมื่อนำสารที่จะสกัดไปวางอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้าด้วยคุณสมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในสารที่จะสกัดจะเกิดแรงต้านการเคลื่อนที่จึงทำให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งมีผลต่อเนื้อเยื่อเซลล์ของสารสกัดทำให้อินนูลิน และสารสกัดอื่น ๆ ถูกละลายออกมาส่งผลให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในปริมาณที่สูง (Afoakwah *et al.*, 2012; Azwanida, 2015)

การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของสารสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวันที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

4 วิธี พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3 เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด คือ เอทานอล จะมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 6.00-9.00 (Nawakkam *et al.*, 2016) จึงส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีค่า pH เท่ากับ 6.47 และการสกัดอีก 3 วิธีการ ใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำกลั่น ซึ่ง ค่า pH ของน้ำกลั่นจะอยู่ในช่วง 6.00 (Sasithorn *et al.*, 2008) ดังนั้นจึงทำให้สารสกัดอินนูลินที่ได้จึงมีค่า pH อยู่ในช่วง 6.22-6.26

ตารางที่ 3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารสกัดอินนูลินที่สกัดจากผงแก่นตะวันด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

วิธีการสกัด อินนูลินจากผงแก่นตะวัน	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solid)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ^{ns}
เอทานอล	4.02±0.00 ^a	6.47±0.02
น้ำกลั่น	4.04±0.02 ^a	6.22±0.10
ไมโครเวฟ	4.00±0.00 ^a	6.26±0.03
อัลตราโซนิค	3.93±0.05 ^b	6.24±0.04
p-value	0.050	0.061

หมายเหตุ: ค่า Mean±SD

ตัวอักษร ^a และ ^b ในตารางแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร ^{ns} ในตารางแนวตั้งแสดงถึงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางด้านสถิติ ($p > 0.05$)

จากการวิเคราะห์ค่า L^* , a^* และ b^* ของสารสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวันที่สกัดแตกต่างกัน พบว่า การสกัดด้วยน้ำกลั่นมีค่าความสว่าง (L^*) สูงที่สุด (เท่ากับ 29.37±0.13) โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล ไมโครเวฟ และอัลตราโซนิค ซึ่งมีค่าเท่ากับ 27.46±0.32, 27.37±0.06 และ 27.18±0.55 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นสีแดง (a^*) แสดงให้เห็นว่า การสกัดทั้ง 4 วิธี ไม่มีผลทำให้ค่าความเป็นสีแดง

แตกต่างกัน นอกจากนี้การวิเคราะห์ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) พบว่าสารสกัดจากวิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่น มีค่าความเป็นสีเหลือง สูงที่สุด 4.79±0.02 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยเอทานอล ไมโครเวฟ และอัลตราโซนิค เท่ากับ 4.55±0.16, 3.84±0.06 และ 3.74±0.07 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงตารางที่ 4 การที่สารสกัดที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยน้ำกลั่นมีค่าความสว่างสูงที่สุด เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำกลั่นไม่มีผลทำให้รังควัตถุสี (เหลืองอ่อน) ของผงแก่นตะวันหลุด

ออกมาได้ในปริมาณน้อยจึงส่งผลให้มีค่าความสว่างที่สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น ๆ เช่น สารละลายเอทานอลที่มีความสามารถในการละลายสีของผงแก่นตะวันออกมาได้จึงทำให้มีค่าความสว่างน้อยกว่าน้ำกลั่น ส่วนวิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟและอัลตราโซนิค จะมีการเกิดแรงเฉย่าโมเลกุลของสารสกัดและตัวทำละลายจึงทำให้สีของสารสกัดหลุดออกมาได้มากกว่าการสกัดด้วยน้ำกลั่น และเอทานอล (Suedee, 2017; Rodrigues and Pinto, 2007) สอดคล้องกับค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของผลการ

ทดลอง พบว่า วิธีการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลและน้ำกลั่น ทำให้สารสกัดมีค่า b^* สูงกว่า การทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องจากการกระบวนการทั้ง 2 ใช้กระบวนการให้ความร้อนที่เหมือนกัน คือ การสกัดผ่านอ่างควบคุมน้ำร้อนจึงทำให้สามารถละลายสีของแก่นตะวันที่มีสีเหลืองอ่อน ๆ ออกมาได้สูงกว่าวิธีการอื่น ๆ (Chatchawanphan *et al.*, 2010)

ตารางที่ 4 ค่าสี L^* a^* และ b^* ของสารสกัดอินนูลินที่สกัดจากผงแก่นตะวันด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

วิธีการสกัดอินนูลินจากผง แก่นตะวัน	คุณลักษณะด้านสี		
	L^*	a^{*ns}	b^*
เอทานอล	27.46±0.32 ^b	2.25±0.13	4.55±0.16 ^a
น้ำกลั่น	29.37±0.13 ^a	2.27±0.80	4.79±0.02 ^a
ไมโครเวฟ	27.37±0.06 ^b	2.67±0.01	3.84±0.06 ^b
อัลตราโซนิค	27.18±0.55 ^b	2.38±0.05	3.74±0.07 ^b
p-value	0.047	0.059	0.042

หมายเหตุ: ค่า Mean±SD

ตัวอักษร ^a และ ^b ในตารางแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางด้านสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร ^{ns} ในตารางแนวตั้งแสดงถึงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางด้านสถิติ ($p > 0.05$)

สรุป

จากผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผงแก่นตะวัน พบว่า มีค่าความชื้น ไม่เกิน 14 % ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์ปริมาณ ไขมัน เชื้อใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรต อยู่ในระดับตามเกณฑ์มาตรฐานของผงแก่นตะวันทั่วไป การสกัดผงแก่นตะวันด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 80% (v/v) โดยการต้มที่อุณหภูมิ 80°C ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (136.867±10.22 mg/ml) และ ปริมาณ อิน นู ลิน (66.526%±6.10) สูงที่สุด การสกัดอินนูลินด้วย

วิธีการใช้สารละลายเอทานอล น้ำกลั่น และไมโครเวฟ ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของสารสกัดอินนูลินไม่มีความแตกต่างกัน การวิเคราะห์ค่าสี L^* a^* และ b^* ของสารสกัดอินนูลินจากผงแก่นตะวัน พบว่า การสกัดด้วยน้ำกลั่นมีค่าความสว่าง (L^*) สูงที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (29.37±0.13) ส่วนค่า a^* พบว่า วิธีการสกัดไม่มีผลต่อค่าความเป็นสีแดงของสารสกัดอินนูลิน ในขณะที่ค่า b^* พบว่าการสกัดผงแก่นตะวันด้วยสารละลายเอทานอลและน้ำกลั่นจะมีค่าความเป็นสีเหลืองมากกว่าการสกัดด้วยไมโครเวฟและการสกัดด้วย

อัลตราโซนิก ดังนั้นการสกัดอินนูลินจากผงแก่นด้วยวิธีการใช้สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 80% (v/v) บ่มที่อุณหภูมิ 80°C จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดเมื่อพิจารณาจากคุณภาพด้านต่าง ๆ ของสารสกัด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้ และโครงการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (สกสว.) ตามสัญญาเลขที่ FRB650059/SRN/03

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2000. **Official Method of Analysis of AOAC International**. 18th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.

Afoakwah, A.N., Owusu, J., Adomako, C. and Teye, E. 2012. Microwave Assisted Extraction (MAE) of antioxidant constituents in plant materials. **Global Journal of Bio-Science and Biotechnology** 1(2): 132-140.

Azwanida, N.N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. **Medicinal and Aromatic Plants** 4(3): 1-6.

Chatchawanphan, T., Siriek, N., Mekmek, P. and Miphaendi, L. 2010. Study optimal conditions for ethanol production from cattail by fermentation method. Master Thesis of Biology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi. (in Thai)

Changhelik, P. 2012. **Kaeng Tawan, a medicinal plant to control weight**. Popular Science. Available Source: <https://www.dss.go.th/images/st-article/sti-2-2558-SunChoke.pdf>, April 25, 2022. (in Thai)

Johansen, H. N., Glitso, V. and Knudsen, K. E. B. 1996. Influence of extraction solvent and temperature on the quantitative determination of oligosaccharides from plant material by high performance liquid chromatography. **Journal Agriculture Food Chemistry** 44: 1470-1474.

Khan, E. A., Khakwani, A. A., Munir M. and Ghazanfarullah, A. 2015. Effects of allelopathic chemicals extracted from various plant leaves on weed control and wheat crop productivity. **Pakistan Journal of Botany** 47(2): 735-740.

Luthria, D., Mukhopadhyay, S. and Kwansa, A. 2006. A systematic approach for extraction of phenolic compounds using parsley (*Petroselinum crispum*) as a model substrate. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 86: 1350-1358.

Malai, D., Chaichawalit, C., Janphen, S. and Mailaead, S. 2013. Development of fresh Noodles by substitution of jerusalem artichoke powder. **Agricultural Science Journal** 44(2) (Suppl.): 269-272. (in Thai)

Nawakkam, N., Kaewnaree, P., Buasri, A. and Mongkolsawat, W. 2016. Production of ethanol from sugarcane by using biomass *Clostridium acetobutylicum* TISTR 1462. **Engineering Journal** 3: 109-114. (in Thai)

- National Food Institute. 2007. **Product standard for milk powder industry.** Available Source: http://fic.nfi.or.th/law/upload/file1/TH_381.pdf, April 25, 2022. (in Thai)
- Nadir, A.S., Helmy, I.M.F. and Kamil, M.M. 2011. Effect of using Jerusalem artichoke and inulin flours on producing low carbohydrate high protein pasta. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences** 5(12): 2855-2864.
- Phiwsaxad, J. and Sripaya, S. 2017. **Kaen Sunflower is a very valuable medicinal plant.** Popular Science. Available Source: <https://www.dss.go.th/imagesst-article/sti-2-2558-SunChoke.pdf>, April 25, 2022. (in Thai)
- Phuakrai, M., Techawngkhsethiyr, S. and Jokloy, S. 2012. Changes in quality and quantity of inulin in ready-to-eat trimmed sunflower roots during storage. **Agricultural Science Journal** 43(3)(Suppl.): 608-611. (in Thai)
- Ponchalermwong, P. and Rattanapanon, N. 2019. **Reducing sugar.** Popular Science. Available Source: Food Wiki | Food Network Solution, April 25, 2022. (in Thai)
- Rodrigues, S. and Pinto, G.A.S. 2007. Ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (Cocos nucifera) shell powder. **Journal of Food Engineering** 80: 869-872.
- Sangchoat, J., Khienpanya, N., Pracommok, P. and Poliarn, W. 2012. Study on optimum conditions for cattail stalk acid digestion for ethanol production. Master Thesis of Biology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi. (in Thai)
- Sasithorn, N., Luepong, K. and Padung, W. 2008. **Research Report on Cooling water recovery from water distillation equipment.** University of Technology Phra Nakhon, Bangkok. (in Thai)
- Suedee, A. 2017. Using microwave waves to extract important substances from medicinal plants. **EAU Heritage Journal Social Science and Humanities** 11(1): 1-14. (in Thai)
- Warinhomhaun, S., Sritularak, B. and Chamvanich, D. 2018. A simple high performance liquid chromatographic method for quantitative analysis of brazilin in caesalpinia sappan L. extracts. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences** 42: 208-213.

แอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์ วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด

An Application of QR Code to Manage Plant Information in Kuan Khao Wang Literature Botanical Garden

วันประชา นวนสร้อย^{1*} สุภาวดี มากอัน¹ และ วันดี นวนสร้อย²

Wanpracha Nuansoi^{1*}, Supawadee Makon¹ and Wandee Nuansoi²

Received: 31 May 2022, Revised: 22 September 2022, Accepted: 11 May 2023

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ 2 ข้อ คือ (1) เพื่อพัฒนาแอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด และ (2) เพื่อศึกษาความพึงพอใจต่อการใช้งาน แอปพลิเคชันที่พัฒนาตามขั้นตอน SDLC โดยใช้ Ionic Framework ในการพัฒนาและใช้ระบคลาวด์ Firebase ของ Google ในการจัดเก็บข้อมูลซึ่งแอปพลิเคชันมีผู้ใช้งาน 2 ประเภทคือ ผู้ดูแลระบบ และนักท่องเที่ยว แอปพลิเคชันสามารถ เพิ่ม แก้ไข และลบข้อมูลต้นไม้ และยังสามารถใช้งานเมนู การค้นหา นำทางไปยังต้นไม้ สแกนคิวอาร์โค้ด ดูข้อมูลต้นไม้ คู่มือการใช้งาน และประวัติสวนพฤกษศาสตร์ โดยกลุ่มประชากรในการวิจัยคือ นักท่องเที่ยวที่เยี่ยมชมสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ โดยการสุ่มตัวอย่างนักท่องเที่ยวที่เยี่ยมชมสวนพฤกษศาสตร์ด้วยวิธีการสุ่มแบบบังเอิญ จำนวน 120 คน โดยใช้สูตรการหากลุ่มตัวอย่างของยามานะ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยคือ แอปพลิเคชัน และแบบสอบถาม โดยแบบสอบถามได้รับการตรวจสอบจากผู้เชี่ยวชาญ มีระดับความเชื่อมั่น 0.86 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล คือ ค่าเฉลี่ยเลขคณิต (\bar{X}) และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ผลการวิจัยพบว่า (1) นักท่องเที่ยวสามารถใช้แอปพลิเคชันในการเข้ามาท่องเที่ยวในสวนพฤกษศาสตร์ได้ด้วยตนเองและบุคลากรสวนพฤกษศาสตร์สามารถจัดการข้อมูลต้นไม้ผ่านแอปพลิเคชัน (2) นักท่องเที่ยวที่มาเยี่ยมชมสวนพฤกษศาสตร์มีความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันโดยรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ($\bar{X} = 4.55$) เมื่อพิจารณาเป็นรายด้าน พบว่า ด้านการออกแบบส่วนด้านการติดต่อผู้ใช้งานมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก ($\bar{X} = 4.40$) การทดสอบประสิทธิภาพของแอปพลิเคชันในด้านความเที่ยงตรงในการนำทางไปยังต้นไม้ จากทดสอบนำทางไปยังต้นไม้จำนวน 50 ครั้ง พบว่าสามารถนำทางได้ถูกต้อง มีความคลาดเคลื่อนจากตำแหน่งของผู้ใช้งานในแอปพลิเคชันกับระยะห่างจากต้นไม้จริงเฉลี่ย 2.24 เมตร

¹ สาขาอุตสาหกรรม วิทยาลัยรัตนภูมิ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอรัศมิ์ จังหวัดสงขลา 90180

¹ Department of Industrial, Rattaphum College, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Rattaphum, Songkhla 90180, Thailand.

² สาขาศึกษาทั่วไป วิทยาลัยรัตนภูมิ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอรัศมิ์ จังหวัดสงขลา 90180

² Department of General Education, Rattaphum College, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Rattaphum, Songkhla 90180, Thailand.

* ผู้รับผิดชอบประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): wanpracha.n@rmutsv.ac.th

คำสำคัญ: แอปพลิเคชัน, คิวอาร์โค้ด, สวนพฤกษศาสตร์

ABSTRACT

This research has two objectives: (1) to develop an application for managing plant information in a botanical garden using QR Code, and (2) to study the satisfaction with the application for managing plant information in a botanical garden using QR Code. The application was developed following the SDLC process, using the Ionic Framework and the Firebase cloud system for data storage. The application has two user types : administrator and visitor. Only administrator can edit, add, or delete the plant information. However, both administrator and visitor have access to the navigation menu, QR code scanning, plant information view, user manual and botanical garden's history. The research sample consisted of 120 visitors who visited the botanical garden. They were selected using random sampling. The research tools were the developed application and the questionnaire. The questionnaire was reviewed by experts, resulting in the confidence level of 0.86. The statistics used in the data analysis included the arithmetic mean (\bar{X}) and the standard deviation (SD). The results of the research revealed that (1) the visitors were able to use the application to visit the botanic garden independently. The personnel of the botanic garden were able to effectively manage the plant information through the application. (2) The visitors who visited the botanical garden were overall satisfied on the application at the highest level (\bar{X} = 4.55). When considering each aspect, it was found that User Interface Design had a high level of satisfaction (\bar{X} = 4.40). Application's performance in terms of navigating to the tree was evaluated through the tree navigator test 50 times. It was found that the navigation was correct, although there was a discrepancy between the location of the application user and the actual tree with an average distance of 2.24 meters.

Key words: application, QR code, botanical garden

บทนำ

สวนพฤกษศาสตร์ (Botanical Garden) (Department of National Park Wildlife and Plant Conservation, 2022) เป็นแหล่งรวบรวมพรรณพืชที่มีชีวิต ซึ่งเป็นพืชประจำถิ่นหรือนำมาปลูกจากต่างถิ่น เพื่อใช้ในการศึกษาค้นคว้าวิจัย เพื่อให้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับพืช หากเป็นสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีเป็นศูนย์รวมพรรณไม้ชนิดต่าง ๆ ในวรรณคดี ซึ่งนับวันจะหาได้ยาก ตลอดจนเป็นศูนย์รวบรวมสมุนไพรประจำภาค ทั้งสมุนไพรที่ปรากฏ

อยู่ในวรรณคดี และสมุนไพรพื้นบ้านทั่วไป สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีมีอยู่ตามภาคต่าง ๆ 4 แห่ง คือ สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้หรือสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีควนเขาวัง (Kuankhaowang Botanical Garden, 2022) ตั้งอยู่ในเขตป่าสงวนควนเขาวัง ป่าคลองต่อและป่าเทือกเขาแก้ว โดยใช้พื้นที่โครงการไร่นาสวนผสมควนเขาวัง ตำบลฉลุง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จำนวน 364 ไร่ สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้

เป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของภูมิภาค เนื่องจากเป็นพื้นที่เชื่อมต่อกับสวนป่าสมเด็จพระเกียรติสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ในสวนป่าควนเขาวัง ทำให้พื้นที่ป่ากว้างใหญ่เต็มไปด้วยพรรณไม้นานาชนิดที่อยู่ในวรรณคดีไทยเรื่องต่าง ๆ เช่น อีเหนา ขุนช้างขุนแผน พระอภัยมณี รามเกียรติ์ เป็นต้น ทำให้นักท่องเที่ยวนิยมมาพักผ่อนและศึกษาด้านไม้ต่าง ๆ ในวรรณคดีที่หาดูได้ยาก สถิตินักท่องเที่ยวเฉลี่ยต่อเดือน ในปี 2562 จำนวน 500 คน ซึ่งเป็นปีก่อนการแพร่ระบาดของโควิด 19 ส่วนในปี พ.ศ. 2563 มีนักท่องเที่ยวจำนวน 30 คนต่อเดือน และปี พ.ศ. 2564 จำนวน 100 คนต่อเดือน ทั้งสองปีเป็นปีที่มีการแพร่เชื้อโรคโควิด 19 ทำให้นักท่องเที่ยวลดลง ปัจจุบันปี พ.ศ.2565 มีจำนวนนักท่องเที่ยว 170 คนต่อเดือนโดยนักท่องเที่ยวจะมี 2 รูปแบบคือ ท่องเที่ยวส่วนบุคคล และเป็นคณะ หากนักท่องเที่ยวมาเป็นคณะจะมีเจ้าหน้าที่คอยให้บริการให้ข้อมูลต้นไม้ต่าง ๆ รวมทั้งการนำไปเยี่ยมชมยังต้นไม้ หากมีนักท่องเที่ยวเป็นกลุ่มใหญ่จะไม่สามารถบริการได้ทั่วถึง ถึงแม้ว่านักท่องเที่ยวจะไปเดินชมและดูข้อมูลต้นไม้จากป้าย แต่ก็ได้รับรายละเอียดไม่เพียงพอ ส่วนนักท่องเที่ยวส่วนบุคคลจำเป็นต้องเที่ยวชมด้วยเองหากไม่ติดต่อเจ้าหน้าที่ และด้วยเจ้าหน้าที่ยังไม่มีระบบฐานข้อมูลในการจัดการข้อมูลต้นไม้ที่สามารถใช้งานได้อย่างรวดเร็วผ่านระบบอินเทอร์เน็ต

จากปัญหาดังกล่าวทีมวิจัยจึงได้ศึกษา งานวิจัยที่เกี่ยวข้องของ Juntaworn and Varith (2020) เรื่อง การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีรหัสคิวอาร์เพื่อจัดทำทะเบียนพรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน ได้แบ่งการพัฒนาระบบออกเป็น 2 ส่วนคือ แอปพลิเคชัน โดยใช้ Android Studio ในการพัฒนา เพื่อสแกนคิวอาร์โค้ดลิงไปยังส่วนที่ 2 คือ เว็บจัดการข้อมูลต่าง ๆ เช่น การเพิ่ม ลบ แก้ไข สืบค้น และพิมพ์รายงาน มี

การทดสอบประสิทธิภาพของระบบพบว่า อยู่ในระดับมาก และมีผลการประเมินความพึงพอใจของผู้ใช้งานอยู่ในระดับมากเช่นกัน เพิ่มความสะดวกต่อผู้ใช้งาน สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ง่าย และมีประโยชน์ต่อผู้เชี่ยวชาญสวนพฤกษศาสตร์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Santiratanaphakdi *et al.* (2019) เรื่อง การพัฒนาโมบายแอปพลิเคชันสำหรับสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน ได้พัฒนาแอปพลิเคชันที่สามารถเพิ่ม ลบ แก้ไข สืบค้น และสามารถนำทางไปยังต้นไม้ได้ ผลการประเมินความพึงพอใจการใช้งานอยู่ในระดับมาก มีประโยชน์ต่อผู้เชี่ยวชาญหรือนักท่องเที่ยวสวนพฤกษศาสตร์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sittivised *et al.* (2019) เรื่อง การพัฒนาโมบายแอปพลิเคชันนำทางท่องเที่ยวด้วยตนเองในพื้นที่ตำบลป่าตึง อำเภอแม่จัน จังหวัดเชียงราย ที่อำนวยความสะดวกให้นักท่องเที่ยว และสามารถคำนวณระยะทาง นำทาง และวางแผนการท่องเที่ยวได้ด้วยตนเอง มีผลการประเมินความพึงพอใจในการใช้งานอยู่ในระดับมากเช่นกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nooyod *et al.* (2022) เรื่องการพัฒนาแอปพลิเคชันแหล่งท่องเที่ยวในจังหวัดจันทบุรี แอปพลิเคชันสามารถช่วยเหลือนักท่องเที่ยวในการค้นหาเลือกสรร ระบุตำแหน่งของแหล่งท่องเที่ยวได้อย่างแม่นยำ สามารถท่องเที่ยวได้ด้วยตนเอง

จากปัญหาข้างต้น เจ้าหน้าที่บริการข้อมูลไม่เพียงพอ ขาดระบบฐานข้อมูลต้นไม้ที่เข้าถึงได้อย่างรวดเร็ว เจ้าหน้าที่บริการนักท่องเที่ยวไม่เพียงพอเมื่อนักท่องเที่ยวมีจำนวนมาก และนักท่องเที่ยวไม่สามารถท่องเที่ยวสวนพฤกษศาสตร์ได้ด้วยตนเอง และจากคณะผู้วิจัยได้ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า การพัฒนาแอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ และจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเป็นการพัฒนาแยกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนแรก เป็นแอปพลิเคชันใช้สแกนคิวอาร์โค้ดและส่วน

ที่สองเป็นฐานข้อมูลไปยังเว็บไซต์ ซึ่งไม่สะดวกในการใช้งาน และใช้งานได้เฉพาะระบบปฏิบัติการแอนดรอยด์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาแอปพลิเคชันที่สามารถใช้งานได้หลายรูปแบบ ทั้งระบบปฏิบัติการ iOS และ Android สามารถทำงานได้ภายในแอปพลิเคชันเดียวกัน โดยมีฟังก์ชันการใช้งานดังนี้ เพิ่ม ลบ แก้ไข ค้นหา สแกนคิวอาร์โค้ด นำทาง คู่มือละเอียดข้อมูลต้นไม้ และแผนที่ต้นไม้ ผู้ใช้งานมี 2 ประเภทคือ ผู้ดูแลระบบ และนักท่องเที่ยว

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ขอบเขตการวิจัย

1.1 ด้านความสามารถของแอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด แบ่งผู้ใช้งานออกเป็น 2 ประเภทคือ ผู้ดูแลระบบ และผู้ใช้งาน โดยที่ผู้ดูแลระบบสามารถ เพิ่ม แก้ไข และลบข้อมูลต้นไม้ได้ และยังสามารถใช้งานเมนูอื่น ๆ อีกร่วมกับผู้ใช้งานทั่วไปคือ การค้นหาและนำทาง ดูข้อมูลต้นไม้ทั้งหมด สแกนคิวอาร์โค้ด ข้อมูลต้นไม้ คู่มือการใช้งาน และประวัติสวนพฤกษศาสตร์

1.2 ด้านกลุ่มประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มประชากร คือ นักท่องเที่ยวที่เข้าชมสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้

กลุ่มตัวอย่าง คือ นักท่องเที่ยวที่เข้าชมสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ จำนวน 120 คน โดยใช้วิธีการสุ่มแบบบังเอิญในการเลือกหน่วยตัวอย่างจากนักท่องเที่ยวสวนพฤกษศาสตร์ควนเขาวัง จำนวนเฉลี่ยต่อเดือน 170 คน กำหนดกลุ่มตัวอย่างโดยสูตรการหากลุ่มตัวอย่างของยามานะ

2. การพัฒนาแอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด

ได้ทำการพัฒนาโดยใช้ System Development Life Cycle (SDLC) (Pinchunsri *et al.*, 2019) แบบ Waterfall Model (Huanthanom *et al.*, 2020)

2.1 วิเคราะห์ความต้องการ (Requirement)

สำรวจปัญหาและความต้องการของระบบ ศึกษาข้อมูลต่าง ๆ เช่น การพัฒนาแอปพลิเคชัน ระบบคลาวด์เพื่อจัดเก็บข้อมูล ข้อมูลคิวอาร์โค้ด เทคโนโลยีคิวอาร์โค้ด หรือบาร์โค้ด 2 มิติ (Paojee and Kaewurai, 2020) เป็นรหัสชนิดหนึ่งในการเก็บข้อมูล สามารถใช้สมาร์ทโฟนสแกนผ่านกล้องเพื่อเข้าถึงข้อมูล โดยนักท่องเที่ยวสามารถใช้แอปพลิเคชันในการดูแผนที่ต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ ดูข้อมูลต้นไม้จากแอปพลิเคชัน และยังสามารถเลือกนำทางไปยังต้นไม้ที่ต้องการเมื่อไปถึงตำแหน่งที่ต้นไม้อยู่ สามารถสแกนคิวอาร์โค้ดเพื่อดูข้อมูลต้นไม้ เป็นการลดภาระของเจ้าหน้าที่ที่คอยให้บริการ และสะดวกสำหรับนักท่องเที่ยว และศึกษาความเป็นไปได้ในการพัฒนาเพื่อให้ตอบโจทย์ต่อปัญหา

2.2 ออกแบบระบบ (System Design) จาก

การสำรวจปัญหาและความต้องการของระบบนำมาสู่การออกแบบระบบในส่วนต่าง ๆ ดังนี้



Figure 1 System overview design

1) การออกแบบภาพรวมของระบบตาม Figure 1 โดยแอปพลิเคชันแบ่งออกเป็นผู้ดูแลระบบและผู้ใช้งาน โดยที่ผู้ดูแลระบบสามารถเพิ่มต้นไม้แก้ไขข้อมูลต้นไม้ ลบข้อมูลต้นไม้ได้ และยังสามารถใช้งานเมนูอื่นอีกร่วมกับผู้ใช้งานทั่วไปคือ ดูรายชื่อต้นไม้ ดูรายละเอียดต้นไม้ ดูตำแหน่งต้นไม้ นำทางไปยังต้นไม้ได้ ดูตำแหน่งต้นไม้ทั้งหมดบนแผนที่ ค้นหาต้นไม้ สแกน QR Code และประวัติสวนพฤกษศาสตร์ ซึ่งแอปพลิเคชันได้เก็บข้อมูลใน

Firebase และใช้ Google Map API เพื่อนำทางไปยังต้นไม้

2) การออกแบบแผนภาพกระแสข้อมูลเป็นแผนภาพที่แสดงทิศทางการไหลของข้อมูลในระบบตาม Figure 2 โดยมีตัวแทนข้อมูลคือ Admin และ Tourist มีการบวนการทั้งหมด 8 กระบวนการคือ Login, Add, Delete, Edit, Search, QR-Code, Navigation, Tree detail และมีแหล่งจัดเก็บข้อมูล 3 แหล่ง คือ User, Tree และ Map

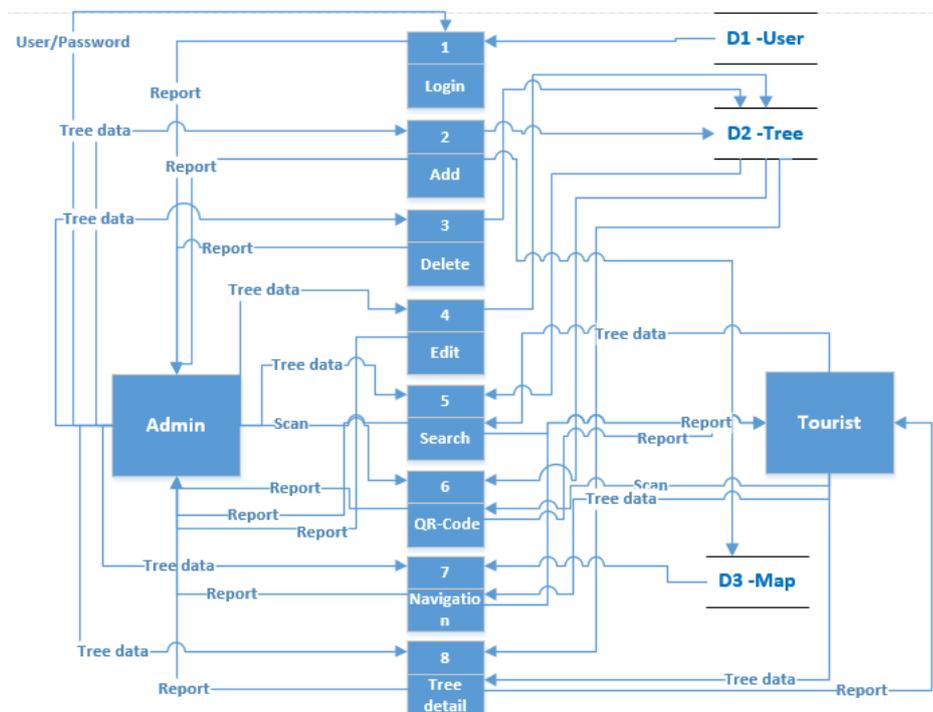


Figure 2 Data Flow Diagram (DFD)

3) การออกแบบฐานข้อมูล ได้ใช้ระบบคลาวด์ Firebase ของ Google คือ Firebase-Realtime Database (Budprom *et al.*, 2021; Pophong *et al.*, 2018) ซึ่งเป็นฐานข้อมูลแบบไม่เชิงสัมพันธ์ (NonSQL Cloud Database) เก็บข้อมูลในรูปแบบของ JSON และมีการซิงค์ข้อมูลแบบเวลาจริงกับทุกอุปกรณ์ที่เชื่อมต่อแบบอัตโนมัติอย่างรวดเร็ว โดยการออกแบบฐานข้อมูลมาจากการสำรวจความ

ต้องการการเก็บข้อมูลของสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ซึ่งมีความสอดคล้องกับฐานข้อมูลกลุ่มงานพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช ซึ่งมีการเก็บข้อมูลดังนี้ ชื่อ วงศ์ สปีชีส์ ความสูง การขยายพันธุ์ ถิ่นกำเนิด วันที่ ประโยชน์ ตำแหน่ง อันดับ ลักษณะ และสกุล

2.3 การพัฒนา (Implementation) ได้เลือกพัฒนาโดยใช้ Ionic Framework (Huanthanom *et al.*, 2020; Sophakham *et al.*, 2021) ตาม figure 3 ซึ่งสามารถทำงานได้หลายระบบปฏิบัติการเช่น iOS และ Android ในลักษณะ Cross-Platform โดยใช้ Angular ในการเขียนแอปพลิเคชันเป็นภาษา typescript ใน Framework ของ Ionic และสามารถ ใช้ App Framework เขียนร่วมได้คือ HTML CSS และ JS จากนั้น Ionic จะใช้ Apache Cordova ในการเปลี่ยนเป็นแอปพลิเคชันใน Platform ต่าง ๆ

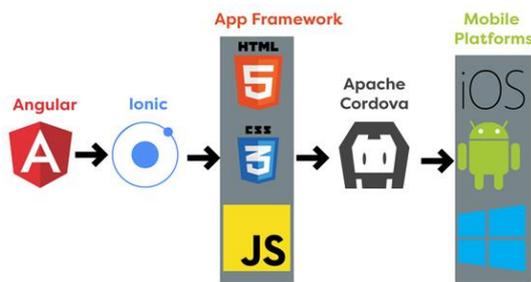


Figure 3 Application development

2.4 การทดสอบ (Verification) เมื่อพัฒนาแอปพลิเคชันเสร็จได้นำไปติดตั้งบน Smart Phone ระบบปฏิบัติการ Android เพื่อทดสอบการทำงาน หากมีข้อบกพร่อง หรือไม่ตรงความต้องการของผู้ใช้งาน นำมาแก้ไขและปรับปรุง

2.5 การบำรุงรักษา (Maintenance) เมื่อนำไปใช้งาน จะนำผลตอบรับจากการใช้งานมาปรับปรุงแก้ไขการทำงานของแอปพลิเคชัน

3. การสร้างแบบสอบถามความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด

1. ร่างแบบสอบถามคำถามแบบปลายปิด แบ่งโดยมี 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 ข้อมูลส่วนตัวของผู้ตอบแบบสอบถาม เป็นแบบสำรวจรายการจำนวน 2 ข้อ คือ เพศ และ อายุ และส่วนที่ 2 ความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันจัดการต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์

วรรณคดีภาคใต้ ลักษณะของแบบสอบถามเป็นแบบมาตรฐานประมาณค่า แบ่งออกเป็น 4 ด้านคือ ความสามารถในการทำงาน การออกแบบหน้าจอ การทดสอบการใช้งาน และระดับความพึงพอใจโดยภาพรวม

2. นำแบบสอบถามไปทำการตรวจสอบความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหาจากผู้เชี่ยวชาญจำนวน 5 ท่าน

3. นำแบบสอบถามที่ได้ไปทดสอบกับบุคคลที่ไม่ใช่กลุ่มตัวอย่างจำนวน 30 คน เพื่อเป็นการตรวจสอบภาษา ความเข้าใจในการตอบคำถาม ความคงที่ของแบบสอบถาม

4. นำข้อมูลที่ได้มาตรวจสอบความเชื่อมั่นโดยหาค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค (Cronbach's Alpha Coefficient) ผลการวิเคราะห์ค่าความเชื่อมั่นมีค่าเท่ากับ 0.86

4. ออกแบบการทดสอบประสิทธิภาพแอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด

โดยให้มีการทดสอบการใช้งานแอปพลิเคชัน นำทางไปยังต้นไม้จำนวน 50 ครั้ง เพื่อตรวจสอบความคลาดเคลื่อนตำแหน่งของต้นไม้และตำแหน่งของผู้ใช้แอปพลิเคชันจากการวัดระยะทางจริง โดยสามารถนำทางได้ถูกต้อง มีความคลาดเคลื่อนตำแหน่งของผู้ใช้งานแอปพลิเคชันกับระยะห่างจากต้นไม้จริงเฉลี่ย 2 เมตร

5. การเก็บรวบรวมข้อมูล

1. การใช้งานแอปพลิเคชัน โดยทีมผู้วิจัยนำแอปพลิเคชันให้กลุ่มตัวอย่างโดยกกลุ่มตัวอย่างดาวนโหลดและติดตั้งแอปพลิเคชันเพื่อทดลองใช้งาน โดยสามารถใช้งานได้ดังนี้ คือ ค้นหา สแกนคิวอาร์โค้ด นำทางไปยังต้นไม้ และดูข้อมูลต้นไม้

2. การศึกษาความพึงพอใจ โดยผู้วิจัยได้ชี้แจงรายละเอียดของโครงการวิจัยและพิทักษ์สิทธิ์ของผู้ร่วมการวิจัย โดยชี้แจงให้ทราบถึงสิทธิของ

กลุ่มตัวอย่างในการปฏิบัติการเข้าร่วมการศึกษาโดยไม่มีผลต่อการบริการที่จะได้รับ รวมถึงข้อมูลทุกอย่างเป็นความลับและนำเสนอผลในภาพรวมเท่านั้น จากนั้นจึงนำแบบสอบถามความพึงพอใจที่ผ่านการตรวจสอบคุณภาพของเครื่องมือแล้วไปให้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 120 คน ดำเนินการจัดทำแบบสอบถามเสร็จแล้ว ทีมผู้วิจัยจึงดำเนินการตรวจสอบความสมบูรณ์ของแบบสอบถามและนำข้อมูลมาวิเคราะห์

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลของกลุ่มตัวอย่าง โดยใช้การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติช่วยในการวิเคราะห์ เพื่อหาค่าเฉลี่ยเลขคณิต (Arithmetic Mean : \bar{X}) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation : SD)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากการพัฒนาแอปพลิเคชันจัดการต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ได้แบ่งผลการวิจัยออกเป็น 4 ส่วน คือ ความสามารถของแอปพลิเคชัน ผลการประเมินความพึงพอใจ การเปรียบเทียบระบบเดิมกับระบบใหม่ และสุดท้ายเป็นการทดสอบความเที่ยงตรงกับแอปพลิเคชันในการนำทางไปยังต้นไม้

1. แอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด

1.1 แอปพลิเคชันในมุมมองของนักท่องเที่ยวสามารถใช้งานได้คือ ค้นหา สแกนคิวอาร์โค้ด นำทางไปยังต้นไม้ และดูข้อมูลต้นไม้ ดัง

Figure 4-9



Figure 4 Application



Figure 5 Search for trees



Figure 6 Tree detail

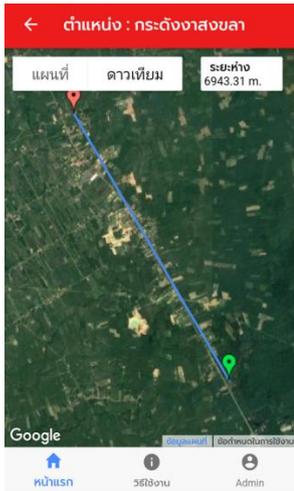


Figure 7 Navigation to tree

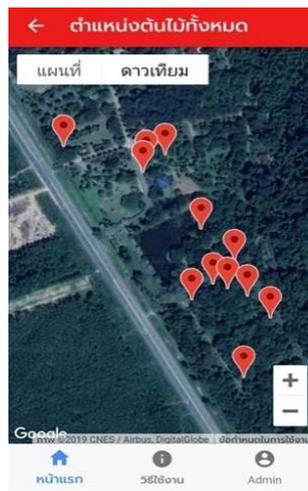


Figure 8 Tree map



Figure 9 QR Code reader

1.2 แอปพลิเคชันในมุมมองของผู้ดูแลระบบ สามารถใช้งานได้ทุกฟังก์ชันของนักท่องเที่ยวนะและ

สามารถใช้งานในส่วนการ เพิ่ม แก้ไข ลบ ข้อมูล ต้นไม้ได้ ดัง Figure 10-12

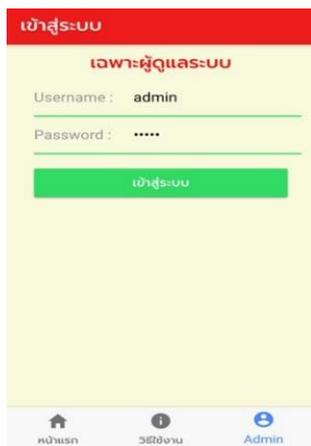


Figure 10 Login



Figure 11 Add, edit, delete



Figure 12 Add details

เครื่องมือที่ใช้ในการพัฒนา คือ Ionic Framework ใช้พัฒนาแอปพลิเคชัน ระบบจัดเก็บข้อมูลใช้ Firebase-Realtime Database ซึ่งเป็นระบบคลาวด์ของ Google สอดคล้องกับงานวิจัยของ Arunrot and On-at (2021) ได้พัฒนาแอปพลิเคชันสำหรับค้นหาร้านค้าและบริการในเขตพื้นที่มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ที่ได้เลือกใช้ Ionic Framework ในการพัฒนาเช่นกัน โดยแอปพลิเคชันมีความสามารถดังนี้คือ ผู้ใช้งานมี 2 ประเภทคือ ผู้ดูแลระบบ และผู้ใช้งาน โดยที่ผู้ดูแลระบบสามารถเพิ่ม

แก้ไข และลบข้อมูลต้นไม้ได้ และยังสามารถใช้งานเมนูอื่น ๆ อีกร่วมกับผู้ใช้งานทั่วไปคือ ค้นหาและนำทางดูข้อมูลต้นไม้ทั้งหมด สแกนคิวอาร์โค้ด ข้อมูลต้นไม้ คู่มือการใช้งาน และประวัติสวนพฤกษศาสตร์ วรรณคดีภาคใต้ ทำให้นักท่องเที่ยวสามารถท่องเที่ยวชมสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ได้ด้วยตัวเอง โดยค้นหาต้นไม้หรือดูจากแผนที่ต้นไม้แล้วนำทางไปยังต้นไม้ เมื่อถึงต้นไม้สามารถสแกนคิวอาร์โค้ดเพื่อทราบรายละเอียดของต้นไม้ ลักษณะของเจ้าหน้าที่ ทำให้ผู้ดูแลระบบมีฐานข้อมูลต้นไม้เพื่อ

ใช้ในการบริหารจัดการต้นไม้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Juntaworn and Varith (2020) พบว่าการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีรหัสคิวอาร์โค้ดเพื่อจัดทำทะเบียนพรรณไม้สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ โรงเรียน มีความสะดวกในการใช้งาน และทำให้ผู้ดูแลสามารถเพิ่ม ลบ แก้ไข สืบค้น ข้อมูลพรรณไม้ได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Santiratanaphakdi *et al.* (2019) พบว่าการพัฒนาโมบายแอปพลิเคชันสำหรับสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียน สามารถนำไปใช้งานได้

เป็นอย่างดี ผู้ดูแลระบบสามารถเพิ่ม ลบ แก้ไข สืบค้น ข้อมูลพรรณไม้ได้สะดวก

2. ผลการประเมินความพึงพอใจการใช้งาน

แบ่งออกเป็น 4 ด้าน คือ ความสามารถในการทำงาน การออกแบบส่วนติดต่อผู้ใช้งาน การทดสอบการใช้งาน และระดับความพึงพอใจโดยภาพรวม แสดงดัง Table 1-4

Table 1 Satisfaction with the Botanical Garden Tree Data Management Application in terms of functionality

Assessment Topics	\bar{X}	SD	Satisfaction Level
Appropriateness of information within the application	4.38	0.47	Good
Accuracy and completeness of the information	4.31	0.59	Good
The categorization of content is clear and appropriate	4.34	0.71	Good
Total	4.25	0.59	Good

จากผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันจัดการต้นไม้สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ ด้านความสามารถในการทำงานพบว่า ความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.25 เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า มีความเหมาะสมของ

ข้อมูลภายในแอปพลิเคชันมีความพึงพอใจมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.38 รองลงมา ความถูกต้องครบถ้วนของข้อมูล มีค่าเฉลี่ย 4.31 และการแบ่งหมวดของเนื้อหาที่มีความชัดเจนและเหมาะสม มีค่าเฉลี่ย 4.34

Table 2 Satisfaction with the Botanical Garden Tree Data Management Application in terms of user interface design

Assessment Topics	\bar{X}	SD	Satisfaction Level
Font size and color offered	4.28	0.71	Good
Use of language in communication	4.42	0.71	Good
Beauty and ease of use	4.50	0.59	Excellent
Instructions for using the system	4.42	0.66	Good
Illustrations and content are consistent and meaningful	4.38	0.65	Good
Total	4.40	0.67	Good

จากผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันจัดการต้นไม้สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ ด้านการออกแบบส่วนติดต่อผู้ใช้งาน มีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.40 เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า ความสวยงาม และง่ายต่อการใช้งาน มีความพึงพอใจมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.50 รองลงมา การใช้

ภาษาในการสื่อสารและคำแนะนำการใช้งานระบบ มีค่าเฉลี่ย 4.42 การใช้ภาษาในการสื่อสาร มีค่าเฉลี่ย 4.35 ภาพประกอบกับเนื้อหา มีความสอดคล้องกันและสามารถสื่อความหมายได้ มีค่าเฉลี่ย 4.38 และขนาดตัวอักษร และสีที่นำเสนอ มีค่าเฉลี่ย 4.28

Table 3 Satisfaction with the Botanical Garden Tree Data Management Application in terms of usability testing

Assessment Topics	\bar{X}	SD	Satisfaction Level
Processing speed	4.28	0.74	Good
Processing accuracy	4.37	0.71	Good
Meet the needs of users	4.33	0.78	Good
Total	4.32	0.74	Good

จากผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันจัดการต้นไม้สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ ด้านการทดสอบการใช้งาน มีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.32 เมื่อพิจารณา

เป็นรายข้อ พบว่า ความถูกต้องในการประมวลผล มีความพึงพอใจมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.37 รองลงมา ตรงต่อความต้องการของผู้ใช้ มีค่าเฉลี่ย 4.33 และความเร็วในการประมวลผล มีค่าเฉลี่ย 4.28

Table 4 Overall satisfaction with the Botanical Garden Tree Data Management Application

Assessment Topics	\bar{X}	SD	Satisfaction Level
Overall satisfied with the quality of the content	4.55	0.54	Excellent
Overall, satisfied with the design of the application	4.52	0.55	Excellent
Overall, satisfied with the application	4.60	0.55	Excellent
Total	4.56	0.54	Excellent

จากผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันจัดการต้นไม้สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ โดยภาพรวม มีความพึงพอใจอยู่ในระดับมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.56 เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า โดยภาพรวมท่านมีความพึงพอใจในแอปพลิเคชันในระดับใด มีความพึงพอใจมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.60 รองลงมา ภาพรวมมีความพึงพอใจในคุณภาพของเนื้อหา มีค่าเฉลี่ย 4.55 และภาพรวมมี

ความพึงพอใจในการออกแบบแอปพลิเคชัน มีค่าเฉลี่ย 4.52

สรุปผลการประเมินความพึงพอใจต่อแอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ดอยู่ในระดับมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.56 เมื่อพิจารณารายด้านพบว่า ด้านความสามารถในการทำงาน ความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.25 ด้านการ

ออกแบบส่วนติดต่อผู้ใช้งาน มีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.40 และด้านการทดสอบการใช้งาน มีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.32 และผู้ประเมินมีความเห็นว่าแอปพลิเคชันมีลักษณะเด่นในด้านการประมวลผลข้อมูลมีความถูกต้อง สะดวกและง่ายต่อการใช้งาน การออกแบบ สี และตัวอักษรมีความสวยงาม มีประโยชน์ต่อการท่องเที่ยวสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kanchanawong and Kanchanawong (2017) เรื่อง การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีบาร์โค้ดสองมิติเพื่อบริการข้อมูลให้นักท่องเที่ยวในแหล่งท่องเที่ยว ภูมิศึกษา วัดพระธาตุคอกยสุเทพวรวิหาร เชียงใหม่ พบว่า นักท่องเที่ยวมีความพึงพอใจในระดับมาก มีประโยชน์ต่อนักท่องเที่ยว การแสดงผลข้อมูลตรงกับความต้องการสะดวกในการใช้งาน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Thanarotrungreung *et al.* (2021) เรื่อง การพัฒนาแอปพลิเคชันท่องเที่ยว: มรดกภูมิปัญญาทางวัฒนธรรมเมืองพริบพรี จังหวัดเพชรบุรี ฉบับ จีน-อังกฤษ-ไทย พบว่านักท่องเที่ยวส่วนใหญ่มีความพึงพอใจในภาพรวมอยู่ในระดับมาก แอปพลิเคชันสามารถตอบสนองความต้องการของนักท่องเที่ยวและ มีความ

สะดวกรวดเร็วในการใช้งาน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Charoen *et al.* (2020) เรื่อง การพัฒนาแอปพลิเคชันสำหรับการรายงานการสัมผัสเลือดและสารคัดหลั่งของบุคลากรการพยาบาล พบว่าแอปพลิเคชันที่พัฒนาขึ้นมีความสะดวกต่อการใช้งาน สามารถเรียนใช้งานแอปพลิเคชันได้ทุกที่ มีความรวดเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gulatee *et al.* (2019) เรื่อง แอปพลิเคชันบนมือถือสำหรับดูแลผู้ป่วยเบาหวาน การศึกษาพฤติกรรมในประเทศไทย พบว่าผลการประเมินความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก แอปพลิเคชันช่วยอำนวยความสะดวกให้กับผู้ป่วย

3. การเปรียบเทียบความสามารถของระบบเดิมและระบบใหม่

ระบบเดิมคือ นักท่องเที่ยวต้องมีเจ้าหน้าที่ในการให้ข้อมูลต้นไม้และนำทาง ระบบใหม่คือ มีแอปพลิเคชันในการจัดการข้อมูลต้นไม้ให้เจ้าหน้าที่ และนักท่องเที่ยวสามารถท่องเที่ยวได้โดยไม่มีเจ้าหน้าที่ ระบบใหม่สามารถนำทางไปยังต้นไม้ ศึกษาข้อมูลต้นไม้ และเข้าถึงข้อมูลต้นไม้ได้อย่างรวดเร็ว โดยไม่ต้องพึ่งเจ้าหน้าที่

Table 5 Comparison of the capabilities of the old and the new system

List of abilities	Old system	New system
1. Navigating the Tree	✗	✓
2. Studying data through QR codes	✗	✓
3. Tourist information staff	✓	✗
4. tree details on the sign	✓	✓
5. The speed of accessing tree data	✗	✓

4. ทดสอบประสิทธิภาพของแอปพลิเคชันในด้านความเที่ยงตรงในการนำทางไปยังต้นไม้

การทดสอบประสิทธิภาพของแอปพลิเคชันในด้านความเที่ยงตรงในการนำทางไปยังต้นไม้จากทดสอบนำทางไปยังต้นไม้จำนวน 50 ครั้ง พบว่าสามารถนำทางได้ถูกต้อง มีความคลาดเคลื่อน

ตำแหน่งของผู้ใช้งานแอปพลิเคชันกับระยะห่างจากต้นไม้จริงเฉลี่ย 2.24 เมตร ขึ้นอยู่กับสภาพของท้องฟ้า หากท้องฟ้าไม่มีเมฆจะทำให้ระบบนำทางเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้นเนื่องจากระบบ GPS ไม่มีเมฆขวางกั้น และขึ้นอยู่ระบบ GPS บนสมาร์ทโฟน

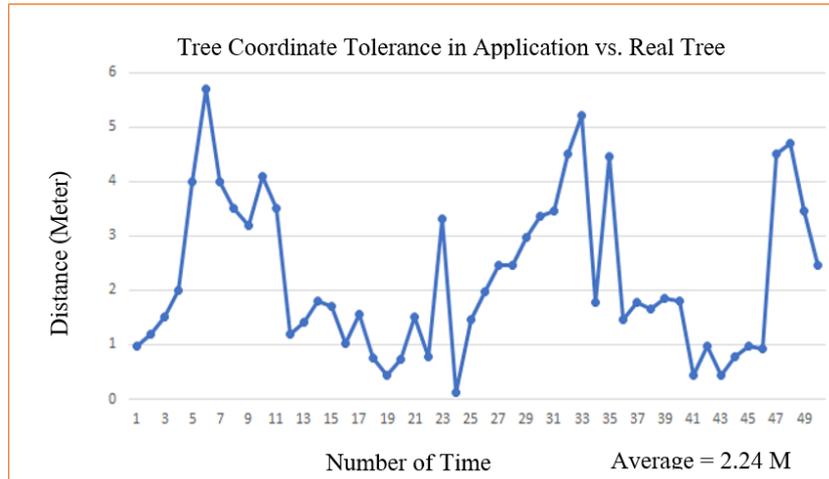


Figure 13 The results of the navigation aberration measurements to the tree

สรุป

แอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ดได้พัฒนาจากปัญหานักท่องเที่ยวในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ไม่สามารถท่องเที่ยวเองได้ หากไม่มีเจ้าหน้าที่ให้ข้อมูลต้นไม้และนำทางไปยังต้นไม้ ส่วนเจ้าหน้าที่สวนพฤกษศาสตร์ไม่มีระบบข้อมูลต้นไม้ที่มีความรวดเร็วในการเข้าถึงข้อมูล ทีมผู้วิจัยจึงได้พัฒนาแอปพลิเคชันเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว ในการพัฒนาได้ใช้ Ionic framework กับระบบจัดเก็บข้อมูล Firebase การจัดเก็บฐานข้อมูลต้นไม้ได้สอดคล้องกับฐานข้อมูลกลุ่มงานพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช ซึ่งมีความสามารถดังนี้ เพิ่ม ลบ แก้ไข ค้นหา สแกนคิวอาร์โค้ด นำทางไปยังต้นไม้ และดูข้อมูลต้นไม้ แอปพลิเคชันมีข้อแตกต่างจาก

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องคือ เป็นแอปพลิเคชันที่สามารถทำงานได้ในแอปพลิเคชันเดียวกัน สามารถใช้งานได้ทั้ง ระบบปฏิบัติการ iOS และ Android และมีการใช้งานฐานข้อมูลที่เป็นระบบคลาวด์แบบ real time นอกจากนี้แอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ด สามารถใช้เป็นต้นแบบให้กับสวนพฤกษศาสตร์อื่นๆ ได้ ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแอปพลิเคชันในด้านความเที่ยงตรงในการนำทางไปยังต้นไม้จากทดสอบนำทางไปยังต้นไม้จำนวน 50 ครั้ง พบว่าสามารถนำทางได้ถูกต้อง มีความคลาดเคลื่อนตำแหน่งของผู้ใช้งานแอปพลิเคชันกับระยะห่างจากต้นไม้จริงเฉลี่ย 2.24 เมตร และผลการประเมินความพึงพอใจการใช้งาน อยู่ในระดับมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.56 เมื่อพิจารณารายด้านพบว่า ด้านความสามารถในการทำงาน ความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย

4.25 ด้านการออกแบบส่วนติดต่อผู้ใช้งาน มีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.40 และด้านการทดสอบการใช้งาน มีความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.32

ข้อเสนอแนะ

1. การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.1 แอปพลิเคชันจัดการข้อมูลต้นไม้ในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้โดยใช้คิวอาร์โค้ดสามารถนำไปใช้ที่สวนพฤกษศาสตร์อื่น ๆ หรือสวนพฤกษศาสตร์ภายในมหาวิทยาลัยหรือโรงเรียนได้

1.2 สวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้สามารถนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลในการจัดการต้นไม้ภายในสวนพฤกษศาสตร์วรรณคดีภาคใต้ได้

2. การทำวิจัยในครั้งต่อไป

2.1 พัฒนาแอปพลิเคชันให้มีความเร็วยิ่งขึ้น โดยการใช้ระบบคลาวด์ใหม่คือ Firestore

2.2 พัฒนาแอปพลิเคชันให้มีระบบรายงานข้อมูลต้นไม้

กิตติกรรมประกาศ

การทำกรวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จ ลุล่วงด้วยดี ขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณา งานวิจัย วิทยาลัยรัตภูมิ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัยนายวิทธิ ชุมทอง และนางสาววารุณี เชื้อพุทธ และ สูดท้าย คณะผู้จัดทำขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ให้ทุนงบประมาณ เงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2562 เพื่อสนับสนุนในการทำวิจัยใน ครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Arunrot, P. and On-at, S. 2021. Development of an application for searching shops and services in Roi Et Rajabhat University area. **Journal of Roi Et Rajabhat University: Science and Technology** 2(1): 47-59. (in Thai)
- Budprom, N., Nakrong, P. and Lakkhanawannakun, P. 2021. The Development of cattle trading mobile application on android operating system. **Journal of Applied Information Technology** 7(2): 96-106. (in Thai)
- Charoen, S., Unahalekhaka, A. and Klunklin, P. 2020. Development of an application for reporting blood and body fluid exposures among nurses. **Christian University Journal** 26(3): 81-94. (in Thai)
- Department of National Park Wildlife and Plant Conservation. 2022. **Botanical garden**. Available Source: <https://www.dnp.go.th/botany/garden/index.html>, March 27, 2022. (in Thai)
- Gulatee, Y., Pongthanoo, P. and Sakunrasrisuay, C. 2019. Smartphone application for diabetes behavior study in Thailand. **Sripatum Review of Science and Technology** 11(1): 7-22. (in Thai)
- Huanthanom, C., Saladkaew, N. and Chunwiphat, S. 2020. A Development of new e-commerce platform for product preordering. **The Journal of Industrial Technology** 16(1): 1-14. (in Thai)
- Juntaworn, K. and Varith, C. 2020. The Application of QR code technology in registering varieties of plants of school's botanical

- gardens. **Journal of Technology Management Rajabhat Maha Sarakham University** 7(1): 8-19. (in Thai)
- Kanchanawong, P. and Kanchanawong, A. 2017. The Application of two dimension barcode technology for providing tourist information service at tourism destination case study: Doi Suthep Temple, Chiang Mai. **Journal of Humanities and Social Sciences** 9(17): 120-134. (in Thai)
- Kuankhaowang Botanical Garden. 2022. **Kuankhaowang botanical garden.** Available Source: <https://www.dnp.go.th/mfcd20/bot-main.htm>, March 27, 2022. (in Thai)
- Nooyod, W., Singthongchai, J. and Singthongchai, M. 2022. The Development of an application for tourist attractions in Chanthaburi province. **Science and Technology Nakhon Sawan Rajabhat University Journal** 14(19): 96-106. (in Thai)
- Paojeen, J. and Kaewurai, R. 2020. QR code for equipment online database application of the faculty of public health, Naresuan University. **Journal of Information and Learning** 31(3): 37-46. (in Thai)
- Pinchunsri, P. , Chantaradara, T. , Choisang, Y. , Khosinprasurt, T. and Buasan, D. 2019. Development of information program for assets management at a private university in Nakhon Pathom province. **Christian University Journal** 25(2): 79-91. (in Thai)
- Pophong, J. , Harnraden, I. , Kongcharoen, J. , Pheuthikamane, S. and Puttinaowarat, S. 2018. Getting lost monitoring system for the elderly patients. **Rajamangala University of Technology Isan Journal Science and Technology** 11(3): 89-100. (in Thai)
- Santiratanaphakdi, C., Chanthaworn, K. and Warit, C. 2019. Mobile application development for school botanic gardens, pp. 171-176. *In National Conference and Research Presentations Subject: Innovation Methods for Research Development for Sustainable Economy of Thai Community (14th)*. Western University, Kanchanaburi. (in Thai)
- Sittivised, S. , Maneewan, J. , Srinarach, W. and Saeng-in, S. 2019. The Development of mobile application for self- traveling promotion of Patung sub-district, Maechan district, Chiang Rai province. **Journal of Humanities & Social Sciences (JHUSOC)** 17(3): 25-44. (in Thai)
- Sophakham, P., Jiraphaisarnsakul, T. and Kokaew, U. 2021. Parcel deposit for delivery from traveling across provinces application. **Electrical Engineering/Electronics, Computer, Telecommunications, and Information Technology Transaction on Application Research and Development** 1(2): 15-20. (in Thai)
- Thanarotrungrueang, K., Talalak, K. and Pirod, S. 2021. The Tourism application development: wisdom of cultural heritage of Mueangpripri Petchaburi province (Chinese-English-Thai). **Journal of Graduate Studies Vallaya Alongkorn Rajabhat University** 15(2): 1-15. (in Thai)

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการ และจุลินทรีย์บางชนิดในขนมกลีบลำดวนเสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้าคั่วกลาง

An Analysis of Biological Active Compounds, Nutrients and Microorganisms of Thai Shortbread Cookies Supplemented by Grinded Medium Roasted Robusta Coffee

สมภพ แซ่เฮง¹ ทวีสิน นาวารัตน์^{2,3} และ วันฉัตร ศิริสาร^{4*}

Sompop Saeheng¹, Tawesin Navarat^{2,3} and Wanchat Sirisarn^{4*}

Received: 27 October 2022, Revised: 17 February 2023, Accepted: 9 June 2023

บทคัดย่อ

การเสริมผงกาแฟโรบัสต้าในขนมกลีบลำดวนที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 1.8, 3.6 และ 5.4 พบว่า ปริมาณผงกาแฟโรบัสต้าที่เสริมเข้าไปที่ร้อยละ 5.4 เป็นระดับที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุดจากผู้ทดสอบชิมจำนวน 40 คน ($P < 0.05$) จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางโภชนาการของขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐาน และสูตรที่เสริมผงกาแฟโรบัสต้าร้อยละ 5.4 พบว่า สารอาหารที่สำคัญหลายชนิด เช่น ปริมาณโปรตีน ปริมาณเกลือแร่แคลเซียม ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี อะลูมิเนียม แมงกานีสเพิ่มขึ้น และปริมาณไฟเบอร์มีการเพิ่มขึ้นถึง 3 เท่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิด เช่น สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 4-8 เท่า และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น 16 เท่า นอกจากนี้ การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในขนมกลีบลำดวนทั้งสองสูตร พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์พื้นฐาน เช่น Coliform Bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Yeast and Mold และ Total Plate Count พบที่ < 3.0 MPN/g, $< 1.0 \times 10$ CFU/g, < 3.0 MPN/g, < 10 ESPC/g และ

¹ สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพและวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

¹ Division of Health and Applied Sciences, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.

² สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

² Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University, Muang, Songkhla 90000, Thailand.

³ หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ จุลินทรีย์ และการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

³ Microbial Biotechnology and Utilization of Natural Products Research Unit, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University, Muang, Songkhla 90000, Thailand.

⁴ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

⁴ Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

* ผู้รับผิดชอบประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): wanchat.s@ku.th Tel. 08 8912 0616

< 25 × 10 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงในขนมกลีบลำควนเสริมกาแฟที่เก็บเป็นระยะเวลา 90 วัน ในถุงพลาสติก PP ปิดสนิท ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ซึ่งยังอยู่ภายใต้มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 118/2555

คำสำคัญ: ขนมกลีบลำควน, กาแฟโรบัสต้า, สารต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิก, สารออกฤทธิ์ชีวภาพ

ABSTRACT

The addition of ground medium-roasted Robusta coffee at 3 different levels: 1.8%, 3.6% and 5.4% to Thai Shortbread cookie found that the inclusion of 5.4% Robusta coffee received the highest preference score from 40 panelists compared to the addition of 1.8% and 3.6% ($P < 0.05$). The nutritional analysis showed increases in protein, several minerals (Calcium, Phosphorus, Potassium, Magnesium, Iron, Zinc, Aluminum and Manganese), and 3 times increases in fiber. The biologically active compounds including antioxidant and total phenolic compounds were increased by 4-8 times and 16 times, respectively. In accordance with the Thai Community Product Standard 118/2555, the food microbial analysis, including Coliform Bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Yeast and Mold, and Total Plate Count, was investigated on days 0 and 90 presenting at < 3.0 MPN/g, < 1.0 × 10 CFU/g, < 3.0 MPN/g, < 10 ESPC/g and < 25 × 10 CFU/g, respectively. They remained consistent during the storage in closed PP plastic bag at room temperature (25 °C).

Key words: Thai Shortbread Cookie, Roasted Robusta Coffee, antioxidants, total phenolic compounds, active compounds

บทนำ

ขนมกลีบลำควน (Thai Shortbread Cookie) เป็นขนมอบชนิดหนึ่งที่นับได้ว่าเป็นหนึ่งในขนมมงคลที่ใช้แป้งสาลีเป็นองค์ประกอบหลักในการผลิต และด้วยวัตถุดิบหลักของขนมกลีบลำควนที่ประกอบด้วย แป้งสาลี น้ำตาล และน้ำมันพืช ส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการของขนมกลีบลำควนส่วนใหญ่จึงพบคาร์โบไฮเดรตและไขมันเป็นหลัก (Noonium and Wongsudarak, 2014) ลักษณะของขนมกลีบลำควนจะมีลักษณะการขึ้นรูปกลีบเป็น 3 กลีบ และจะมีเกสรกลมติดอยู่ตรงกลางของขนมกลีบลำควน ขนมกลีบลำควนต้องการความประณีตใน

กรรมวิธีการทำที่ค่อนข้างสูงและสามารถทำให้สุกด้วยการอบ (Suweero *et al.*, 2021)

กาแฟประกอบไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน นอกจากนี้สารอาหารในกลุ่มที่ให้พลังงานดังกล่าวแล้ว กาแฟยังประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) สารสีชนิดต่าง ๆ เช่น แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) เป็นต้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น แทนนิน (Tannins) และฟีนอล (Phenols) เป็นต้น นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยสารในกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic Compounds) เช่น กรดคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid) และ คาเฟอีน (Caffeine) ที่มี

คุณสมบัติในการช่วยกระตุ้นระบบประสาทให้ตื่นตัว (Munyendo *et al.*, 2021) อีกทั้งในเมล็ดกาแฟที่ผ่านการคั่วแล้ว ตรวจพบแร่ธาตุและวิตามินหลายชนิด เช่น โซเดียม (Sodium) แคลเซียม (Calcium) เหล็ก (Iron) ฟลูออรีน (Fluorine) และวิตามินบีรวม (Vitamin B Complex) (Janda *et al.*, 2020) ด้วยคุณสมบัติที่โดดเด่นของกาแฟที่กล่าวมานี้ ทำให้ผู้ผลิตอาหารและสินค้าในการอุปโภคบริโภคจึงหันมาใช้ส่วนผสมของกาแฟในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ เช่น ในกระบวนการผลิตขนมบางชนิด ไม่เพียงแต่คุณสมบัติในด้านโภชนาการที่เฉพาะของกาแฟแต่ผู้บริโภคที่ชอบรับประทานกาแฟหรืออาหารที่มีส่วนผสมของกาแฟ เนื่องจากกลิ่นและรสชาติที่เฉพาะของกาแฟ โดยกลิ่นและสีของกาแฟเกิดจากการนำเมล็ดกาแฟไปคั่ว (Roasting) ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเคมี Pyrolytic Reaction และมีการสร้างสารในกลุ่มเมลานอยดิน (Melanoidins) เกิดขึ้นซึ่งเปลี่ยนแปลงสีของกาแฟ อีกทั้งเกิดการสลายตัวของกรดคลอโรเจนิก เป็นสารระเหยขนาดเล็กซึ่งเป็นที่มาของการเกิดกลิ่นในเมล็ดกาแฟ (Inprasit and Gutlee, 2014)

การเสริมผงกาแฟเข้าไปในขนมกลีบลำดวน นอกจากจะช่วยเพิ่มกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัวของกาแฟให้มีเอกลักษณ์และอัตลักษณ์เฉพาะตัวแล้ว องค์ประกอบของสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลาย ๆ ชนิดของเมล็ดกาแฟก็ช่วยเสริมคุณค่าทางโภชนาการในขนมกลีบลำดวนด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้ มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณของผงกาแฟโรบัสต้าคั่วกลางที่เหมาะสมในการพัฒนาขนมกลีบลำดวนสูตรเสริมกาแฟ และวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการ สารเคมีบางชนิด สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิด และปริมาณจุลินทรีย์บางชนิดในขนมกลีบลำดวนที่มีส่วนผสมของผงกาแฟโรบัสต้าคั่วกลางเป็นองค์ประกอบ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมผงกาแฟโรบัสต้า

เมล็ดกาแฟโรบัสต้าคั่วกลางได้รับความอนุเคราะห์มาจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนลุงพัน อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา เมล็ดกาแฟดังกล่าวถูกนำมาบดให้เป็นผงละเอียด (Fine) ด้วยเครื่องบดกาแฟ DXFILL Machine รุ่น DXM-1000 เพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวนในครั้งนี้

2. ปริมาณและกระบวนการนำผงกาแฟมาใช้ในการพัฒนาสูตรการผลิตขนมกลีบลำดวน

ในการศึกษาปริมาณผงกาแฟโรบัสต้าจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนลุงพัน อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา ได้นำมาเสริมในสูตรจำนวน 3 สูตรของขนมกลีบลำดวนที่ตัดแปลงมาจาก Noonium and Wongsudarak (2014) ซึ่งประกอบไปด้วยแป้งสาลี 260 กรัม น้ำมันถั่วเหลือง 115 กรัม น้ำตาลไอซิ่ง 175 กรัม และเสริมผงกาแฟโรบัสต้าคั่วกลางในปริมาณที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 10 กรัม (ร้อยละ 1.8) 20 กรัม (ร้อยละ 3.6) และ 30 กรัม (ร้อยละ 5.4) นำส่วนผสมที่เป็นผงละเอียดร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 250 เมส (Mesh) ผสมให้เข้ากันจากนั้นเติมน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อปั้นให้เป็นก้อน ชั่งน้ำหนักส่วนผสมจำนวน 10 กรัม เพื่อปั้นเป็นก้อนกลม ตัดแบ่งเป็น 4 ส่วน นำสามส่วนมาประกอบกันเป็นกลีบลำดวน ปั้นแป้งที่มีน้ำหนัก 1 กรัม ให้เป็นเกสรด้านบน นำขนมกลีบลำดวนที่ปั้นเป็นดอกแล้วนั้นไปอบในเตาอบที่มีความร้อนอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที เมื่อได้ผลิตภัณฑ์เป็นขนมกลีบลำดวนเสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้าจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนลุงพันทั้งสามสูตรแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือ การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคทั่วไปที่บริโภคขนมไทย และ/หรือ บริโภคกาแฟในจังหวัดสงขลา จำนวน 40 คน ในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส

และความชอบโดยรวม โดยการใช้วิธีการทดสอบแบบให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point Hedonic Scale)

3. การศึกษาข้อมูลทางโภชนาการของขนมกลีบลำควนเสริมกาแฟ

ขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐานและขนมกลีบลำควนสูตรเสริมผงกาแฟโรบัสต้าที่ได้รับความนิยมสูงสุดได้ถูกนำมาคิดข้อมูลทางโภชนาการโดยใช้โปรแกรม NutriSurvey ของสำนักโภชนาการ กรมอนามัย

4. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระขนมกลีบลำควน

นำขนมกลีบลำควนที่บดละเอียดมาสกัดด้วยสารละลาย 70% เอทานอล ในอัตราส่วน 1:10 ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15000 rpm 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บสารละลายสารใส่ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในขั้นตอนถัดไป

4.1 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay ดัดแปลงตามวิธีการของ Monteiro *et al.* (2020)

ในการเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.041 mM ในตัวทำละลายเมทานอล และวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้หลอด Eppendorf ขนาด 2 มิลลิลิตรที่มีลักษณะบุน ในแต่ละหลอดเติม DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.041 mM ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมเอทานอลซึ่งใช้เป็นตัวแปรควบคุม (Blank) หรือตัวอย่างบดละเอียดขนมกลีบลำควนในเอทานอล หรือสารละลาย Trolox ที่ละลายอยู่ในเอทานอล ซึ่งใช้เป็น Positive Control ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density, OD) ที่ความยาวคลื่นแสง 517 นาโนเมตร นำค่า OD ที่ได้มาคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (% Scavenging Activity) ตามสูตรที่แสดง เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Trolox โดยการทดลองทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

$$\% \text{ DPPH radical scavenging activity} = [(A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control}] \times 100$$

A control = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

A sample = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวมจากตัวอย่างขนมกลีบลำควนบดละเอียด

เติม 20 ไมโครลิตรของสารละลายมาตรฐาน ซึ่งก็คือ Gallic Acid ที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol หรือสารสกัดจากตัวอย่างขนมกลีบลำควนบดละเอียดละลายอยู่ใน 70% Ethanol หรือ 70% Ethanol ซึ่งใช้เป็น Blank ในการศึกษาครั้งนี้ ลงใน 96-well Microplate หลังจากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสม

สารละลายให้เข้ากันโดยการเขย่า และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จึงเติม 160 ไมโครลิตรของสารละลาย Sodium Bicarbonate ที่ความเข้มข้น 0.94 M (10% w/v) ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วนำ 96-well Microplate ไปเก็บไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (Ainsworth and Gillespie, 2007) ด้วยเครื่อง Spectrophotometric Microplate Reader นำค่า OD ที่

ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารฟีนอลิกโดยรวม เทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic Acid โดยการทดลองได้มีการทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

5. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

เตรียมตัวอย่างขนมกลีบลำดวนทั้งสามสูตร โดยแต่ละสูตรใช้ตัวอย่างปริมาณ 2 กรัม ใน Extraction Thimble และนำเข้าเครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxtherm) ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น AV6 AII/16 ประเทศเยอรมัน โดยใช้สารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายของไขมัน ในตัวอย่าง แล้วคำนวณหาปริมาณไขมันรวม (Total Fat) ที่สกัดได้ คัดแปลงจาก AOAC (1990)

6. การวิเคราะห์ปริมาณไฟเบอร์

วิเคราะห์ปริมาณไฟเบอร์ โดยคัดแปลงวิธีการของ Lee and Prosky (1995) นำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้วมาต้มในสารละลายกรด ล้างด้วยน้ำร้อน และต้มด้วยสารละลายเบส แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fibretherm รุ่น FT12 ประเทศเยอรมัน สารละลายที่ใช้คือ 0.13 M กรดซัลฟูริก และ 0.313 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ หลังจากเตรียมตัวอย่างนำตัวอย่างเข้าเครื่อง Fibretherm ที่กำหนดโปรแกรมการต้มด้วยกรดเป็นเวลา 30 นาที และล้างเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากนั้นล้างด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วคำนวณหาปริมาณไฟเบอร์

7. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์บางชนิดในขนมกลีบลำดวน

นำขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐานและสูตรที่เสริมกาแฟที่ได้รับคะแนนยอมรับทางประสาทสัมผัสสูงที่สุดที่ร้อยละ 5.4 มาตรวจสอบปริมาณปนเปื้อนจุลินทรีย์โดยนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count, คอลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform

Bacteria), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, ยีสต์ (Yeast) และ รา (Mold) โดยคัดแปลงมาจาก Food and Drug Administration (FDA) (2022)

8. การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการทดสอบความชอบ (Preference)

ขนมกลีบลำดวนเสริมกาแฟโรบัสต้าที่ร้อยละ 1.8, 3.6 และ 5.4 ได้ถูกนำไปทดสอบทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคทั่วไปที่บริโภคขนมไทย และ/หรือ บริโภคกาแฟในจังหวัดสงขลา จำนวน 40 คน ผ่านการทำแบบสอบถาม โดยการใช้วิธีการทดสอบแบบให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point Hedonic Scale) ซึ่งประกอบด้วย ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ซึ่งได้ผ่านการขอจริยธรรมการทำวิจัยในมนุษย์จาก ศูนย์จริยธรรมการทำวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เลขที่ HREC No. 019/2565.

9. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการ 9-Point Hedonic Scale ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น กลิ่นรส รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม รวมถึงผลการวิเคราะห์ปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ปริมาณไขมัน และ ปริมาณไฟเบอร์ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวนที่มีส่วนผสมของผงกาแฟและผลการยอมรับจากผู้บริโภค

ขนมกลีบลำดวนที่ได้รับความนิยมชอบโดยรวมมากที่สุด เป็นขนมกลีบลำดวนที่เสริมผงกาแฟโรบัสต้าเข้าไปในปริมาณร้อยละ 5.4 โดยที่ลักษณะปรากฏของขนมกลีบลำดวนจะมีสีน้ำตาล

เนื่องมาจากสีของผงกาแฟที่ได้เพิ่มเข้าไปและสีของขนมกลีบลำควนเสริมกาแฟจะยังมีสีเข้มตามปริมาณกาแฟที่เพิ่มเข้าไป ลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมกลีบลำควนจะไม่ค่อยแตกต่างไปจากเนื้อสัมผัสของขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐาน แต่จะมีลักษณะความแข็งของผงกาแฟเสริมเข้ามา กลิ่นจะมีลักษณะหอมกาแฟโดยที่ปริมาณกาแฟที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ขนมกลีบลำควนยังมีกลิ่นหอมที่มากขึ้น จากการทดลองให้ผู้บริโภคริขิมขนมกลีบลำควนที่ผสมด้วยกาแฟในอัตราส่วนต่าง ๆ พบว่าขนมกลีบลำควนที่เสริมผงกาแฟร้อยละ 5.4 จะมีค่าความชอบในด้านต่าง ๆ สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่เสริมด้วยกาแฟร้อยละ 1.8 และ 3.6

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสใน Table 1 พบว่า ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของขนมกลีบลำควนเสริมกาแฟโรบัสต้าทั้ง 3 สูตร พบว่าการเสริมผงกาแฟโรบัสต้าที่ร้อยละ 5.4 ในขนมกลีบลำควนมีค่าความชอบโดยเฉลี่ยสูงสุดในด้านลักษณะปรากฏ สี และ เนื้อสัมผัสที่ระดับชอบมาก ที่ระดับ 7.65 ± 0.80 , 7.60 ± 0.80 และ 7.84 ± 0.80 ตามลำดับ นอกจากนี้ค่าความชอบโดยเฉลี่ยสูงสุดในด้าน กลิ่น

กลิ่นรส รสชาติ และความชอบโดยรวมที่ระดับชอบมากที่สุด ที่ 8.30 ± 0.81 , 8.30 ± 0.78 , 8.24 ± 0.76 และ 8.27 ± 0.80 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันกับขนมกลีบลำควนที่มีการเสริมกาแฟโรบัสต้าที่ปริมาณร้อยละที่น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองนี้พบว่า การเสริมกาแฟในปริมาณที่มากขึ้นจะทำให้ขนมกลีบลำควนเสริมกาแฟได้รับความนิยมน้อยลงที่มากขึ้นตามลำดับ ขนมที่มีการเสริมผงกาแฟโรบัสต้ามีลักษณะสีของขนมกลีบลำควนที่เข้มขึ้นอันเนื่องมาจากส่วนของสีผงกาแฟคั่วที่เป็นส่วนประกอบอยู่ ซึ่งการเปลี่ยนสีกาแฟที่มีการคั่วด้วยความร้อนเกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา Pyrolytic Reaction ของสารในกลุ่มเมลานอยดิน (Melanoidins) ทำให้เมล็ดกาแฟมีสีน้ำตาลและกลิ่นของเมล็ดกาแฟที่ผ่านการคั่วจะเกิดมาจากการสลายตัวของกรดคลอโรเจนิก เป็นสารระเหยขนาดเล็กกลายเป็นกลิ่นเฉพาะตัวในเมล็ดกาแฟ (Inprasit and Gutlee, 2014) ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้ระดับความชอบของกลิ่น กลิ่นรส และรสชาติได้รับความชอบในระดับมากที่สุด ในขนมกลีบลำควนที่เสริมด้วยผงกาแฟในปริมาณมากที่สุดคือร้อยละ 5.4



Figure 1 Thai Shortbread Cookie supplemented by medium roasted Robusta coffee at (a) 1.8% (b) 3.6% and (c) 5.4%

Table 1 Sensory evaluation of the Thai Petal cookies supplemented by Preference Test

Sensory Evaluation	Thai Shortbread Cookie supplemented by Robusta Coffee (Percent)		
	1.8	3.6	5.4
Appearance	7.14 ± 1.49 ^a	7.30 ± 1.18 ^a	7.65 ± 0.80 ^b
Color	7.24 ± 1.32 ^a	7.30 ± 1.22 ^a	7.60 ± 0.80 ^b
Aroma	6.84 ± 1.28 ^a	7.81 ± 0.85 ^b	8.30 ± 0.81 ^c
Flavor	6.95 ± 1.29 ^a	7.78 ± 0.89 ^b	8.30 ± 0.78 ^c
Taste	7.22 ± 1.21 ^a	7.84 ± 0.87 ^b	8.24 ± 0.76 ^c
Texture	7.35 ± 1.30 ^a	7.87 ± 0.92 ^b	7.84 ± 0.80 ^c
Overall liking	7.30 ± 1.10 ^a	7.89 ± 0.81 ^b	8.27 ± 0.80 ^c

Values are represented as mean ± SD (N = 40). Mean values with different superscript letters along the rows are significantly different (P < 0.05).

2. ข้อมูลทางโภชนาการของขนมกลีบลำควนเสริมกาแฟเทียบกับขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐาน

ขนมกลีบลำควนที่เสริมกาแฟโรบัสต้าที่ระดับ 5.4% พบว่ามีสารอาหารหลายชนิดมีปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐาน กล่าวคือ ปริมาณโปรตีน ปริมาณแร่ธาตุหลายชนิด ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี เป็นต้น รวมไปถึงปริมาณของใยอาหาร ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งจากข้อมูลทางโภชนาการของขนมกลีบลำควนสูตรที่เสริมที่ระดับร้อยละ 5.4 ที่เพิ่มขึ้นจากขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐานที่มีสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตและไขมันเป็นหลัก โดยปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นในสูตรผสมกาแฟนั้นจะประกอบไปด้วยน้ำตาลที่มีประโยชน์ไม่ว่าจะเป็น น้ำตาลแมนโนส และน้ำตาลอะราบิโนสที่มากขึ้น ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้ที่เพิ่มขึ้นก็มีแหล่งที่มาจากผงกาแฟที่เสริมเข้าไปในขนมกลีบลำควน (Franca and Oliveira, 2022) นอกจากนี้ในเมล็ดกาแฟจะสามารถพบแร่ธาตุหลายชนิด ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม สตรอนเทียม

สังกะสี และโพแทสเซียม ในปริมาณ 1441.20, 48.36, 2133.91, 18634.66, 83.75, 16.25, 9.93 และ 2154.23 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (Janda *et al.*, 2020) ส่งผลให้การรับประทานขนมกลีบลำควนอาจจะสามารถทดแทนคุณค่าทางโภชนาการบางประการที่ได้รับจากการบริโภคอาหารในกลุ่มผักและผลไม้บางชนิด เพื่อให้ร่างกายได้รับสารอาหารในกลุ่มที่จำเป็นในปริมาณที่ร่างกายต้องการในแต่ละวัน ซึ่งพบว่า ในผัก 100 กรัม จะพบ แคลเซียม 25 มิลลิกรัม เหล็ก 0.82 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 22 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 51 มิลลิกรัม โซเดียม 35 มิลลิกรัม สังกะสี 0.083 มิลลิกรัม และโพแทสเซียม 169 มิลลิกรัม เป็นต้น (U.S. Department of Agriculture, 2019) ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณเกลือแร่ในเมล็ดกาแฟมีค่ามากกว่าการบริโภคผักในปริมาณที่เท่ากัน แต่ก็ไม่ได้หมายความว่า การบริโภคขนมกลีบลำควนจะมีคุณประโยชน์เทียบเท่ากับผักและผลไม้ เพียงแต่เป็นการเน้นย้ำว่าขนมกลีบลำควนที่เสริมด้วยผงกาแฟที่ได้ผลิตขึ้นในงานวิจัยครั้งนี้ มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงขึ้นกว่าการบริโภคขนมหวานชนิดอื่น ๆ

ปริมาณไฟเบอร์ที่เพิ่มมากขึ้นก็มีส่วนช่วยทำให้ขนมกลีบลำดวน เป็นขนมที่มีส่วนช่วยในระบบขับถ่ายเนื่องจาก ไฟเบอร์ที่เพิ่มมากขึ้นจากการใส่ผงกาแฟโรบัสต้าในขนมกลีบลำดวน ซึ่งเหมาะสมกับผู้บริโภคที่ต้องการปริมาณไฟเบอร์ซึ่งช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบขับถ่ายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มากขึ้น (Diaz-Rubio and Saura-calixto,2007) สอดคล้องกับการที่ European Food Safety Authority (2010) ได้แนะนำว่าในแต่ละวันจะต้องมีการบริโภคไฟเบอร์อย่างน้อย 25 กรัม เพื่อให้มีสุขภาพที่ดีซึ่งจากการมีภาวะสุขภาพที่ดีของระบบขับถ่าย

Table 2 Nutritional information of the regular Thai Shortbread cookie compared with the Thai Shortbread cookie supplemented by Robusta coffee at 5.4 %

Nutritional information	The Thai Shortbread cookie supplemented by Robusta coffee at 5.4 %	The regular Thai Shortbread cookie	Unit
Total energy	47.60	42.78	kcal
Protein	0.48	0.45	g
Carbohydrate	5.92	6.21	g
Sugar	2.83	2.86	g
Fiber	0.65	0.12	g
Lipid	1.71	1.79	g
Minerals			
Calcium	4.21	0.68	mg
Phosphorus	11.13	4.68	mg
Potassium	20.71	4.70	mg
Magnesium	6.85	0.95	mg
Sodium	0.11	0.12	mg
Phytate	2.21	2.21	g
Iron	0.73	0.20	mg
Copper	0.15	0.01	mg
Zinc	0.10	0.03	mg
Selenium	0.02	0.02	ug
Aluminium	1.29	N/A	mg
Manganese	0.19	N/A	mg
Vitamins			
B ₁	0.03	0.03	mg
B ₂	0.02	0.02	mg
Ashes	2.04	2.21	g
Phenolic compounds	0.012	N/A	g

3. การศึกษาปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดในขนมกลีบลำดวนเสริมกาแฟโรบัสต้า

จากการศึกษาพบว่าขนมกลีบลำดวนที่มีส่วนผสมของผงกาแฟโรบัสต้าร้อยละ 5.4 มีคุณค่าทางโภชนาการดีที่สุด จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารทั้งในกลุ่มที่ให้พลังงาน ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน เป็นต้น และสารอาหารที่ไม่ให้พลังงานเช่น เกลือแร่ และวิตามิน เป็นต้น เมื่อเทียบกับขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐานที่คัดแปลงมาจาก Noonium and Wongsudarak (2014) การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นอีกองค์ความรู้พื้นฐานที่สำคัญสำหรับการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์อาหาร การพัฒนารักษาโรค เครื่องสำอาง เพื่อเพิ่มความมั่งคั่งทางอาหารและลดความเสี่ยงที่มีต่อสุขภาพและภาวะทุพโภชนาการ

3.1 ปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

เมื่อนำขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐานและแบบที่เสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้าที่ร้อยละต่าง ๆ คือ 1.8, 3.6 และ 5.4 มาวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าการเพิ่มผงกาแฟโรบัสต้าส่งผลให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH มีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐาน โดยพบว่าส่วนผสมของกาแฟที่ร้อยละ 5.4 ส่งผลให้ขนมกลีบลำดวนมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ $1.39 \pm 0.01 \mu\text{g Trolox per g FW}$ (Table 3) เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ ที่มีการเสริมของส่วนประกอบจากเมล็ดกาแฟ เช่น เล็กผสมเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ ที่มีการผสมผลเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟร้อยละเก้าของน้ำหนักแป้งสาลี ส่งผลให้มีค่าอนุมูลอิสระสูงถึง $31.11 \mu\text{g Trolox per 100 g}$

FW (Phugan, 2021) และอีกการศึกษาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบจากเมล็ดกาแฟโรบัสต้าที่เสริมเข้าไปในขนมกลีบลำดวน และ Suphan and Kongjaroon (2021) พบว่า ในกาแฟสกัดเย็นที่อัตราส่วน 1:8 ที่เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง พบร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ร้อยละ 70 ซึ่งบ่งชี้ว่า สารสกัดจากกาแฟเป็นแหล่งอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) มีส่วนช่วยป้องกันเซลล์จากอนุมูลอิสระ (Free radicals) ที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมภายในเซลล์หรือเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีสารเร่งการเกิดอนุมูลอิสระเข้าไป ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นสาเหตุของการสร้างสารพิษภายในเซลล์ และส่งผลเซลล์ให้เกิดการตาย (Apoptosis) รวมถึงเป็นปัจจัยในการก่อโรคเรื้อรัง (Chronic Diseases) หลาย ๆ ชนิด (Gulcin, 2012) ดังนั้น การได้รับอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจะช่วยลดภาวะเสี่ยงต่อความผิดปกติต่าง ๆ (Yanagimoto *et al.*, 2004; Castillo *et al.*, 2019) ซึ่งจากการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของขนมกลีบลำดวนเบื้องต้น พบว่า ในขนมกลีบลำดวนเสริมด้วยผงกาแฟพบสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับสูงกว่าขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐานถึงประมาณ 4-8 เท่า ซึ่งจากการศึกษากิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดกาแฟโรบัสต้าพบว่า ระยะเวลาในการคั่วมีผลเชิงลบต่อประมาณกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะอยู่ในช่วง 18.6 – 28.2 g Gallic acid/100 g ในการศึกษาโดยใช้ Folin-Ciocalteu และ 36.4 – 48.2 g Trolox/100 g เมื่อมีการศึกษาด้วยวิธี ABTS (Vignoli *et al.*, 2014) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ทำให้ขนมกลีบลำดวนที่เสริมกาแฟโรบัสต้ามีปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น

Table 3 The quantity of DPPH antioxidant activity in Thai Shortbread cookies

Types of Thai Shortbread cookies	Quantity of DPPH antioxidant activity
	(μg Trolox per g FW)
Thai Shortbread cookie without Robusta coffee	0.16 \pm 0.07 ^a
Thai Shortbread cookie with 1.8% Robusta coffee	0.65 \pm 0.03 ^b
Thai Shortbread cookie with 3.6% Robusta coffee	1.38 \pm 0.04 ^c
Thai Shortbread cookie with 5.4% Robusta coffee	1.39 \pm 0.01 ^c

Values are represented as mean \pm SD (N = 3). Mean values with different superscript letters along the rows are significantly different (P < 0.05).

3.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม

เมื่อนำขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐานและแบบที่เสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้าที่ร้อยละต่าง ๆ คือ 1.8, 3.6 และ 5.4 มาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม พบว่าปริมาณผงกาแฟที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐาน โดยพบมากที่สุดในขนมกลีบลำควนเสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้าที่ร้อยละ 5.4 คือพบ 2.27 ± 0.06 mg Gallic acid per g FW (Table 4) ซึ่งจากการทดลองของ Hasbullah and Umiyati (2021) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมจะลดลงตามระดับความร้อนและเวลาในการคั่วกาแฟ ซึ่งพบว่าปริมาณฟีนอลิกโดยรวมของกาแฟโรบัสต้าคั่วกลางจะอยู่ที่ระดับประมาณ 150 mg/ml ซึ่งปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจะลดลงไปอีกจากการอบขนมกลีบลำควนที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และปริมาณที่ไต่ลงไปนขนมกลีบลำควน

เป็นปริมาณเพียงแก่ ประมาณ 0.5 กรัมเท่านั้น ในขนมกลีบลำควน 1 ชิ้น ซึ่งเมื่อเทียบสัดส่วนแล้วทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมจะเพิ่มขึ้นในสัดส่วนที่น้อยลง

สารประกอบฟีนอลิกเป็นหนึ่งในสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในกาแฟ โดยสารที่สำคัญได้แก่ กรดคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid) สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และคาเฟอีน (Caffeine) แม้ว่าสารประกอบฟีนอลิกจะหายไปถึง 30% ในเมล็ดกาแฟที่คั่วแล้ว (Kreicbergs *et al.*, 2011) แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดยังพบในปริมาณที่สูงถึง 2.27 ± 0.06 mg Gallic acid per g FW จากตัวอย่างขนมกลีบลำควนที่มีการเติมผงกาแฟที่ผ่านการคั่วแล้วไปลงร้อยละ 5.4 ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐานถึง 16 เท่า สารประกอบฟีนอลิกยังมีส่วนช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ คล้ายกับสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งช่วยลดปัจจัยความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังบางชนิดอีกด้วย (de Melo Pereira *et al.*, 2020)

Table 4 The total phenolic compound content in Thai Shortbread cookies

Types of Thai Shortbread cookies	Quantity of total phenolic compound (mg Gallic acid per g FW)
Thai Shortbread cookie without Robusta coffee	0.14 ± 0.03 ^a
Thai Shortbread cookie with 1.8% Robusta coffee	1.11 ± 0.03 ^b
Thai Shortbread cookie with 3.6% Robusta coffee	2.21 ± 0.08 ^c
Thai Shortbread cookie with 5.4% Robusta coffee	2.27 ± 0.06 ^c

Values are represented as mean ± SD (N = 3). Mean values with different superscript letters along the rows are significantly different (P < 0.05).

4. ปริมาณไขมัน

เมื่อนำขนมกลีบลำควนเสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้ามาวิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมด พบว่า เมื่อปริมาณผงกาแฟที่เพิ่มขึ้นไม่ส่งผลต่อปริมาณไขมันทั้งหมดที่เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ขนมกลีบลำควนทั้งสูตรมาตรฐานและสูตรที่เสริมกาแฟที่ร้อยละต่าง ๆ จะมีปริมาณไขมันประมาณ 20 % ซึ่งปริมาณไขมันนี้มาจากส่วนประกอบหลักที่เป็นน้ำมัน

ถั่วเหลืองที่ใส่ผสมกับส่วนประกอบอื่น ๆ ในร้อยละ 20 โดยประมาณ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไขมันที่สกัดได้โดยวิธี Soxhlet Extraction แสดงให้เห็นใน Table 5 ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไขมันที่พบในขนมกลีบลำควนที่เปรียบเทียบกับข้อมูลในตารางโภชนาการ ซึ่งให้เห็นว่าปริมาณไขมันของขนมกลีบลำควนที่มีผงกาแฟโรบัสต้าร้อยละ 5.4 ไม่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมันจากสูตรมาตรฐานของขนมกลีบลำควน

Table 5 The lipid content in Thai Shortbread cookies

Types of Thai Shortbread cookies	Lipid content (% per g DW)
Thai Shortbread cookie without Robusta coffee	19.10 ± 3.06 ^a
Thai Shortbread cookie with 1.8% Robusta coffee	20.00 ± 0.73 ^a
Thai Shortbread cookie with 3.6% Robusta coffee	20.39 ± 1.54 ^a
Thai Shortbread cookie with 5.4% Robusta coffee	21.86 ± 1.95 ^a

Values are represented as mean ± SD (N = 3). Mean values with different superscript letters along the rows are significantly different (P < 0.05).

5. ปริมาณไฟเบอร์

เมื่อนำขนมกลีบลำควนเสริมด้วยผงกาแฟโรบัสต้ามาวิเคราะห์ปริมาณไฟเบอร์ทั้งหมด พบว่า เมื่อปริมาณผงกาแฟที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณ

ไฟเบอร์ทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐาน โดยที่ขนมกลีบลำควนสูตรมาตรฐานตรวจพบปริมาณไฟเบอร์ทั้งหมด 1.71 ± 0.21 % และปริมาณจะเพิ่มขึ้นเป็น 2.61 ± 0.07%, 4.45 ± 0.05% และ 5.43 ± 0.37% ในขนมกลีบลำควน

เสริมกาแฟที่ร้อยละ 1.8, 3.6 และ 5.4 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 6 ซึ่งมีแนวโน้มที่สอดคล้องกับการคำนวณปริมาณไฟเบอร์โดย NutriSurvey ตามตารางโภชนาการของขนมกลีบลำควนที่แสดงใน Table 2 ที่พบปริมาณไฟเบอร์ในปริมาณที่มากขึ้นเกือบ 2 เท่า โดยการวิเคราะห์ข้อมูลทาง NutriSurvey จากการวิจัยพบว่า ปริมาณไฟเบอร์ที่พบใน Roasted Arabic coffee อยู่ที่ 24.24% (Alamri *et al.*, 2022) นอกจากนี้ ปริมาณไฟเบอร์ในกาแฟโรบัสต้าสายพันธุ์ต่าง ๆ ทั้งจากประเทศไทยและประเทศอินโดนีเซียจะอยู่ระหว่าง 16.587 ± 0.01 และ 20.740 ± 0.04 ต่อน้ำหนักเปียก (Yani and Novitasari, 2022)

แต่ในการวิเคราะห์ปริมาณไฟเบอร์พบว่า ในขนมกลีบลำควนสูตรที่มีผงกาแฟโรบัสต้าร้อยละ 5.4 มีปริมาณไฟเบอร์มากกว่าถึง 3 เท่า ปริมาณไฟเบอร์ที่เพิ่มมากขึ้นในขนมกลีบลำควนที่มีการเสริมของผงกาแฟนี้ย่อมมีส่วนให้ระบบขับถ่ายกากอาหารทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Diaz-Rubio and Saura-calixto, 2007) ซึ่งปริมาณไฟเบอร์ที่เหมาะสมในแต่ละวันตามหลักการของ European Food Safety Authority (2010) ได้แนะนำว่าในแต่ละวันจะต้องมีการบริโภคไฟเบอร์อย่างน้อย 25 กรัม เพื่อให้มีสุขภาพที่ดี นั่นหมายรวมถึงภาวะสุขภาพของระบบขับถ่าย

Table 6 The fiber content in Thai Shortbread cookies

Types of Thai Shortbread cookies	Fiber content (% per g DW)
Thai Shortbread cookie without Robusta coffee	1.71 ± 0.21^a
Thai Shortbread cookie with 1.8% Robusta coffee	2.61 ± 0.07^b
Thai Shortbread cookie with 3.6% Robusta coffee	4.45 ± 0.05^c
Thai Shortbread cookie with 5.4% Robusta coffee	5.43 ± 0.37^d

Values are represented as mean \pm SD (N = 3). Mean values with different superscript letters along the rows are significantly different (P < 0.05).

6. ปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร

ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร การตรวจสอบจุลินทรีย์มีความจำเป็นเพื่อเป็นหลักในเรื่องของความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งในการผลิตขนมกลีบลำควนทั้งสูตรมาตรฐานและสูตรเสริมกาแฟโรบัสต้าที่ร้อยละ 5.4 พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน โดยในการตรวจสอบแบคทีเรียพื้นฐานในอาหารพบว่า ปริมาณแบคทีเรียในขนมทั้งสองสูตรมีน้อยกว่า 3 MPN/g นอกจากนี้ ปริมาณแบคทีเรียอื่น ๆ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*

และ *Escherichia coli* ยังพบในปริมาณที่ต่ำ เช่นเดียวกันคือ $< 1.0 \times 10$ CFU/g และ < 3.0 MPN/g ตามลำดับ นอกจากเชื้อแบคทีเรียแล้ว จากการทดสอบพบปริมาณ ยีสต์และรา (Yeast and Mold) ในปริมาณที่ต่ำมาก นั่นคือ < 10 ESPC/g ในขนมทั้งสองสูตรมาตรฐานและสูตรที่เสริมกาแฟโรบัสต้าร้อยละ 5.4 และปริมาณ Total Plate Count ของขนมทั้งสองสูตรพบที่ระดับที่น้อยกว่า 25×10 CFU/g ดังแสดงใน Table 7

Table 7 Types and quantity of microbial organisms in the standard Thai Shortbread cookie compared with the Thai Shortbread cookie supplemented by Robusta coffee at 5.4 % (Day 0 and Day 90)

Microbial types	Microbial quantity			
	Thai Community Product Standard	The standard Thai Shortbread cookie	The Thai Shortbread cookie supplemented by Robusta coffee at 5.4 % (Day 0)	The Thai Shortbread cookie supplemented by Robusta coffee at 5.4 % at (Day 90)
Coliform Bacteria	< 3.0 MPN/g	< 3.0 MPN/g	< 3.0 MPN/g	< 3.0 MPN/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 1.0×10 ⁶ CFU/g	< 1.0 × 10 ⁶ CFU/g	< 1.0 × 10 ⁶ CFU/g	< 1.0 × 10 ⁶ CFU/g
<i>Escherichia coli</i>	< 3.0 MPN/g	< 3.0 MPN/g	< 3.0 MPN/g	< 3.0 MPN/g
Yeast and Mold	< 100 ESPC/g	< 10 ESPC/g	< 10 ESPC/g	< 10 ESPC/g
Total Plate Count	< 1 × 10 ⁶ CFU/g	< 25 × 10 ⁶ CFU/g	< 25 × 10 ⁶ CFU/g	< 25 × 10 ⁶ CFU/g

นอกจากนี้ ภายหลังจากที่เก็บขนมกลีบลำดวนเสริมกาแฟไว้ในถุงพลาสติกใสชนิด Polypropylene (PP) และบรรจุลงไปในกล่องพลาสติกเพื่อป้องกันอากาศเป็นเวลา 90 วัน ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส พบว่า หลังจากเก็บขนมกลีบลำดวนเสริมกาแฟโรบัสต้าร้อยละ 5.4 ไม่พบการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ยังคงมีจำนวนที่เท่าเดิม กล่าวคือ ปริมาณ Coliform Bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Yeast and Mold, และ Total Plate Count อยู่ที่ < 3.0 MPN/g, < 1.0 × 10⁶ CFU/g, < 3.0 MPN/g, < 10 ESPC/g และ < 25 × 10⁶ CFU/g ตามลำดับ (Table 7) ซึ่งเมื่อเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช) 118/2555 พบว่า ผลิตภัณฑ์ขนมกลีบลำดวนที่เสริมกาแฟร้อยละ 5.4 ที่เก็บไว้ในถุงพลาสติกใสชนิด Polypropylene (PP) และบรรจุลงไปในกล่องพลาสติกเพื่อป้องกันอากาศเป็นเวลา 90 วัน ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ยัง

มีค่าจุลินทรีย์ที่สอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช) 118/2555 (Prince of Songkhla University, 2006)

สรุป

ขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐานเป็นขนมที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่ประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรต และไขมันเป็นองค์ประกอบหลัก แต่การเสริมผงกาแฟโรบัสต้าเข้าไปในขนมกลีบลำดวนสูตรมาตรฐานในร้อยละ 5.4% ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด ขนมกลีบลำดวนเสริมผงกาแฟโรบัสต้าจึงเป็นหนึ่งในทางเลือกที่ดีต่อสุขภาพ เนื่องจาก มีปริมาณโปรตีน แร่ธาตุหลายชนิดที่เพิ่มมากขึ้น ปริมาณไฟเบอร์เพิ่มขึ้น % DPPH Scavenging activity เพิ่มขึ้น 4-8 เท่า และสารประกอบฟีนอลิกที่มากขึ้นถึง 16 เท่า ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไม่ว่าจะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบ

ฟีนอลิกซึ่งสารดังกล่าว นอกจากจะเป็นประโยชน์ในเรื่องของการป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระในเซลล์แล้ว ก็ยังมีคุณสมบัติช่วยป้องกันไม่ให้เกิดโรคเรื้อรังอีกด้วย ยังมีการรายงานว่าสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารช่วยลดการเกิดออกซิเดชันในอาหาร ซึ่งส่งผลให้อาหารมีระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น จะเห็นได้ว่า ระยะเวลาการเก็บขนมกลีบลำควนที่ 90 วัน ไม่ส่งผลต่อปริมาณจุลินทรีย์พื้นฐานที่พบในขนมกลีบลำควนเสริมกาแฟ ซึ่งจากการสันนิษฐานพบว่า เนื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ อาจจะมีส่วนช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในขนมกลีบลำควนด้วย แต่ทั้งนี้จำเป็นต้องทดสอบค่าความชื้น (Moisture content) แอคทีวิตีของน้ำ (a_w) และ Lipid oxidation ในระยะเวลาการเก็บรักษา 90 วัน เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาถึงปัจจัยการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารในขั้นตอนนี้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ประจำปีงบประมาณ 2565

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 1990. Oil and Fats, pp. 951-986. *In* Helrich, K., eds. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists.** Association of Official Analytical Chemists, USA.

Ainsworth, E.A. and Gillespie, K.M. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-

ciocalteu reagent. **Nature Protocols** 2(4): 875-877.

Alamri, E., Rozan, M. and Bayomy, H. 2022. A study of chemical composition, antioxidants, and volatile compounds in roasted Arabic coffee. **Saudi Journal of Biological Sciences** 29: 3133-3139.

Castillo, M. , Iriondo- DeHond, A. , Fernández-Gómez, B. , Martínez Sáez, N. , Rebollo-Hernanz, M. , Martín-Cabrejas, M.A. and Farah, A. 2019. Coffee antioxidants in chronic diseases, pp. 20-56. *In* Farah, A., eds. **Coffee: Consumption and Health Implications.** Royal Society of Chemistry, UK.

Diaz- Rubio, M.E. and Saura-calixto, F. 2007. Dietary fiber in brewed coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 55(5): 1999-2003.

de Melo Pereira, G. V. , de Carvalho Neto, D.P. , Magalhães Júnior, A. I. , do Prado, F. G. , Pagnoncelli, M. , Karp, S.G. and Soccol, C.R. 2020. Chemical composition and health properties of coffee and coffee by products. **Advances in Food and Nutrition Research** 91: 65-96.

European Food Safety Authority. 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. **EFSA Journal** 8(3): 1-77.

Franca, A.S. and Oliveira, L.S. 2022. Potential uses of spent coffee grounds in the food industry. **Foods** 11(14): 2064-2083.

- Food and Drug Administration (FDA). 2022. **Bacteriological analytical manual (BAM)**. Available Source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>, September 06, 2022.
- Gulcin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology** 86: 345-391.
- Hasbullah, U. and Umiyati, R. 2021. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Arabica and Robusta coffee at different roasting levels. **Journal of Physics** 1764(1): 012033.
- Inprasit, C. and Gutlee, P. 2014. A small scale coffee bean roaster that preserves coffee quality by pressure regulation. **Journal of Science and Technology Kasetsart University** 3(3): 64-77. (in Thai)
- Janda, K., Jakubczyk, K., Baranowska-Bosiacka, I., Kapczuk, P., Kochman, J., Re ȓacz-Maron, E. and Gutowska, P. 2020. Mineral composition and antioxidant potential of coffee beverages depending on the brewing method. **Foods** 9: 121-137.
- Kreicbergs, V., Dimins, F., Mikelsone, V. and Cinkmanis, I. 2011. Biologically active compounds in roasted coffee, pp. 110-115. *In The 6th Baltic Conference on Food Science and Technology “Innovations for Food Science and Production” Foodbalt.* Jelgava, Latvia.
- Lee, S.C. and Prosky, L. 1995. International survey on dietary fiber definition, analysis, and reference materials. **Journal of AOAC International** 78(1): 22-36.
- Monteiro, M., Santos, R. A., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C. R., Gouvinhas, I., Barros, A., Oliva-Teles, A., Enes, P. and DÍaz-Rosales, P. 2020. Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro- and microalgae extracts. **Journal of Applied Phycology** 32: 349-362.
- Munyendo, L.M., Njoroge, D.M., Owaga, E.E. and Mugendi, B. 2021. Coffee phytochemicals and post-harvest handling a complex and delicate balance. **Journal of Food Composition and Analysis** 102: 103995
- Noonium, T. and Wongsudarak, W. 2014. Utilization of Sang-yod rice flour in Thai shortbread cookies product, pp. 977-985. *In The 6th SKRU National Conference: Focus on Education and Culture for Community Development.* Songkhla Rajabhat University, Songkhla. (in Thai)
- Prince of Songkhla University. 2006. **Manuals of OTOP development.** iPrintOut, Pang Nga. (in Thai)
- Phugan, P. 2021. Effects of coffee peel powder supplementation on qualities of cake. **Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology)** 16(1): 75-85.
- Suphan, P. and Kongjaroon, C. 2021. Antioxidation capacity of cold brew coffee, pp. 1112-1119. *In The 2nd Faculty of Science and Technology, Maejo University: Science Technology and Innovation.* Chaing Mai. (in Thai)

- Suweero, K. , Thimayong, D. , Rimkeeree, H. and Depanya, W. 2021. Development of gluten free Thai cookie “ Kleeb Lum Duan” powder. **Journal of Engineering, RMUTT** 18(2): 23-34.
- U.S. Department of Agriculture. 2019. Vegetables, mixed, frozen, cooked, boiled, drained, without salt. **USDA Agricultural Research Service.** Available Source: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170472/nutrients>, January 31, 2023.
- Vignoli, J. A. , Viegas, M. C. , Bassoli, D. G. and Benassi, M. T. 2014. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International** 61: 279-285.
- Yanagimoto, K., Ochi, H., Lee, K.G. and Shibamoto, T. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 52(3): 592-596.
- Yani, A. and Novitasari, E. 2022. Quality evaluation of robusta coffee bean from four superior clones with semi-wet processing in lampung province. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science** 1024: 012028.

ผลของการเตรียมความพร้อมเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงด้วย

Trichoderma harzianum ต่อความสามารถในการงอก

การเก็บรักษา และการเจริญเติบโตของต้นกล้า

Effect of Red Hawm Rice Seed Bio-Priming with *Trichoderma harzianum* on Seed Germination, Storability and Seedling Growth

ปัทมาวดี คุณวัลลี* และ กนกวัน ปลอดจินดา

Pattamavadee Kunwanlee* and Kanokwan Plodjinda

Received: 7 June 2022, Revised: 23 November 2022, Accepted: 26 January 2023

บทคัดย่อ

การเตรียมความพร้อมเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยไตรโคเดอร์มาสามารถช่วยควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ส่งเสริมการงอกและความแข็งแรงของเมล็ด แต่หลังจากไพร้มเมล็ดแล้วต้องนำไปใช้ทันที เนื่องจากเมล็ดจะเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็วระหว่างการเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาด้วย ดังนั้นจึงศึกษาผลของการไพร้มเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงด้วยไตรโคเดอร์มาต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเจริญเติบโตของต้นกล้าระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน วางแผนการทดลองแบบ 3x2 Factorial in Completely Randomized Design มี 2 ปัจจัย ปัจจัย A การไพร้มเมล็ดพันธุ์ (ชุดควบคุม น้ำกลั่น และไตรโคเดอร์มา) ปัจจัย B สภาพการเก็บรักษา (อุณหภูมิ 25°C และ 10°C) พบว่า คุณภาพเมล็ดพันธุ์ก่อน และหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน เมล็ดพันธุ์มีความงอกสูง ความงอก เวลาเฉลี่ยในการงอก ความยาวยอดและรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า เมล็ดที่ไพร้มด้วยน้ำกลั่นและไตรโคเดอร์มาแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C ทำให้เมล็ดมีความงอกสูง (90.50% และ 83.00% ตามลำดับ) และความเร็วเฉลี่ยในการงอกเร็วกว่าที่รีดเมนต์อื่น ๆ (3.45 และ 3.35 วัน ตามลำดับ) เมล็ดที่ไพร้มด้วยไตรโคเดอร์มาแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C มีความยาวยอด (10.19 ซม.) และราก (5.47 ซม.) มากที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปได้ว่า การไพร้มเมล็ดด้วยไตรโคเดอร์มาช่วยส่งเสริมการงอก ความเร็วเฉลี่ยในการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ดี และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่ไพร้มแล้วที่อุณหภูมิ 25°C สามารถเก็บรักษาเมล็ดได้นาน 2 เดือน ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C สามารถยืดอายุเก็บรักษาได้นาน 4 เดือน

คำสำคัญ: ไบโอดีปริงมิ่งเมล็ด, ไตรโคเดอร์มา, คุณภาพเมล็ดพันธุ์, อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์, ข้าวหอมมะลิแดง

สาขาวิชานวัตกรรมเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.

* ผู้เขียนหลักไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): pattamavadee.k@psu.ac.th

ABSTRACT

Seed priming with *Trichoderma harzianum* can control plant pathology caused by fungi and promote seed germination and vigor. The primed seed must be used immediately as it rapidly deteriorates during storage. However, seed deterioration also depends on the storage temperature. Therefore, the effect of red jasmine rice seed priming with *T. harzianum* on seed quality and seedling growth rate during storage for 4 months was studied. The experimental design was 3x2 Factorial in Completely Randomized Design with 2 factors: Factor A representing seed priming (control, distilled water and *T. harzianum*) and Factor B representing storage condition (temperature 25°C and 10°C). Before and after storage for two months, the result showed that seed moisture content, germination, mean germination time shoot, and root length were not significantly different. After storage for 4 months, the result showed that the primed seed with distilled water and *T. Harzianum*, and stored at 10°C, had high seed germination (90.50% and 83.00%, respectively), and lower mean germination time (3.45 and 3.35 days, respectively) compared to other treatments. The primed seed with *T. harzianum* stored at 10°C had the longest shoot (10.19 cm) and root length (5.47 cm), with statistical significance. This study concluded that seed priming with *T. harzianum* promoted seed germination, average germination time and seedling growth rate. Storing primed seed at 25°C can preserve them for 2 months, while storage at 10°C can prolong preservation for 4 months.

Key words: seed bio-priming, *Trichoderma harzianum*, seed quality, seed storage, Red Jasmine Rice

บทนำ

ข้าวหอมมะลิแดง ข้าวมะลิแดง หรือข้าวหอมแดง (Red howm rice) ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์เบาที่เกิดจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ศูนย์วิจัยข้าวจังหวัดสุรินทร์ ในปี 2527 มีลักษณะกึ่งข้าวเหนียวและข้าวเจ้า มีเชื้อหุ้มเมล็ดสีแดงเข้ม และมีการคัดเลือกพันธุ์จนได้รับการรับรองพันธุ์ในปี 2542 มีลักษณะประจำพันธุ์ เป็นข้าวเจ้า ไร่ต่อช่วงแสง ลำต้นสูง 120-130 เซนติเมตร (Division of Rice Research and Development, 2016) มีรายงานว่า เป็นพันธุ์ข้าวที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ วิตามินอีสูงกว่าข้าวกล้องทั่วไปถึง 11.2 เท่า ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และลดความเสี่ยงโรคหัวใจ มีธาตุเหล็ก 1.2 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น เบต้าแคโรทีน

ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (Division of Rice product Development, 2022) ข้าวหอมมะลิแดงหุงสุกจะลักษณะนุ่ม หอมเหมือนข้าวขาวดอกมะลิ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระถึง 1.41 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Chamnarnsin and Ahromrit, 2011) มีปริมาณดัชนีน้ำตาลซูโครสเพิ่มสูงขึ้นสูงกว่าข้าวเจ้าทั่วไป จึงเป็นข้าวที่เหมาะสมสำหรับผู้บริโภคที่ให้ความสำคัญกับสุขภาพ และยังเหมาะกับผู้ป่วยที่มีสภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 (Division of Rice product Development, 2022) การผลิตข้าวหอมมะลิแดงมีปลูกกันแพร่หลายเพื่อการบริโภคเพื่อสุขภาพ จึงเหมาะกับการผลิตข้าวอินทรีย์ โรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เป็นปัญหาหนึ่งของการผลิต และผลผลิตข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกข้าวในพื้นที่ภาคใต้ซึ่งอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก และพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ลุ่มจึงมักประสบปัญหาการ

อ่อนแอต่อโรคพืช ได้แก่ โรคใบไหม้ และโรคขอบใบแห้ง ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อราก่อโรคพืช เกษตรกรส่วนใหญ่เก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้เอง เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้มักเจอปัญหาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ความงอก และความแข็งแรงต่ำ รวมถึงโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วย ได้แก่ *Bipolaris oryzae*, *Trichocoiella padwickii* และ *Fusarium moniliforme* (Sittigul *et al.*, 1992) ส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าวในพื้นที่ภาคใต้ต่ำลง ปัจจุบันมีเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์มากมายในการช่วยยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ การคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีเพื่อป้องกันเชื้อรา การแช่เมล็ดในสารเคมีหรือสารชีวภาพต่าง ๆ เช่น น้ำหมักต่าง ๆ หรือไตรโคเดอร์มา เพื่อเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดพันธุ์ และการทำไบโอไพรมิ่ง (Bio-priming) ถือว่าเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะช่วยยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ก่อนการปลูกที่มีประสิทธิภาพดี ซึ่งเป็นการบูรณาการทางชีวภาพและการควบคุมโรคพืชโดยอาศัยสรีรวิทยาของเมล็ด โดยทำการปลูกเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สู่เมล็ดเพื่อปกป้องเมล็ดพันธุ์ (Reddy, 2012) หรือเพิ่มความแข็งแรงให้กับเมล็ดพันธุ์ในกระบวนการงอก (Araújo *et al.*, 2016) และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และทนต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ ได้ (Araújo *et al.*, 2016; Chakraborti *et al.*, 2022) ไตรโคเดอร์มาเป็นสารชีวภัณฑ์ที่มีรายงานในการทำไพรมิ่ง Swain *et al.* (2021) รายงานว่าการไพรม์เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยไตรโคเดอร์มาส่งเสริมการงอกของเมล็ด เมล็ดงอกเร็วขึ้น เพิ่มความแข็งแรงให้กับต้นกล้า และผลผลิตข้าว แต่โดยทั่วไปหลังจากการไพรม์เมล็ดพันธุ์แล้วจะต้องใช้ทันทีหรืออาจจะเก็บไว้ได้เพียงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น เนื่องจากเมล็ดที่ไพรม์แล้วจะมีการเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว ทำให้ความงอกและความแข็งแรงลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่ไพรม์ (Argerich *et al.*, 1989; Schwember and Bradford, 2005; Hussain *et al.*, 2015;

Nithya and Geetha, 2017) ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (Murthy *et al.*, 2003) จากการศึกษาของ Hussain *et al.* (2015) รายงานว่า การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวหลังการไพรม์สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C ได้นาน 15 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดไม่ไพรม์ ในขณะที่การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวที่อุณหภูมิ -4°C ไม่มีผลกระทบต่อการงอก และความแข็งแรงของต้นกล้า อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้าวในปริมาณมากที่อุณหภูมิ -4°C อาจต้องใช้ต้นทุนในการเก็บรักษาสูง หากสามารถการเก็บรักษาในสภาวะควบคุมอุณหภูมิและความชื้นให้ต่ำได้ อาจเป็นประโยชน์ต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ภาคอุตสาหกรรม หน่วยงานราชการที่มีห้องควบคุมอุณหภูมิสำหรับการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์อยู่แล้ว ดังนั้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการไพรม์เมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงด้วยไตรโคเดอร์มาต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเจริญเติบโตของต้นกล้าระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเมล็ดพันธุ์

ล้างเมล็ดข้าวหอมมะลิแดงด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์เข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเป็นเวลา 1 นาที จำนวน 3 ครั้ง ผึ่งเมล็ดในอุณหภูมิห้อง ที่มีการระบายอากาศได้ดี 1 คืน (12 ชั่วโมง) จากนั้นนำเมล็ดแช่ในสารแขวนลอยไตรโคเดอร์มา จำนวนสปอร์ 1×10^9 สปอร์/มล. และน้ำกลั่น อัตราเมล็ด 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นลดความชื้นเมล็ดให้มีความชื้นเท่ากับความชื้นเริ่มต้น (8.56%) และนำเมล็ดพันธุ์บรรจุไว้ในถุงพลาสติกซิปปหนา 0.2 มิลลิเมตร จำนวน 2 กิโลกรัม/ทริตเมนต์ เพื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ในสภาพ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง (25°C) และห้องควบคุม

อุณหภูมิ (10°C ความชื้นสัมพัทธ์ 60%) หลังจากไพรม์เมล็ดพันธุ์แล้ว นำเมล็ดมาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ก่อน (0 เดือน) และหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน โดยนำเมล็ดมาตรวจสอบทุก 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Complete Randomized design จำนวน 4 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย ได้แก่

- ปัจจัย A การไพรม์เมล็ด
 - A1 เมล็ดปกติไม่ไพรม์ (ชุดควบคุม)
 - A2 ไพรม์ด้วยน้ำกลั่น 12 ชั่วโมง
 - A3 ไพรม์ด้วยไตรโคเดอร์มา 12 ชั่วโมง
- ปัจจัย B สภาพการเก็บรักษา
 - B1 อุณหภูมิ 25±2°C
 - B2 อุณหภูมิ 10°C

2. การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

1. เพอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ สุ่มเมล็ดพันธุ์จำนวน 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ ชั่งน้ำหนักเมล็ดก่อนอบ และหลังอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ISTA, 2008) คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ด

$$\% \text{ความชื้นโดยน้ำหนักสด} = \frac{(\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง})}{\text{น้ำหนักสด}} \times 100$$

2. เพอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน (ISTA, 2008) สุ่มเมล็ด 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ เพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะ โดยวิธี between paper วางในตู้เพาะเมล็ด โดยใช้อุณหภูมิสลับ 25°C/20°C ประเมินความงอกโดยนับจำนวนต้นกล้าปกติครั้งแรก 7 วันหลังเพาะ และประเมินความงอกครั้งสุดท้าย 14 วันหลังเพาะ คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน

3. เวลาเฉลี่ยในการงอก เพาะเมล็ดตามวิธีการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน ประเมินความงอกต้นกล้าปกติทุก 2 วันหลังจากที่เมล็ดงอกครั้งแรกจนกระทั่งวันสุดท้ายที่เมล็ดงอก คำนวณความเร็วเฉลี่ยในการงอกดังนี้

$$\text{เวลาเฉลี่ยในการงอก} = \frac{\sum D_n}{\sum n}$$

n = จำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติในวันที่ตรวจนับ
D = วันที่ตรวจนับ

4. การเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยวิธี seedling growth rate สุ่มเมล็ด 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ เพาะในกระดาษเพาะ โดยวิธี between paper จำนวน 2 แถว แถวละ 25 เมล็ด วางม้วนกระดาษในตู้เพาะที่มีสภาพมืด อุณหภูมิ 25°C 100%RH เป็นเวลา 7 วัน ประเมินการเจริญเติบโตของต้นกล้าโดยการวัดความยาวส่วนยอดและรากของต้นกล้าปกติ (Baki and Anderson, 1973)

5. การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทริตเมนต์ โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม R software package version 2.14.0 (R Core Team, 2011)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลของการไพรม์เมล็ดต่อความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงระหว่างการเก็บรักษา

จากการทดสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงที่ไพรม์ด้วยไตรโคเดอร์มา น้ำกลั่น และชุดควบคุม (ตารางที่ 1) พบว่า ความชื้นของเมล็ดที่ไพรม์และไม่ไพรม์ก่อนนำไปเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (0 เดือน) มีความชื้นของเมล็ดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยความชื้นของเมล็ดอยู่ในช่วง 8.40% (น้ำกลั่น) ถึง 8.77% (ไตรโคเดอร์มา) เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ เป็นเวลา 2 และ 4 เดือน (ตารางที่ 1) พบว่า มีผลทำให้ความชื้นของเมล็ดพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงโดยมีความชื้นเพิ่มขึ้นจากความชื้นเริ่มต้น (เดือน 0) เนื่องจากเมล็ดพันธุ์มีคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยน

ความชื้นกับบรรยากาศได้ โดยมีความสัมพันธ์ทางบวก เมื่อความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้นจะทำให้ความชื้นของเมล็ดเพิ่มขึ้นด้วยจนเข้าสู่จุดสมดุล (Robert and Ellis, 1989) โดยความชื้นของเมล็ดที่เพิ่มขึ้นยังอยู่ในระดับปลอดภัยต่อการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในอุณหภูมิ 25°C และ 10°C เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างการไพร้มเมล็ดและอุณหภูมิเก็บรักษาในทั้ง 2 อุณหภูมิ พบว่า ความชื้นของเมล็ดมี

ความแตกต่างกันทางสถิติ การไพร้มเมล็ดด้วยน้ำกลั่น/25°C มีผลให้ความชื้นของเมล็ดสด (11.29%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม/25°C และ ไตรโคเดอร์มา/25°C ความชื้นของเมล็ดที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในระหว่างการเก็บรักษา โดยความชื้นของเมล็ดสูงจะส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของเมล็ดพันธุ์เร็วกว่าเมล็ดที่มีความชื้นต่ำ (Hlyka and Robinson, 1954)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงภายหลังการไพร้มเมล็ดระหว่างการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 25°C และ 10°C เป็นเวลา 4 เดือน

ทรีตเมนต์	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)		
	0	2	4
ปัจจัย A (การไพร้มเมล็ด)	เปอร์เซ็นต์ (%)		
A1 : ชุดควบคุม	8.62±0.14	10.22±0.08	10.13±0.75
A2 : เมล็ดไพร้มด้วยน้ำกลั่น	8.40±0.11	11.45±0.23	10.78±0.72
A3 : เมล็ดไพร้มด้วยไตรโคเดอร์มา	8.77±0.29	10.66±0.33	10.40±0.76
ปัจจัย B (อุณหภูมิการเก็บรักษา)			
B1 : อุณหภูมิ 25°C	8.47±0.13	10.82±0.51	10.21±0.94
B2 : อุณหภูมิ 10°C	8.72±0.25	10.73±0.77	10.59±0.28
ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง ปัจจัย AxB			
A1B1 : ชุดควบคุม/25°C	8.52±0.64	10.28±2.54	9.60±0.41 b
A1B2 : ชุดควบคุม/10°C	8.72±0.49	10.16±2.06	10.67±0.45 ab
A2B1: น้ำกลั่น/25°C	8.32±0.76	11.29±0.88	11.29±1.65 a
A2B2 : น้ำกลั่น/10°C	8.48±0.34	11.61±1.40	10.27±0.60 ab
A3B1 : ไตรโคเดอร์มา/25°C	8.56±0.56	10.90±1.68	9.75±0.38 b
A3B2 : ไตรโคเดอร์มา/10°C	8.98±0.44	10.43±1.57	10.83±0.89 ab
F-test			
A	ns	ns	ns
B	ns	ns	ns
AxB	ns	ns	*
CV (%)	6.46	16.39	8.22

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. ผลของการไพร้มเมล็ดต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงระหว่างการเก็บรักษา

จากการทดสอบการไพร้มเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงด้วยไตรโคเดอร์มา น้ำกลั่นและชุดควบคุมต่อความงอกมาตรฐานของเมล็ด พบว่า เมล็ดทุกชนิดเริ่มต้นมีความงอกมาตรฐานไม่แตกต่างกันทางสถิติ ความงอกอยู่ในช่วง 87.50% (ชุดควบคุม/25°C) – 93.00% (น้ำกลั่น/10°C) แต่เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เป็นเวลา 2 และ 4 เดือน พบว่า ในการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือนทำให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (การไพร้มเมล็ด อุณหภูมิการเก็บรักษา และปฏิสัมพันธ์ระหว่างการไพร้มเมล็ดและอุณหภูมิการเก็บรักษา) การไพร้มเมล็ดด้วยไตรโคเดอร์มาและน้ำกลั่นทำให้เมล็ดมีความงอกลดลงเหลือ 45.25% และ 46.50% ตามลำดับ การเก็บรักษาเมล็ดในอุณหภูมิ 10°C (84.17%) ทำให้เมล็ดมีความงอกสูงกว่าการเก็บในอุณหภูมิ 25°C (19.67%) ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการไพร้มด้วยไตรโคเดอร์มา และน้ำกลั่นในอุณหภูมิ 10°C ทำให้เมล็ดมีความงอกเฉลี่ย

83.00% และ 90.50% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดชุดควบคุม (79.00%) ในขณะที่เมล็ดที่ผ่านการไพร้มด้วยไตรโคเดอร์มา และน้ำกลั่นในอุณหภูมิ 25°C มีผลให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพและหมดความมีชีวิต (10.00% และ 0.00% ตามลำดับ) (ตารางที่ 2) ซึ่งอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญและส่งผลกระทบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากอุณหภูมิมีผลโดยตรงกับปฏิกิริยาเคมี และกิจกรรมเอนไซม์ในกระบวนการทางสรีรวิทยาของเมล็ด และชีวเคมีต่าง ๆ ภายในเมล็ด เมื่อเก็บรักษาเมล็ดในอุณหภูมิสูงและมีความชื้นสูงด้วยการเคลื่อนย้ายโมเลกุลของเมล็ดพันธุ์เกิดขึ้นเร็วกว่าการเก็บรักษาเมล็ดในสภาพอุณหภูมิต่ำ ในขณะที่การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์อุณหภูมิต่ำส่งผลให้การเคลื่อนที่ของโมเลกุลของไซโตพลาสซึมของเมล็ดต่ำ (seed cytoplasm) ชะลอปฏิกิริยาบางอย่างในเมล็ด (Buitink *et al.*, 1998) จึงทำให้เมล็ดที่ผ่านการไพร้มแล้วนำไปเก็บในอุณหภูมิ 10°C ส่งผลให้เมล็ดมีการเสื่อมคุณภาพช้ากว่าการเก็บรักษาเมล็ดในอุณหภูมิ 25°C จึงสามารถชะลอการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ได้

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงภายหลังการไพร้มเมล็ดระหว่างการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 25°C และ 10°C เป็นเวลา 4 เดือน

ทรีตเมนต์	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)		
	0	2	4
ปัจจัย A (การไพร้มเมล็ด)			
เปอร์เซ็นต์ (%)			
A1 : ชุคควบคุม	87.75±0.35	77.75±5.30	64.00±21.21 a
A2 : เมล็ดไพร้มด้วยน้ำกลั่น	91.75±1.77	81.75±0.35	46.50±63.99 b
A3 : เมล็ดไพร้มด้วยไตรโคเดอร์มา	92.25±0.35	83.00±4.24	45.25±51.62 b
ปัจจัย B (สภาพการเก็บรักษา)			
B1 : อุณหภูมิ 25°C	90.00±2.29	78.50±3.97 b	19.67±25.89 b
B2 : อุณหภูมิ 10°C	91.17±2.75	83.17±2.46 a	84.17±5.83 a
ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง AxB			
A1B1 : ชุคควบคุม/25°C	87.50±4.43	74.00±6.32	49.00±6.83 c
A1B2 : ชุคควบคุม/10°C	88.00±4.00	81.50±3.00	79.00±6.22 b
A2B1 : น้ำกลั่น/25°C	90.50±6.19	81.50±5.99	0.00±0.00 e
A2B2 : น้ำกลั่น/10°C	93.00±3.46	82.00±5.45	90.50±5.44 a
A3B1 : ไตรโคเดอร์มา/25°C	92.00±4.32	80.00±5.66	10.00±4.32 d
A3B2 : ไตรโคเดอร์มา/10°C	92.50±1.00	86.00±5.34	83.00±5.30 ab
F-test			
A	ns	ns	*
B	ns	*	*
A x B	ns	ns	*
CV (%)	4.63	6.32	11.11

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3. ผลของการไพร้มเมล็ดต่อเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงระหว่างการเก็บรักษา
จากการทดสอบไพร้มเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงด้วยไตรโคเดอร์มา น้ำกลั่น และชุคควบคุม

ต่อเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ด (ตารางที่ 3) พบว่าการไพร้มเมล็ดและอุณหภูมิการเก็บรักษาไม่มีผลต่อเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดทั้งก่อนการเก็บรักษา (0 เดือน) และหลังเก็บรักษา 2 เดือน โดยมีเวลาเฉลี่ย

ในการงอกในช่วง 3.01 วัน (ไทรโคเดอร์มา/25°C) ถึง 3.20 วัน (ชุดควบคุม/10°C) และ 3.34 วัน (ไทรโคเดอร์มา/ 10°C) ถึง 4.30 วัน (ชุดควบคุม/25°C และ 10°C) ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดชุดควบคุม/25°C และ ชุดควบคุม/10°C จะเห็นว่าเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดสูงกว่าการไพร้มทั้ง 2 วิธี เนื่องจากการไพร้มเมล็ดช่วยเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ และกระบวนการทางชีวเคมีภายในเมล็ด ส่งผลให้เมล็ดสามารถงอกได้ดีขึ้น งอกเร็วขึ้น และงอกสม่ำเสมอ และส่งผลให้ต้นกล้าแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี (McDonald, 2000) เมื่อเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ 4 เดือน พบว่า เวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดระหว่างการไพร้มเมล็ดและ อุณหภูมิการเก็บรักษามีความแตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ โดยการไพร้มเมล็ดด้วยไทรโคเดอร์มา/10°C มีเวลาเฉลี่ยในการงอกเร็วที่สุด (3.35 วัน) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับน้ำกลั่น/10°C (3.45 วัน) และชุดควบคุม/10°C (3.94 วัน) ในขณะที่เมล็ดที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ 25°C แสดงอาการเสื่อมคุณภาพ โดยแสดงให้เห็นว่าเมล็ดมีเวลาเฉลี่ยในการงอกช้าลง โดยชุดควบคุมมีเวลาเฉลี่ยในการงอก 5.88 วัน เมล็ดที่ไพร้มด้วยไทรโคเดอร์มามีเวลาเฉลี่ยในการงอก 8.53 วัน และ การไพร้มด้วยน้ำกลั่น พบว่า เมล็ดไม่สามารถงอกได้ แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่ไพร้มด้วยน้ำกลั่นและไทรโคเดอร์มาสามารถเก็บรักษาได้ในสภาพอุณหภูมิต่ำที่ 10°C อีกทั้งยังสามารถรักษาความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไว้ได้

ตารางที่ 3 เวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงภายหลังการไพร้มเมล็ดระหว่างการเก็บรักษาใน อุณหภูมิ 25°C และ 10°C เป็นเวลา 4 เดือน

การไพร้มเมล็ด	อุณหภูมิการเก็บรักษา	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)		
		0	2	4
		วัน		
ชุดควบคุม	25°C	3.18±0.08	4.30±0.17	5.88±0.22 b
	10°C	3.20±0.06	4.30±0.17	3.94±0.31 c
น้ำกลั่น	25°C	3.02±0.02	3.99±0.25	nd
	10°C	3.04±0.04	3.45±0.19	3.45±0.16 c
ไทรโคเดอร์มา	25°C	3.01±0.02	3.67±0.20	8.53±1.00 a
	10°C	3.03±0.02	3.34±0.07	3.35±0.17 c
F-test		ns	ns	*
CV (%)		1.42	4.88	18.93

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

nd ไม่สามารถประเมินได้ เนื่องจากเมล็ดไม่มีความงอก

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4. ผลของการไพร้มเมล็ดต่อความยาวยอดและรากของต้นกล้าข้าวหอมมะลิแดงระหว่างการเก็บรักษา

จากการทดสอบการไพร้มเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมมะลิแดงด้วยไตรโคเดอร์มา น้ำกลั่น และชุดควบคุมต่อความยาวยอดและรากของต้นกล้า พบว่าก่อนการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการไพร้มและชุดควบคุมมีความยาวยอดเริ่มต้น 6.71 ซม. (ชุดควบคุม/25°C) – 8.33 ซม. (ไตรโคเดอร์มา/25°C) (ตารางที่ 4) และความยาวราก 8.67 ซม. (ชุดควบคุม/25°C) – 9.73 ซม. (ไตรโคเดอร์มา/25°C) (ตารางที่ 5) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน มีผลทำให้ต้นกล้ามีความยาวยอดและรากมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเมล็ดที่ไพร้มด้วยไตรโคเดอร์มา/10°C มีความยาวยอดและความยาวรากมากที่สุด (10.19 และ 5.47 ซม. ตามลำดับ) ในขณะที่เมล็ดที่ไพร้มด้วยไตรโคเดอร์มา/25°C และน้ำกลั่น/25°C ไม่สามารถงอกได้หรือมี

จำนวนต้นกล้าไม่เพียงพอต่อการประเมินในการกิจกรรมนี้ (ตารางที่ 4 และ 5) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการไพร้มเมล็ดด้วยไตรโคเดอร์มาช่วยให้ต้นกล้ามีความยาวยอดและรากมากกว่าวิธีการอื่น ๆ ทั้งสภาพก่อนเก็บรักษา และระหว่างการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 10°C เนื่องจากการทำไบโอไพร้มมีเมล็ดช่วยเพิ่มการดูดซึมธาตุอาหารพืช ได้แก่ NPK เพิ่มความทนทานต่อสภาพเครียดจากสภาพแวดล้อม (abiotic stress) ได้แก่ สภาพแฉะ แล้ง เป็นต้น และมีรายงานว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช ช่วยให้ระบบรากพืชสมบูรณ์ช่วยเพิ่มน้ำหนักสดของลำต้นและราก (Chamswarn, 2004; Benítez *et al.*, 2004) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทนทานต่อสภาพเครียดจากโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (seed borne) และโรคที่ติดมากับดิน (soil borne) และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ความยาวยอด และความยาวราก (Chakraborti *et al.*, 2022)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยความยาวยอดของต้นกล้าข้าวหอมมะลิแดงระหว่างการเก็บรักษาการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 25°C และ 10°C เป็นเวลา 4 เดือน

การไพร้มเมล็ด	อุณหภูมิการเก็บรักษา	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)		
		0	2	4
			เซนติเมตร	
ชุดควบคุม	25°C	6.71±0.43	5.74±0.15	6.49±0.61 c
	10°C	6.86±0.26	5.14±0.09	8.34±0.43 b
น้ำกลั่น	25°C	7.40±0.41	5.97±0.13	nd
	10°C	7.11±0.48	6.00±1.12	8.19±0.79 b
ไตรโคเดอร์มา	25°C	8.33±0.31	6.85±0.62	nd
	10°C	7.61±0.32	6.68±0.73	10.19±0.67 a
F-test		ns	ns	*
CV (%)		5.15	10.03	9.42

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

nd ไม่สามารถประเมินได้ เนื่องจากเมล็ดไม่มีความงอก

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 ความเฉลี่ยความยาวรากของต้นกล้าข้าวหอมมะลิแดงระหว่างการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 25°C และ 10°C เป็นเวลา 4 เดือน

การไพรม์เมล็ด	อุณหภูมิในการเก็บรักษา	ระยะเวลาเก็บรักษา (เดือน)		
		0	2	4
			เซนติเมตร	
ชุดควบคุม	25°C	8.67±0.85	6.88±0.54	3.77±0.30 c
	10°C	8.48±8.48	7.28±0.33	4.45±0.43 b
น้ำกลั่น	25°C	8.71±8.71	8.35±0.21	nd
	10°C	8.94±8.94	8.67±0.66	4.68±0.49 b
ไตรโคเดอร์มา	25°C	9.73±0.82	10.38±0.63	nd
	10°C	9.57±0.39	10.63±0.60	5.47±0.29 a
F-test		ns	ns	*
CV (%)		6.90	5.99	10.33

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

nd ไม่สามารถประเมินได้ เนื่องจากเมล็ดไม่มีความงอก

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สรุป

การไพรม์เมล็ดด้วยไตรโคเดอร์มาช่วยส่งเสริมการงอก ความเร็วเฉลี่ยในการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ดี และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่ไพรม์ด้วยน้ำกลั่นและไตรโคเดอร์มาที่อุณหภูมิ 25°C สามารถเก็บรักษาเมล็ดได้นานเพียง 2 เดือน ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C

สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 4 เดือน และคงความแข็งแรงของเมล็ดไว้ได้ภายใต้การเก็บรักษา

เอกสารอ้างอิง

Araújo, S.de.S., Paparella, S., Dondi, D., Bentivoglio, A., Carbonera, D. and Balestrazzi, A. 2016. Physical methods for seed invigoration: advantages

- and challenges in seed technology. **Frontiers in Plant Science** 7: 646.
- Argerich, C. A., Bradford, K. J. and Tarquis, A. M. 1989. The effects of priming and ageing on resistance to deterioration of tomato seeds. **Journal of Experimental Botany** 40(214): 593-598.
- Baki, A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science** 13(6): 630-633.
- Benítez, T., Rincón, A.M., Limón, M.C. and Codón, A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology** 7(4): 249-60.
- Buitink, J., Claessens, M. M., Hemminga, M.A. and Hoekstra, F.A. 1998. Influence of water content and temperature on molecular mobility and intracellular glasses in seeds and pollen. **Plant Physiology** 118(2): 531-541.
- Chakraborti, S., Kuntal, B., Sanjoy, S. and Puspendu, D. 2022. Bio-priming of seed: Plant stress management and its underlying cellular, biochemical and molecular mechanisms. **Plant Stress** 3: 100052.
- Chamnarnsin, P. and Ahromrit, A. 2011. Changes of Degree of Gelatinization, Gamma-Oryzanol Content and Antioxidant Activity of Coloured Rice after Heating, pp. 750-756. *In* **The Graduate Research Conference 12th**. Khon Kean University, Khon Kean. (in Thai)
- Chamswarnng, C. 2004. **Biological control of vegetable diseases**. Published documents, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok. (in Thai)
- Division of Rice Product Development. 2022. **Rice varieties and nutritional value, Red Howmm Rice**. Available Source: <https://www.thairicedb.com/rice-detail.php?id=11>, April 18, 2022. (in Thai)
- Division of Rice Research and Development. 2016. **Rice knowledge bank version 3. 0**. Available Source: <https://www.ricethailand.go.th/rkb3/title-index.php-file=content.php&id=90.htm>, April 18, 2022. (in Thai)
- Hlyka, I. and Robinson, A. D. 1954. Storage of cereal grains and their products, pp. 1-45. *In* Anderson, J.A. and Alcock, A. W., eds. **American Association of Cereal Chemists**. St. Paul, Minnesota.
- Hussain, S., Zheng, M., Khan, F., Khaliq, A., Fahad, S., Peng, S., Huang, J., Cui, K. and Nie, L. 2015. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports** 5: 8101.
- ISTA. 2008. **International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology**. The International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- McDonald, M.B. 2000. Seed priming, pp. 287-326. *In* Black, M. and Bewley, J.D., eds. **Seed Technology and Its Biology Basis**. Sheffield Academic Press, Sheffield.
- Murthy, U.M.N., Kumar, P.P. and Sun, W.Q. 2003. Mechanisms of seed aging under different storage conditions for *Vigna radiata* (L.)

- Wilczek: lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillard reactions and their relationship to glass state transition. **Journal of Experimental Botany** 54: 1057-1067.
- Nithya, N. and Geetha, R. 2017. Storability Evaluation of primed seeds of Rice (*Oryza sativa*) cv. PMK-4. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** SP1: 61-63.
- R Core Team. 2011. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reddy, P.P. 2012. Bio-priming of seeds, pp. 83-90. *In Recent advances in crop protection.* Springer, New Delhi.
- Roberts, E.H. and Ellis, R.H. 1989. Water and seed survival. **Annals of Botany** 63: 39-52.
- Schwember, A.R. and Bradford, K.J. 2005. Drying rates following priming after temperature sensitivity of germination and longevity of lettuce seed. **Hortscience** 40: 778-781.
- Sittigul, C., Srichuwong, S. and Tarungsri, S. 1992. Seed borne fungi of Basmati rice variety and treatments for their control. **Journal of Agriculture** 8(1): 31-40.
- Swain, H., Adak, T., Mukherjee, A. K., Sarangi, S., Samal, P., Khandual, A., Jena, R., Bhattacharyya, P., Naik, S. K., Mehetre, S. T., Baite, M. S., Kumar, M.S. and Zaidi, N.W. 2021. Seed biopriming with *Trichoderma* stains isolated from tree bark improves plant growth, antioxidative defense system in rice and enhance straw degradation capacity. **Frontiers in Microbiology** 12: 633881.

การสำรวจความหลากหลายชนิดปลาในแม่น้ำสมุน จังหวัดน่าน

Exploration on Fish Diversity in the Sa-Mun River, Nan Province

อมรชัย ล้อทองคำ* และ ชาวลีย์ ใจสุข

Amornchai Lothongkham* and Chaowalee Jaisuk

Received: 6 May 2022, Revised: 3 April 2023, Accepted: 1 June 2023

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อสำรวจความหลากหลายชนิดและดัชนีทางนิเวศวิทยาของปลาที่มีการกระจายพันธุ์ในแม่น้ำสมุน จังหวัดน่าน โดยทำการสำรวจระหว่างเดือนมีนาคม 2560 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2561 จากจุดสำรวจ 7 สถานี ทำการสำรวจสถานีละ 3 ครั้งตามฤดูกาล และสำรวจเพิ่มเติมในสถานีที่ 7 ในเดือนมีนาคม 2564 รวบรวมตัวอย่างปลาทั้งสิ้น 492 ตัวอย่าง พบว่ามีปลาไม่น้อยกว่า 10 อันดับ 1 ซีรีรียอย 24 วงศ์ 53 สกุล 60 ชนิด โดยอันดับที่มีจำนวนชนิดปลามากที่สุดคือ อันดับ Cypriniformes จำนวน 34 ชนิด คิดเป็น 56.66% รองลงมาคือ อันดับ Siluriformes จำนวน 8 ชนิด คิดเป็น 13.33% และ อันดับ Anabantiformes มีจำนวน 6 ชนิด คิดเป็น 10.00% ตามลำดับ สำหรับวงศ์ที่มีจำนวนชนิดปลามากที่สุด ได้แก่ วงศ์ Cyprinidae มีจำนวน 25 ชนิด คิดเป็น 41.67% รองลงมา คือ วงศ์ Bagridae มีจำนวน 4 ชนิด คิดเป็น 6.66% และ วงศ์ Cobitidae มีจำนวน 3 ชนิด คิดเป็น 5.00% ปลาที่พบที่มีการกระจายพันธุ์ในทุกสถานี จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ปลาชี่ยอกและปลากระทุงเหว พบปลาเฉพาะถิ่นจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ปลาผีเสื้อติดหินน่านและปลาค้อนน้ำน่าน พบปลาต่างถิ่นจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปลาไน ปลากดเกราะ และปลานิล ชนิดปลาที่มีค่าร้อยละความถี่ของการปรากฏ และค่าร้อยละของความชุกชุมสัมพัทธ์สูงสุดคือ ปลาชี่ยอก มีค่าเท่ากับ 85.71 และ 13.41 ตามลำดับ สำหรับค่าเฉลี่ยของค่าดัชนีความหลากหลายชนิดและดัชนีความหลากหลายชนิดปลามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.96 ± 1.02 และ 2.70 ± 0.24 ตามลำดับ โดยสถานีที่ 7 มีค่าดัชนีความหลากหลายชนิดและค่าดัชนีความหลากหลายชนิดสูงที่สุดคือ 7.04 และ 3.08 ตามลำดับ ซึ่งสถานีที่ 7 เป็นบริเวณปากแม่น้ำสมุนที่เชื่อมต่อกับแม่น้ำน่าน และเมื่อพิจารณาค่าดัชนีความหลากหลายชนิดแล้ว แม่น้ำสมุนยังเป็นแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่ยังมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและเจริญเติบโตของปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ

คำสำคัญ: ความหลากหลายทางชีวภาพ, ปลา, ลุ่มแม่น้ำน่าน, จังหวัดน่าน, ดัชนีทางนิเวศวิทยา

สาขาสัตวศาสตร์และประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน อำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน 55000

Department of Animal Science and Fisheries, Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna nan, Phu Phiang, Nan 92150, Thailand.

* ผู้รับผิดชอบประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): amornchai@rmutl.ac.th

ABSTRACT

The aim of this research was to explore the diversity and ecological indices of fish species that were widely distributed in the Sa-Mun River, Nan province. This exploration was conducted from March to December 2016 at 7 sampling stations by collecting 3 times from each station according to the season and there was an addition at station 7 in March 2021. All of 492 fish specimens were collected, there were 11 orders and at least ten orders, one subseries, 24 families, 53 genera, and 60 species were identified. The dominant orders were 34 species of Cypriniformes (56.66%), 8 species of Siluriformes (13.33%), and 6 species of Anabantiformes (10.00%). The dominant families were 25 species of Cyprinidae (41.67%), 4 species of Bagridae (6.66%), and 3 species of Cobitidae (5.00%). Two species, *Mystacoleucus obtusirostris* and *Xenentodon cancila* were found in all sampling stations. Two endemic species, *Hemimyzon nanensis* and *Schistura menanensis* were found. Three alien species, *Cyprinus rubrofasciatus*, *Pterygoplichthys disjunctivus* and *Oreochromis niloticus* were found. *Mystacoleucus obtusirostris* had the highest percentage of species with a frequency of 85.71% and a relative abundance percentage of 13.41%. The average richness index and species diversity index were 4.96 ± 1.02 and 2.70 ± 0.24 , respectively. Station 7 had the highest richness index and species diversity index at 7.04 and 3.08, respectively. It is located on the Sa-Mun River, which is connected to the Nan River. Considering the species diversity index, the Sa-Mun River remains a natural water source suitable for the survival and growth of fishes and other aquatic animals.

Key words: biodiversity, fish, Nan River basin, Nan province, ecological index

บทนำ

แม่น้ำสุมุน เป็นแม่น้ำสาขาของกลุ่มแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่าน ที่มีต้นกำเนิดจากเทือกเขาผาจิ อำเภอบ้านหลวง แล้วไหลมารวมกับแม่น้ำน่านที่บ้านคูเหนือพัฒนา ตำบลคูใต้ อำเภอมือง จังหวัดน่าน (Lothongkham, 2008) แม่น้ำสุมุนมีพื้นที่ลุ่มน้ำประมาณ 366,875 ไร่ หรือ 587 ตารางกิโลเมตร คิดเป็น 1.68 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ลุ่มแม่น้ำน่าน (Tangsup *et al.*, 2009) แม่น้ำสุมุนมีพื้นที่ครอบคลุมพื้นที่อำเภอมือง เป็นแม่น้ำสายหลักที่ใช้ในการอุปโภค-บริโภค และแหล่งน้ำทางการเกษตรของคนในชุมชนต่าง ๆ ในตำบลเสเนียน ตำบลถ้ำมดอง ตำบลไชยสถาน และตำบลคูใต้ อำเภอมือง นอกจากนี้ แม่น้ำสุมุนยังมีปลาตามธรรมชาติซึ่งถือว่าเป็นแหล่ง

อาหารที่สำคัญของคนในชุมชนต่าง ๆ อีกด้วย แต่ในปัจจุบันพบว่าพื้นที่ป่าต้นน้ำของน้ำสุมุนมีเนื้อที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยสาเหตุหลักมาจากการถูกบุกรุกและจับจองพื้นที่ป่าเพื่อใช้เป็นพื้นที่ในการปลูกพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ยางพารา พืชสวนไม้ผล ซึ่งผลกระทบของการทำการเกษตรที่มีต่อแหล่งน้ำธรรมชาติ คือ การชะล้างหน้าดินและสารเคมีทางการเกษตรลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งจะทำให้ปลาและสิ่งมีชีวิตในน้ำตายได้ (Anksungnoen, 2015) นอกจากนี้การขยายตัวของชุมชนต่าง ๆ ก่อให้เกิดกิจกรรมที่มีผลกระทบต่อสถานะแหล่งน้ำ เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะการเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำเป็นปัญหาที่สำคัญต่อทรัพยากรปลา (Rayan, 2014) นอกจากนี้แล้วคนไทยยังบริโภคปลาเกือบทุกชนิด

และทุกขนาด (Kunlapapuk *et al.*, 2014) และยังพบว่าคนในชุมชนจับปลาโดยใช้เครื่องมือทำการประมงที่ผิดกฎหมายอีกด้วย ดังนั้นทั้งผลจากการเกษตร การขยายตัวของชุมชนและการจับปลาในแม่น้ำสุมุน จึงส่งผลกระทบต่อความหลากหลายชนิดของปลาในแม่น้ำสุมุน และส่งผลถึงความหลากหลายทางชีวภาพของจังหวัดน่านทั้งในปัจจุบันและอนาคต นอกจากนี้ ในทางวิชาการแล้วยังไม่มีการรายงานชนิดปลาที่มีการกระจายพันธุ์ในแม่น้ำสุมุนไว้ เมื่อเทียบกับแม่น้ำสาขาอื่น ๆ ในลุ่มแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่านพบว่ามี การสำรวจชนิดปลาแล้ว ได้แก่ แม่น้ำกอน แม่น้ำปัว แม่น้ำยาว แม่น้ำย่าง แม่น้ำว้า แม่น้ำสา และแม่น้ำแหง (Lothongkham and Duangjai, 2010; Lothongkham and Jaisuk, 2017; Lothongkham and Kullama, 2011; Lothongkham *et al.*, 2009; Lothongkham *et al.*, 2013; Lothongkham *et al.*, 2014a; Lothongkham *et al.*, 2014b; Lothongkham *et al.*, 2015; Lothongkham *et al.*, 2017)

ดังนั้น การสำรวจความหลากหลายชนิดของปลาในแม่น้ำสุมุน จังหวัดน่าน ในครั้งนี้จึงถือเป็นการสร้างข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญทั้งทางด้านความหลากหลายชนิดปลาและข้อมูลดัชนีทางนิเวศวิทยาของปลาในแม่น้ำสุมุนให้กับจังหวัดน่านสำหรับการใช้ประโยชน์จากข้อมูลเหล่านี้เพื่อการบริหารจัดการและการอนุรักษ์ทรัพยากรประมงของแม่น้ำสุมุนและจังหวัดน่านได้อย่างมีประสิทธิภาพ และก่อให้เกิดความตระหนักต่อชุมชนถึงการรักษาคุณลักษณะทรัพยากรธรรมชาติ มีการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่า และเกิดการความยั่งยืนของทรัพยากรธรรมชาติในจังหวัดน่านต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาบริบทของแม่น้ำสุมุนและศึกษาพฤติกรรมต่าง ๆ ของคนในชุมชนที่ตั้งถิ่นอาศัยตลอด

แนวฝั่งของแม่น้ำที่มีผลต่อปลาด้วยวิธีสอบถาม เพื่อนำไปสู่การกำหนดสถานีสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างปลา จากข้อมูลที่ได้สามารถนำมากำหนดสถานีเพื่อทำการสำรวจได้ทั้งหมด 7 สถานี (Figure 1) จากความยาวแม่น้ำประมาณ 48.5 กิโลเมตร โดยสถานีส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ที่มีการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติของแต่ละชุมชน ซึ่งแต่ละสถานีมีลักษณะทางนิเวศวิทยา ดังนี้

สถานีที่ 1 (St.1) แม่น้ำสุมุน บ้านห้วยเหือ หมู่ที่ 11 ตำบลสะเนียน อำเภอเมือง จังหวัดน่าน พิกัด 47Q 0670982 mE 2094228 mN สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 311 เมตร ตั้งอยู่ในบริเวณตอนบนของชุมชนและมีการทำการเกษตรร่วม โดยมีลักษณะเป็นพื้นที่ต้นน้ำ ความกว้างเฉลี่ย 10 เมตร พื้นที่ท้องน้ำเป็นแผ่นดินสลับกับหินกรวด กระแสน้ำไหลเชี่ยว น้ำมีความใสเกือบตลอดปี มีต้นไม้อายุกลางขึ้นตามริมชายฝั่งและกลางลำน้ำ

สถานีที่ 2 (St.2) แม่น้ำสุมุน บ้านสุมุนใหม่ หมู่ที่ 16 ตำบลสะเนียน อำเภอเมือง จังหวัดน่าน พิกัด 47Q 0675259 mE 2091934 mN สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 238 เมตร ตั้งอยู่บริเวณตอนบนของชุมชน มีความกว้างเฉลี่ย 12 เมตร พื้นที่ท้องน้ำเป็นหินกรวดปนโคลน กระแสน้ำไหลเร็ว น้ำขุ่นในฤดูฝนและน้ำใสในฤดูแล้งจนถึงฤดูร้อน มีต้นไม้อายุสลับกับไผ่ขึ้นตามแนวชายฝั่งและมีสาหร่ายขึ้นตามพื้นที่ท้องน้ำบางส่วน

สถานีที่ 3 (St.3) แม่น้ำสุมุน บ้านกาไส หมู่ที่ 8 ตำบลสะเนียน อำเภอเมือง จังหวัดน่าน พิกัด 47Q 0676473 mE 2086415 mN สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 232 เมตร ตั้งอยู่ตอนกลางของชุมชนและเป็นเขตอนุรักษ์สัตว์น้ำของชุมชน มีความกว้างประมาณ 13 เมตร พื้นที่ท้องน้ำบางส่วนเป็นแผ่นดินบางส่วนเป็นหินกรวด และพื้นโคลนปนกรวด กระแสน้ำไหลเร็ว น้ำขุ่นในฤดูฝนและน้ำใสในฤดูแล้ง

หนาวจนถึงฤดูร้อน มีต้นไม้ขนาดใหญ่ขึ้นตามแนวชายฝั่งและมีสาหร่ายขึ้นตามพื้นที่ตื้นน้ำบางส่วน

สถานีที่ 4 (St.4) แม่น้ำสมุน บ้านเหนือวัด หมู่ที่ 2 ตำบลสะเนียน อำเภอเมือง จังหวัดน่าน พิกัด 47Q 0679258 mE 2080513 mN สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 219 เมตร อยู่ตอนกลางของชุมชนและเป็นเขตอนุรักษณ์สัตว์น้ำของชุมชน มีความกว้างเฉลี่ย 13 เมตร พื้นที่ตื้นน้ำเป็นหินกรวด บางส่วนเป็นโคลนปนทราย กระแสน้ำไหลเร็ว น้ำขุ่นในฤดูฝนจนถึงฤดูหนาวแต่จะใสในฤดูร้อน มีต้นไม้ขนาดใหญ่ขึ้นตามแนวชายฝั่งและมีสาหร่ายขึ้นตามพื้นที่ตื้นน้ำบางส่วน

สถานีที่ 5 (St.5) แม่น้ำสมุน บ้านถ้ำตอง หมู่ที่ 5 ตำบลถ้ำตอง อำเภอเมือง จังหวัดน่าน พิกัด 47Q 0679178 mE 2078743 mN สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง เท่ากับ 215 เมตร ตั้งอยู่ตอนกลางของชุมชนและเป็นเขตอนุรักษณ์สัตว์น้ำของชุมชน มีความกว้างประมาณ 14 เมตร พื้นที่ตื้นน้ำเป็นโคลนปนหินกรวด กระแสน้ำไหลเร็ว น้ำขุ่นในฤดูฝนจนถึงฤดูหนาวแต่จะใสในฤดูร้อน มีต้นไม้ขนาดใหญ่ขึ้นตามแนวชายฝั่งและมีสาหร่ายขึ้นตามพื้นที่ตื้นน้ำบางส่วน

สถานีที่ 6 (St.6) แม่น้ำสมุน บ้านศรีเกิด หมู่ที่ 3 ตำบลไชยสถาน อำเภอเมือง จังหวัดน่าน พิกัด 47Q 0680995 mE 2075151 mN สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง เท่ากับ 198 เมตร ตั้งอยู่ตอนกลางของชุมชนและเป็นเขตอนุรักษณ์สัตว์น้ำของชุมชน มีความกว้างประมาณ 14 เมตร พื้นที่ตื้นน้ำเป็นโคลนปนหินกรวด กระแสน้ำไหลเร็ว น้ำขุ่นในฤดูฝนจนถึงฤดูหนาวแต่จะใสในฤดูร้อน มีต้นไม้ขนาดใหญ่ขึ้นตามแนวชายฝั่งและมีสาหร่ายขึ้นตามพื้นที่ตื้นน้ำบางส่วน

สถานีที่ 7 (St.7) แม่น้ำสมุน (ปากแม่น้ำที่เชื่อมต่อกับแม่น้ำน่าน) บ้านคูเหนือพัฒนา หมู่ที่ 12 ตำบลคูใต้ อำเภอเมือง จังหวัดน่าน พิกัด 47Q 0685252 mE 2073259 mN สูงจากระดับน้ำทะเล

ปานกลาง เท่ากับ 195 เมตร ตั้งอยู่ตอนล่างของชุมชน มีความกว้างประมาณ 18 เมตร พื้นที่ตื้นน้ำเป็นโคลน บางส่วนเป็นโคลนปนหินกรวด กระแสน้ำไหลเอื่อย ๆ น้ำขุ่นเกือบตลอดปี มีพรรณไม้ขึ้นตามริมฝั่งทั้งสองข้าง และมีสาหร่ายขึ้นตามพื้นที่ตื้นน้ำบางส่วน

2. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างปลา แต่ละสถานี ๆ ละ 3 ครั้งตามฤดูกาล โดยฤดูร้อน ระหว่างวันที่ 22 เมษายน ถึงวันที่ 6 พฤษภาคม 2560 ฤดูฝนระหว่างวันที่ 4-11 ตุลาคม 2560 (เนื่องจากระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายนน้ำจะไหลเชี่ยวรุนแรงจึงยากต่อการเก็บรวบรวมตัวอย่างปลา จึงต้องทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาในช่วงปลายฤดูฝน) และฤดูหนาว ระหว่างวันที่ 24-28 กุมภาพันธ์ 2561 และทำการเก็บตัวอย่างปลาเพิ่มเติมในสถานีที่ 7 ในเดือนมีนาคม 2564 เนื่องจากเป็นสถานีที่ตั้งอยู่ในบริเวณที่มีผลกระทบจากการสร้างอาคารขนาดใหญ่จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจชนิดปลาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลเป็นปัจจุบันที่สุด สำหรับเครื่องมือประมงที่ใช้ในการรวบรวมตัวอย่างปลา ได้แก่ ใช้แหขนาดตา 1 เซนติเมตร และสวิงขนาดตา 0.5 เซนติเมตร จับและรวบรวมตัวอย่างปลาในระยะทางประมาณ 100 เมตรของแต่ละสถานี เมื่อรวบรวมตัวอย่างปลาได้ในแต่ละสถานีจะนำมาสลบด้วยน้ำแข็ง ตัวแทนปลาที่มีลักษณะแตกต่างกันมาชนิดละ 1 ตัวอย่างทำการตรึงครีด้วยฟอร์มาลินเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นประมาณ 10-15 นาทีจึงนำมาถ่ายภาพ แล้วนำตัวอย่างปลาทั้งหมดในแต่ละมาตรึงสภาพในน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ พร้อมเขียนป้ายกำกับตัวอย่างปลาในแต่ละสถานีไว้ และนำไปเก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการ เพื่อจำแนกชนิดปลาตามกระบวนการศึกษาทางอนุกรมวิธานของปลาต่อไป

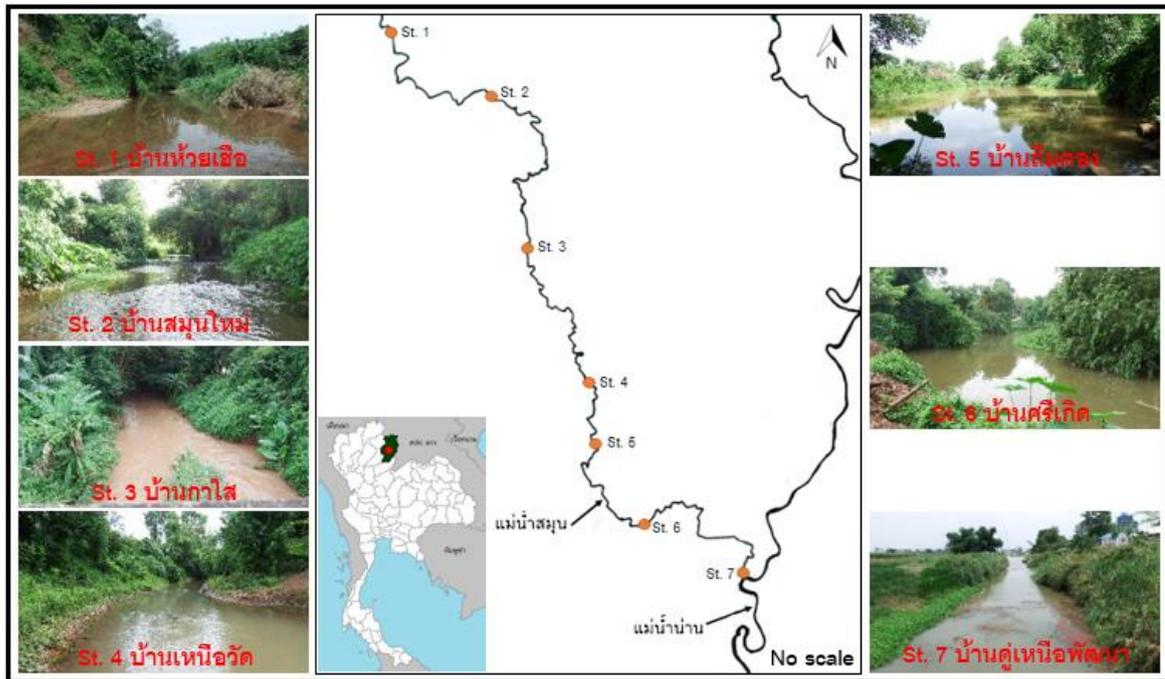


Figure 1 Seven stations for collected fish specimens in the Sa-Mun River, Nan province

3. ศึกษาตัวอย่างปลาในห้องปฏิบัติการ โดยทำการตรึงสภาพตัวอย่างปลาครบ 14 วันด้วยน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้น 10% และเปลี่ยนมาเก็บรักษาสภาพตัวอย่างปลาในเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 75% จากนั้นจึงทำการจำแนกชนิดโดยใช้เอกสารวิชาการต่างๆ ทางด้านอนุกรมวิธานของปลาน้ำจืดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ Kottelat (2001); Kottelat (2013); Rainboth (1996); Smith (1945) ทำการถ่ายภาพชนิดปลาที่ยังไม่ได้ถ่ายภาพในภาคสนามและวัดความยาวมาตรฐาน (standard length; SL) ของปลาทุกตัวอย่างด้วย vernier caliper แล้วจัดทำเป็นบัญชีรายชื่อชนิดปลาที่สำรวจพบทั้งหมดโดยจัดเรียงลำดับอนุกรมวิธานของปลาตาม Nelson *et al.* (2016) ส่วนตัวอย่างปลาทั้งหมดได้เก็บรักษาไว้ที่ห้องปฏิบัติการมีนวิทยา สาขาสัตวศาสตร์และประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน เพื่อใช้ในการเรียนการสอนในรายวิชาที่เกี่ยวข้อง

4. วิเคราะห์ข้อมูลดัชนีทางนิเวศวิทยาของปลา ได้แก่ ร้อยละความถี่ของการปรากฏ (Percentage of frequency of species occurrence; F(%)) ของปลาแต่ละชนิด ตามวิธีการของ Pettingill (1969) ร้อยละของความชุกชุมสัมพัทธ์ (Percentage of relative abundance; R (%)) เพื่อระบุปลาชนิดเด่น ตามวิธีการของ Khachonpisitsak and Eiamprasert (2015) ดัชนีความหลากหลายชนิด (Richness index; R) เป็นค่าดัชนีที่บ่งชี้ถึงระดับความหลากหลายชนิดของปลาที่พบในแต่ละสถานี โดยใช้สมการ Margalef's index ตามวิธีการของ Margalef (1958) และดัชนีความหลากหลายชนิด (Species diversity index; H') โดยใช้สมการ Shannon-Wiener Index ตามวิธีของ Krebs (1999)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ความหลากหลายชนิดของปลา

การสำรวจความหลากหลายชนิดปลาในแม่น้ำสมุน จังหวัดน่าน ทั้งหมด 492 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนมีนาคม 2560 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2561 และสำรวจเพิ่มเติมในสถานีที่ 7 ในเดือนมีนาคม 2564 พบปลาไม่น้อยกว่า 10 อันดับ 1 ซีรีย้อย 24 วงศ์ 53 สกุล 60 ชนิด (Table 1 และ Figure 2) โดย 3 อันดับแรกมีจำนวนชนิดมากที่สุด ได้แก่ อันดับ Cypriniformes จำนวน 34 ชนิด คิดเป็น 56.66% ของชนิดปลาทั้งหมดที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุน ซึ่งปลาในอันดับนี้จัดเป็นปลาที่มีความโดดเด่นและมีจำนวนชนิดมากที่สุดในแหล่งอาศัยที่เป็นน้ำจืดทั่วโลกโดยเฉพาะในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Azmir and Samat, 2010; Kottelat, 2001; Kottelat, 2013; Mohammed *et al.*, 2018; Nelson *et al.*, 2016; Suryaningsih *et al.*, 2018; Tan and Armbruster, 2018; Uawonggul *et al.*, 2019) โดยในปัจจุบันพบปลาในอันดับนี้ทั่วโลกไม่น้อยกว่า 4,758 ชนิด (Fricke *et al.*, 2022) ดังนั้นชนิดปลาในอันดับนี้ที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุนจึงคิดเป็นเพียง 0.71% ของชนิดปลาในอันดับนี้ทั้งหมดที่กระจายพันธุ์อยู่ทั่วโลกเท่านั้น อันดับที่มีจำนวนรองลงมาคือ Siluriformes มีจำนวน 8 ชนิด คิดเป็น 13.33% ของชนิดปลาทั้งหมดที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุน โดยชนิดปลาในอันดับ Siluriformes มีชื่อสามัญว่าปลาหนังหรือ Catfishes เป็นปลาที่คนนิยมตกเป็นเกมสีกีฬาและเป็นปลาที่มีราคาสูง (Nelson *et al.*, 2016) ซึ่งชนิดปลาที่พบในแม่น้ำสมุนที่มีราคาสูง ได้แก่ ปลาตกคั้งและปลาเค้าขาว และอันดับ Anabantiformes เป็นอันดับที่มีจำนวนชนิดปลาเป็นอันดับที่ 3 โดยมีจำนวนเท่ากับ 6 ชนิด คิดเป็น 10% ของชนิดปลาทั้งหมดที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุน ซึ่งเป็นอันดับที่ปลาทุกชนิดจะมีอวัยวะช่วยในการหายใจที่เรียกว่า labyrinth fishes (Nelson *et al.*, 2016) ดังนั้นการพบ

ปลาในอันดับนี้แสดงให้เห็นถึงแหล่งอาศัยที่เป็นน้ำไหลเอื่อย ๆ หรือนิ่ง พื้นที่ท้องน้ำเป็นโคลนและมีพรรณไม้น้ำขึ้นในบริเวณดังกล่าว (Rainboth, 1996) ซึ่งลักษณะของแม่น้ำสมุนที่พบปลาในอันดับนี้อาศัยอยู่ก็มีลักษณะดังกล่าวเช่นกัน และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนชนิดและความมากชนิดของปลาทั้ง 3 อันดับที่มีการสำรวจชนิดปลาในแม่น้ำสาขาอื่น ๆ ของลุ่มแม่น้ำน่านตอนบนก็พบว่ามีความคล้ายคลึงกันกับการสำรวจปลาในแม่น้ำสมุน รวมถึงชนิดปลาในอันดับอื่น ๆ ที่สำรวจพบด้วย (Lothongkham and Duangjai, 2010; Lothongkham and Jaisuk, 2017; Lothongkham and Kullama, 2011; Lothongkham *et al.*, 2009; Lothongkham *et al.*, 2013; Lothongkham *et al.*, 2014b; Lothongkham *et al.*, 2015; Lothongkham *et al.*, 2017)

สำหรับวงศ์ที่มีจำนวนชนิดปลามากที่สุด ได้แก่ วงศ์ Cyprinidae หรือวงศ์ปลาตะเพียน มีจำนวน 25 ชนิด คิดเป็น 41.67% ของชนิดปลาทั้งหมดที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุน ซึ่งปลาในวงศ์นี้มีจำนวนชนิดมากที่สุดในน้ำจืดทั่วโลก ประมาณ 3,306 ชนิด มีชนิดปลาจำนวนมากที่มีความสำคัญทั้งเป็นอาหาร พรรณปลาสวยงามและการวิจัยทางด้านชีววิทยา (Fricke *et al.*, 2022; Kottelat, 2001; Nelson *et al.*, 2016) ซึ่งในจังหวัดน่านก็นิยมนำปลาในวงศ์นี้มาประกอบอาหารเป็นหลัก เพราะเนื่องจากหาง่ายและมีราคาไม่สูงนัก นอกจากนี้แล้วปลาในวงศ์นี้ยังมีแหล่งอาศัยที่หลากหลายมากตั้งแต่ลำธารขนาดเล็กไปจนถึงแม่น้ำขนาดใหญ่ ทั้งในแหล่งน้ำไหลเชี่ยวไปจนถึงแหล่งน้ำนิ่ง (Kottelat, 2001; Rainboth, 1996) ซึ่งการกระจายพันธุ์ของปลาในวงศ์นี้ในแม่น้ำสมุนก็มีรูปแบบดังกล่าวเช่นเดียวกัน นั่นแสดงให้เห็นถึงแหล่งอาศัยของปลาที่หลากหลายของแม่น้ำสมุน สำหรับวงศ์ที่มีจำนวนชนิดปลารองลงมาคือวงศ์ Bagridae หรือวงศ์ปลาตกเหลือง มีจำนวน 4

ชนิด คิดเป็น 6.66% ของชนิดปลาทั้งหมดที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุน ซึ่งปลาในวงศ์นี้จะอาศัยตามพื้นที่ตื้นที่น้ำที่เย็นหรือโคลน มีแสงสว่างน้อย กระแสน้ำไหลเอื่อย ๆ (Kottelat, 2001; Rainboth, 1996) เมื่อพิจารณาจากสถานที่ที่สามารถรวบรวมปลาในวงศ์นี้ได้ ก็จะมีลักษณะทางกายภาพของแหล่งน้ำดังที่กล่าวมา นอกจากนี้แล้วปลาทั้ง 4 ชนิดยังเป็นปลาที่นิยมของคนในชุมชนเพื่อนำมาประกอบเป็นอาหารด้วย (Rainboth, 1996) และวงศ์ที่มีจำนวนชนิดรองลงมา คือ วงศ์ Cobitidae หรือวงศ์ปลาช่อนทราย มี 3 ชนิด คิดเป็น 5.00% ของชนิดปลาทั้งหมดที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุน ซึ่งสามารถรวบรวมได้จากสถานที่ 4 เป็นหลัก เนื่องจากพื้นที่ตื้นน้ำเป็นทราย และทรายปนโคลน กระแสน้ำไหลช้า และมีสัตว์หน้าดินขนาดเล็กจำนวนมาก ลักษณะดังกล่าวจัดเป็นแหล่งอาศัยของปลาในวงศ์นี้ (Kottelat, 2001; Rainboth, 1996) สำหรับชนิดปลาในวงศ์อื่น ๆ มีจำนวนชนิดปลา 1-2 ชนิด ต่อวงศ์ ซึ่งมีการกระจายตามสถานที่ที่สำรวจแตกต่างกันไปดังตารางที่ 1

ปลาเฉพาะถิ่นที่สำรวจพบมีจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ปลาผีเสื้อติดหินน่าน (*Hemimyzon nanensis*)

และ ปลาค้อนน้ำน่าน (*Schistura menanensis*) ซึ่งปลาผีเสื้อติดหินน่าน พบว่ามีการกระจายพันธุ์บริเวณต้นน้ำของแม่น้ำสาขาและแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่านเท่านั้น ส่วนปลาค้อนน้ำน่านมีการกระจายพันธุ์ทั้งในกลุ่มแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่านและลุ่มน้ำปิงในเขตจังหวัดเชียงใหม่ แต่มีการกระจายพันธุ์ได้กว้างกว่าปลาผีเสื้อติดหินน่าน ซึ่งปลาเฉพาะถิ่นที่พบในแม่น้ำสมุนคิดเป็น 2 ชนิดใน 8 ชนิดที่เป็นปลาเฉพาะถิ่นในกลุ่มน้ำน่านในเขตจังหวัดน่านเท่านั้น และเมื่อรวมชนิดปลาที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุนและแม่น้ำสายอื่น ๆ ในเขตจังหวัดน่านจะมีชนิดปลาไม่น้อยกว่า 120 ชนิด ดังนั้นจะเห็นได้ว่าจังหวัดน่านเป็นอีกจังหวัดที่มีความหลากหลายของปลาที่โดดเด่นเป็นอันดับต้น ๆ ของประเทศไทย (Buanak *et al.*, 2004; Chindaphan, 2005; Chuenjai *et al.*, 2022; Nakswon *et al.*, 2017; Nokkiaw *et al.*, 2016, Petsut *et al.*, 2022; Pila *et al.*, 2011a; Pila *et al.*, 2011b; Seehirunwong and Seehirunwong, 2004; Sinlapachai and Renunual, 2005; Suvarnaraksha, 2016; Uawonggul *et al.*, 2019; Valunpion and Suvarnaraksha, 2013)

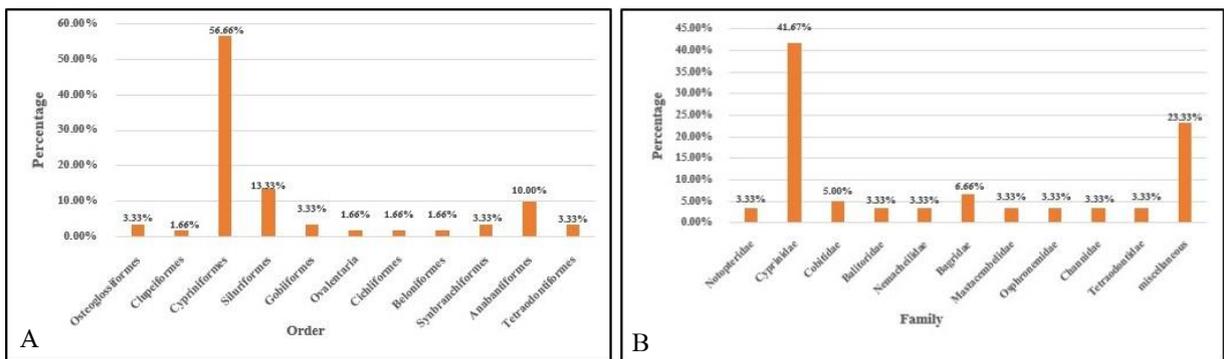


Figure 2 Percentage of order of fishes (A) and Percentage of family of fishes in the Sa-Mun River (B) in the Sa-Mun River



Figure 3 Alien fishes in the Sa- Mun River: *Cyprinus rubrofuscus* (A) ; *Pterygoplichthys disjunctivus* (B) and *Oreochromis niloticus* (C)

Table 1 Diversity, Percentage of Frequency of species occurrence [F(%)] and Percentage of relative abundance [R(%)] of fish species in Sa-Mun River

Order/Family/Scientific name	No. of fish in each station							Total no. of fishes	F(%)	R(%)
	1	2	3	4	5	6	7			
Order Osteoglossiformes										
Family Notopteridae										
1. <i>Chitala ornata</i> (Gray, 1831)	-	-	-	-	-	-	1	1	4.76	0.20
2. <i>Notopterus notopterus</i> (Pallas, 1769)	-	-	1	-	1	1	2	5	38.09	1.02
Order Clupeiformes										
Family Clupeidae										
3. <i>Clupeichthys goniognathus</i> Bleeker, 1855	-	-	-	-	-	-	4	4	9.52	0.81
Order Cypriniformes										
Family Cyprinidae										
4. <i>Amblyrhynchichthys micracanthus</i> Ng & Kottelat, 2004	-	-	-	-	-	1	-	1	4.76	0.20
5. <i>Barbodes rhombeus</i> (Kottelat, 200)	5	1	-	-	-	-	-	6	19.04	1.22
6. <i>Babonymus altus</i> (Günther, 1868)	-	-	-	-	-	-	1	1	4.76	0.20
7. <i>Babonymus gonionotus</i> (Bleeker, 1849)	-	-	-	-	-	1	2	3	9.52	0.61
8. <i>Cirrhinus molitorella</i> (Valenciennes, 1844)	-	-	-	-	1	1	2	4	19.04	0.81
9. <i>Crossocheilus reticulatus</i> (Fowler, 1934)	-	1	-	-	1	-	2	4	14.28	0.81
10. <i>Cyclocheilichthys armatus</i> (Valenciennes, 1842)	-	-	5	-	7	8	5	25	47.62	5.08
11. <i>Cyprinus rubrofuscus</i> Lacepède, 1803	-	1	-	-	-	-	-	1	4.76	0.20
12. <i>Epalzeorhynchus frenatum</i> (Fowler, 1934)	-	-	-	-	-	-	3	3	4.76	0.61
13. <i>Esomus metallicus</i> Ahl, 1924	-	-	-	-	-	2	-	2	4.76	0.40
14. <i>Garra fuliginosa</i> Fowler, 1934	1	-	1	-	-	-	-	2	9.52	0.40
15. <i>Hampala macrolepidota</i> Kuhl & van Hasselt, 1823	4	1	3	1	-	1	1	11	33.33	2.23
16. <i>Henicorhynchus siamensis</i> (Sauvage, 1881)	-	-	-	-	1	1	2	4	14.28	0.81
17. <i>Hypsibarbus vernayi</i> (Norman, 1925)	1	1	2	3	-	3	3	13	47.62	2.64
18. <i>Labiobarbus leptocheilus</i> (Valenciennes, 1842)	-	-	-	-	4	2	2	8	19.04	1.62
19. <i>Lobocheilos rhabdoura</i> (Fowler, 1934)	-	-	1	-	-	-	1	2	9.52	0.40
20. <i>Mystacoleucus obtusirostris</i> (Valenciennes, 1842)	9	7	7	10	6	14	13	66	85.71	13.41
21. <i>Opsarius koratensis</i> (Smith, 1931)	7	11	17	6	7	9	-	57	80.95	11.58
22. <i>Pethia stoliczkana</i> (Day, 1871)	8	3	1	-	-	-	-	12	33.33	2.43
23. <i>Poropuntius laoensis</i> (Günther, 1868)	4	4	-	-	-	-	-	8	23.81	1.62
24. <i>Puntioplites proctozyron</i> (bleeker, 1864)	-	-	-	-	1	-	1	2	9.52	0.40

Table 1 (Continuous)

Order/Family/Scientific name	No. of fish in each station							Total no. of fishes	F(%)	R(%)
	1	2	3	4	5	6	7			
25. <i>Rasbora aurotaenia</i> Tirant 1885	-	-	-	-	-	-	19	19	14.28	3.86
26. <i>Rasbora borapetensis</i> Smith, 1934	8	5	6	1	-	-	-	20	33.33	4.10
27. <i>Rasbora paviana</i> Tirant, 1885	7	-	-	2	-	-	-	9	14.28	1.83
28. <i>Systemus orphoides</i> (Valenciennes, 1842)	-	-	1	1	-	3	6	11	23.81	2.23
Family Gyrinocheilidae										
29. <i>Gyrinocheilus ayonieri</i> (tirant, 1884)	-	-	1	-	-	-	-	1	4.76	0.20
Family Botiidae										
30. <i>Yasuhikotakia morleti</i> (tirant, 1885)	-	-	-	-	-	-	2	2	4.76	0.40
Family Cobitidae										
31. <i>Acantopsis</i> sp. "large spot"	-	-	-	2	1	-	3	6	23.81	1.22
32. <i>Lepidocephalichthys hasselti</i> (Valenciennes, 1846)	-	-	-	1	-	-	-	1	4.76	0.20
33. <i>Pangio anguillaris</i> (Vaillant, 1902)	-	-	-	5	-	-	-	5	4.76	1.02
Family Balitoridae										
34. <i>Hemimyzon nanensis</i> Doi & Kottelat, 1998	7	1	4	-	-	-	-	12	28.57	2.44
35. <i>Homalopteroides smithi</i> (Hora, 1932)	1	-	4	-	-	-	-	5	14.28	1.02
Family Nemacheilidae										
36. <i>Nemacheilus pallidus</i> Kottelat, 1990	-	-	3	-	1	-	-	4	9.52	0.81
37. <i>Schistura menanensis</i> (Smith, 1945)	4	18	2	3	2	2	-	31	42.85	6.30
Order Siluriformes										
Family Loricariidae										
38. <i>Pterygoplichthys disjunctivus</i> (Weber, 1991)	-	-	-	-	-	-	2	2	4.76	0.40
Family Siluridae										
39. <i>Wallago attu</i> (Bloch & Schneider, 1801)	-	-	-	-	-	-	1	1	4.76	0.20
Family Bagridae										
40. <i>Hemibagrus nemurus</i> (Valenciennes, 1840)	-	-	1	-	-	1	2	4	14.28	0.81
41. <i>Hemibagrus wyckioides</i> (Fang & Chaux, 1949)	-	-	-	-	-	-	1	1	4.76	0.20
42. <i>Mystus singaringan</i> (Bleeker, 1846)	-	-	-	-	3	-	-	3	9.52	0.61
43. <i>Pseudomystus siamensis</i> (Regan, 1913)	-	-	-	-	-	-	1	1	4.76	0.20
Family Akysidae										
44. <i>Pseudobagarius leucorhynchus</i> (Fowler, 1934)	-	-	-	1	-	-	-	1	4.76	0.20
Family Sisoridae										
45. <i>Glyptothorax buchanani</i> Fowler, 1934	5	-	-	-	-	-	-	5	14.28	1.02
Order Gobiiformes										
Family Butidae										
46. <i>Oxyeleotris marmorata</i> (Bleeker 1852)	-	-	-	-	-	-	2	2	9.52	0.40
Family Gobiidae										
47. <i>Rhinogobius mekongianus</i> (Pellegrin & Fang, 1940)	1	5	3	-	-	-	-	9	23.81	1.83
Subseries Ovalentaria										
Family Ambassidae										
48. <i>Parambassis siamensis</i> (Fowler, 1937)	-	-	-	-	-	2	9	11	14.28	2.23

Table 1 (Continuous)

Order/Family/Scientific name	No. of fish in each station							Total no. of fishes	F(%)	R(%)
	1	2	3	4	5	6	7			
Order Cichliformes										
Family Cichlidae										
49. <i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	-	1	-	-	-	-	2	3	9.52	0.61
Order Beloniformes										
Family Belonidae										
50. <i>Xenentodon cancila</i> (Hamilton, 1822)	2	2	2	1	2	1	1	11	50.00	2.23
Order Synbranchiformes										
Family Mastacembelidae										
51. <i>Mastacembelus armatus</i> (La Cepède, 1800)	2	4	3	-	2	-	-	11	33.33	2.23
52. <i>Mastacembelus favus</i> Hora, 1924	3	1	1	-	-	-	-	5	14.28	1.02
Order Anabantiformes										
Family Anabantidae										
53. <i>Anabas testudineus</i> (Bloch, 1792)	-	-	-	-	-	-	2	2	4.76	0.40
Family Osphronemidae										
54. <i>Trichopodus trichopterus</i> (Pallas, 1770)	-	-	-	-	2	-	1	3	14.28	0.61
55. <i>Trichopsis vittata</i> (Cuvier 1831)	-	-	-	1	4	2	6	13	23.81	2.64
Family Channidae										
56. <i>Channa gachua</i> (Hamilton 1822)	2	2	2	-	-	-	-	6	23.81	1.22
57. <i>Channa striata</i> (Bloch, 1793)	1	-	-	1	1	-	2	5	19.04	1.02
Family Pristolepididae										
58. <i>Pristolepis fasciata</i> (Bleeker, 1851)	1	2	1	1	1	-	1	7	28.57	1.42
Order Tetraodontiformes										
Family Tetraodontidae										
59. <i>Pao abei</i> (Roberts, 1998)	2	4	4	-	-	-	-	10	28.57	2.03
60. <i>Pao cochinchinensis</i> (Steindachner, 1866)	-	2	3	-	-	-	-	5	14.28	1.02
Total number of fishes in each station	85	77	79	40	48	55	108	492		

ปลาต่างถิ่นที่สำรวจพบมีจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปลาไน (*Cyprinus rubrofuscus*) ปลากดเกราะ (*Pterygoplichthys disjunctivus*) และ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) (Figure 3) ซึ่งเป็นปลาต่างถิ่นจำนวน 3 ชนิดจากทั้งหมด 12 ชนิดที่สำรวจพบในแม่น้ำสาขาต่าง ๆ ของลุ่มแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่าน โดยปลากดเกราะยังมีกรกระจายพันธุ์ไม่กว้างนักเมื่อเทียบกับปลาไนและปลานิล (Lothongkham and Jaisuk, 2020) และเมื่อพิจารณาถึงผลกระทบที่มีทรัพยากรประมงและสิ่งแวดล้อมของปลาต่างถิ่นทั้ง 3 ชนิด ปลากดเกราะมีแนวโน้มที่จะส่งผลกระทบต่อ

มากกว่าและเป็นปลาต่างถิ่นประเภททรูกรานที่พบว่าการกระจายพันธุ์อยู่ในทุกทวีป โดยพฤติกรรมของปลาชนิดนี้เป็นปลาที่มีความสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดีจึงยากต่อการกำจัดออก มีพฤติกรรมกินอาหารไม่เลือกแม้แต่ไข่และลูกปลาวัยอ่อน และเมื่อปลามีขนาดโตขึ้นยังสามารถแย่งแหล่งอาศัยและแหล่งอาหารของปลาชนิดอื่น ๆ ได้เกือบหมด จึงส่งผลกระทบต่อทรัพยากรประมงและสภาพแวดล้อมสูงมาก นอกจากนี้ยังสามารถก่อให้เกิดความเสียหายทั้งต่อทรัพยากรปลาท้องถิ่นและเศรษฐกิจ (Chakraborty et

al., 2020; Orfinger and Goodding, 2018; Suresh et al., 2019) ดังนั้นในหลาย ๆ ประเทศที่มีปลาชนิดนี้กระจายพันธุ์จึงได้พยายามศึกษาชีววิทยาและสภาพแวดล้อมของปลากดเกราะเพื่อหาแนวทางและวางมาตรการในการกำจัดและควบคุมจำนวนปลาไม่ให้มีมากเกินไป (Chaichana et al., 2011; Chakraborty et al., 2020) สำหรับปลาในนั้นถูกจัดให้เป็นปลาต่างถิ่นประเภทรุกรานอีกชนิดหนึ่ง โดยในกลุ่มแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่านพบปลาใน 2 ชนิดที่มีการกระจายพันธุ์ ซึ่งผลกระทบที่สังเกตได้ในบริเวณที่มีปลาในอาศัยอยู่ จะพบว่าคั้งจะถูกกัดเซาะมากกว่าบริเวณคั้งที่ไม่มีปลาชนิดนี้อาศัย เนื่องจากปลาในมีพฤติกรรมชอบขุดคุ้ยพื้นท้องน้ำเพื่อหาอาหาร นอกจากพฤติกรรมชอบขุดคุ้ยพื้นท้องน้ำแล้วปลาในยังสามารถกินไข่ของปลาชนิดอื่นเป็นอาหารและแก่งแย่งแหล่งอาศัยปลาชนิดอื่นได้ดีอีกด้วย (Lothongkham and Jaisuk, 2020) จึงเป็นเหตุให้ปลาท้องถิ่นในบริเวณดังกล่าวมีจำนวนลดน้อยลงเมื่อเทียบกับบริเวณอื่น ๆ ในแหล่งน้ำเดียวกัน ส่วนปลานิลนั้นถือว่าเป็นปลาต่างถิ่นประเภทรุกรานเช่นกัน เพราะสามารถกินลูกปลาวัยอ่อนและปลาขนาดเล็กได้ และยังสามารถขับไล่ปลาท้องถิ่นออกไปจากแหล่งที่มันอาศัยได้ด้วย (Bittencourt et al., 2014; Vincents and Fonseca-Alves, 2013) แต่เมื่อพิจารณาในแง่ของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแล้วปลานิลถือว่ามีปริมาณและมูลค่าสัตว์น้ำจืดที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2561 สูงที่สุดเมื่อเทียบกับสัตว์น้ำจืดชนิดอื่น ๆ (Fisheseries Development Policy and Planning Division, 2020) และจากการประมาณการผลผลิตและมูลค่าสัตว์น้ำจากการประมงของประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2464-2566 พบว่าปลานิลยังมีการเพาะเลี้ยงมากที่สุด (Fisheseries Development Policy and Planning Division, 2021) ดังนั้นในมุมมองที่มีต่อปลาต่างถิ่นจึงเปรียบเสมือนเหรียญที่มี

2 ด้านทั้งด้านที่มีทั้งประโยชน์และด้านที่เป็นโทษ จึงจำเป็นต้องหาจุดสมดุลของปลาต่างถิ่นเหล่านี้เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างถูกต้อง

2. ดัชนีทางนิเวศวิทยาของปลา

การวิเคราะห์ค่าร้อยละความถี่ของการปรากฏ [F (%)] ของปลาแต่ละชนิดที่สำรวจพบในแม่น้ำสมุนจำนวน 60 ชนิด จากการศึกษาไม่พบชนิดปลาที่จัดเป็นชนิดที่พบบ่อยมาก (Abundance) แต่พบชนิดปลาที่อยู่ในเกณฑ์ชนิดปลาที่พบบ่อย (common) มีจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ปลาจ้อยอก (ร้อยละ 85.71) และปลาน้ำหมึก (ร้อยละ 80.95) แสดงให้เห็นว่าปลาทั้ง 2 ชนิดมีการกระจายพันธุ์ได้กว้างมากจึงทำให้การสำรวจพบปลาเหล่านี้ได้บ่อยและรวบรวมตัวอย่างได้จำนวนมากเมื่อเทียบกับปลาชนิดอื่น ๆ ส่วนชนิดปลาที่พบบานกลาง (Moderately Common) มีจำนวน 9 ชนิด ชนิดปลาที่พบได้น้อย (Uncommon) มีจำนวน 33 ชนิด และชนิดปลาที่พบได้ยากมาก (Rare) มีจำนวน 16 ชนิด เมื่อพิจารณาถึงค่าร้อยละความถี่ของการปรากฏของปลาแต่ละชนิดแล้วจึงขึ้นอยู่กับปริมาณและความสามารถในการกระจายพันธุ์ของปลาแต่ละชนิด นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับปลา ได้แก่ ชนิด (species) รูปร่าง (form) และสัณฐานวิทยาของปลา (morphology) ที่เกี่ยวข้องกับการเลือกจับของเครื่องมือประมงในการเก็บตัวอย่างปลาค้างคาว (Damchoo, 2018) ดังนั้นควรเลือกใช้เครื่องมือประมงหลาย ๆ ประเภทให้มีความเหมาะสมกับการสำรวจและครอบคลุมต่อปลาทุกชนิดในแหล่งน้ำ จะทำให้การวิเคราะห์ผลมีความถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น

การวิเคราะห์ค่าร้อยละความชุกชุมสัมพัทธ์ [R(%)] พบว่าปลาที่มีค่าร้อยละความชุกชุมสัมพัทธ์สูงสุดคือ ปลาจ้อยอก มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 13.41 รองลงมาคือ ปลาน้ำหมึก มีค่าเท่ากับร้อยละ 11.58 และปลาที่มีค่าร้อยละความชุกชุมสัมพัทธ์น้อยที่สุด

ได้แก่ ปลาทราย ปลาสร้อยลูกผึ้ง ปลาตะเพียนทอง ปลาดามิน ปลาไน ปลาอืด ปลากดหิน ปลาเค้าขาว ปลากดคัง และปลาชุกชุก มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 0.20 ทุกชนิด ซึ่งค่าร้อยละความชุกชุมสัมพัทธ์เป็นค่าที่แสดงออกถึงความสามารถในการดำรงชีวิตและการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของปลาแต่ละชนิด (Keawkhiew *et al.*, 2015) ซึ่งจากการสำรวจนั้นสามารถรวบรวมตัวอย่างปลาชื่อยอกและปลาน้ำหมึกได้ในทุก ๆ แหล่งอาศัย ทั้งบริเวณน้ำไหลเชี่ยว น้ำไหลเร็ว น้ำไหลเอื่อย ๆ จนถึงน้ำนิ่ง นั่นแสดงให้เห็นว่าปลาชื่อยอกและปลาน้ำหมึกมีความสามารถในการดำรงชีวิตและปรับตัวในแม่น้ำสมุนได้ดีกว่าปลาชนิดอื่น ๆ ที่สำรวจพบ ส่วนปลาที่มีค่าร้อยละความชุกชุมสัมพัทธ์น้อยที่สุด แสดงถึงการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ในแหล่งอาศัยที่เฉพาะเจาะจงเท่านั้น

การวิเคราะห์ดัชนีความหลากหลาย (R) และดัชนีความหลากหลายชนิดปลา (H') ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างปลามีค่าไปในทิศทางเดียวกัน คือ สถานีที่ 7 มีค่า R และ H' สูงที่สุด คือ 7.04 และ 3.08 ตามลำดับ สถานีรองลงมา คือ สถานีที่ 3 มีค่า R และ H' เท่ากับ 5.49 และ 2.86 ตามลำดับ ส่วนสถานีที่มีค่า R และ H' น้อยที่สุด คือ สถานีที่ 4 มีค่า R และ H' เท่ากับ 4.06 และ 2.41 ตามลำดับ เนื่องจากสถานีที่ 4 รวบรวมชนิดปลาได้น้อยกว่าสถานีอื่น ๆ จึงทำให้มีค่า R และ H' น้อยที่สุด ส่วนสถานีที่ 1, 2, 5 และ 6 มีค่า R และ H' เท่ากับ 4.69, 4.60, 4.69, 4.22 และ 2.84,

2.61, 2.66 และ 2.45 ตามลำดับ จากค่าดัชนีดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสถานีที่ 7 มีความมาชนิดและหลากหลายชนิดสูงกว่าสถานีอื่น ๆ เมื่อค่าที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าสูง หมายความว่าพื้นที่ดังกล่าวมีความหลากหลายของปลาสูง แต่ถ้าหากมีค่าต่ำ หมายความว่าพื้นที่นั้น ๆ มีความหลากหลายของปลาค่า (Hajisamae, 2008) ดังนั้นสถานีที่ 7 จึงถือว่ามีค่าความหลากหลายของปลาสูงที่สุด ซึ่งผลดังกล่าวอาจเป็นเพราะสถานีที่ 7 เป็นสถานีที่เชื่อมต่อกับแม่น้ำน่าน ทำให้มีปลาหลายชนิดจากแม่น้ำน่านเข้ามาอาศัยหรือหาอาหารอยู่ในบริเวณปากแม่น้ำสมุน ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการสะสมของตะกอนและสารอาหารที่ถูกพัดพามาจากต้นน้ำ ทำให้บริเวณปากแม่น้ำมีสารอาหารที่หลากหลายต่อความต้องการของปลาชนิดต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงค่า H' ซึ่ง Keawkhiew *et al.* (2015) อ้างถึง Tudorance *et al.* (1975) ได้กล่าวว่าหากค่าดัชนีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตมีค่าอยู่ระหว่าง 1-3 แสดงว่าแหล่งน้ำนั้นยังคงมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต แต่หากมีค่าต่ำกว่า 1 แสดงว่าแหล่งน้ำนั้นมีความเหมาะสมสำหรับการอาศัยของสิ่งมีชีวิต แต่ถ้าหากมีค่าเกิน 3 ขึ้นไปแสดงว่าแหล่งน้ำนั้นมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต จึงถือได้ว่าแม่น้ำสมุนยังเป็นแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่มีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและเจริญเติบโตของปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ

Table 2 Richness index (R) and Species diversity index (H') of fishes in Sa-Mun River

Station	No. of species	Richness index (R)	Diversity index (H')
1	22	4.69	2.84
2	21	4.60	2.61
3	25	5.49	2.86
4	16	4.06	2.41
5	19	4.64	2.66
6	18	4.22	2.45
7	34	7.04	3.08
Mean±SD		4.96±1.02	2.70±0.24

สรุป

การศึกษาวิจัยความหลากหลายชนิดปลาในแม่น้ำสมุน เป็นการสำรวจชนิดปลาในเชิงวิชาการเป็นครั้งแรกของแม่น้ำสมุน จากการสำรวจพบปลาไม่น้อยกว่า 10 อันดับ 1 ชนิดย่อย 24 วงศ์ 53 สกุล 60 ชนิด ซึ่งมีความหลากหลายในทุกระดับชั้นทางอนุกรมวิธานของปลาใกล้เคียงกับปลาในแม่น้ำสาขาอื่น ๆ ของลุ่มแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่านที่ได้ทำการสำรวจแล้ว โดยกลุ่มปลาที่มีความโดดเด่นมากที่สุด คือกลุ่มปลาตะเพียน (cyprinids) สำหรับปลาเฉพาะถิ่นที่พบในแม่น้ำสมุนมีความสอดคล้องกับแม่น้ำสาขาอื่น ๆ ของลุ่มแม่น้ำน่านในเขตจังหวัดน่านที่พบปลาทั้ง 2 ชนิด ส่วนปลาต่างถิ่นนั้นก็สามารถพบได้ในแม่น้ำสาขาอื่น ๆ เช่นกัน สำหรับปลาที่โดดเด่นทั้งปริมาณ การกระจายพันธุ์ ความถี่ของการปรากฏ ความชุกสัมพันธ์ ได้แก่ ปลาขี้ยกและปลาน้ำหมึก ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการอาศัยปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และสิ่งที่สะท้อนออกถึงดัชนีความหลากหลายและดัชนีความหลากหลายชนิดปลาในแม่น้ำสมุน กล่าวคือแม่น้ำสมุนยังเป็นแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่ยังมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและเจริญเติบโตของปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ ดังนั้นจากผลการวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็น

เห็นถึงข้อเท็จจริงในทางวิทยาศาสตร์ที่หน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในระดับจังหวัด สามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้เป็นเครื่องมือในการวางแผน บริหารจัดการทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพ การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติของท้องถิ่นได้ ตลอดจนนำไปสู่การวิจัยต่อยอดในด้านการเพาะเลี้ยงปลาท้องถิ่นที่คนในชุมชนนิยมบริโภคก่อให้เกิดอาชีพและรายได้ให้กับชุมชนอีกด้วย ซึ่งจะถือว่าการใช้ทรัพยากรธรรมชาติในท้องถิ่นอย่างคุ้มค่า

กิตติกรรมประกาศ

งบประมาณในการวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ในปีงบประมาณ 2560 ขอขอบคุณผู้นำทุกชุมชนที่กรุณาและอนุญาตให้ทำการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างปลาในเขตอนุรักษ์สัตว์น้ำได้ ขอขอบใจนักศึกษาสาขาวิชาประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน ที่เข้าร่วมการปฏิบัติงานในการเก็บรวบรวมตัวอย่างปลา จนทำให้การปฏิบัติงานภาคสนามเสร็จสิ้นด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Anksungnoen, S. 2015. Environmental impact from pesticide utilization. **EAU Heritage Journal Science and Technology** 9(1): 50-63. (in Thai)
- Azmir, I. A. and Samat, A. 2010. Diversity and distribution of stream fishes of Pulau Langkawi, Malaysia. **Sains Malasiana** 39(6): 869-875.
- Bittencourt, L.S., Silva, U.R.L., Silva, L.M.A. and Tavares- Dias, M. 2014. Impact of the invasion from Nile tilapia on natives Cichlidae species in tributary of Amazonas River, Brazil. **Biota Amazonia** 4(3): 88-94.
- Buanak, T., Thunjai, T., Penpibulratana, S., Vidthayanon, C., Termvidchakorn, A., Sridee, N. and Suksri, S. 2004. **Diversity of fishes in Songkram River basin**. Technical Paper, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Chaichana, R., Pouangcharean, S. and Yoonphand, R. 2011. Habitat, abundance and diet of invasive suckermouth armored catfish (Loricariidae *Pterygoplichthys*) in the Nong Yai Canal, East Thailand. **Tropical Zoology** 24(1): 49-62.
- Chakraborty, P., Chakraborti, S., Mukherjee, P., Yardi, K. and Das, S. 2020. Note on the discovery and ecology of the invasive armoured catfish *Pterygoplichthys disjunctivas* (Weber, 1991) and the exotic cichlid *Amphilophus trimaculatus* (Günther, 1867) from Southern West Bengal, India. **Ecological Questions** 31(1): 7-13.
- Chindaphan, N. 2005. **Fish community of fresh water fish in the Tapee River and Canal**. Fisheries science shot communications, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Chuenjai, S., Grudpan, J. and Jutagate, T. 2022. Structure of fish communities in Chi River categorized by trophic levels: trend and variation. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University** 24(3): 20-29. (in Thai)
- Damchoo, S. 2018. **Catch efficiency and gear selectivity of gillnet in Pak Panang River, Nakhon Si Thammarat province**. Technical paper, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Fisheseries Development Policy and Planning Division. 2020. **Fisheseries statistics of Thailand 2018**. Published document, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Fisheseries Development Policy and Planning Division. 2021. **The Estimation of productivity and value of aquatic animals from Thailand's fisheries between 2021-2023**. Published document, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Fricke, R., Eschmeyer, W. and Fong, J.D. 2022. **Eschmeyer's catalog of fishes**. Available Source: <https://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>, April 7, 2022.
- Hajisamae, S. 2008. **Fish ecology: Theory and application**. 1sted. Mitrphap Printing, Pattani. (in Thai)
- Keawkhiew, P., Keawtip., S., Seetakoses, P. and Montuen-art., B. 2015. Biodiversity of fish in Maesaw Creek at the Initiative Highland

- Agricultural Development Station Project, Ban Santisuk, Khunkual subdistrict, Phong district, Phayao province. **Journal of Fisheries Technology Research** 7(2): 70-81. (in Thai) Cited Tudorance, C., Green, R.H. and Huebner, J. 1975. Structure, Dynamics and Production of the Benthic Fauna in Lake Monitoba. **Hydrobiologia** 64(1): 59-95.
- Khachonpisitsak, S. and Eiamprasert, S. 2015. Species diversity and abundance of birds in Si Chang Area, Ko Si Chang district, Chonburi province. **Burapha Science Journal** 20(2): 56-72. (in Thai)
- Kottelat, M. 2001. **Fishes of Laos**. Gunaratne Offset Ltd., Colombo.
- Kottelat, M. 2013. The fishes of the inland of Southeast Asia: A catalogue and core bibliography of the fishes known to occur in freshwaters, mangroves and estuaries. **The Raffles Bulletin of Zoology** 27 (Suppl.): 1-633.
- Krebs, C.J. 1999. **Ecological Methodology**. 2nd ed. Longma, California.
- Kunlapapuk, S., Kulabong, S. and Saipattana, P. 2014. Species diversity and abundance of brackish fishes at mangrove area of Phetchaburi Estuary. **Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University** 1(3): 671-682. (in Thai)
- Lothongkham, A. 2008. Species diversity of fishes in the Nan River basin (the Chao Phraya River system) in Nan province, northern Thailand. Master of Science (Fisheries Science), Kasetsart University. (in Thai)
- Lothongkham, A. and Duangjai, E. 2010. Diversity of fish species in Wa River basin (a tributary of upper Nan River basin) in Bo Kleua district, Nan province, northern Thailand, pp. 415-426. *In The Proceeding of 48th Kasetsart University Annual Conference*. Papermate, Bangkok. (in Thai)
- Lothongkham, A. and Jaisuk, C. 2017. Exploration of fish fauna in the Yang River, Nan province, northern Thailand, pp. 218-223. *In Proceeding of 10th Rajamngala University of Technology Tawan- ok Conference*. Chonlakit Printing, Chonburi. (in Thai)
- Lothongkham, A. and Jaisuk, C. 2020. Alien fish species in the Nan River basin in Nan province, northern Thailand. **Rajamanga University of Technology Tawan- ok Research Journal** 13(2): 9-19. (in Thai)
- Lothongkham, A. and Kullama, P. 2011. Fish diversity in Yao River (a tributary of the upper Nan River basin) Nan province, northern Thailand, pp. 454-462. *In The Proceeding of 48th Kasetsart University Annual Conference*. Papermate, Bangkok. (in Thai)
- Lothongkham, A., Arbsuwan, S. and Musikasinthorn, P. 2014a. *Garra waensis*, a new cyprinid fish (Actinopterygii: Cypriniformes) from the Nan River basin of the Chao Phraya River system, northern Thailand. **Zootaxa** 3790(4): 543-554.
- Lothongkham, A., Changsarn, J. and Chaichorfa, A. 2009. Survey on diversity of fish species in Hang River, the tributary of upper Nan

- River, Northern Thailand, pp. 517-524. *In The Proceeding of 47th Kasetsart University Annual Conference*. Pro-Texts, Bangkok. (in Thai)
- Lothongkham, A. , Jaisuk, C. and Boonthima, J. 2013. Diversity of fishes in the Kon River (a tributary of the upper Nan River basin) Nan province, northern Thailand, pp. 64-69. *In Proceeding of 6th Rajamangala University of Technology Tawan- ok Conference*. Triple Group, Chonburi. (in Thai)
- Lothongkham, A. , Jaisuk, C. and Sunthornmath, P. 2014b. Diversity of fish in Sa River (a tributary of the upper Nan River basin) Nan province, pp. 468-478. *In Proceeding of 6th Rajamangala University of Technology National Conference*. Siri-aksorn Press, Phra Nakhon Si Ayutthaya. (in Thai)
- Lothongkham, A. , Jaisuk, C. and Sunthornmath, P. 2015. Exploration of fish fauna in the Lower Wa River, Nan province, pp. 259-270. *In Proceeding of 7th Rajamangala University of Technology National Conference*. Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasima. (in Thai)
- Lothongkham, A. , Jaisuk, C. and Sunthornmath, P. 2017. Exploration of fish fauna in Pua River Nan province, northern Thailand, pp. 812- 821. *In The Proceeding of 55th Kasetsart University Annual Conference*. n.p., Bangkok. (in Thai)
- Margalef, R. 1958. Information Theory in Ecology. *General Systems* 3: 36-71.
- Mohammad, M. S. , Fadzil, N. F. M. , Sah, A. S. R. , Zakeyuddin, M. S. , Darwin, E. D. and Hashim, Z. H. 2018. A freshwater fish biodiversity and distribution at Bukit Merah Reservoir River feeders, Perak, Peninsular Malaysia. *Malayan Nature Journal* 70(4): 463-470.
- Naksuwon, S. , Boon-ngam, J. , Wannaprapha, M. , Pungchimplee, S. and Sinlapachai, W. 2017. **Structure and distribution of fish community in the Chanthaburi River**. Technical paper, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Nelson, J. S. , Grande, T. C. and Wilson, M. V. H. 2016. **Fishes of the World**. 5th ed. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Nokkiaw, C. , Damdin. , N. and Chankao, K. 2016. Effect of water Quality to biodiversity of fish in the Tha Chin River. **Thai Environmental Engineering Journal** 30(2): 67-80. (in Thai)
- Orfinger, A. B. and Gooding, D. D. 2018. Then global invasion of the suckermouth armored catfish genus *Pterygoplichthys* (Suluirformes: Loricariidae) : Annotated list of species, distributional summary, and assessment of impacts. *Zoological Studies* 57(7): 1-16.
- Petsut, N. , Kulabthong, S. and Petsut, J. 2022. Species diversity and population structure of fishes in the Phrom River, Chaiyaphum province, the northern region of Thailand. **Burapha Science Journal** 27(1): 228-243. (in Thai)
- Pettingill, O. S. 1969. **A laboratory and field manual of ornithology**. Burgess Publishing Company, Minnesota.

- Pila, N., Hanpongkittikul, A., Suksri, S. and Nuanak, T. 2011a. **Diversity of fishes in the Yom basin.** Technical paper, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Pila, N., Hanpongkittikul, A., Suksri, S. and Nuanak, T. 2011b. **Diversity of fishes in the Wang basin.** Technical paper, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Raiboth, W.J. 1996. **Fishes of the Cambodian Mekong.** FAO, Rome.
- Rayan, S. 2014. Fishes diversity and fish-based index of biological integrity (IBI) of Nong Han Wetland, Sakonkakhon province, Thailand. Doctor of Philosophy (Agriculture), Ubon Ratchathani University. (in Thai)
- Seehirunwong, S. and Seehirunwong, A. 2004. **Fish community structures and gillnets efficiency in Trang River, Trang province.** Technical paper, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Sinlapachai, W. and Renunual, A. 2005. **Fish community structure and distribution in the Bangpakong River.** Technical paper, Department of Fisheries, Bangkok. (in Thai)
- Smith, H.M. 1945. **The fresh-water fishes of Siam, or Thailand.** United States National Museum, U.S. Government Printing Office, Washington.
- Suresh, V.R., Ekka, A., Biswas, D.K., Sahu, S.K., Yousuf, A. and Das, S. 2019. Vermiculated sailfin catfish, *Pterygoplichthys disjunctivus* (Actinopterygii: Sulluriformes: Loricariidae): Invasion, biology, and initial impacts in East Kolkata Wetlands, India. **Acta Ichthyologica Et Piscatoria** 49(3): 221-233.
- Suryaningsih, S., Sukmaningrum, S., Simanjuntak, S.B. and Kusbiyanto. 2018. Diversity and longitudinal distribution of freshwater fish in Klawing River, Central Java, Indonesia. **Biodiversitas** 19(1): 85-92.
- Suvarnaraksha, A. 2016. **Fishes in Ping River basin.** 1st ed. Maejopress, Chiangmai. (in Thai)
- Tan, M. and Armbruster, J.W. 2018. Phylogenetic classification of extant genera of fishes of the order Cypriniformes (Telaostei: Ostariophysi). **Zootaxa** 4476(1): 6-39.
- Tangsup, S., Boonprapop, P., Thianpopirug, S. and Nanwichai, D. 2009. **Standard map of the division of the main and tributary watersheds of Thailand.** 1st ed. Sahamitr Printing and Publishing, Nonthaburi. (in Thai)
- Tudorance, C., Green, R.H. and Huebner, J. 1975. Dynamics and production of the benthic fauna in Lake Monitoba. **Hydrobiologia** 64(1): 59-95.
- Uawonggul, N., Rattanamalee, C. and Daduang, S. 2019. Diversity of fish in Mekong River, Nakhon Phanom province. **KKU Science Journal** 47(3): 402-412. (in Thai)
- Valunpion, S. and Suvarnaraksha, A. 2013. Fish species diversity in the Ing River. **Khonkhan Agriculture Journal** 41(Suppl. D): 116-122. (in Thai)
- Vincent, I.S.T. and Fonseca-Alves, C.E. 2013. Impact of introduced Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on non-native aquatic ecosystem. **Pakistan Journal of Biological Science** 16(3): 121-126.

ผลของสภาวะการฆ่าเชื้อระดับสเตอริไลซ์ต่อคุณภาพ ของเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง

Effect of Sterilization Condition on Qualities of Canned *Boletus griseipurpureus* Corner in Brine

ดลฤดี พิชัยรัตน์* และ นพรัตน์ มะเห

Donrudee Pichairat* and Nopparat Mahae

Received: 15 September 2022, Revised: 1 June 2023, Accepted: 12 June 2023

บทคัดย่อ

การศึกษาการผลิตเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง โดยศึกษาสภาวะการฆ่าเชื้อและผลของการฆ่าเชื้อที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เพื่อทราบถึงสภาวะการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ เห็ดเสม็ดที่ผ่านการต้มบรรจุในกระป๋องให้มีน้ำหนัก 110 กรัม เติมน้ำเกลือ (สารละลายผสมระหว่างเกลือ โซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 กับกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ให้มีน้ำหนักรวม 200 กรัม เมื่อนำไปฆ่าเชื้อที่ 2 ระดับอุณหภูมิ คือ 116 และ 121 องศาเซลเซียส พบว่าการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 42 นาที และการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 20 นาที ได้ค่า F_0 เท่ากับ 10.08 และ 10.35 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพผลิตภัณฑ์เห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส มีสีคล้ำและมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แต่มีคุณภาพทางเคมีใกล้เคียงกัน มีความปลอดภัยในการบริโภคและได้รับการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสในทุกปัจจัยคุณภาพไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) การฆ่าเชื้อเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องจึงสามารถใช้ได้ทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิ เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องกับเห็ดเสม็ดต้มที่เตรียมเพื่อการบริโภคตามปกติ พบว่าผลิตภัณฑ์มีค่าความสว่าง (L^*) ลดลงและมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้น รวมถึงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกลดลง คงเหลืออยู่ในช่วงร้อยละ 78.00-78.13 73.99-77.41 และ 65.25-65.40 ตามลำดับ อันเป็นผลเนื่องมาจากการถูกทำลายด้วยความร้อนขณะฆ่าเชื้อ

คำสำคัญ: เห็ดเสม็ด, อาหารกระป๋อง, การฆ่าเชื้อ

สาขาวิชาอุตสาหกรรมอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150
Program in Food Industry, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang 92150, Thailand.

* ผู้รับผิดชอบประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): donrudee.j@rmutsv.ac.th

ABSTRACT

The production of canned *Boletus griseipurpureus* Corner in brine involved studying the product sterilization conditions and the effects of sterilization process on product properties. The objective of this study was to find proper sterilization conditions for producing the product. Boiled mushrooms, weighing 110 g, was packed into cans before adding a salt solution (1% sodium chloride and 0.1% citric acid (w/v)) to make a total weight of 200 g and they were sterilized at two temperature levels (116 and 121 °C). The results showed that the sterilization at 116 °C for 42 minutes and 121 °C for 20 minutes gave F_0 of 10.08 and 10.35, respectively. The comparison of canned mushroom qualities sterilized at two temperature levels found that the product sterilized at 116 °C exhibited a dark color and softer texture than product sterilized at 121 °C, but the chemical qualities of sterilized product analyzed in both temperature levels were similar, safe for consumption, and showed no significant differences ($p>0.05$) in all sensory quality factors. Therefore, both temperature levels estimated can be used for the sterilization process of canned *Boletus griseipurpureus* Corner in brine. The comparison of the canned products with boiled mushroom prepared for consumption found that the canned mushroom had a lower L^* value and a softer texture. In addition, the total phenolic content, DPPH free radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power (Frap) decreased, with residuals falling within the ranges of 78.00-78.13%, 73.99-77.41% and 65.25-65.40% respectively as a result of thermal disruption during the sterilization process.

Key words: *Boletus griseipurpureus* corner, canned food, sterilization

บทนำ

เห็ดเสม็ด (*Boletus griseipurpureus* Corner) เป็นเห็ดป่ากินได้ที่พบขึ้นตามพื้นดินบริเวณที่มีต้นเสม็ดขาว (*Corymbia citriodora*) ต้นกระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) และต้นยูคาลิปตัส (*Eucalyptus* spp.) ขึ้นอยู่ โดยมักพบในพื้นที่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศ (Seehanan and Petcharat, 2008; Pornpitakdamrong *et al.*, 2016) มีลักษณะเป็นเห็ดทรงร่ม หมวกเห็ดมีรูปร่างโค้งนูนคล้ายรูปกระทะคว่ำ ภายนอกมีสีเทาอมม่วงหรือม่วงอ่อน ภายในมีสีขาว ด้านล่างของหมวกดอกมีลักษณะเป็นรู ก้านดอกด้านล่างมีสีเหมือนดอกเห็ด ด้านในมีสีขาวและมีลักษณะเป็นรูกลวงตลอดความยาวก้านดอก (Jantharathep, 1993;

Seehanan *et al.*, 2007) เห็ดเสม็ดมีรสชาติดกนิ่ม นิยมบริโภคทางภาคใต้ โดยชาวบ้านมักนำมาต้มในน้ำเดือดใส่เกลือหรือใส่ใบมะขามเพื่อลดความขมก่อนนำไปบริโภค ซึ่งการบริโภคอาจนำมาจิ้มกินกับน้ำพริกหรือนำไปปรุงเป็นอาหารชนิดต่าง ๆ เช่นแกงกะทิ (Pornpitakdamrong *et al.*, 2016) มีรายงานการศึกษาที่พบว่าเห็ดเสม็ดมีปริมาณโปรตีนและเยื่อใยสูง แต่มีปริมาณไขมันต่ำ โดยเห็ดเสม็ดที่ผ่านการทำแห้ง (ความชื้นร้อยละ 10.1) มีปริมาณเยื่อใย โปรตีน ไขมัน และเยื่อใยร้อยละ 8.6 31.4 0.9 และ 15 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (Aung-aud-chariya *et al.*, 2012; Pornpitakdamrong *et al.*, 2016; Sudjaroen and Thongkao, 2017) และพบว่าสารสกัดจากเห็ดเสม็ดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิด เช่น

Staphylococcus aureus และ *Escherichia coli* (Aung-aud-chariya *et al.*, 2015)

เห็ดเสม็ดออกผลผลิตเป็นช่วงฤดูหนาว โดยจะพบในช่วงต้นฤดูฝน ประมาณเดือนเมษายน-มิถุนายน สภาพอากาศที่เหมาะสมแก่การงอกของเห็ดชนิดนี้ คือ สภาพอากาศที่ร้อนและแห้งแล้งติดต่อกันเป็นเวลานาน และมีฝนตกหนักติดต่อกันภายหลัง (Pornpitakdamrong *et al.*, 2016; Aung-aud-chariya *et al.*, 2018; kaewsongsang *et al.*, 2018) ซึ่งเห็ดเสม็ดมีอายุการเก็บรักษาสั้น สามารถเก็บในรูปสดได้เพียง 1-2 วัน จึงจัดเป็นเห็ดหายากและมีราคาแพง การแปรรูปเห็ดเสม็ดให้อยู่ในรูปของอาหารกระป๋องเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของเห็ดเสม็ดให้เก็บไว้ได้นาน ทำให้มีเห็ดเสม็ดไว้บริโภคตลอดทั้งปี ทั้งนี้เนื่องจากการผลิตอาหารกระป๋องเป็นวิธีการแปรรูปอาหารด้วยความร้อนที่สามารถทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ของจุลินทรีย์ทั้งชนิดที่ก่อให้เกิดโรค (pathogen) และชนิดที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้ (food spoilage) จึงสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารไว้ได้นานและมีความปลอดภัยในการบริโภค (Rungsardthong, 2004) อีกทั้งการแปรรูปดังกล่าวยังเป็นการช่วยให้สามารถใช้ประโยชน์จากเห็ดเสม็ดได้อย่างคุ้มค่า มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเห็ดหลายชนิด เช่น Chandrasekar *et al.* (2004) ศึกษาการผลิตเห็ดแชมปิญองในน้ำเกลือบรรจุจุกรีทอร์ทเพาซ์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 17 นาที มีค่า F_0 เท่ากับ 9.6 สามารถเก็บไว้ได้นาน 12 เดือน ขณะที่ Nketia *et al.* (2020) ศึกษาการผลิตเห็ดนางฟ้าในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง โดยการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสามารถเก็บไว้ได้นานกว่า 6 เดือน อย่างไรก็ตามการแปรรูปด้วยความร้อน

ดังกล่าวส่งผลต่อการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของเห็ดได้ โดย Liaotrakoon and Liaotrakoon (2017) ศึกษาการผลิตเห็ดตับเต่าในน้ำเกลือบรรจุขวดแก้ว โดยฆ่าเชื้อด้วยวิธีการนึ่งด้วยไอน้ำเป็นเวลา 30 นาที ก่อนปิดฝาขวดและทำให้เย็น พบว่าผลิตภัณฑ์เห็ดตับเต่าในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระลดลงเหลือเพียงร้อยละ 42.09 และ 74.49 เมื่อเทียบกับเห็ดตับเต่าสด และการศึกษาของ Nketia *et al.* (2020) ที่พบว่าเห็ดนางรมในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนในระดับสเตอริไลส์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที มีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับเห็ดนางรมที่ผ่านการลวกด้วยไอน้ำและเห็ดนางรมสด การศึกษาสถานะในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่เหมาะสมจะช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไว้ได้

ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงสนใจที่จะนำเห็ดเสม็ดซึ่งเป็นวัตถุดิบในท้องถิ่นมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสถานะการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์และผลของการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งข้อมูลที่ได้ทำให้ทราบถึงสถานะการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเห็ดเสม็ด

เห็ดเสม็ดที่เก็บได้ในช่วงฤดูหนาว (เม.ย.-พ.ค.) ในพื้นที่อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง นำมาคัดแยกขนาด โดยคัดเลือกเห็ดที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดอกเห็ดอยู่ในช่วง 1.5-2.5 เซนติเมตร จากนั้นนำมาตัดแต่งแยกเอาเศษดิน ลังปนเปื้อนต่าง ๆ และส่วนที่กินไม่ได้ ออก นำไปใช้ในการทดลอง

2. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติการต้าน ปฏิกิริยาออกซิเดชันของเห็ดเสม็ด

เห็ดเสม็ดที่เตรียมได้ตามวิธีการในข้อที่ 1 นำมาศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเห็ดเสม็ด ดังนี้

2.1 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

- ความชื้น ตามวิธีของ AOAC (2000)
- เถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000)
- โปรตีน ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ไขมัน ตามวิธีของ AOAC (2000)
- เยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2000)
- คาร์โบไฮเดรต โดยวิธีคำนวณ

2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

เตรียมสารสกัดจากเห็ดเสม็ดตามวิธีที่คัดแปลงจาก Sulaiman *et al.* (2011) โดยใช้เห็ดเสม็ดบดละเอียด 10 กรัม ต่อเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร สกัดด้วยเครื่องเขย่า (shaker) ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองสารสกัดที่ได้ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำไปตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents) ตามวิธีของ Zhang *et al.* (2013) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และตรวจวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl) ตามวิธีของ Zhang *et al.* (2013) โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน และวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (Ferric Reducing Antioxidant Power, Frap) ตามวิธีของ Benzie and Strain (1996) โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (UV-1601 spectrophotometer, Shimadzu, Japan)

3. การศึกษาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์เห็ดเสม็ดในน้ำเกลือ บรรจุกระป๋อง

เห็ดเสม็ดที่เตรียมตามวิธีการในข้อ 1 นำมาต้มในสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 4 กับกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามวิธีการของ Pichairat and Mahae (2017) โดยมีอัตราส่วนระหว่างเห็ดต่อสารละลายที่ใช้ต้ม 1:5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำเห็ดเสม็ดขึ้นทำให้เย็นในน้ำเย็นทันที แล้วล้างน้ำ 1-2 ครั้ง จนไม่มีสิ่งสกปรก วางพักไว้ให้สะเด็ดน้ำ ศึกษาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์โดยนำเห็ดเสม็ดที่ผ่านการต้มจำนวน 110 กรัม มาบรรจุในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 307x113 ที่ติดตั้งเข็มวัดอุณหภูมิคู่ควม (thermocouple) บริเวณด้านข้างของกระป๋องตรงตำแหน่งกึ่งกลางของความสูงจากก้นของกระป๋อง โดยให้ปลายเข็มอยู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางของกระป๋อง (ปลายเข็มวัดอุณหภูมิเสียบที่ขึ้นเห็ด) จากนั้นเติมสารละลายผสมระหว่างเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 กับกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ขณะร้อนปริมาณ 90 กรัม ทำการไล่อากาศออกจากกระป๋อง (exhausting) โดยการผ่านอุโมงค์ไอน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที ปิดผนึกฝาด้วยเครื่องปิดฝากระป๋อง (JK Somme, Spain) และตรวจสอบความเรียบร้อยของตะเข็บกระป๋อง ติดตั้งระบบวัดการแทรกผ่านความร้อนโดยต่อสายวัดอุณหภูมิจากเข็มวัดอุณหภูมิเข้ากับเครื่องวัดอุณหภูมิ (TM 14794, Ellab, Germany) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์เข้าเครื่องฆ่าเชื้อแบบใช้ไอน้ำ (steam retort) (Food Machinery, Thai) ทำการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 116 และ 121 องศาเซลเซียส กำหนดค่า F_0 เท่ากับ 10 นาที (Chandrasekar *et al.*, 2004) บันทึกอุณหภูมิในเครื่องฆ่าเชื้อและอุณหภูมิ

อาหารที่จุดร้อนซ้ำที่สุดภายในภาชนะบรรจุทุก 1 นาที จนถึงสิ้นสุดกระบวนการให้ความร้อนและทำให้เย็น กำหนดค่า F_0 และระยะเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ของแต่ละอุณหภูมิ (process time) ด้วยวิธีทั่วไป (general method) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

4. การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์

ทำการผลิตเห็ดเสมีดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง และฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 116 และ 121 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการฆ่าเชื้อตามที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 3 แล้วนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาตรวจสอบคุณภาพ ดังนี้

4.1 คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี (L^* , a^* , b^*) ด้วยเครื่องวัดสี (Microscan EZ, Hunter Lab, U.S.A)
- ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) โดยวิธีคำนวณ
- ค่าความแน่นเนื้อ (firmness) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (TA.XT plus Texture analyzer, Stable Micro Systems, UK) เลือกการทดสอบแบบเจาะทะลุ (penetration) โดยใช้หัววัด cylinder probe (P/2) ความเร็วระหว่างทดสอบ 1.5 มิลลิเมตร/วินาที ระยะในการกด 5 มิลลิเมตร (Gao *et al.*, 2014)

4.2 คุณภาพทางเคมี

- องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร ตามวิธีของ AOAC (2000) และคาร์โบไฮเดรต โดยวิธีคำนวณ
 - ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณเกลือ (NaCl) ตามวิธีของ AOAC (2000)
 - ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน
- เตรียมสารสกัดจากเห็ดเสมีด ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Sulaiman *et al.* (2011) และวิเคราะห์

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Zhang *et al.*, 2013) ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH (Zhang *et al.*, 2013) และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอรัริก (Benzie and Strain, 1996) เช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 2.2

4.3 คุณภาพทางจุลชีววิทยา

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ประเมินคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, Flat sour bacteria ชนิด thermophile, Flat sour bacteria ชนิด mesophile, Thermophilic anaerobes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, Coliform bacteria และ *Clostridium botulinum* ตามวิธีของ BAM (2001)

4.4 คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของเห็ดเสมีดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง โดยนำเห็ดเสมีดมาแกะกะทิ ประเมินปัจจัยคุณภาพด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวม ด้วยวิธี 9-point hedonic scale กับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้รับการฝึกฝน (Untrained panel) จำนวน 30 คน

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี T-Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเห็ดเสม็ด

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดเสม็ด (แสดงดังตารางที่ 1) พบว่าเห็ดเสม็ดมีปริมาณ

ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 91.20 0.90 2.52 0.21 2.37 และ 5.17 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

Table 1 Proximate composition, Total Phenolic content and Antioxidant properties of mushroom

Composition	Contents	
	% Fresh weight	% Dry weight
1. Proximate composition		
- Moisture	91.20±0.06	-
- Ash	0.90±0.04	10.26±0.48
- Protein	2.52±0.01	28.61±0.15
- Fat	0.21±0.01	2.33±0.05
- Crude fiber	2.37±0.06	26.89±0.66
- Carbohydrate	5.17±0.05	58.80±0.50
2. Total Phenolic Content (mg GAE/100 g)	68.60±0.15	840.65±1.82
3. Antioxidant properties		
- DPPH (mg AAE/100 g)	22.13±0.06	271.26±1.15
- Frap (mg GAE/100 g)	14.60±0.05	178.87±0.61

ซึ่งจากผลการศึกษาข้างต้นจะเห็นได้ว่าเห็ดเสม็ดมีปริมาณ โปรตีนและเยื่อใยสูง แต่มีปริมาณไขมันต่ำ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Sudjaroen and Thongkao (2017) ที่พบว่าเห็ดเสม็ดแห้งที่นำมาศึกษา (ความชื้นร้อยละ 10.1) มีปริมาณ โปรตีนสูงและมีปริมาณไขมันต่ำ โดยมีโปรตีนร้อยละ 4.28 และไขมันร้อยละ 0.14 โดยน้ำหนัก และผลการศึกษาของ Liu *et al.* (2016) ที่พบว่าเห็ดสกุลโบลีทัส (*boletus mushroom*) มีปริมาณ โปรตีนสูง (ร้อยละ 21.72-30.59 โดยน้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณไขมันต่ำ (ร้อยละ 1.96-7.87 โดยน้ำหนักแห้ง) เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าเห็ดเสม็ดที่ใช้ในการ

ทดลองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 68.60 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักสด มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเท่ากับ 22.13 มิลลิกรัมสมมูลวิตามินซี/100 กรัม น้ำหนักสด และ 14.60 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับเห็ดป่ากินได้ที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย เช่น เห็ดเผาะ (*Astraeus odoratus*) เห็ดผึ้ง (*Heimiella retispora*) พบว่าเห็ดเสม็ดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า (Srikram and Supapvanich, 2016) โดยเห็ดทั้งสองชนิดมีปริมาณ โปรตีนและเยื่อใยสูง แต่มีปริมาณไขมันต่ำด้วยเช่นกัน

2. ผลการศึกษาการฆ่าเชื้อเห็ดเข็มดินในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง

ข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 355 พ.ศ. 2556 เรื่องอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิท กำหนดให้อาหารประเภทกรดต่ำที่บรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิทต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่กำหนด โดยให้มีค่า F_0 ไม่น้อยกว่า 3 นาที เพื่อให้เพียงพอต่อการทำลายเชื้อ *Clostridium botulinum* (Ministry of Public Health, 2013) การศึกษาการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์เห็ดเข็มดินในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียสและ 121 องศาเซลเซียส กำหนดให้ค่า F_0 เท่ากับ 10 นาที ข้อมูลการศึกษาการแทรกผ่านความร้อน (heat penetration) และบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการฆ่าเชื้อของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิ แสดงดังภาพที่ 1 และ 2 ซึ่งผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลาที่จุดร้อนช้าที่สุดของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการฆ่าเชื้อ เมื่อนำมาคำนวณหาค่า F_0 และกำหนดระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ (process time) พบว่าการฆ่าเชื้อเห็ดเข็มดิน

น้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ (process time) 42 นาที ได้ค่า F_0 เท่ากับ 10.08 นาที ขณะที่การฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ (process time) 20 นาที ได้ค่า F_0 เท่ากับ 10.35 นาที โดยมีค่า come up time (CUT) เท่ากับ 8 นาที ซึ่งผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Pursito *et al.* (2020) ที่ศึกษาการฆ่าเชื้อเห็ดเข็มปิของ (*Agaricus bisporus*) ในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่อุณหภูมิ 115 121 และ 130 องศาเซลเซียส โดยให้ค่า F_0 เท่ากับ 10 นาที พบว่าใช้เวลาในการฆ่าเชื้อนาน 39.32 11.22 และ 1.30 นาที ตามลำดับ และพบว่าการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง เวลาในการฆ่าเชื้อสั้น ให้ประสิทธิภาพของการใช้น้ำสูงสุด ทำให้เกิดความคุ้มค่าของต้นทุน ขณะที่ผลการศึกษาของ Chandrasekar *et al.* (2004) พบว่าการฆ่าเชื้อเห็ดเข็มปิของ (*Agaricus bisporus*) ในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ (process time) 17 นาที ได้ค่า F_0 เท่ากับ 9.6 นาที ซึ่งผลิตภัณฑ์เห็ดในน้ำเกลือควรมีค่า F_0 ในช่วง 8-10 นาที

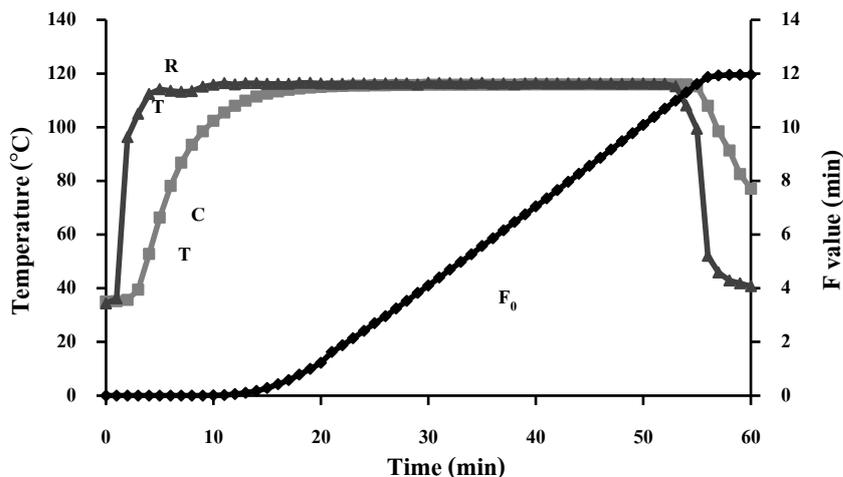


Figure 1 Heat penetration and F_0 of canned mushroom in brine during sterilization at 116 °C

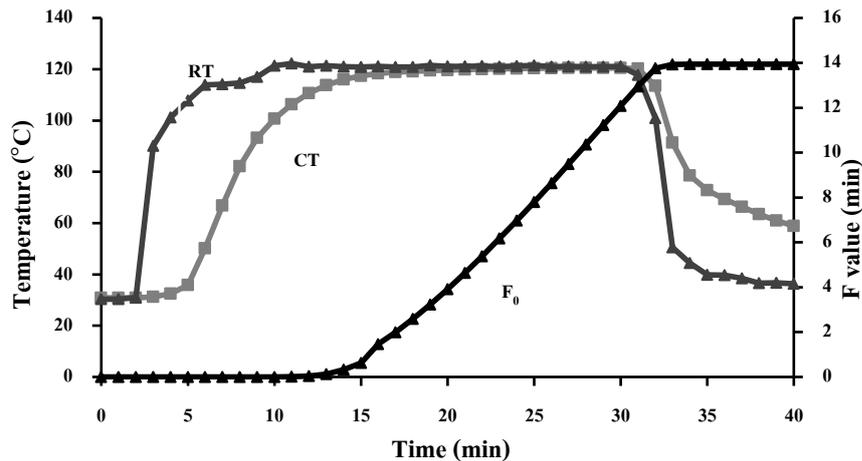


Figure 2 Heat penetration and F_0 of canned mushroom in brine during sterilization at 121 °C

3. ผลการศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์เห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง

การศึกษาคูณภาพทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์เห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 และ 121 องศาเซลเซียสตามสภาวะที่ได้จากการศึกษาข้างต้น ได้ผลแสดงดังตารางที่ 2-5 พบว่า การฆ่าเชื้อด้วยความร้อนระดับสเตอริไลต์ ส่งผลให้เห็ดเสม็ดทั้งส่วนก้านและดอกเห็ดเกิดการเปลี่ยนแปลงสี (ΔE) โดยมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าความเป็นสีแดง (a^*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเห็ดเสม็ดคั่วที่เตรียมเพื่อบริโภคตามปกติ (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อส่งผลให้เห็ดเสม็ดมีสีคล้ำมากขึ้น และยังส่งผลให้เห็ดเสม็ดมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้นทั้งส่วนก้านและดอกเห็ด ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพทางกายภาพของเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิที่ต่างกัน พบว่าเห็ดเสม็ดที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงของสี (ΔE) มากกว่าเห็ดเสม็ดที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะในส่วนของก้านที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีมากกว่าส่วนของดอกเห็ด ซึ่งทั้งส่วนก้านและดอก

เห็ดจะมีค่าความสว่าง (L^*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ลดลง เมื่อเทียบกับเห็ดเสม็ดที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการใช้ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อที่นานขึ้น ส่งผลให้เกิดการสูญเสียอากาศและน้ำออกจากชิ้นเห็ดมากขึ้น รวมถึงการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (ปฏิกิริยาเมลลาร์ด) และการทำปฏิกิริยาระหว่างเห็ดกับคิบูกหรือเหล็กที่เป็นส่วนประกอบของกระป๋องในระหว่างการให้ความร้อน ส่งผลให้เห็ดมีสีคล้ำมากขึ้น (Nketia *et al.*, 2020; Garcia *et al.*, 2021) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Garcia *et al.* (2021) ที่พบว่าการปรุงเห็ดพอร์ซินี (*Boletus edulis*) ด้วยความร้อน เช่น การตุ๋น การย่าง และการอบ ส่งผลให้เห็ดทั้งส่วนของก้านและดอกเห็ดมีสีคล้ำมากขึ้นจากการสูญเสียน้ำและอากาศ และการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล โดยเฉพาะส่วนของดอกเห็ด ในส่วนของเนื้อสัมผัสพบว่าเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส มีเนื้อสัมผัสทั้งส่วนของก้านและดอกเห็ดนุ่มมากกว่าเห็ดเสม็ดที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะในส่วนของดอกเห็ด โดยดอกเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส มีค่าความแน่นเนื้อลดลงร้อยละ 40.38 ในขณะที่ดอกเห็ดเสม็ดในน้ำเกลือ

ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส มีค่าความแน่นเนื้อลดลงร้อยละ 20.51 เมื่อเทียบกับเห็ดสดที่เตรียมเพื่อบริโภคตามปกติ ทั้งนี้การใช้เวลาในการฆ่าเชื้อที่นานขึ้น ส่งผลให้เห็ดมีการสูญเสียน้ำหนักและปริมาตรมากขึ้น โปรตีนเกิดการเสียสภาพเยื่อหุ้มเซลล์และพันธะไฮโดรเจนของผนังเซลล์ถูกทำลาย ทำให้เห็ดมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้น (Jaworska and Bernas, 2010) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Nketia *et al.* (2020) ที่พบว่ากระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน เช่น การลวกด้วยไอน้ำและการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนในระดับสเตอริไลส์ส่งผลให้เห็ดนางรมมีค่าความสว่าง (L*) ลดลง และพบว่าการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนส่งผลให้ผนังเซลล์ของเห็ดแตกออก โปรตีนเกิดการเสียสภาพ เกิดการสูญเสียเพคตินและเกิดการซึมผ่านได้มากขึ้น เห็ดจึงมีเนื้อสัมผัสที่นุ่ม

มากขึ้นและสูญเสียความเต่งจากการสูญเสียไอน้ำ โดยเห็ดนางรมในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนในระดับสเตอริไลส์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที มีค่าความสว่าง (L*) ลดลงและมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับเห็ดนางรมที่ผ่านการลวกด้วยไอน้ำและเห็ดนางรมสด ขณะที่ผลการศึกษา Jaworska and Bernas (2010) พบว่า การลวกเห็ดพอร์ชินีส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัสของส่วนของก้านเห็ดมากกว่าดอกเห็ด โดยส่วนของดอกเห็ดจะมีค่าความแข็งลดลงร้อยละ 17-36 ส่วนก้านเห็ดมีค่าความแข็งลดลงร้อยละ 55-60 เมื่อเทียบกับเห็ดสด ซึ่งความแตกต่างของเนื้อสัมผัสของเห็ดอันเป็นผลจากการให้ความร้อน อาจเกิดจากความแตกต่างของสายพันธุ์เห็ด รวมถึงรูปแบบและระยะเวลาในการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน

Table 2 Physical quality of boiled mushroom and canned mushroom in brine which sterilized under different conditions

Characteristic	Boiled mushroom	Process treatment	
		116 °C 42 min	121 °C 20 min
1. Colour (L*, a*, b*)			
- Stipe			
L*	31.43±0.68 ^a	28.28±0.34 ^c	30.36±0.20 ^b
a*	8.91±0.95 ^a	5.64±0.08 ^b	5.23±0.13 ^b
b*	21.64±0.54 ^a	13.40±0.22 ^c	15.82±0.48 ^b
ΔE		9.40±0.32 ^a	6.97±0.32 ^b
- Cap			
L*	19.64±0.17 ^a	18.48±0.73 ^b	19.74±0.46 ^a
a*	8.02±0.28 ^a	5.43±0.36 ^b	5.85±0.01 ^b
b*	11.71±0.21 ^a	7.92±0.74 ^c	8.64±0.07 ^b
ΔE		4.75±0.97 ^a	3.78±0.06 ^a
2. Firmness (N)			
- Stipe	1.79±0.05 ^a	1.20±0.08 ^c	1.49±0.05 ^b
- Cap	1.56±0.09 ^a	0.93±0.11 ^c	1.24±0.11 ^b

Remark: Values with different letters in the same row are significantly different ($p \leq 0.05$).

Table 3 Chemical quality of boiled mushroom and canned mushroom in brine which sterilized under different conditions

Composition	Boiled mushroom	Process treatment	
		116 °C 42 min	121 °C 20 min
- Moisture (% fresh weight)	90.49±0.03 ^{ab}	90.41±0.15 ^b	90.68±0.11 ^a
- Ash (% dry weight)	7.14±0.40 ^{ns}	7.31±0.37 ^{ns}	8.26±0.99 ^{ns}
- Protein (% dry weight)	23.15±0.09 ^b	25.32±0.23 ^a	23.24±0.09 ^b
- Fat (% dry weight)	1.53±0.15 ^a	1.65±0.04 ^a	1.01±0.02 ^b
- Dietary fiber (% dry weight)	35.83±0.18 ^{ns}	34.44±0.21 ^{ns}	35.85±0.23 ^{ns}
- Carbohydrate (% dry weight)	68.18±0.19 [*]	65.72±0.43 ^c	67.49±0.11 ^b
- pH	6.25±0.01 ^a	5.25±0.04 ^c	5.52±0.01 ^b
- Salt (% dry weight)	8.18±0.85 ^b	10.07±0.49 ^a	9.98±0.54 ^a
- Total Phenolic Content (mg GAE/100 g dry weight)	538.73±0.81 ^a	420.92±1.53 ^b	420.24±0.50 ^b
- DPPH (mg AAE/100 g dry weight)	177.15±2.17 ^a	131.07±1.11 ^c	137.13±0.67 ^b
- Frap (mg GAE/100 g dry weight)	128.88±1.23 ^a	84.09±0.35 ^b	84.29±0.12 ^b

Remark: Values with different letters in the same row are significantly different ($p \leq 0.05$).

คุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 3) พบว่าการให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อเห็ดเข็มดินในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน โยอาหารและคาร์โบไฮเดรตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับเห็ดเข็มดินที่เตรียมบริโภคตามปกติ แต่มีผลให้เห็ดเข็มดินมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลง และมีปริมาณเกลือเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) อันเป็นผลเนื่องมาจากการบรรจุในสารละลายเกลือ เมื่อให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อมีผลให้เยื่อหุ้มเซลล์บางส่วนถูกทำลายและอ่อนตัวลง เกิดการถ่ายโอนมวลสารจากสารละลายเกลือเข้าไปในเนื้อเห็ด และเกิดการแพร่ของน้ำบางส่วนจากเซลล์ของเห็ดออกสู่สารละลาย เห็ดจึงมีปริมาณเกลือและกรดเพิ่มขึ้น (Chinnasam *et al.*, 2014; Yuenyongputtakal *et al.*, 2015; Charoenphun and Meemuk, 2018) ขณะเดียวกัน ความร้อนในการฆ่าเชื้อมีผลให้เห็ดเข็มดินมีปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลง เนื่องจากการถูกทำลายด้วยความร้อน (Barros *et al.*, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Liaotrakoon and Liaotrakoon (2017) ที่พบว่าเห็ดตับเต่าในน้ำเกลือบรรจุขวดมีปริมาณเกลือเพิ่มขึ้น และมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างเห็ดสด โดยคงเหลือเพียงร้อยละ 42.09 และ 74.49 เนื่องจากการถูกทำลายด้วยความร้อน เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพทางเคมีของเห็ดเข็มดินในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่าเห็ดเข็มดินในน้ำเกลือที่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้ง 2 อุณหภูมิมีคุณภาพทางเคมีที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย โดยเห็ดเข็มดินในน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสจะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่สูงกว่าและมีปริมาณเกลือที่ต่ำกว่าเห็ดเข็มดินในน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 องศา

เซลเซียส เนื่องจากมีระยะเวลาในการฆ่าเชื้อน้อยกว่า การถ่ายโอนมวลสารจากสารละลายที่ใช้บรรจุเข้าไป ในเนื้อเห็ดจึงเกิดขึ้นได้น้อยกว่า นอกจากนี้ยังพบว่า เห็ดเสม็ดคในน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกที่ไม่แตกต่างจาก เห็ดเสม็ดคในน้ำเกลือที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส ($p>0.05$) แต่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่สูงกว่าเล็กน้อย ($p\leq 0.05$) ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสมีระยะเวลาในการฆ่าเชื้อที่น้อยกว่า จึงทำให้สารที่มีฤทธิ์ดังกล่าวถูกทำลายได้น้อยกว่า หรืออาจก่อให้เกิดสารชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากขึ้น และอาจเกิดจากความแตกต่างของวิธีการตรวจวัดที่ใช้ ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยาต่างกัน ส่งผลให้ค่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่วัดได้จาก 2 วิธีแตกต่างกัน (Roncero-Ramos *et al.*, 2017) คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ของผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 4) พบว่าผลิตภัณฑ์เห็ดเสม็ดคในน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ทั้ง 2 อุณหภูมิ มีคุณภาพทางจุลชีววิทยาที่เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 355 พ.ศ. 2556 เรื่องอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิทที่กำหนดให้ไม่พบจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิปกติ และประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 416 พ.ศ. 2563 เรื่องกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน หลักเกณฑ์เงื่อนไข และวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ของอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ที่กำหนดให้อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ตรวจไม่พบ *Salmonella* spp. ในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ตรวจไม่พบ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างอาหาร 0.1 กรัม และตรวจไม่พบ *Clostridium botulinum* ในตัวอย่างอาหาร 1 กรัม (Ministry of Public Health, 2020) ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อทั้ง 2 อุณหภูมิจึงมีความปลอดภัยต่อการบริโภค

Table 4 Microbiological quality of canned mushroom in brine which sterilized under different conditions

Microbiological quality	Process treatment	
	116 °C 42 min	121 °C 20 min
Total plate count (TPC)	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
Thermophilic flat sour	not found	not found
Mesophilic flat sour	not found	not found
Thermophilic anaerobes	not found	not found
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 3 MPN/g	< 3 MPN/g
<i>Salmonella</i> spp	not found	not found
Coliform bacteria	< 10 cfu/g	< 10 cfu/g
<i>Clostridium botulinum</i>	not found	not found

การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เห็ดเข็มดินน้ำเกลือบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 2 อุณหภูมิ เมื่อนำผลิตภัณฑ์มาแวกกะทิและประเมินความชอบได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่าผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดมีคะแนนความชอบ

ในทุกปัจจัยคุณภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบทุกปัจจัยคุณภาพในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก

Table 5 Sensory score of canned mushroom in brine which sterilized under different conditions

Characteristic	Process treatment	
	116 °C 42 min	121 °C 20 min
Color	7.51±0.74 ^{ns}	7.74±0.82 ^{ns}
Appearance	7.54±0.78 ^{ns}	7.86±0.77 ^{ns}
Flavor	7.49±0.70 ^{ns}	7.66±0.76 ^{ns}
Taste	7.71±0.93 ^{ns}	7.74±0.98 ^{ns}
Texture	7.49±0.92 ^{ns}	7.71±0.75 ^{ns}
Overall acceptance	7.69±0.96 ^{ns}	7.80±0.76 ^{ns}

Remark: ns = not significant ($p>0.05$)

สรุป

การฆ่าเชื้อด้วยความร้อนระดับสเตอริไลส์ในการผลิตเห็ดเข็มดินน้ำเกลือบรรจุกระป๋อง ส่งผลให้เห็ดเข็มดินมีค่าความสว่าง (L^*) ลดลง และมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้น รวมถึงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลง เมื่อเทียบกับเห็ดเข็มดินที่เตรียมเพื่อการบริโภคตามปกติ อันเป็นผลเนื่องมาจากการถูกทำลายด้วยความร้อน โดยการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส นาน 42 นาที ($F_0 = 10.08$) ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีคล้ำและมีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากกว่า ผลิตภัณฑ์ที่ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ($F_0 = 10.35$) แต่จะมีคุณภาพทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน มีความปลอดภัยในการบริโภคและได้รับการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสในทุกปัจจัยคุณภาพไม่แตกต่างกัน (คะแนนความชอบระดับปานกลางถึงชอบมาก) ดังนั้นการ

ฆ่าเชื้อเห็ดเข็มดินน้ำเกลือบรรจุกระป๋องจึงสามารถใช้ได้ทั้งสภาวะการการฆ่าเชื้อที่ระดับอุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส นาน 42 นาที และ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ทั้งนี้ขึ้นกับความคุ้มทุนในการผลิตจากการใช้พลังงานในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2000. **Official methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) international**. 17thed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Aung-aud-chariya, A., Bangrak, P., Dell, B., Lumyoung, S. and Kamlangdee, N. 2012. Preliminary molecular identification of *Boletus griseipurpureus* Corners from Thailand and its nutritional value. **Journal of Agricultural Technology** 8(6): 1667-1674.

- Aung-aud-chariya, A., Bangrak, P., Lumyong, S., Phupong, W., Aggangan, NS. and Kamlangdee, N. 2015. RNA polymerase II second largest subunit molecular identification of *Boletus griseipurpureus* Corner from Thailand and antibacterial activity of Basidiocarp extracts. **Jundishapur Journal of Microbiology** 8(3): e15552.
- Aung-aud-chariya, A., Khatfan, A. and Songserm, D. 2018. Nutritional Value of *Boletus griseipurpureus* Corner Chilli Paste and Consumer Acceptance Evaluation of Bread with *Boletus griseipurpureus* Corner filling, pp. 1-7. In Dam-O, P. and Kueseng, P., eds. **Walailak Research National Conference 10th**. Walailak University, Nakhon Si Thammarat. (in Thai)
- BAM. 2001. **Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual**. Available Source: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>, May 20, 2021.
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D.M., Morais, J.S. and Ferreira, I.C.F.R. 2007. Effect of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 55(12): 4781-4788.
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The frap assay. **Analytical Biochemistry** 239(1): 70-76.
- Chandrasekar, V., Srinivasa Gopal, T.K. and Rai, R.D. 2004. Heat penetration characteristics and shelf- life studies of mushroom in brine processed in retort pouches. **Packaging technology and science** 17: 213-217.
- Charoenphun, N. and Meemuk, N. 2018. Effects of Different Blanching Methods on Quality of Orange Sweet Potatoes. **Thai Science and Technology Journal** 26(6): 981-992.
- Chinnasam, S., Srisuwan, C. and Reungjam, K. 2014. Determination of Nutritive Value of Kumquat and Development of Sweetened Mashed Kumquat Product. **Agricultural Science Journal** 45(2)(Suppl.): 401-404. (in Thai)
- Gao, M., Feng, L. and Jiang, T. 2014. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment. **Food Chemistry** 149: 107-113.
- Garcia, M.M., Paula V.B., Olloqui, N.D., Garcia, D.F., Combarros-Fuertes, P., Estevinho, L.M., Arias, L.G., Banuelos, E.R. and Baro, J.M.F. 2021. Effect of different cooking methods on the total phenolic content, antioxidant activity and sensory properties of wild *Boletus edulis* mushroom. **International Journal of Gastronomy and Food Science** 26: 1-11.
- Jantharathep, S. 1993. **Research Reports on Study on Factors Affecting Natural Growth of Boietus Mushroom (*Boletus griseipurpureus*) and Its Uses**. Prince of Songkla University, Songkla. (in Thai)

- Jaworska, G. and Bernas, E. 2010. Effects of pre-treatment, freezing and frozen storage on the texture of *Boletus edulis* (Bull: Fr.) mushrooms. **International Journal of Refrigeration** 33: 877-885.
- kaewsongsaeng, L., Piyang, T., Jitpukdee, S., Naranong, S., Jantharathep, P. and Aung-aud-chariya, A. 2018. Behavior for the Collection of *Boletus griseipurpureus* Corner and Attitudes toward Conservation of Local Community Members in Sikao District, Trang Province. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University** 20(2): 193-205. (in Thai)
- Liaotrakoon, V. and Liaotrakoon, V. 2017. Product Development of Bottled Brine Bolete of SamRuean Subdistrict, Bang Pa-in District, Phra Nakhon Si Ayutthaya Province. **Journal of Community Development and Life Quality** 5(1): 174-185. (in Thai)
- Liu, Y., Chen, D., You, Y., Zeng, S., Li, Y., Tang, Q., Han, G., Liu, A., Feng, C., Li, C., Su, Y., Su, Z. and Chen, D. 2016. Nutritional composition of boletus mushrooms from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activities. **Food Chemistry** 211: 83-91.
- Ministry of Public Health. 2013. **Notification of the Ministry of Public Health (No. 355) 2013**
Title: Food in a Hermetically Sealed Container. Government Gazette vol. 130, Special Part 87. (dated July 24, 2013). (in Thai)
- Ministry of Public Health. 2020. **Notification of the Ministry of Public Health (No. 416) 2020**
Title: Prescribing the quality or standard, principles, conditions and methods of analysis for pathogenic microorganisms in foods. Government Gazette vol. 137, Special Part 237. (dated October 9, 2020). (in Thai)
- Nketia, S., Buckman, E. S., Dzomeku, M. and Akonor, P. T. 2020. Effect of processing and storage on physical and texture qualities of Oyster Mushrooms canned in different media. **Scientific African** 9: 1-7.
- Pichairat, D. and Mahae, N. 2017. Effect of boiling on the Quality Change of *Boletus griseipurpureus* Corner, pp. 937-944. **In 29th Thaksin University Academic National Conference on Research and Innovation for Sustainability Development.** Thaksin University, Songkhla.
- Pornpitakdamrong, A., Aung-aud-chariya, A. and Sudjaroen, Y. 2016. Development of pickled "Hed sa med" mushroom (*Boletus griseipurpureus* corner), pp. 161-172. **In 5th Suan Sunandha Academic National Conference on Research for Sustainable Development.** Suan Sunandha University, Bangkok.
- Pursito, D.J., Purnomo, E.H., Fardiaz, D. and Hariyadi, P. 2020. Optimizing Steam Consumption of Mushroom Canning Process by Selecting Higher Temperatures and Shorter Time of Retorting. **International Journal of Food Science** 2020: 1-8.
- Roncero-Ramos, I., Mendiola-Lanao, M., Perez-Clavijo, M. and Delgado-Andrade, C. 2017. Effect of different cooking methods on nutritional value and antioxidant activity of cultivated mushrooms. **International Journal**

- of Food Sciences and Nutrition** 68(3) : 287-297.
- Rungsardthong, V. 2004. **Food Processing Technology**. King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Bangkok. (in Thai)
- Seehanan, S. and Petcharat, V. 2008. Some species of wild boletes in Thailand. **Journal of Agricultural Technology** 4: 109-118.
- Seehanan, S., Petcharat, V. and Te-chato, S. 2007. Some Boletes of Thailand. **Songklanakarinn Journal of Science and Technology** 29(3): 737-754.
- Srikram, A. and Supapvanich, S. 2016. Proximate compositions and bioactive compounds of edible wild and cultivated mushrooms from Northeast Thailand. **Agriculture and Natural Resources** 50: 432-436.
- Sudjaroen, Y. and Thongkao, K. 2017. Screening of nutritive values, in vitro antioxidant, anticancer and antimicrobial activities from *Boletus griseipurpureus* Corner. **International Journal of Green Pharmacy** 11(1): 174-181.
- Sulaiman, S.F., Sajak, A.A.B., Ooi, K.L., Suprino, S. and Seow, E.M. 2011. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetable. **Journal of Food Composition and Analysis** 24: 506-515.
- Yuenyongputtakal, W., Plobju, A. and Mahakhuntee, P. 2015. Effect of Blanching Prior to Osmotic Dehydration on the Sensory Quality and Mass Transfer of Processed Ginger. **Agricultural Science Journal** 46(3)(Suppl.): 289-292. (in Thai)
- Zhang, R., Zeng, Q., Deng, Y., Zhang, M., Wei, Z., Zhang, Y. and Tang, X. 2013. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in southern china. **Food Chemistry** 136(3-4): 1169-1176.

การคัดเลือกแฝกทนเค็ม 4 แหล่งพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

In Vitro Selection of Salt Tolerant in 4 Vetiver Ecotypes

มัทนภรณ์ ใหม่คามิ* และ พิมพันนารา นิลฤทธิ

Mattanaporn Maikami* and Phimnara Nilrit

Received: 16 December 2022, Revised: 4 September 2023, Accepted: 25 September 2023

บทคัดย่อ

การลดความเค็มที่ผิวดินด้วยวิธีทางชีวภาพสามารถทำได้โดยการปลูกพืชที่มีระบบรากลึกเพื่อรักษาระดับน้ำใต้ดินที่มีเกลือละลายอยู่ไม่ให้เคลื่อนที่ขึ้นมายังผิวดิน โดยแฝก (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) เป็นหญ้าที่มีรากลึกและมีประสิทธิภาพดีเพื่อการเก็บความชื้นในดิน จึงได้ทำการศึกษาความสามารถในการทนเค็มของแฝก เพื่อให้ได้แหล่งพันธุ์ที่สามารถนำไปปลูกได้ในพื้นที่ดินเค็ม โดยนำต้น (ยอดที่มีราก) แฝก 4 แหล่งพันธุ์ ได้แก่ สุราษฎร์ธานี (SU) ราชบุรี (RB) ใหม่ห้วยหวาย (MHW) และสงขลา 3 (SK) เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่มีความเข้มข้น 0 (5.4 dS/m) 1 (13.2 dS/m) 2 (35.7 dS/m) และ 3 (53.5 dS/m) เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นของ NaCl เพิ่มขึ้นส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งใบสดและใบตายของแฝกทั้ง 4 แหล่งพันธุ์มีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตาม ต้น SU ที่ได้รับ NaCl มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับที่ไม่ได้รับ NaCl ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่แหล่งพันธุ์อื่นมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับ NaCl นอกจากนี้ ต้น SU ที่ได้รับ NaCl มีน้ำหนักสดของใบสดและใบตายมากกว่าชุดการทดลองควบคุม ส่วนการแตกกอของ SU RB และ MHW เพิ่มขึ้น เมื่อได้รับ NaCl ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า SU เป็นแหล่งพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการทนเค็มมากกว่าแหล่งพันธุ์อื่นเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

คำสำคัญ: แฝก, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ความสามารถในการทนเค็ม, การคัดเลือก

ABSTRACT

Reducing salinity of soil surface with a bio-technical method can be conducted by planting plants with deep root systems to protect salt-containing underground water from moving up to the soil surface. Vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) is the grass that has deep root systems and has ability to maintain soil moisture. Therefore, this study aimed to investigate the salt tolerance ability of the vetiver ecotype in order to identify ecotypes that can be grown in saline land. The four ecotypes of vetiver, namely Surat Thani (SU): Ratchaburi (RB), Mai-Huaiwai (MHW), and Songkhla 3 (SK), were used in this experiment. The *in vitro* plantlets (shoot and root) were cultured on semi-solid Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0 (5.4 dS/m) 1 (13.2 dS/m), 2 (35.7 dS/m), and 3 (53.5 dS/m) NaCl for 8 weeks. The results showed that increasing NaCl concentrations resulted in lower survival percentage, shoot length, root length, fresh and dry weight of the root, fresh and dry weight of fresh leaves, and fresh and dry weight of the dead leaves for all four vetiver ecotypes. However, survival percentages of SU under NaCl conditions were not significantly different from that of the control, while other vetiver ecotypes showed a significant decrease in survival rate under NaCl condition. In addition, fresh weight of fresh leaves and dead leaves of SU under NaCl conditions was higher than that of control. Tiller number of SU, RB and MHW were increased after cultured on 1% NaCl treatment. From the results, therefore, SU showed better salt tolerance performance than other vetiver ecotypes under *in vitro* conditions.

Key words: vetiver, plant tissue culture, salt tolerance, selection

บทนำ

ทรัพยากรดินเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตพืช เนื่องจากเป็นแหล่งธาตุอาหาร น้ำ และเป็นที่ยึดเหนี่ยวของรากพืช ดินแต่ละชนิดจะส่งผลกระทบต่อพืชแตกต่างกัน แต่ดินเค็มเป็นปัญหาที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืช (Office of the Royal Development Projects Board, 2012) เนื่องจากดินเค็มเป็นดินที่มีปริมาณเกลือที่ละลายน้ำได้มากเกินไปจนเป็นอันตรายต่อพืช โดยพื้นที่ที่สามารถทำการเกษตรประมาณร้อยละ 30 ทั่วโลกได้ประสบกับปัญหาดินเค็ม (Silva *et al.*, 2010) ในประเทศไทยพบพื้นที่ดินเค็มได้ทั้งบริเวณชายฝั่งทะเล และบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ ซึ่งมีขนาดพื้นที่ประมาณ 170,000 ตารางกิโลเมตร โดยความ

เค็มของดินบริเวณนี้มีความสัมพันธ์กับระดับน้ำและความชื้นใต้ดิน ทำให้ความเค็มของดินไม่เท่ากันในแต่ละฤดูกาล ในฤดูฝนเกลือจะเคลื่อนที่ลงไปสะสมที่ดินชั้นล่าง ส่วนฤดูแล้งน้ำเมื่อระเหยขึ้นมาบนผิวดินจะนำพาเกลือขึ้นมาสะสมบนผิวดินด้วย (Office of the Royal Development Projects Board, 2012) ซึ่งการปลูกพืชทนระดับความเค็มในดินเป็นวิธีการปรับปรุงดินด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยอาจจะอาศัยพืชที่มีระบบรากยาว เพื่อรักษาระดับน้ำใต้ดินไม่ให้เคลื่อนที่ขึ้นมายังผิวดิน (Maikami *et al.*, 2017)

แฝก (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) เป็นพืชวงศ์หญ้าที่มีระบบรากลึก และมีรากเป็นจำนวนมาก แข็งแรงสานกันหนาแน่น ทำหน้าที่ยึดดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังช่วยเก็บความชื้น

ของดินได้เป็นอย่างดี (Edelstein *et al.*, 2009) นอกจากนี้ การใช้แผลกเพื่อการอนุรักษ์และปรับปรุงบำรุงดิน เป็นวิธีการที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 9 พระราชทานแนวคิดและทฤษฎีการใช้หญ้าแผลกให้มีประสิทธิภาพสูงสุดตามลักษณะและสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกัน (Taejajai and Thampanyo, 2014) ซึ่งแผลกพบได้ทั่วไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย และสามารถเจริญเติบโตได้ในดินเกือบทุกชนิด เจริญเติบโตในแนวตั้งมากกว่าออกทางด้านข้าง จึงไม่เป็นอุปสรรคต่อพืชที่ปลูกข้างเคียงและทนต่อสภาพความแห้งแล้ง (Chaisena, 2014) อย่างไรก็ตาม แผลกไม่สามารถทนเค็มที่มีความเข้มข้นเกลือสูงได้ โดยเมื่อทดลองปลูกแผลกในดินเค็มที่มีค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity; ECs) ประมาณ 7.5 dS/m พบว่าน้ำหนักแห้งของยอด และรากแผลกลดลง 44.2 และ 38.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Prathomjinda *et al.*, 1995) แม้ว่าจะมีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์แผลกทนเค็ม แต่ส่วนใหญ่แผลกทนเค็มที่ได้จะเกิดแคลลัส (Suwannachitr, 1997; Nanakorn *et al.*, 1998) ซึ่งความสามารถในการทนเค็มอาจจะไม่สามารถแสดงออกได้เมื่อชักนำให้เป็นต้นกล้า ดังนั้น จึงควรศึกษาแหล่งพันธุ์แผลกที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีและสามารถทนเค็มได้สูงที่สุด เพื่อจะได้นำไปใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกแผลกเพื่อส่งเสริมการปลูกแผลกในพื้นที่ดินเค็มต่อไป ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความสามารถทนเค็มของแผลก 4 แหล่งพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยแบ่งเป็นแผลกลุ่ม 2 แหล่งพันธุ์ ได้แก่ สุราษฎร์ธานี (SU) และสงขลา 3 (SK) และแผลกดอน 2 แหล่งพันธุ์ ได้แก่ ราชบุรี (RB) และ ใหม่วัยหวาย (MHW) เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์แผลกในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

นำต้นแผลก (*C. zizanioides*) ในสภาพปลอดเชื้อที่มีทั้งยอดและราก 4 แหล่งพันธุ์ ได้แก่ สุราษฎร์ธานี (SU) ราชบุรี (RB) ใหม่วัยหวาย (MHW) และสงขลา 3 (SK) จากศูนย์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกรมวิทยาศาสตร์ทหารบก มาเพิ่มปริมาณยอด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ เพื่อใช้ในการทดสอบความทนเค็มบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลซูโคส 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร และปรับ pH ของอาหารเป็น 5.8 ร่วมกับการเติม 6-benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ในเพาะเลี้ยงในขวดขนาด 4 ออนซ์ ในที่มืดแสง 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ความเข้มแสง $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำแผลกมาแยกเป็นยอดเดี่ยวและชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (Maikami *et al.*, 2017)

1. การทดสอบความทนเค็มของแผลก

นำต้นแผลกปลอดเชื้อทั้ง 4 แหล่งพันธุ์ที่ผ่านการชักนำให้เกิดรากมาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NaCl ความเข้มข้น 0 1.2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยแต่ละความเข้มข้นมีค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity; EC) เป็น 5.4 13.2 35.7 และ 53.5 dS/m ตามลำดับ ทำการทดลองความเข้มข้นละ 10 ขวด ขวดละ 4 ต้น โดยเพาะเลี้ยงในขวดขนาด 5.0 x 8.6 ซม. ในที่มืดแสง 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ความเข้มแสง $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งตรวจสอบความสามารถในการทนเค็มของแผลกแต่ละแหล่งพันธุ์จากเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ((จำนวนต้นแผลกที่รอดชีวิต x 100)/จำนวนแผลกทั้งหมด) โดยการรอดชีวิตจะพิจารณาจากการนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม NaCl เป็น

ระยะเวลา 2 สัปดาห์ และบันทึกการแตกกอ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของราก ใบสด และใบตาย ในการบันทึกน้ำหนักแห้งนั้น ได้นำตัวอย่างแห้งเข้าสู่อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นอกจากนั้น ยังบันทึกความยาวลำต้น ความยาวราก โดยการบันทึกความยาวจะสุ่มเลือก 1 ต้นต่อขุดจากทั้ง 10 ขุด แล้วนำมาวัดความยาวลำต้นและรากจากโคนต้นถึงปลายใบและปลายราก ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) และวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) เพื่อทดสอบความแปรปรวนและแสดงผลการทดลองด้วยค่าเฉลี่ย \pm ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.) เมื่อพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ใช้การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นแฝก 4 แหล่งพันธุ์ในอาหารสูตร MS ที่เติม NaCl ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (Figure 1) ซึ่ง Maikami *et al.* (2017) รายงานว่าแฝกที่ชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์ (Tetraploid) สามารถทนเค็มในสภาพปลอดเชื้อที่เติม NaCl ได้สูงถึง 2.50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น การทดลองนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเพื่อหาแหล่งพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทนเค็ม โดยในการทดลองนี้พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ SU มีแนวโน้มลดลงเมื่อ NaCl มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น แต่ไม่แตกต่างกับทริตเมนต์ที่ไม่ได้เติม NaCl (Table 1) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ RB MHW และ SK ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อได้รับ NaCl ความเข้มข้นเพียง 2 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า SU มีความสามารถใน

การทนเค็มมากกว่าแหล่งพันธุ์อื่น ๆ โดยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ลดลงเมื่อได้รับ NaCl ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นนั้น อาจเนื่องมาจากมิโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นสูงในสารละลายภายนอก ส่งผลให้ค่าศักย์ของน้ำในสารละลายต่ำลงมาก ทำให้พืชดูดน้ำและธาตุอาหารได้น้อยลง (Munns, 2002) ซึ่งมีผลกระทบทั้งทำให้การเจริญเติบโตลดลง และทำให้ตายได้หากผลกระทบนั้นรุนแรง ลักษณะเช่นนี้พบโดยทั่วไปของพืชในกลุ่มพืชไม่ทนเค็ม (Glycophyte) พืชในกลุ่มนี้การเจริญเติบโตลดลงแม้ว่าจะมีเกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ การเจริญเติบโตที่ลดลงเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลายประการ เช่น ความสมดุลของไอออน ระดับน้ำภายในต้น การปิดและเปิดปากใบ ตลอดจนประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง (Botella *et al.*, 2005) นอกจากนั้น การตอบสนองของพืชแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน แม้ว่าจะเป็นชนิดเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Athar and Ashraf (2009) ที่รายงานว่าพืชมีความแปรผันทางพันธุกรรมระหว่างและภายในสายพันธุ์ที่มีผลต่อการทนเค็ม จึงส่งผลให้ความแตกต่างระหว่างแหล่งพันธุ์อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ SU แตกต่างจากแหล่งพันธุ์อื่น รวมทั้งมีกลไกสำหรับการทนเค็มที่แตกต่างจากแหล่งพันธุ์อื่นด้วย ซึ่งอาจเกิดจากโซเดียมไอออน (Na^+) ที่มีความเข้มข้นไม่สูงมากนักสามารถทำหน้าที่แทนโพแทสเซียมไอออน (K^+) ในการรักษาแรงดันเต่งภายในเซลล์ได้ จึงส่งเสริมการเจริญเติบโตของแฝกได้ (Liu *et al.*, 2016) ลักษณะดังกล่าวสามารถสังเกตจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งใบสดของ SU (Table 2) เมื่อได้รับ NaCl ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์พบว่าน้ำหนักเพิ่มขึ้นแม้ว่าจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม NaCl เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้น ความยาวราก ความยาวยอด น้ำหนักสด และแห้งราก น้ำหนักสดและแห้งใบสดของแฝกทั้ง 4 แหล่งพันธุ์

(Table 2) ลดลงเมื่อได้รับ NaCl ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การแตกกอของแหล่งพันธุ์ SU RB และ MHW ที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม NaCl ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Table 1 และ 2) ซึ่งการแตกกอที่เพิ่มขึ้นเป็นกลไกการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารในพืช (Dilution Effect) นอกจากนี้การที่ใบแก่ได้รับความเสียหายและตาย ก็เป็นกลไกหนึ่งที่สามารถเจือจางความเข้มข้นของเกลือภายใต้

สภาพเครียดจากเกลือ (Munns *et al.*, 2016) โดย Nakhoda *et al.* (2012) กล่าวว่าพืชจะมี การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในสภาวะเครียดจากความเค็ม เพื่อรักษาความเข้มข้นของโซเดียมไอออนภายในเซลล์ให้อยู่ในระดับต่ำได้ ซึ่งส่งผลให้มีผลผลิต และน้ำหนักแห้ง (Dry Matter) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม แหล่งพันธุ์ SK พบการแตกกอที่เลี้ยงบนอาหาร NaCl ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างกับทริตเมนต์ที่ไม่ได้รับ NaCl

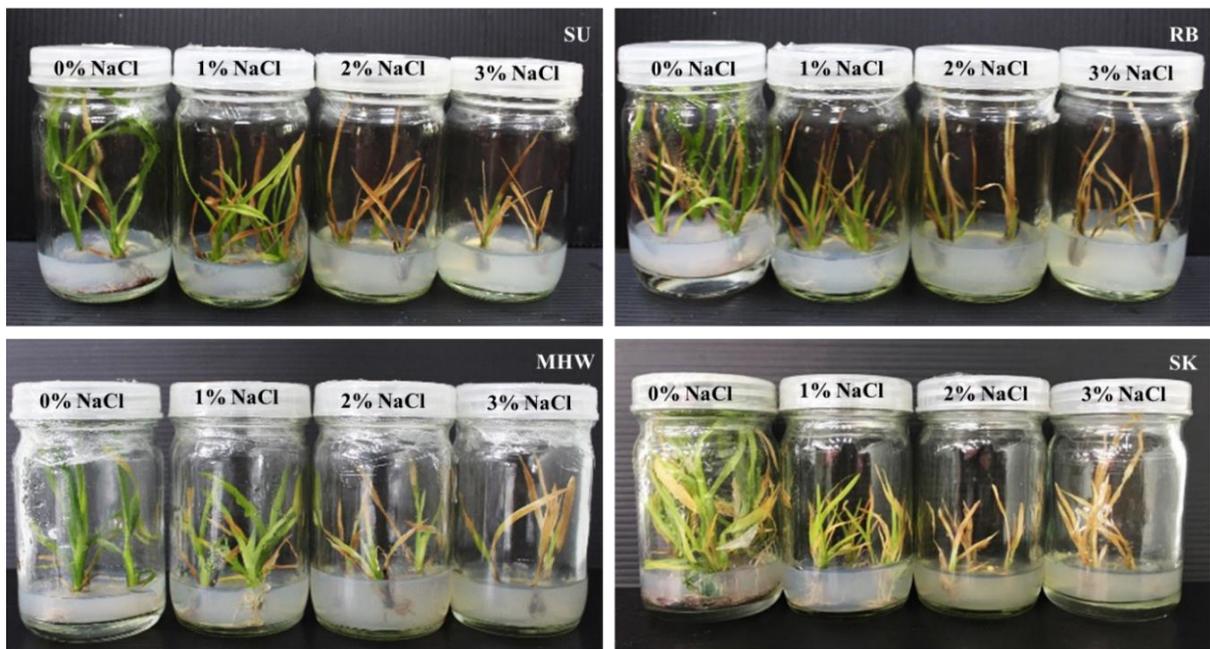


Figure 1 Salt tolerant selection of 4 vetiver ecotypes (Surat Thani, SU; Ratchaburi, RB; Mai-Huaiwai, MHW; Songkhla 3, SK) under *in vitro* condition on MS medium supplemented with 0, 1, 2 and 3% NaCl for 8 weeks

Table 1 Survival percentage, root length, shoot length and tiller number of 4 vetiver ecotypes (Surat Thani, SU; Ratchaburi, RB; Mai-Huaiwai, MHW; Songkhla 3, SK) under *in vitro* condition on MS medium supplemented with 0, 1, 2 and 3% NaCl for 8 weeks (mean±SE). Those followed by the same in each column and ecotype are not significantly different at 5% level of probability by Duncan multiple range test.

Ecotype	NaCl (%v/w)	Survival Percentage	Root Length	Shoot Length	Tiller Number
SU	0	93.33±4.45a	4.12±0.09a	19.62±0.04a	1.60±0.51b
	1	80.00±13.33a	1.62±0.05b	7.20±0.08b	9.80±1.85a
	2	80.00±7.37a	1.12±0.09c	8.16±0.72b	4.40±0.93b
	3	73.33±8.32a	1.40±0.06b	7.98±0.61b	1.20±0.85b
RB	0	83.33±10.24a	5.18±0.09a	19.16±1.59a	1.40±0.51b
	1	90.00±10.00a	2.40±0.09b	5.76±0.63bc	21.00±8.34a
	2	36.67±7.78b	1.14±0.09c	7.94±0.57b	2.20±0.37b
	3	13.33±7.37b	1.08±0.09c	4.22±0.34c	0.00±0.00b
MHW	0	100.00±0.00a	11.14±0.80a	16.58±0.79a	1.20±0.20b
	1	96.67±3.33a	4.28±0.45b	12.92±0.49b	4.40±0.93a
	2	53.33±11.33b	3.78±0.40b	6.52±0.61c	1.20±0.37b
	3	0.00±11.17b	3.58±0.50b	6.12±0.56c	0.00±0.00b
SK	0	100.00±0.00a	6.50±0.69a	25.22±2.70a	6.20±2.08a
	1	100.00±0.00a	1.98±0.26b	12.48±1.95b	8.80±1.24a
	2	0.00±0.00b	1.56±0.28b	6.28±0.63c	0.00±0.00b
	3	0.00±0.00b	1.28±0.18b	5.38±1.10c	0.00±0.00b

Table 2 Root fresh weight, root dry weight, fresh leaf fresh weight, fresh leaf dry weight, dead leaf fresh weight and dead leaf dry weight of 4 vetiver ecotypes (Surat Thani, SU; Ratchaburi, RB; Mai-Huaiwai, MHW; Songkhla 3, SK) under *in vitro* conditions on MS medium supplemented with 0, 1, 2 and 3% NaCl for 8 weeks (mean±SE). Those followed by the same in each column and ecotype are not significantly different at 5% level of probability by Duncan multiple range test.

Ecotype	NaCl (%v/w)	Root Fresh Weight (g)	Root Dry Weight (g)	Fresh Leaves Fresh Weight (g)	Fresh Leaves Dry Weight (g)	Dead Leaves Fresh Weight (g)	Dead Leaves Dry Weight (g)
SU	0	0.19±0.03a	0.02±0.00a	0.38±0.07ab	0.05±0.01ab	0.21±0.02ab	0.06±0.01a
	1	0.20±0.05a	0.03±0.01a	0.51±0.13a	0.08±0.02a	0.27±0.03a	0.05±0.01ab

Table 2 (Continuous)

Ecotype	NaCl (%v/w)	Root Fresh Weight (g)	Root Dry Weight (g)	Fresh Leaves Fresh Weight (g)	Fresh Leaves Dry Weight (g)	Dead Leaves Fresh Weight (g)	Dead Leaves Dry Weight (g)
	2	0.07±0.01b	0.02±0.00a	0.19±0.02bc	0.05±0.01ab	0.18±0.02bc	0.05±0.01ab
	3	0.09±0.01b	0.02±0.00a	0.12±0.01c	0.03±0.00b	0.14±0.02c	0.03±0.00b
RB	0	0.26±0.05a	0.02±0.00a	0.41±0.07a	0.07±0.01a	0.19±0.04ab	0.04±0.01a
	1	0.15±0.03b	0.02±0.00a	0.40±0.04a	0.05±0.01b	0.23±0.03a	0.04±0.01a
	2	0.02±0.00c	0.00±0.00b	0.06±0.01b	0.01±0.00c	0.13±0.02b	0.03±0.01a
	3	0.04±0.01c	0.01±0.00b	0.03±0.02b	0.01±0.00c	0.12±0.01b	0.03±0.00a
MHW	0	1.10±0.22a	0.15±0.03a	1.51±0.23a	0.23±0.04a	0.28±0.16a	0.06±0.03a
	1	0.55±0.01b	0.08±0.02b	0.93±0.13b	0.16±0.03a	0.31±0.04a	0.06±0.01a
	2	0.09±0.01c	0.02±0.00c	0.07±0.02c	0.02±0.00b	0.11±0.02a	0.03±0.00a
	3	0.10±0.01c	0.03±0.00c	0.07±0.01c	0.02±0.00b	0.12±0.01a	0.03±0.00a
SK	0	1.03±0.18a	0.15±0.03a	2.01±0.27a	0.45±0.11a	0.32±0.07a	0.07±0.01a
	1	0.22±0.05b	0.04±0.00b	0.64±0.09b	0.20±0.03b	0.22±0.02a	0.08±0.01a
	2	0.02±0.00b	0.01±0.00b	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.25±0.02a	0.05±0.00a
	3	0.06±0.01b	0.02±0.00b	0.00±0.00c	0.00±0.00c	0.25±0.02a	0.06±0.00a

แม้ว่าเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถในการคัดเลือกสายพันธุ์พืชที่ทนทาน (Tolerant Plants) หรือสายพันธุ์ที่ต้านทาน (Resistant Plants) โดยจำลองเงื่อนไขของอาหารเพาะเลี้ยงและสภาพแวดล้อมให้พืชทดลองคล้ายกับสิ่งแวดล้อมที่ต้องการศึกษา อย่างไรก็ตาม ในการทดลองต่อไปจะทำการตรวจสอบความสามารถของสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกในสภาพแวดล้อมภายนอกเพื่อยืนยันและศึกษาทางสรีรวิทยาของสายพันธุ์ทนเค็ม

สรุป

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นแฝกบนอาหารที่มีความเข้มข้นของ NaCl เพิ่มขึ้น แหล่งพันธุ์สุราษฎร์ธานี

(SU) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองควบคุม ส่วนแหล่งพันธุ์ราชบุรี (RB) และใหม่ห้วยหวาย (MHW) เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อได้รับ NaCl ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่แหล่งพันธุ์สงขลา 3 (SK) ไม่รอดชีวิตเมื่อได้รับ NaCl ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของต้นแฝกในสภาพปลอดเชื้อที่ได้รับ NaCl ได้แก่ ความยาวราก ความยาวยอด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งราก น้ำหนักสด และแห้งใบสดของแฝกทั้ง 4 แหล่งพันธุ์ เป็นไปในทิศทางเดียวกับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการคัดเลือกแหล่งพันธุ์ที่มีความสามารถในการทนเค็ม การตรวจสอบความสามารถของสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกในสภาพแวดล้อมภายนอกเพื่อยืนยันความสามารถในการทนเค็มแล้ว มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทดสอบกลไกต่าง ๆ เพื่ออธิบายความสามารถในการทนเค็มดังกล่าว ที่จะนำไปสู่ความรู้ความเข้าใจกลไกการตอบสนองของพืชเมื่อได้รับภาวะเครียด

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี โดยได้รับความอนุเคราะห์แหล่งพันธุ์แฝกจากศูนย์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช กรมวิทยาศาสตร์ทหารบก และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ให้อุณหภูมิที่เหมาะสมที่และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Athar, H.R. and Ashraf, M. 2009. Strategies for crop improvement against salinity and drought stress: An overview, pp. 1-16. In Ashraf, M, Ozturk, M. and Athar, H.R., eds. **Salinity and Water Stress: Improving Crop Efficiency**. Springer, New York.

Botella, M.A., Rosado, A., Bressan R.A. and Hasegawa, P.M. 2005. Plant adaptive responses to salinity stress, pp. 37-70. In Jenks, M.A. and Hasegawa, P.M., eds. **Plant Abiotic Stress**. Blackwell Publishing Ltd., Oxford.

Chaisena, Y. 2014. Research and Development on Vetiver Grass Utilization for Highland

Communities; A Case Study of Mae Hae Royal Project, Chiang Mai Province. Master of Science in Geosocial Based Sustainable Development, Maejo University.

Edelstein, M., Plaut, Z., Dudai, N. and Ben-Hur, M. 2009. Vetiver (*Vetiveria zizanioides*) responses to fertilization and salinity under irrigation conditions. **Journal of Environmental Management** 91(1): 215-221.

Liu, W.G., Liu, J.X., Yao, M.L. and Ma, Q.F. 2016. Salt tolerance of a wild ecotype of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* L.) in southern China. **Botanical Studies** 57(1): 27-34.

Maikami, M., Kaveeta, L., Peyachoknagul, S. and Nanakorn, M. 2017. *In vitro* tetraploid induction of *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty to improve salt tolerance. **Thai Agricultural Research Journal** 35(1): 31-48.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell & Environment** 25(2): 239-250.

Munns, R., James, R.A., Gilliam, M., Flowers, T.J. and Colmer, T.D. 2016. Tissue tolerance: an essential but elusive trait for salt-tolerant crops. **Functional Plant Biology** 43(12): 1103-1113.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum** 15(3): 473-497.

Nakhoda, B., Leung, H., Mendioro, M.S., Mohammadi-nejad, G. and Ismail, A.M. 2012. Isolation, characterization, and field evaluation of rice (*Oryza sativa* L., Var. IR64) mutants with

- altered responses to salt stress. **Field Crops Research** 127: 191-202.
- Nanakorn, M., Surawattananon, S., Wongwattana, C., Namwongporm, K. and Suwannachitr, S. 1998. *In vitro* induction of salt tolerance in vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* Nash). **Journal of Weed Science and Technology** 43(2): 134-137.
- Office of the Royal Development Projects Board. 2012. **Guide to Managing Saline Soil for Rice Cultivation, Phu Phan Royal Development Study Centre under the Royal Initiative.** Movement Gen 3 Co., Ltd., Bangkok.
- Prathomjinda, Y., Srinives, P. and Thiraporn, R. 1995. Effect of shading and soil salinity on growth of native vetiver grasses. **Kasetsart Journal (Natural Sciences)** 29(2): 143-149. (in Thai)
- Silva, E.D., Ribeiro, R.V., Ferreira-Silva, S.L., Viégas, R.A. and Silveira, J.A.G. 2010. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments** 74(10): 1130-1137.
- Suwannachitr, S. 1997. *In Vitro* Screening and Selection for Salt Tolerance in Vetiver Grass. Master of Science, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Taejajai, U. and Thampanyo, N. 2014. Study on the Selection of Vetiver Grass Ecotypes under Shading Environment. **Journal of Soil and Water Conservation (Thailand)** 29(2): 7-17.

การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ Buserelin Acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ Domperidone (DOM) เพื่อเหนี่ยวนำการวางไข่ของปลาชิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*)

The Use of Synthetic Hormone Buserelin Acetate (BUS) in Combination with the Synergistic Domperidone (DOM) to Induce the Spawning of Lambchop Rasbora (*Trigonostigma espei*)

อุทร เจริญเดช* และ วรวุฒิ เกิดปราง

Uton Charoendat* and Worawut Koedprang

Received: 20 June 2022, Revised: 18 November 2022, Accepted: 11 May 2023

บทคัดย่อ

การใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) เพื่อการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) ได้ถูกศึกษาโดยใช้วิธีการผสมอาหาร การกรอกปาก และการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ปลาได้ถูกเพาะพันธุ์ในตู้กระจกที่เลียนแบบธรรมชาติด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ตัว และ 1:1 ตัว พบว่า ปลาชิวข้างขวานเล็กไม่วางไข่หลังจากให้ BUS ร่วมกับ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหารและการกรอกปาก แต่สามารถเหนี่ยวนำให้ปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ได้ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยให้ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และให้ปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ซึ่งปลาได้วางไข่หลังการฉีดฮอร์โมนที่เวลาประมาณ 10 ชั่วโมง และเวลาประมาณ 19 ชั่วโมงต่อมา ลูกปลาจึงเริ่มฟักเป็นตัว การเพาะพันธุ์ปลาด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ที่ 3:3 ตัว และ 1:1 ตัว นั้นให้ผลใกล้เคียงกัน โดยได้จำนวนไข่รวมเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 50.25 ± 13.45 และ 55.50 ± 6.61 ฟอง อัตราปฏิสนธิเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 81.25 ± 1.69 และ 81.12 ± 1.34 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 79.40 ± 1.56 และ 79.45 ± 1.24 เปอร์เซ็นต์ จำนวนลูกปลารวมเฉลี่ยหลังจากฟักเป็นเวลา 3 วันมีค่าเท่ากับ 19.25 ± 4.65 และ 21.75 ± 2.63 ตัว และอัตราการรอดของลูกปลาเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 59.73 ± 1.20 และ 60.81 ± 1.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้ พบว่าปลามีการจับคู่ผสมพันธุ์เพียงคู่เดียวในทุกตู้ที่ใช้สัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ไม่พบการจับคู่กันในสัดส่วนเพศแบบ 1:2 ตัว และ 1:3 ตัว เมื่อพิจารณาในส่วนพ่อแม่พันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเป็นตัวหลัก ดังนั้น สัดส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ปลาที่เหมาะสมจึงอยู่ที่ 1:1

คำสำคัญ: ปลาชิวข้างขวานเล็ก, ฮอร์โมนสังเคราะห์, การวางไข่

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang 92150, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): aonuton@hotmail.com

ABSTRACT

The administration of the synthetic hormone busserelin acetate (BUS) in combination with the synergistic domperidone (DOM) to induce the spawning of Lambchop rasbora (*Trigonostigma espei*) was studied using the methods of in-feed medication, gavage, and intramuscular injection. Fish were bred in a glass tank imitating nature with the broodstock ratios of 3:3 fish and 1:1 fish. It revealed that Lambchop rasbora did not spawn after providing BUS in combination with DOM through the methods of in-feed medication and gavage. However, the breeding of this fish species could be carried out via intramuscular injection, with male fish receiving combinations of BUS 10 µg/kg and DOM 10 mg/kg, and female fish receiving combinations of BUS 15 µg/kg and DOM 10 mg/kg. The induced fish had spawned approximately 10 hours after injection and the fry began to hatch approximately 19 hours later. Fish breeding with broodstock ratios of 3:3 fish and 1:1 fish showed similar results in the evaluated parameters. It indicated that the average numbers of eggs were 50.25 ± 13.45 and 55.50 ± 6.61 , the average fertilization rates were 81.25 ± 1.69 and 81.12 ± 1.34 percent, the average hatching rates were 79.40 ± 1.56 and 79.45 ± 1.24 percent, the average numbers of fry after hatching for 3 days were 19.25 ± 4.65 and 21.75 ± 2.63 , and the survival rates of fry were 59.73 ± 1.20 and 60.81 ± 1.79 percent, respectively. Moreover, only a couple of fish mated in all tanks containing the breeder ratio of 3:3. There was no mating in the sex ratios of 1:2 fish and 1:3 fish when considering mainly both the male and female breeders. Therefore, the suitable sex ratio of the fish breeder was 1:1.

Key words: *Trigonostigma espei*, synthetic hormone, spawning

บทนำ

ปลาชิวข้างขวานเล็ก (*Trigonostigma espei*) เป็นปลาสวยงามน้ำจืดชนิดหนึ่งที่อยู่ในครอบครัว Cyprinidae (Tang *et al.*, 2010) ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดปลาสวยงามทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยปลาที่มีอยู่ในตลาดส่วนใหญ่เป็นปลาที่จับจากแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะแหล่งน้ำในเขตอำเภอย่านตาขาวและอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง (Kraisurasre *et al.*, 2008) และจังหวัดจันทบุรี (Chundum *et al.*, 2010) ปลาชนิดนี้เป็นปลานขนาดเล็กที่มีความสวยงามและมักนำไปเลี้ยงในตู้พรรณไม้น้ำ ซึ่งเป็นที่นิยมมากในต่างประเทศ ปลาชิวข้างขวานเล็กมีลักษณะลำตัวแบนข้าง สีน้ำตาลอมเขียว บริเวณกลางลำตัวมีสีน้ำตาลอมแดง มีแถบสามเหลี่ยมสีดำ

เล็ก ๆ คล้ายรูปขวาน ตอนกลางลำตัวไปทางด้านหาง ปลาชนิดนี้จัดอยู่ในประเภทปลาที่ใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากชาวบ้านในพื้นที่ได้จับรวบรวมปลาส่งขายพ่อค้าคนกลางเพื่อส่งขายต่อภายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ประกอบกับแหล่งวางไข่ของปลาชนิดนี้ลดลง เนื่องจากถูกทำลายจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ ในส่วนนี้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดเขต 11 (ตรัง) กรมประมง ได้ดำเนินการศึกษาในเบื้องต้นแล้วเกี่ยวกับการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ โดยวิธีการเลียนแบบธรรมชาติและใช้วัสดุวางไข่ที่แตกต่างกัน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตลูกพันธุ์ปลาปล่อยกลับคืนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติและพัฒนากการเลี้ยงให้เป็นปลาเศรษฐกิจเพื่อทดแทนการจับจากธรรมชาติ (Kraisurasre and Kraisurasre, 2008) แต่

เนื่องจากการเพาะพันธุ์ที่ต้องอาศัยวิธีการเลียนแบบธรรมชาติ ปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ในที่กักขังน้อยและไม่สามารถกำหนดเวลาที่แน่นอนในการทำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ การผลิตลูกพันธุ์ปลาในเชิงพาณิชย์จึงเป็นไปได้ยาก เนื่องจากผลผลิตปลาที่ได้มีจำนวนไม่แน่นอนและไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ปลาที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจึงยังคงเป็นปลาที่ได้มาจากการจับรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นหลัก ซึ่งส่งผลให้จำนวนปลาที่มีอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติยังคงลดน้อยลงอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น เพื่อเป็นการเพิ่มแนวทางในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงมีแนวคิดในการนำฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่มีการใช้กันโดยทั่วไปในการเพาะพันธุ์ปลาเชิงพาณิชย์ (Treves-Brown, 2000) มาใช้ในการเหนี่ยวนำให้ปลาชีวข้างขวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่ในระบบเลี้ยง โดยทำการศึกษาวิธีการต่าง ๆ ในการใช้ฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ เพื่อเพิ่มโอกาสให้เกิดการเพาะพันธุ์ปลาเชิงพาณิชย์มากขึ้น ทำให้ได้ปริมาณลูกพันธุ์ปลาที่แน่นอนตามความต้องการของตลาด และลดการจับรวบรวมปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นการช่วยอนุรักษ์สายพันธุ์ปลาสวยงามชนิดนี้อีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

การทดลองนี้มีไบออนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์เลขที่ U1-01574-2558 ดำเนินการโดยทำการรวบรวมลูกพันธุ์ปลาชีวข้างขวานเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติในเขตอำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง แล้วนำมาเลี้ยงจนมีความสมบูรณ์เพศเต็มที่เป็นเวลา 1 ปี โดยเลี้ยงปลา 200 ตัว ในบ่อซีเมนต์ขนาด 0.5 x 1 x 0.5 เมตร³ ที่มีพรรณไม้น้ำ ได้แก่ สาหร่ายหางกระรอก

เฟิร์นก้านดำ และจอก ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ มีการติดตั้งระบบการให้อากาศและระบบกรองน้ำด้วยอัตราการไหลของน้ำประมาณ 0.5 ลิตรต่อนาที เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำและจำลองสภาพให้คล้ายกับแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติของปลา มีการให้อาหารปลาวันละ 2 ครั้ง โดยให้หอนแดง เวลา 09.00 - 10.00 น. และฝักให้ปลากินอาหารเม็ดที่มีโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ เวลา 16.00 - 17.00 น. จากนั้น ปลาที่มีความสมบูรณ์เพศเต็มที่ ได้ถูกคัดเลือกมาเข้าสู่ระบบการทดลองเพาะพันธุ์โดยการใช้ฮอร์โมนร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยพิจารณาความสมบูรณ์เพศของปลาจากความยาวประมาณ 2.5 - 5 เซนติเมตร และน้ำหนักประมาณ 0.3 - 0.9 กรัม ซึ่งปลาเพศผู้นั้นมีลักษณะลำตัวเรียวกว่าเพศเมีย มีสีแดงเข้มสะท้อนแสงบริเวณข้างลำตัว มีแถบรูปขวานเด่นชัด ส่วนตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ มีสีซีดกว่า และมีลักษณะท้องอูมเป่ง ทั้งนี้ ช่วงที่ทำการทดลองเพาะพันธุ์ปลาทุกการทดลอง เป็นช่วงที่ปลาที่มีความสมบูรณ์เพศสูงทั้งเพศผู้และเพศเมียคือในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม (Kraisurasre *et al.*, 2008)

2. การเตรียมอาหารทดลองผสมฮอร์โมน

อาหารทดลองนี้ใช้กับการทดลองที่ 1 และ 2 โดยเตรียมอาหารทดลองที่ผสมฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 0.25, 0.5 และ 1 mg/kg ซึ่งอาหารทดลองที่ผสมฮอร์โมนในทุกความเข้มข้นจะมีสารเสริมฤทธิ์ DOM 167 mg/kg ทั้งนี้ ความเข้มข้นของฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์ที่ใช้ในการทดลองได้พิจารณาจากน้ำหนักปลาประมาณ 0.3 กรัม อัตราการกินอาหารของปลา 6 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัว โดยการผสม BUS 0.25, 0.5 และ 1 mg/kg ปลาจะได้รับ BUS ประมาณ 15, 30 และ 60 µg/kg ส่วนการผสม DOM 167 mg/kg ปลาจะได้รับ DOM ประมาณ 10 mg/kg ซึ่งวิธีการเตรียมนั้นดำเนินการโดยละลาย BUS และ DOM ตามความเข้มข้นที่ต้องการด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 ml

จากนั้นผสมกับอาหารเม็ดซึ่งมีโปรตีนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 1 กรัม ที่ใส่ไว้ในถุงพลาสติก แล้วเขย่าถุงให้สารละลายกระจายซึมเข้าเม็ดอาหารจนทั่ว จากนั้นฝั่งลมให้เม็ดอาหารแห้งที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 2 ชั่วโมง เคลือบเม็ดอาหารด้วยน้ำมันปลาอีกครั้งและฝั่งให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการละลายของสารออกมาจากเม็ดอาหารขณะที่อยู่ในน้ำ และเพิ่มความอยากอาหารให้กับปลา สำหรับอาหารในชุดควบคุมนั้นไม่มีการใส่ BUS และ DOM แต่มีวิธีการเตรียมเหมือนกับอาหารในชุดทดลองทุกขั้นตอน และอาหารจะถูกใช้ในการทดลองทันทีหลังจากเตรียมเสร็จ

3. การเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับกรอกปากปลา

การเตรียมสารละลายฮอร์โมนซึ่งมีส่วนผสมของ BUS และ DOM ที่ใช้ในการกรอกปากปลานี้ใช้กับการทดลองที่ 3 และ 4 ดำเนินการโดยละลายสารในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งการเตรียมสารละลายนั้นจะแตกต่างกัน พิจารณาจากน้ำหนักปลาที่อยู่ในช่วง 0.4 - 0.9 กรัม และความเข้มข้นของสารละลายฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์ที่ต้องการให้ปลาได้รับตามที่ระบุในชุดการทดลอง โดยรายละเอียดส่วนผสม

ของสารละลายฮอร์โมนและปริมาณสารละลายที่ใช้ในการกรอกปากปลาได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

4. การเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับฉีดปลา

การเตรียมสารละลายฮอร์โมนที่มีส่วนผสมของ BUS และ DOM ที่ใช้ในการฉีดปลานี้ใช้กับการทดลองที่ 5 และ 6 ดำเนินการโดยละลายสารในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเพื่อเตรียมเป็นสารละลายตั้งต้นก่อนที่จะนำมาผสมกันเป็นสารละลายฮอร์โมนสำหรับใช้ในการฉีดปลา ซึ่งสารละลายตั้งต้นของ BUS มีความเข้มข้น 15 µg/ml และสารละลายตั้งต้นของ DOM มีความเข้มข้น 2.5 mg/ml โดยปริมาณสารละลายตั้งต้นที่ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายฮอร์โมนในการฉีดปลาจะแตกต่างกัน พิจารณาจากเพศของปลา น้ำหนักปลาที่อยู่ในช่วง 0.5-0.9 กรัม และความเข้มข้นของสารละลายฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์ที่ต้องการให้ปลาได้รับตามที่ระบุในชุดการทดลอง ซึ่งรายละเอียดของส่วนผสมและปริมาณสารละลายฮอร์โมนที่ใช้ในการฉีดปลาได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยปริมาณฮอร์โมนที่ต้องการให้ปลาได้รับที่ใช้ในการทดลองนี้ดัดแปลงมาจากรายงานของ Chankaew (2011)

ตารางที่ 1 ปริมาณสารละลายฮอร์โมนที่ใช้กรอกปากปลาพิจารณาตามน้ำหนักตัวและปริมาณของฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับกรอกปากปลาตามความเข้มข้นที่ต้องการให้ปลาได้รับ

น้ำหนัก (g)	ปริมาณสารละลายที่ใช้กรอกปากปลา (µl)	ปริมาณ BUS ที่ใช้ (µg)			ปริมาณ DOM ที่ใช้ (mg) ปลาได้รับ
		ปลาได้รับ 15 µg/kg	ปลาได้รับ 30 µg/kg	ปลาได้รับ 60 µg/kg	
0.4	24	0.006	0.012	0.024	0.004
0.5	30	0.008	0.015	0.030	0.005
0.6	36	0.009	0.018	0.036	0.006
0.7	42	0.011	0.021	0.042	0.007
0.8	48	0.012	0.024	0.048	0.008
0.9	54	0.014	0.027	0.054	0.009

ตารางที่ 2 ปริมาณสารละลายฮอร์โมนที่ใช้ฉีดปลาซึ่งระบุตามเพศและน้ำหนักตัว และปริมาณสารละลายตั้งต้นของฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) และสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายฮอร์โมนสำหรับการฉีดปลาตามความเข้มข้นที่ต้องการให้ปลาได้รับ

เพศ	น้ำหนัก (g)	สารละลายตั้งต้น BUS (μ l)			สารละลาย ตั้งต้น DOM (μ l) ปลาได้รับ DOM 10 mg/ kg	สารละลายฮอร์โมนที่ใช้ฉีดปลา (μ l)		
		ปลาได้รับ BUS 5 μ g/kg	ปลาได้รับ BUS 10 μ g/ kg	ปลาได้รับ BUS 15 μ g/ kg		ปลาได้รับ BUS 5 μ g/Kg และ DOM 10 mg/ kg	ปลาได้รับ BUS 10 μ g/Kg และ DOM 10 mg/ kg	ปลาได้รับ BUS 15 μ g/Kg และ DOM 10 mg/ kg
เพศเมีย	0.7	-	0.47	0.70	2.80	-	3.27	3.50
	0.8	-	0.53	0.80	3.20	-	3.73	4.00
	0.9	-	0.60	0.90	3.60	-	4.20	4.50
เพศผู้	0.5	0.17	0.33	-	2.00	2.17	2.33	-
	0.6	0.20	0.40	-	2.40	2.60	2.80	-
	0.7	0.23	0.47	-	2.80	3.03	3.27	-

5. การดำเนินการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการผสมอาหาร (in-feed medication) ดัดแปลงจาก Thomas and Boyd (1989) และ Solar *et al.* (1990) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 6 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ตัว ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ประกอบด้วย 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหารเพื่อกระตุ้นการผสมพันธุ์วางไข่ของปลาชิวข้างขวานเล็กในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร³ ที่มีปริมาตรน้ำ 40 ลิตร มีพรรณไม้ในตู้ได้แก่ สาหร่ายหางกระรอก เฟิร์นก้านดำ และจอกประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ มีระบบให้อากาศและระบบกรองน้ำออกตู้ด้วยอัตราการไหลของน้ำประมาณ 0.5 ลิตรต่อนาที เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำและ

จำลองสภาพให้เหมือนกับแหล่งน้ำธรรมชาติ (ภาพที่ 1) โดยชุดการทดลองที่ 1 ให้ปลาเพศผู้และเพศเมียกินอาหารควบคุมที่ไม่ผสมฮอร์โมน ชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ให้ปลาเพศผู้กินอาหารควบคุมที่ไม่ผสมฮอร์โมน ส่วนปลาเพศเมียกินอาหารผสม BUS 0.25, 0.5 และ 1 mg/kg ตามลำดับ ชุดการทดลองที่ 5, 6 และ 7 ให้ปลาทั้งเพศเมียและเพศผู้กินอาหารผสม BUS 0.25, 0.5 และ 1 mg/kg โดยอาหารทดลองที่ผสมฮอร์โมนในทุกความเข้มข้นจะมี DOM 167 mg/kg (ภาพที่ 2) ซึ่งในการทดลองนี้ ดำเนินการโดยเริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ จากนั้นให้ปลากินอาหารตามที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลองจนอิ่มในมือเย็น 1 มือ ในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. แล้วนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และเพศผู้ 3 ตัว ที่ได้รับอาหารตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ หลังจากนั้นทำการตรวจผลการวางไข่ของปลาในช่วงเช้าของทุกวัน

ในช่วงเวลา 08.00 - 12.00 น. ภายใน 1 สัปดาห์ เมื่อพบการวางไข่ของปลา ทำการแยกพ่อแม่ปลาออกไปเลี้ยงในตู้ใหม่ จากนั้นทำการฟักไข่และอนุบาลลูกปลาในตู้เดิมต่อไปจนกว่าลูกไข่แดงที่หน้าท้องของลูกปลายุบ

การทดลองที่ 2 การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการผสมอาหาร โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 2 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 ตัว โดยการทดลองนี้ได้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนเพศพ่อแม่พันธุ์ในตู้เพาะพันธุ์จาก 3:3 ตัว ให้เป็น 1:1 ตัว

การทดลองที่ 3 การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการกรอกปาก (gavage) ซึ่งดัดแปลงจาก Treves-Brown (2000) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 6 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ตัว ซึ่งการทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบ สุ่มตลอด (completely randomized design) ประกอบด้วย 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (ตู้) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการกรอกปากปลา เพื่อกระตุ้นให้ปลาชิวข้างขวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่ในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร³ ที่มีการจัดสิ่งแวดล้อมในตู้เหมือนการทดลองที่ 1 ซึ่งรายละเอียดของแต่ละชุดการทดลองมีดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 ทำการกรอกปากปลาเพศผู้และเพศเมียด้วยน้ำกลั่น ชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ทำการกรอกปากปลาเพศผู้ด้วยน้ำกลั่น ส่วนปลาเพศเมียกรอกปากปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนที่พิจารณาตามน้ำหนักตัว เพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 15, 30 และ 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ตามลำดับ และชุดการทดลองที่ 5, 6 และ 7 ทำการกรอกปากปลาทั้งเพศเมียและเพศผู้ด้วยสารละลายฮอร์โมนที่พิจารณาตามน้ำหนักตัว เพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 15, 30 และ 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ตามลำดับ โดยสารละลาย

ฮอร์โมนที่ใช้ในทุกความเข้มข้นจะมีสารเสริมฤทธิ์ DOM ที่ปลาได้รับในความเข้มข้น 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ซึ่งในส่วนของการเพาะพันธุ์ ดำเนินการโดยเริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ เมื่อปลาปรับสภาพกับระบบตู้เพาะพันธุ์แล้วจึงงดอาหารปลา 12 ชั่วโมง ก่อนการทดลอง จากนั้นนำปลามาวางยาสลบโดยใช้สาร MS-222 ที่ 75 ppm (ดัดแปลงจาก Charoendat (2012)) ซึ่งนำหนักปลา แล้วกรอกปากปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนตามความเข้มข้นที่ระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลอง ดำเนินการในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. โดยใช้เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติขนาด 10 - 100 ไมโครลิตร ในการกรอกปากปลา (ภาพที่ 3) ทั้งนี้ ปริมาณสารละลายฮอร์โมนที่ใช้พิจารณาจากน้ำหนักปลาและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ต้องการให้ปลาได้รับระบุไว้ในตารางที่ 1 จากนั้นนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และปลาเพศผู้ 3 ตัว ที่ผ่านการกรอกปากด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ หลังจากนั้น ทำการตรวจผลการวางไข่ของปลา เช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 4 การเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการกรอกปาก (gavage) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 2 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 ตัว โดยในการทดลองนี้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนระหว่างเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้จาก 3:3 ตัว ให้เป็น 1:1 ตัว

การทดลองที่ 5 เป็นการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) ดัดแปลงจาก Chankaew (2011) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 6 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 3:3 ตัว ซึ่งวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely

randomized design) ประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ (คู่) ทดลองศึกษาการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เพื่อกระตุ้นการวางไข่ของปลาชิวช้างขวานเล็ก ในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร³ ที่มีการจัดสิ่งแวดล้อมภายในตู้เหมือนการทดลองข้างต้น ซึ่งรายละเอียดของแต่ละชุดการทดลองมีดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 ทำการฉีดปลาเพศผู้และเพศเมียด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ทำการฉีดปลาเพศผู้ด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 5 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ส่วนปลาเพศเมียฉีดด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 10 และ 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ตามลำดับ ชุดการทดลองที่ 4 และ 5 ฉีดปลาเพศผู้ด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ส่วนปลาเพศเมียฉีดด้วยสารละลายฮอร์โมนเพื่อให้ปลาได้รับฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS 10 และ 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ตามลำดับ ทั้งนี้ ในส่วนของการดำเนินการเพาะพันธุ์นั้น เริ่มจากการแยกเลี้ยงปลาเพศเมียและเพศผู้ในตู้เพื่อปรับสภาพปลาให้คุ้นเคยกับสิ่งแวดล้อมภายในตู้ 1 สัปดาห์ เมื่อปลาปรับสภาพกับระบบตู้เพาะพันธุ์แล้วจึงงดอาหารปลา 12 ชั่วโมงก่อนการทดลอง จากนั้น นำปลามาวางยาสลบโดยใช้สาร MS-222 ที่ 75 ppm (คัดแปลงจาก Charoendat (2012)) ชั่งน้ำหนักปลา แล้วฉีดปลาด้วยสารละลายฮอร์โมนตามทีระบุไว้ในแต่ละชุดการทดลอง ในช่วงเวลา 16.00 - 17.00 น. โดยการฉีดปลาได้ใช้เครื่องดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติขนาด 0.5-10 ไมโครลิตร ดูดสารละลายฮอร์โมนตามปริมาณที่พิจารณาจากน้ำหนักปลาและปริมาณที่ต้องการให้ปลาได้รับ (ตารางที่ 2) แล้วหยดสารละลายลงบนแผ่นพาราฟิล์มให้เป็นหยดน้ำ

จากนั้น ใช้เข็มฉีดอินซูลินขนาดหัวเข็ม 30G x 8 mm ดูดสารละลายทั้งหมดแล้วฉีดเข้าตัวปลาที่กล้ามเนื้อใต้กรีบหลัง (ภาพที่ 4) จากนั้นนำปลาเพศเมีย 3 ตัว และเพศผู้ 3 ตัว ที่ผ่านการฉีดด้วยสารละลายฮอร์โมนตามที่ระบุในแต่ละชุดการทดลองมาเลี้ยงรวมกันในตู้เพาะพันธุ์ และทำการตรวจผลการวางไข่ของปลา เช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 6 การเพาะพันธุ์ปลาชิวช้างขวานเล็กโดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) โดยใช้ความหนาแน่นของปลา 2 ตัว ด้วยสัดส่วนพ่อแม่พันธุ์ปลาที่ 1:1 ตัว ซึ่งในการทดลองนี้ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5 แต่มีการเปลี่ยนสัดส่วนระหว่างปลาเพศผู้และปลาเพศเมียในตู้เพาะพันธุ์จาก 3:3 ตัวให้เป็น 1:1 ตัว

6. การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละชุดการทดลอง ได้แก่

1. เวลาที่ปลาวางไข่ (ชั่วโมง) ภายในระยะเวลาทดลอง 1 สัปดาห์
2. จำนวนไข่รวม (ฟอง) = จำนวนไข่ปลา รวมในแต่ละตู้
3. อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง) / จำนวนไข่ทั้งหมด (ฟอง)) x 100
4. อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนลูกปลาที่ฟักเป็นตัว (ตัว) / จำนวนไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิ (ฟอง)) x 100%
5. จำนวนลูกปลารวม (ตัว) = จำนวนลูกปลา รวมในแต่ละตู้หลังจากฟักเป็นตัวที่เวลา 3 วัน (ลูกปลาดูไข่แดงยุบ)
6. อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์) = จำนวนลูกปลา หลังจากฟักเป็นตัวที่เวลา 3 วัน (ตัว) / จำนวนลูกปลาแรกฟักจากไข่ (ตัว)

7. คุณภาพน้ำเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ การวัดค่าค่าแอมโมเนีย ค่าไนไตรต์ และ ออกซิเจนที่ละลายน้ำ โดยใช้วิธีการมาตรฐานในการวิเคราะห์น้ำ (APHA, 2012) วัดค่าความเป็นกรด-เป็นด่างและวัดค่าอุณหภูมิด้วยเครื่องวัดคุณภาพน้ำ (Horiba U-50 Multiparameter Water Quality Checker)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของทุกข้อมูลในแต่ละชุดการทดลองโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 1 สภาพตู้ทดลองเพาะพันธุ์ปลา



ภาพที่ 2 การทดลองใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการผสมอาหาร



ภาพที่ 3 การให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM โดยวิธีการกรอกปาก



ภาพที่ 4 การให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM โดยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การทดลองเพาะพันธุ์ปลาช้างขวานเล็กครั้งนี้ ได้ดำเนินการโดยใช้น้ำที่มีคุณภาพน้ำเริ่มต้นซึ่งตรวจวัดก่อนนำไปใช้ในระบบเพาะพันธุ์ในทุกวิธีการทดลอง ได้แก่ ค่าแอมโมเนียเฉลี่ย 0.02 ± 0.01 mgNH₃-N/L ค่าไนไตรต์เฉลี่ย 0.02 ± 0.01 mgNO₂-N/L ค่าความเป็นกรด-เป็นด่างเฉลี่ย 7.87 ± 0.12 ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำเฉลี่ย 5.14 ± 0.06 mg/L และอุณหภูมิเฉลี่ย 29.60 ± 0.69 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาช้างขวานเล็กที่ระบุในรายงานของ Krairasre and Krairasre (2008)

เป็นที่เชื่อกันว่าการกระตุ้นการวางไข่ของปลาโดยการให้ฮอร์โมนผ่านทางเดินอาหาร เช่น การ

ให้ปลากินอาหารที่ผสมฮอร์โมนนั้น ไม่ได้ผล เนื่องจากฮอร์โมนจะเสียดสภาพไปจากการถูกย่อยสลายในกระเพาะอาหารของปลา อย่างไรก็ตาม ลักษณะดังกล่าวอาจจะไม่เกิดขึ้นเสมอไปเนื่องจากมีปัจจัยอย่างอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ชนิดอาหารที่ปลากินเข้าไปและชนิดของปลาที่ให้ฮอร์โมน ซึ่งปลาหลายชนิด โดยเฉพาะปลาในครอบครัว Cyprinidae นั้น ไร้กระเพาะอาหาร จึงทำให้การดูดซึมยาในปลากลุ่มนี้ไม่เป็นไปตามรูปแบบของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีการย่อยในกระเพาะอาหาร (Treves-Brown, 2000) โดยที่ผ่านมาก็ได้มีการศึกษาการให้ฮอร์โมนต่าง ๆ ผ่านทางเดินอาหารในปลาหลายชนิด เช่น การให้ปลา sablefish กินอาหารผสม Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) 1 mg/kg พบว่าสามารถทำให้ปลาวางไข่ได้ (Solar *et al.*, 1990) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าปลา sea trout สามารถรับฮอร์โมน GnRH α หรือ LHRH α ผ่านอาหารโดยการดูดซึมที่ลำไส้ได้ ถึงแม้ว่าจะใช้ฮอร์โมนมากถึง 10 เท่าของปริมาณที่ใช้ในการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยพบว่าปลาที่กินอาหารผสมฮอร์โมน LHRH α 1 mg/kg มีการวางไข่ภายใน 38 ชั่วโมง (Thomas and Boyd, 1989) อย่างไรก็ตาม ในการทดลองนี้พบว่าให้ผลในทางตรงกันข้ามกับรายงานข้างต้น เนื่องจากการเพาะพันธุ์ปลาชีวข้างวานเล็กโดยการให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS และ สารเสริมฤทธิ์ DOM ผ่านทางเดินอาหารด้วยวิธีการผสมอาหารและการกรอกปากที่สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว และ 3:3 ตัว ตามที่ระบุไว้ในวิธีการทดลองที่ 1 - 4 ไม่สามารถทำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ตามระยะเวลาที่ทำการตรวจวัด ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ปลาไม่วางไข่นั้นอาจเกิดจากการที่ปลาได้รับฮอร์โมนไม่เพียงพอ เนื่องจากฮอร์โมนบางส่วนที่ผสมอาหารอาจจะละลายไปกับน้ำระหว่างที่ให้อาหารปลา โดยสังเกตพบว่าปลาไม่ได้กินอาหารทันทีและปลาแต่ละตัวกินอาหารที่ไม่เท่ากัน ปริมาณ

ฮอร์โมนที่ปลาได้รับจึงไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นให้เกิดการวางไข่ นอกจากนี้ ฮอร์โมนบางส่วนอาจจะเสียดสภาพไปจากการถูกย่อยสลายด้วยน้ำย่อยในทางเดินอาหารของปลา (Treves-Brown, 2000) ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพของฮอร์โมนลดลง ทั้งนี้ ในส่วนของการให้ฮอร์โมนโดยวิธีการกรอกปาก สังเกตพบว่าปลามีการสารถสารละลายฮอร์โมนออกมาในขณะที่พื้นตัวจากการสลับ ฮอร์โมนจึงอาจไม่ได้เข้าไปในตัวปลามากพอ การให้ฮอร์โมนด้วยวิธีการดังกล่าวจึงไม่สามารถกระตุ้นให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้

ถึงแม้ว่าวิธีการทดลองที่ 1 - 4 ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้ปลาผสมพันธุ์วางไข่ได้ในการทดลองนี้ แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้พบว่าการเพาะพันธุ์ปลาชีวข้างวานเล็กโดยใช้ BUS ร่วมกับ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ซึ่งระบุไว้ในวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 ที่เพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ตัว และ 1:1 ตัว ตามลำดับ สามารถเหนี่ยวนำให้ปลามีการผสมพันธุ์วางไข่ได้ โดยผลที่ได้จากทั้ง 2 วิธีการทดลอง พบว่าปลาชีวข้างวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่เมื่อปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 μ g/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 μ g/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg โดยปลาที่เพาะพันธุ์ด้วยวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 เริ่มมีการผสมพันธุ์วางไข่หลังจากได้รับฮอร์โมนด้วยวิธีการฉีดในระดับความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นที่เวลาเฉลี่ย 10.25 \pm 0.96 และ 10.00 \pm 0.82 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการเพาะพันธุ์ปลาชีวทอง (*Rasbora einthovenii*) โดยให้ BUS และ DOM ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันกับการทดลองนี้ โดยปลาจะวางไข่ที่เวลา 8-10 ชั่วโมง หลังจากได้รับฮอร์โมน (Petchrit, 2021) นอกจากนี้ ได้มีการศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาชีวควายแถบดำ (*Rasbora paviei*) โดยฉีด BUS 15 μ g/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg เข้าที่กล้ามเนื้อของปลาทั้งเพศผู้และเพศเมีย และทำการเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1

พบว่าปลาสามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ภายในเวลาประมาณ 8 ชั่วโมง หลังจากได้รับฮอร์โมน (Chankaeuw, 2011) ซึ่งถือว่าเป็นช่วงเวลาใกล้เคียงกับช่วงเวลาปลาชิวข้างขวานเล็กวางไข่หลังจากได้รับฮอร์โมนในการทดลองนี้

เมื่อพิจารณาการเพิ่มความหนาแน่นของปลาพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ พบว่าวิธีการทดลองที่ 5 ซึ่งเป็นการเพาะพันธุ์ปลาโดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 ตัว นั้น ปลามีการจับคู่ผสมพันธุ์วางไข่กันเพียง 1 คู่ คือสัดส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ปลา 1:1 ตัว (ภาพที่ 5) ในทุกคู่ที่ทำการตรวจวัด ไม่พบการจับคู่กัน ในสัดส่วนเพศของปลาแบบ 1:2 ตัว และ 1:3 ตัว เมื่อพิจารณาทั้งในส่วนของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ปลาเป็นตัวหลัก ซึ่งอาจเกิดจากการที่พ่อแม่พันธุ์ปลาในแต่ละคู่เลือกจับคู่กันเฉพาะตัวที่มีความสมบูรณ์เพศมากที่สุดก่อน มีการสร้างอาณาเขตพื้นที่ในการผสมพันธุ์วางไข่ที่ครอบคลุมอาณาเขตเกือบทั้งหมดภายในตู้ซึ่งมีขนาดเล็ก จนปลาที่เหลือไม่สามารถเข้ามาวางไข่ในบริเวณที่ปลาพ่อแม่พันธุ์คู่แรกเข้ามาผสมพันธุ์วางไข่ได้ ซึ่งจากรายงานของ Krairasrasre and Krairasrasre (2008) ได้ระบุว่า ปลาตัวผู้ที่พร้อมผสมพันธุ์จะต่อสู้กันก่อนการผสมพันธุ์ เพื่อแย่งตัวเมียที่พร้อมที่สุดในการผสมพันธุ์วางไข่ ปลาตัวผู้ที่จะได้จับคู่กับปลาตัวเมียที่พร้อมที่สุดและจะได้ต้อนปลาตัวอื่นให้ออกไปจากบริเวณที่มันจะผสมพันธุ์ โดยปลาตัวผู้จะว่ายน้ำวนรอบพื้นที่วางไข่และจะคลอเคลียอยู่ข้างปลาตัวเมียตลอดเวลา ปลาตัวผู้จะใช้ส่วนของลำตัวกดรัดตัวเมีย หลังจากนั้นตัวผู้ก็จะปล่อยตัวเมียออกเพื่อให้วางไข่เกาะตามวัสดุ หรือไม้น้ำ โดยตัวเมียจะไข่ครั้งละ 2-10 ฟอง จำนวน 15-20 ครั้ง จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าปลาชนิดนี้มีพฤติกรรมจับคู่ผสมพันธุ์ ไม่ได้ผสมพันธุ์แบบรวมกลุ่ม การเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว จึงเป็นไปได้มากที่สุด ซึ่งลักษณะการจับคู่ผสมพันธุ์เช่นนี้ เป็นพฤติกรรมที่มี

การแสดงออกในปลาชนิดอื่นด้วย เช่น ปลาชิวตาเขียว (*Microdevario kubotai*) ที่มีการผสมพันธุ์วางไข่ด้วยสัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว (Petchrit, 2016) แต่ข้อมูลเกี่ยวกับสัดส่วนการจับคู่ผสมพันธุ์ที่ได้ นี้มีความแตกต่างกับข้อมูลจากการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานใหญ่ (*Trigonostigma heteromorpha*) ในระบบน้ำหมุนเวียนเลียนแบบธรรมชาติ เนื่องจากปลาไม่วางไข่ที่สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว โดยให้เหตุผลว่าไม่มีการต่อสู้กันระหว่างปลาเพศผู้เพื่อกระตุ้นให้ปลาเพศเมียวางไข่ สัดส่วนเพศที่เหมาะสมของการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้จึงอยู่ที่ 1:2 (Buraheng and Chamnanwech, 2018) ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาถึงการที่ปลาที่เหลือไม่ผสมพันธุ์วางไข่นั้นอาจเกิดจากข้อผิดพลาดอื่นที่เกิดขึ้นในขณะที่ทำการฉีดฮอร์โมน โดยกระบวนการฉีดฮอร์โมนในการศึกษาครั้งนี้เป็นการคำนวณขนาดการใช้ฮอร์โมนที่เป็นการประมาณการตามน้ำหนักปลาแต่ละตัวซึ่งมีขนาดเล็กมากและเกิดความเครียดได้ง่าย ปลาจึงอาจได้รับปริมาณฮอร์โมนที่ไม่เพียงพอหรือได้รับมากเกินไป ซึ่งมีผลต่อการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่สมบูรณ์ หรือพัฒนามากเกินไปจนเกินภาวะสมดุล ปลาจึงไม่จับคู่กันผสมพันธุ์วางไข่ เนื่องจาก BUS ที่ฉีดให้ปลาจัดเป็น Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LHRH) ที่สามารถกระตุ้นให้ต่อมใต้สมอง (hypothalamus) ของปลาให้สร้าง gonadotropin hormone ซึ่งทำหน้าที่ส่งสารไปที่ gonad ให้ผลิต sex hormone เพื่อไปกระตุ้นให้ไข่หลุดจากรังไข่ จนเกิดการตกไข่ แต่การฉีด BUS ในปริมาณน้อยในสภาวะที่ปลามีความเครียดและไม่พร้อมผสมพันธุ์ ไม่สามารถกระตุ้นให้ปลาเกิดการตกไข่ได้ จึงควรฉีด BUS ร่วมกับ DOM ซึ่งจัดเป็น Dopamine antagonist ที่มีประสิทธิภาพในการทำลาย Dopamine หรือสกัดกั้นไม่ให้สมองของปลาผลิต Dopamine ออกมาควบคุมกับ LHRH ทำให้ปลามีการพัฒนาของไข่และเกิดการตกไข่ ถึงแม้การฉีด BUS ร่วมกับ DOM จะ

กระตุ้นให้ต่อมใต้สมองสร้าง gonadotropin hormone ออกมาได้เพื่อควบคุมการหลั่งฮอร์โมนเพศของรังไข่และอณู แต่การหลั่งฮอร์โมนนี้สามารถถูกควบคุมได้โดย sex hormone เรียกว่า negative feedback pathway เมื่อ sex hormone มีระดับต่ำจะกระตุ้นให้มีการหลั่ง gonadotropin hormone มาก เพื่อให้ sex hormone มีระดับสูงขึ้น แต่เมื่อ sex hormone มีระดับสูงขึ้นถึงระดับหนึ่งก็จะกลับไปยับยั้งการทำงานของต่อมใต้สมองให้หลั่ง gonadotropin hormone ลดลง ซึ่งการที่ปลาได้รับ BUS ร่วมกับ DOM มากเกินไป (over dose) ทำให้เกิด negative feedback pathway ดังกล่าว โดยสารที่ฉีดจะไปส่งผลในการสลายผนังรังไข่ให้แตก ทำให้เกิดการ over-ripe ของไข่ ไม่ได้ส่งผลในการกระตุ้นไข่ให้มีความสมบูรณ์ขึ้น (Promprasert *et al.*, 2011)

หลังจากที่ปลาได้จับคู่ผสมพันธุ์กันแล้ว ปลาได้วางไข่ซึ่งมีลักษณะเป็นไข่จมติดกับวัตถุและกระจายไปทั่วพรรณไม้น้ำ หรือวัสดุอื่นภายในตู้ โดยมีไข่บางส่วนกระจายตกลงก้นตู้ (ภาพที่ 6) สอดคล้องกับรายงานของ Chundum *et al.* (2010) ที่ระบุว่าปลาชนิดนี้จะมีการวางไข่จมติดกับวัตถุแบบกระจาย โดยพบว่าไข่ปลาที่ได้รับการปฏิสนธิจะมีสีใส (ภาพที่ 7) ส่วนไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิจะมีสีขาวขุ่น ทึบแสง และลูกปลาจะเริ่มฟักออกจากไข่ (ภาพที่ 8) ที่เวลาเฉลี่ย 19.26 ± 0.07 และ 19.28 ± 0.11 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิของน้ำ 28 - 29 องศาเซลเซียส พิจารณาจากข้อมูลในวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้อง

กับรายงานของ Krairasre and Krairasre (2008) ที่ระบุว่าลูกปลาชีวข้างขวานเล็กฟักออกจากไข่ที่เวลา 19 ชั่วโมง 29 นาที ที่อุณหภูมิของน้ำ 28 - 29 องศาเซลเซียส

ในส่วนของผลการศึกษเกี่ยวกับจำนวนไข่รวม จำนวนลูกปลารวม อัตราปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตราการรอดของลูกปลาที่ได้จากการเพาะพันธุ์ด้วยวิธีการทดลองที่ 5 และ 6 พบว่ามีการแสดงค่าที่ใกล้เคียงกัน โดยได้จำนวนไข่รวมเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 50.25 ± 13.45 และ 55.50 ± 6.61 ฟอง อัตราปฏิสนธิเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 81.25 ± 1.69 และ 81.12 ± 1.34 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 79.40 ± 1.56 และ 79.45 ± 1.24 เปอร์เซ็นต์ จำนวนลูกปลารวมเฉลี่ยหลังจากฟักเป็นตัวที่เวลา 3 วัน มีค่าเท่ากับ 19.25 ± 4.65 และ 21.75 ± 2.63 ตัว และอัตราการรอดของลูกปลาเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 59.73 ± 1.20 และ 60.81 ± 1.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ 4) ซึ่งผลของอัตราปฏิสนธิ อัตราการฟัก และอัตราการรอดของลูกปลา ที่ได้ในการทดลองนี้ มีค่าใกล้เคียงกับข้อมูลของการเพาะพันธุ์ปลาชีวทอง (*Rasbora einthovenii*) โดยให้ฮอร์โมนสังเคราะห์ BUS ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ DOM ด้วยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อในปลาพ่อแม่พันธุ์ในระดับความเข้มข้นเดียวกันกับที่ใช้ในการทดลองนี้ คือการให้ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ร่วมกับ DOM 10 mg/kg (Petchrit, 2021)

ตารางที่ 3 ผลการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 3:3 (Mean±SD)

ชุดการทดลอง	จำนวนไข่รวม (ฟอง)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนลูกปลารวม (ตัว)	อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)
1	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
2	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
3	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
4	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
5	50.25±13.45 ^a	81.25±1.69 ^a	79.40±1.56 ^a	19.25±4.6 ^a	59.73±1.20 ^a

หมายเหตุ: ชุดการทดลอง 1 คือ ปลาทั้งสองเพศได้รับน้ำกลั่น
 ชุดการทดลอง 2 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 5 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg
 ชุดการทดลอง 3 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 5 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg
 ชุดการทดลอง 4 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg
 ชุดการทดลอง 5 คือ ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 µg/kg ร่วมกับ DOM 10 mg/kg

อักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลการเพาะพันธุ์ปลาชิวข้างขวานเล็กโดยใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ให้ปลาได้รับในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และเพาะพันธุ์โดยใช้สัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 (Mean±SD)

ชุดการทดลอง	จำนวนไข่รวม (ฟอง)	อัตราปฏิสนธิ (เปอร์เซ็นต์)	อัตราฟัก (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนลูกปลารวม (ตัว)	อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์)
1	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
2	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
3	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
4	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
5	55.50±6.61 ^a	81.12±1.34 ^a	79.45±1.24 ^a	21.75±2.63 ^a	60.81±1.79 ^a

หมายเหตุ: รายละเอียดของชุดการทดลองที่ระบุในตารางเหมือนกับตารางที่ 3



ภาพที่ 5 พ่อแม่พันธุ์ปลาจับคู่ผสมพันธุ์หลังได้รับฮอร์โมนและสารเสริมฤทธิ์



ภาพที่ 8 ลูกปลาแรกเกิด



ภาพที่ 6 ไข่ปลาที่ติดกับไม้น้ำและไข่บางส่วนที่ร่วงลงก้นตู้



ภาพที่ 7 ไข่ปลาที่ได้รับการปฏิสนธิ

สรุป

การเหนี่ยวนำให้ปลาชิวชังชวานเล็กมีการผสมพันธุ์วางไข่โดยการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ buserelin acetate (BUS) ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone (DOM) ไม่สามารถดำเนินการได้โดยการให้ฮอร์โมนผ่านทางเดินอาหารด้วยวิธีการผสมอาหารและวิธีการกรอกปาก แต่สามารถทำได้โดยการฉีดฮอร์โมนร่วมกับสารเสริมฤทธิ์เข้ากล้ามเนื้อ โดยให้ปลาเพศผู้ได้รับ BUS 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ร่วมกับ DOM 10 mg/kg ปลาเพศเมียได้รับ BUS 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ร่วมกับ DOM 10 mg/kg และเพาะพันธุ์ปลาด้วยสัดส่วนเพศของปลาพ่อแม่พันธุ์ 1:1 ตัว ทั้งนี้ อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดอาหารที่สามารถเสริมความสมบูรณ์พันธุ์ให้กับพ่อแม่พันธุ์ปลา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ได้สนับสนุนงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2564 เพื่อใช้ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- APHA. 2012. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd ed. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF), Washington, D.C., USA.
- Buraheng, S. and Chamnanwech, U. 2018. **Breeding of Harlequin rasbora with the different sex ratio (*Trigonostigma heteromorpha* Duncker, 1904) in circulation system**. Published documents, Inland Aquaculture Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai).
- Chankaew, S. 2011. Breeding biology of *Rasbora paviei* (Tirant, 1885). **Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University** 30(1): 145-152. (in Thai)
- Charoendat, U. 2012. Efficacy of synthetic eugenol as anesthetic for fish transportation. Master of science thesis, Kasetsart University. (in Thai)
- Chundum, S., Ngamsnae, P. and Arthainsee, A. 2010. Biological and ecological assessment of conservation and aquaculture development of *Trigonostigma espei* in Chantaburi province. **Journal of Agricultural Technology** 6(4): 767-775.
- Kraisurasre, A., Kraisurasre, S. and Paladim, J. 2008. **Experiment on culture *Trigonostigma espei* broodstock**. Technical Paper No. 36/2008, Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)
- Kraisurasre, S. and Kraisurasre, A. 2008. **Breeding of *Trigonostigma espei* on different material spawning**. Technical Paper No. 35/2008, Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)
- Petchrit, N. 2016. **Breeding of *Microdevario kubotai* Kottelat & Witte, 1999 on Different Sex Ratio**. Technical Paper No. 21/2016, Inland Aquaculture Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)
- Petchrit, N. 2021. **Breeding and Nursing of Brilliant rasbora, *Rasbora einthovenii* (Bleeker, 1851)**. Technical Paper No. 1/2021, Inland Aquaculture Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)
- Promprasert, J., Galsri, N., Sirikul, C., Klongklaw, A., Tuntigamote, P. and Fong-am, A. 2011. **Breeding of tiger loach (*Botia helodes* Sauvage, 1876) with hormonal priming treatment ovulation**. Technical Paper No. 3/2011, Inland Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in Thai)
- Solar, I.L., McLean, E., Baker, I.J., Sherwood, N.M. and Donaldson, E.M. 1990. Induced ovulation of sablefish (*Anoplopoma fimbria*) following oral administration of des Gly¹⁰-(smallcap D-Ala⁶)

LH-RH ethylamide. **Fish Physiology and Biochemistry** 8(6): 497-499.

Tang, K.L., Agnew, M.K., Hirt, M.V., Sado, T., Schneider, L.M., Freyhof, J., Sulaiman, Z., Swartz, E., Vidthayanon, C., Miya, M., Saitoh, K., Simons, A.M., Wood, R.M. and Mayden, R.L. 2010. Systematics of the subfamily Danioninae (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 570(1): 189-214.

Thomas, P. and Boyd, N.W. 1989. Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning of spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). **Aquaculture** 80(3-4): 363-370.

Treves-Brown, K.M. 2000. **Applied fish Pharmacology**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

การสังเคราะห์ ศึกษาโครงสร้าง การคำนวณโดยใช้ทฤษฎีฟังก์ชันนอลความ
หนาแน่น และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมในหลอดทดลอง

ของสารประกอบเชิงซ้อน $\text{Ru}(p\text{-cymene})(\text{PPh}_3)\text{Cl}_2$

**Synthesis, Characterization, Theoretical Calculation-Based
Density Functional Theory and *In vitro* Cytotoxicity Against
Breast Cancer Cell Lines of $\text{Ru}(p\text{-cymene})(\text{PPh}_3)\text{Cl}_2$ Complex**

Vannara Some¹ ชมลวรรณ ส่องแสง¹ เอกพงษ์ คล้ายมณี¹ ฐิติรัตน์ เต็มราม¹ เสวานิต ทราชทอง¹
อดิศร รัตนพันธ์² และ นรารักษ์ หลีสกุล^{1*}

Vannara Some¹, Thamolwan Songsan¹, Ekkapong Klaimanee¹, Thitirat Temrarm¹,
Saowanit Saithong¹, Adisorn Ratanaphan² and Nararak Leesakul^{1*}

Received: 24 March 2023, Revised: 3 May 2023, Accepted: 2 June 2023

บทคัดย่อ

เป็นที่ทราบกันดีว่าสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะรูทีเนียม เป็นสารที่มีความสำคัญและมีความเป็นไปได้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก และเซลล์มะเร็ง ในงานวิจัยนี้ $\text{Ru}(p\text{-cymene})(\text{PPh}_3)\text{Cl}_2$ ถูกสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่ระหว่างไดคลอโรของสารประกอบเชิงซ้อน dichloro(*p*-cymene)ruthenium(II) กับลิแกนด์ไตรฟีนิลฟอสฟิน (PPh_3) ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน เพื่อใช้ในการศึกษาการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านมในหลอดทดลอง ศึกษาโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวด้วยเทคนิค Single crystal X-ray diffraction, ¹H-NMR, FTIR และการวิเคราะห์ปริมาณธาตุที่เป็นองค์ประกอบ พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนชนิดนี้มีโครงสร้างเป็นทรงเหลี่ยมสี่หน้าบิดเบี้ยว (distorted tetrahedral) โดยศึกษาเคมีคำนวณภายใต้ทฤษฎีฟังก์ชันนอลความหนาแน่น (density functional theory) เพื่อใช้ในการอธิบายคุณลักษณะของแถบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 393 นาโนเมตร และมีไหล่ (shoulder) ของแถบการดูดกลืนที่ 496 นาโนเมตร เมื่อเกิดจากการเปลี่ยนระดับพลังงานจากการถ่ายโอนประจุ (charge transfer) และศึกษาความเป็นพิษของสารประกอบเชิงซ้อน $\text{Ru}(p\text{-cymene})(\text{PPh}_3)\text{Cl}_2$ กับเซลล์มะเร็งเต้านม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ HCC1937 MCF-7 และ MDA-MB-231 โดยวิธี MTT assay พบว่าสารประกอบชนิดนี้ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ MCF-7 ให้ค่า IC₅₀ เท่ากับ 15.99 μM ดีกว่าสาร cisplatin (42.2 μM) ซึ่งเป็นยาทางการค้าถึง 2.6 เท่า

¹ สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

¹ Division of Physical Science and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.

² ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

² Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand.

* Corresponding author, e-mail: nararak.le@psu.ac.th Tel: 0 7428 8421

คำสำคัญ: สารประกอบเชิงซ้อน โลหะรูทีเนียม(II), ไตรฟีนิลฟอสฟีน, ทฤษฎีฟังก์ชันนอลความหนาแน่น, ฤทธิ์ต้านมะเร็ง

ABSTRACT

Ruthenium complexes are known as promising crucial substances for *in vitro* antitumor and anticancer. In this study, Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ was synthesized through a consequence reaction between dichloro(*p*-cymene)ruthenium(II) dimer and triphenylphosphine (PPh₃) ligand in dichloromethane to investigate its *in vitro* activity against breast cancer cells comparison with free PPh₃ ligand. The complex was characterized using single crystal X-ray diffraction, ¹H-NMR, FTIR, elemental to analyze its specific structure which adopted a distorted pseudo-tetrahedral geometry. Theoretical calculations under density functional theory were conducted to identify that the absorption band at 393 nm with a shoulder of 496 nm arose from the characters of charge transfer transitions. The Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex was measured for cytotoxicity against three breast cancer cell lines, HCC1937, MCF-7, and MDA-MB-231 by MTT assay. It exhibited higher anti-breast cancer activity against MCF-7, with an IC₅₀ value of 15.99 μM, compared to cisplatin, a commercial drug (42.2 μM), by 2.6 folds.

Key words: ruthenium(II) complex, triphenylphosphine, density functional theory, anticancer

INTRODUCTION

In recent years, scientists have tried to explore chemotherapeutic drugs' resistance to cancer cells, and they remain ineffective in treating many diverse types of cancer (Pettinari *et al.*, 2014). The primary motivation for research to develop new metallodrugs with anticancer efficacy is the discovery of novel metallodrugs (Rojas *et al.*, 2017). Currently, there has been a lot of pharmacological interest in organometallic Ru(II) complexes based on the arene complex because of their antitumor, anticancer, and antibacterial activities (Yellol *et al.*, 2015; Lapasam *et al.*, 2019). Compared to platinum-based drugs like cisplatin, the half-sandwich *p*-cymene-ruthenium(II) complexes from a piano stool show anticancer efficacy with low toxicity to normal cells (Subarkhan and Ramesh, 2016; Brissos *et al.*, 2018). Ruthenium-based drugs exhibit stronger anticancer effects within the same activity spectrum as Pt(II) based drugs, which is possibly explained by their capacity to mimic iron, trigger apoptosis, and bind to DNA, proteins, and enzymes (Allardyce and Dyson, 2001; Bergamo and Sava, 2011; Neethu *et al.*, 2019). The main way that the synthesis of

anticancer ruthenium(II) complexes has been developed recently is by altering the N-donor, O-donor, S-donor, and P-donors of auxiliary ligands (Brissos *et al.*, 2018; Rohini *et al.*, 2018; Orhan *et al.*, 2022). However, most researchers have concentrated on Ru-arene structures with N-donor ligands (Dkhar *et al.*, 2020). Additionally, phosphine derivatives can interact with DNA chain. RAPTA-C is a Ru(II) complex consisting of the bond between Ru(II) with an arene group, two chloro ligands, and a phosphorus donor as an ancillary ligand (Herry *et al.*, 2019). It has been found that RAPTA-C plays an important role as an anticancer agent (Murray *et al.*, 2016). Many researchers have reported phosphine-derived complexes containing Ru(II) metal ions with mononuclear structural geometry (Biancalana *et al.*, 2017) similar to our group's work (Chuklin *et al.*, 2017; Klaimanee *et al.*, 2021) as well as some small number of P[^]P chelating ligands of bimetallic Ru(II) complexes (Herry *et al.*, 2019). Some other strong anticancer properties of Ru(II) and Ir(III) complexes with P[^]P ligands were reported by Li and coworkers. The Ru(II) complexes [η⁶-*p*-cym)Ru(P[^]P)Cl]PF₆ (BINAP) exhibited potent anticancer activity up to 15 and 7.5 times greater than

cisplatin, respectively, against A549 and HeLa cells (Li *et al.*, 2018). There are many mechanisms for explaining the anti-growth of cancer cells by Ru(II) complexes for example, cellular uptake, interaction with nucleic acids and proteins through multiple binding modes in the nucleus, interaction on mitochondria, lysosome, DNA, and enzymes (Zeng *et al.*, 2017). In addition, the Ru(II) complexes with P-donor ligands have been also widely investigated for their antimicrobial activities (Mawnai *et al.*, 2019).

In this present work, the piano-stool structure of a simple molecule was synthesized and characterized by single crystal X-ray diffraction, spectroscopies, and elemental analysis. This complex has been reported by Elsegood and coworkers before, but it has never been revealed its intra- and inter-molecular force and Hirshfield surface structure interactions yet. Moreover, Honorato and coworkers have also studied the cytotoxicity of this complex against many kinds of cancer cells. Nevertheless, its anticancer property against the HCC1937 human breast cancer cell line has not yet been studied. Besides, the in-depth understanding of the optical property of this complex has also never been reported. Herein, we report all those missing points together with the theoretical calculations based on DFT to stimulate the absorption spectrum in CH_2Cl_2 which are new aspects to be explored. The Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ is aimed to be used as a precursor for synthesizing the [Ru(*p*-cymene)(PPh₃)L]Cl complex where L = various types of amino acids for the anticancer framework. Therefore, a well-understand chemistry of the precursor complex is essential.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The A.R. grade of dichloro(*p*-cymene) ruthenium(II) complexes dimer and triphenylphosphine were purchased from TCI. Reagent-grade solvents, such as chloroform, dichloromethane, acetonitrile, and diethyl ether, were bought from RCI

Labscan. No extra purification was done and used as received.

Instrumentation

A BX Perkin Elmer FT-IR spectrophotometer (KBr disk, 4000-400 cm^{-1}) was used to record the vibrational frequency spectra of the complex. A Varian Bruker Avance 300 MHz NMR spectrometer was used to perform proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectra in CDCl_3 solvent with tetramethyl silane (TMS) as an internal standard. The absorption spectra of the studied complex were measured using a UV-visible spectrophotometer, model TU-1950, to record electronic spectra (200-800 nm). The visible and ultraviolet light sources were provided by tungsten and deuterium lamps, respectively. A standard 1 cm quartz cuvette was used. The Electrothermal IA9000 Series melting point instrument was used to measure melting points. Elemental analysis was conducted using a CHNS-O Analyzer, (CEv Instruments Flash EA 1112 Series, Thermo Quest, Italy). The diffraction data of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex were collected using a D8 VENTURE Bruker AXS apparatus with graphite-monochromated Mo K α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). The diffraction data of were collected from 30304 reflections. The interpretation of raw data was obtained using SMART, SAINT v8.38A, and SADABS software. Structure solving was carried out using SHELXS (Sheldrick, 2015). Non-hydrogen atoms were refined from anisotropic thermal parameters. A riding model was used to refine calculations with all hydrogen atoms placed in ideal positions. Molecular graphics and materials required for publication were prepared by the WinGX 2018/3 (Farrugia, 2012) and Mercury 2020.3 (MacRae *et al.*, 2020) programs. Crystallographic data for Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ were deposited at the Cambridge Crystallographic Data Center and can be provided using the access CCDC code 2231646, via: http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif (or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ, U.K. Fax: +44 1223 336 033 or email deposit@ccdc.cam).

ac.uk). The X-ray data were provided in the supplementary data section.

Synthesis pathway

The Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex was prepared by reacting dichloro(*p*-cymene) ruthenium(II) dimer (0.183g, 0.3 mmol) with triphenylphosphine (PPh₃) (0.157g, 0.6 mmol) ligand in 20 mL of tetrahydrofuran (THF) at 40°C. The mixture of these substances was stirred for 1.5 hours. After that, the compounds were filtered and crystallized by adding dichloromethane and acetonitrile 2: 1 ratio, followed by diffusion of vapor with diethyl ether (10 mL), and left at room temperature for a few days to obtain single crystals. The obtained brown single crystals were filtered and washed with diethyl ether three times. Moreover, the complex was recrystallized again in the same solvent mixture. The complex crystals were completely soluble in dichloromethane and CDCl₃.

Yield: 61.86%. Melting point: 194-195°C (with decomposition). Anal Calcd (%) for C₂₈H₂₉Cl₂PRu (568.45), C 59.10, H 5.10, Found, C 58.99, H 5.07. FT-IR (KBr, cm⁻¹) see supplementary data Figure S1: ν(C-H), 3049; ν(C = C), 1436; ν(P-Ph), 1092; ν(Ru-P), 525; ν(Ru-Cl), 508 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) see supplementary data Figure S2: δ 7.82 (dd, J = 7.5Hz, 6H), 7.38 (d, J = 7.5Hz, 9H), 5.19 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 4.99 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 2.85 (m, J = 6.8 Hz, 1H), 1.87 (s, 3H) and 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 6H)

Computational study

The Gaussian 09 program was used for all calculations. The calculation was done based on the density functional theory (DFT) in the gas phase with PBE0 (Tabares *et al.*, 2019) and B3LYP basis sets (Klaimanee *et al.*, 2021). The ground state of the Ru(II) complex was completely optimized in terms of shape. For non-metal atoms and the ruthenium atom, the basis sets of 6-31G(d) and LANL2DZ were selected, respectively (Roy *et al.*, 2008). The electronic absorption spectrum was then simulated by using the TDDFT

program and the polarizable continuum model (PCM) of dichloromethane (Mennucci *et al.*, 1997).

In vitro cytotoxicity assay

The MTT assay was used to measure the anti-breast cancer activity against the MCF-7, MDA-MB-231, and HCC1937 cell lines. Cisplatin was used as a positive control to assess the complex's cytotoxicity against breast cancer cells. The IC₅₀ value of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex was reported. Human breast adenocarcinoma cell line (ATCC[®] HTB-22[™]) was [MCF-7 breast cancer (BRCA1 wild-type, ER-, PR-, and HER2- positive)] (ATCC, USA). Human breast adenocarcinoma cell line (ATCC[®] HTB-26[™]) was [MDA-MB-231 breast cancer (BRCA1 wild-type, Triple negative (ER-, PR-, and HER2-negative))] (ATCC, USA). The human breast adenocarcinoma cell line (ATCC[®] CRL-2336[™]) was [HCC1937 breast cancer (BRCA1 mutant, Triple negative (ER-, PR-, and HER2-negative))] (ATCC, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

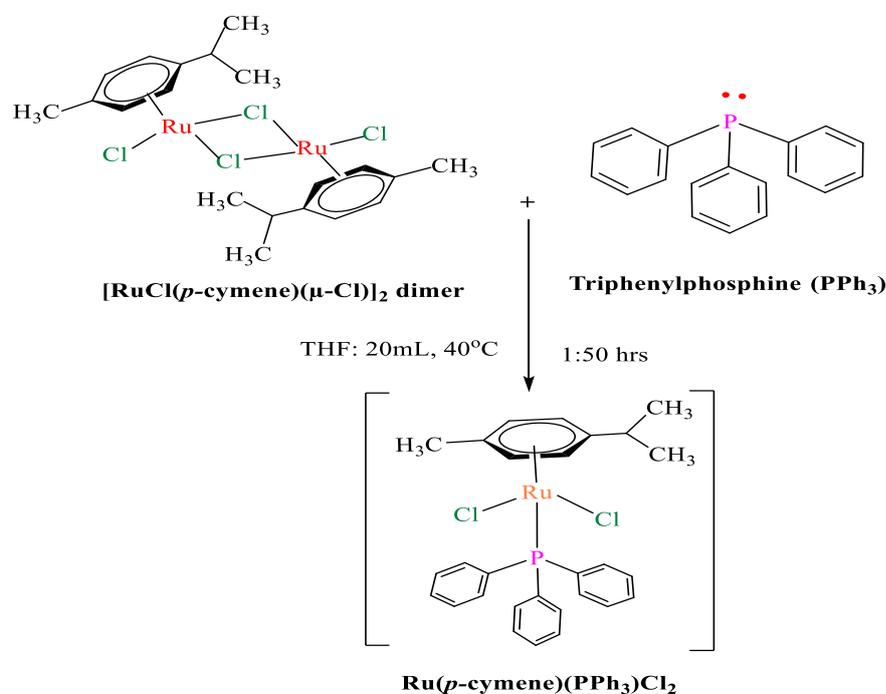
Synthesis and characterization

The complex, Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ was synthesized by a new method involving between dichloro(*p*-cymene) ruthenium(II) dimer complexes and triphenylphosphine (PPh₃) ligand in tetrahydrofuran (Scheme 1).

The results from single-crystal XRD, FT-IR, ¹H-NMR, and elemental analysis techniques were examined to confirm the structure of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex, which adopted a distorted pseudo-tetrahedral geometry with η⁶ π-bonding of *p*-cymene, a single molecule of triphenylphosphine (PPh₃), and two Cl⁻ ligands (Figure 1). The crystallographic information for the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex is displayed in Supplementary data T1 and T2. The crystal structure of the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex is monoclinic with the P2₁/n space group, reported in a previous study (Elsgood *et al.*, 2006). The selected bond distances (Å) and bond angles (°) of the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex are displayed in supplementary data

T3. There are two molecules in the asymmetric unit (the label Ru(1) and Ru(2) for molecules 1 and 2, respectively). The averaged distances of Ru-P 2.3488(5) Å, Ru-Cl 2.4133(6) Å, and averaged Ru-C 2.219(2) Å distances are close to the previously studied by Elsegood *et al.* (2006). These results are similar to other related structures of $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}_2(\text{PPh}_2\text{Py})]$ (Govindaswamy *et al.*, 2004) and $[\text{Ru}_2(p\text{-cymene})_2(\text{dppp})\text{Cl}_4]$ complexes (Klaimanee *et al.*, 2021). The bond angles of P(1)-Ru(1)-Cl(1), P(1)-Ru(1)-Cl(2), and Cl(1)-Ru(1)-Cl(2) of the complex are $90.21(2)^\circ$, $87.112(19)^\circ$, and $88.46(2)^\circ$ for molecule 1 and P(2)-Ru(2)-Cl(4), P(2)-Ru(2)-Cl(3), and Cl(1)-Ru(1)-Cl(2) in the complex are

$87.62(2)^\circ$, $89.81(2)^\circ$, and $88.81(2)^\circ$ for molecule 2, respectively. This points out that our studied complex is pseudo-tetrahedral or distorted tetrahedral in both molecules, similar to earlier studies (Elsegood *et al.*, 2006; Ludwig *et al.*, 2012). Weak intramolecular H-bonding of C-H...Cl types is found between H atoms of the phenyl ring of PPh₃ and Cl atoms in the crystal structure of the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex (Figure 2 and Table 1). In addition, an intermolecular force between molecule 2 of C-H... π of C(47)-H(47)...Cg8 = 2.81 Å is presented, as shown in Figure 3 and Figures S3-S4 (Supplementary data).



Scheme 1 Synthesis pathway of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex.

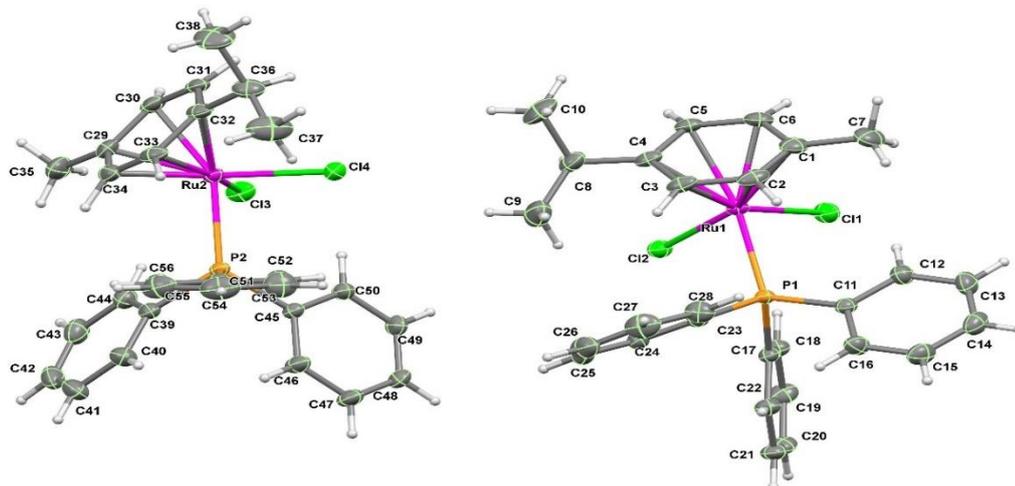


Figure 1 The ORTEP structures of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex in asymmetric unit with atom numbering

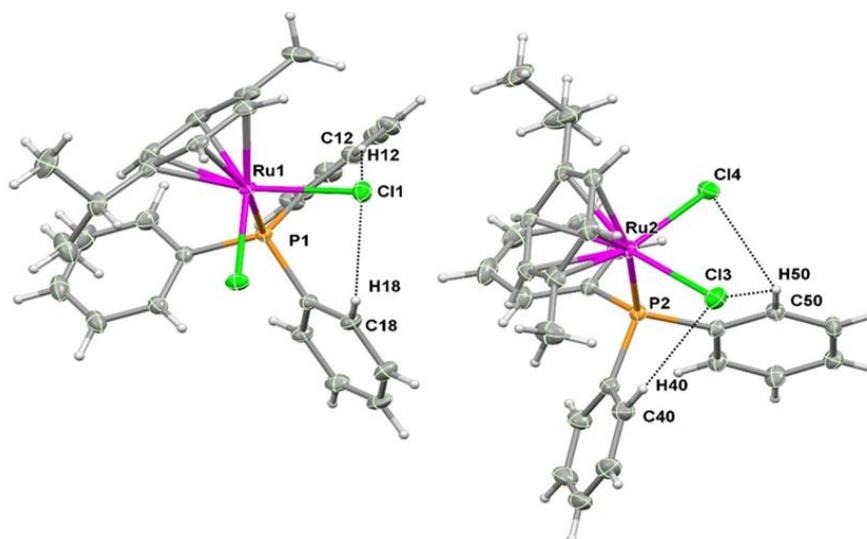


Figure 2 The intra-molecular hydrogen bond interactions of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex

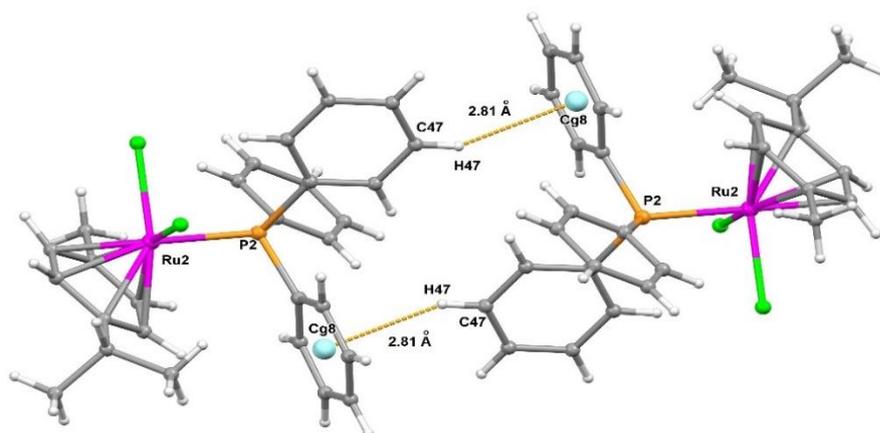


Figure 3 Inter-molecular C-H... π interactions of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex.

Table 1 Hydrogen bonds for Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex[Å, °].

D-H...A	Distance of d(D-H) (Å)	Distance of d(H...A) (Å)	Distance of d(D...A) (Å)	Angles of <(DHA) (°)
C(12)-H(12)...Cl(1)	0.93	2.74	3.564(3)	147.9
C(18)-H(18)...Cl(1)	0.93	2.71	3.476(3)	140.1
C(40)-H(40)...Cl(3)	0.93	2.71	3.548(3)	149.7
C(50)-H(50)...Cl(3)	0.93	2.72	3.435(2)	134.2
C(50)-H(50)...Cl(4)	0.93	2.72	3.295(2)	121.1

Symmetry transformations are used to generate equivalent atoms.

Hirshfeld surface analysis

Hirshfeld surface analysis was used to examine the intermolecular interactions in the crystal packing. Hirshfeld surfaces mapped over d_{norm} were created using the Crystal Explorer program (Spackman *et al.*, 2021). The intermolecular contact distances, d_i and d_e , from the surfaces between the closest atoms inside and outside molecules were analyzed using the mapping of d_{norm} . Figure 4 displays a map of the Hirshfeld surfaces over d_{norm} that reveals the intermolecular contacts as acceptors on the surfaces. These contact ratio, followed by diffusion of acts, which are shorter than Van der Waals radii, are represented by bright-red spots on surfaces indicating intermolecular contacts of H...H, C...H/H...C, and H...Cl/Cl...H, respectively. The strong red spots the surface of H48---H25 and H20...H53 of molecule 1 (refer to Ru1) correlate with the H...H short contacts while the surfaces of C6...H10B/H10B...C6 and C25...H21/H21...C25 are the C...H/H...C interactions. For the H...H short contacts of molecule 2 (Ru2) are indicated with H20...H53, H25...H48 and H42...H52. The

reciprocal interactions of C ... H/ H ... C intermolecular contacts are shown with C30...H38C/H38C...C30, C42...H52/H52...C42. The percentage contribution of the individual types of interactions to the total Hirshfeld surface area is displayed by the 2D fingerprint plots in supplementary data Figure S5 for molecule 1 (Ru1). The crystal packing H...H contacts represent the largest percentage of the Hirshfeld surface with 64.4% with the characteristic wings of 2D fingerprint plots indicating the C-H... π interactions in crystal packing, referring to the C ... H/ H ... C interactions with 21.7%. The 12.5% contribution from the H...Cl/Cl...H contacts is the result of the C-H...Cl interactions. The fingerprint plot of molecule 2 (Ru2) depicted in supplementary data Figure S6 is quite similar to that of molecule 1. The 2D fingerprint plot suggests that the intermolecular H...H contacts have the highest contribution (64.5%), while the relative contributions of the C...H/H...C and H...Cl/Cl...H contacts are 21.4% and 12.6%, respectively.

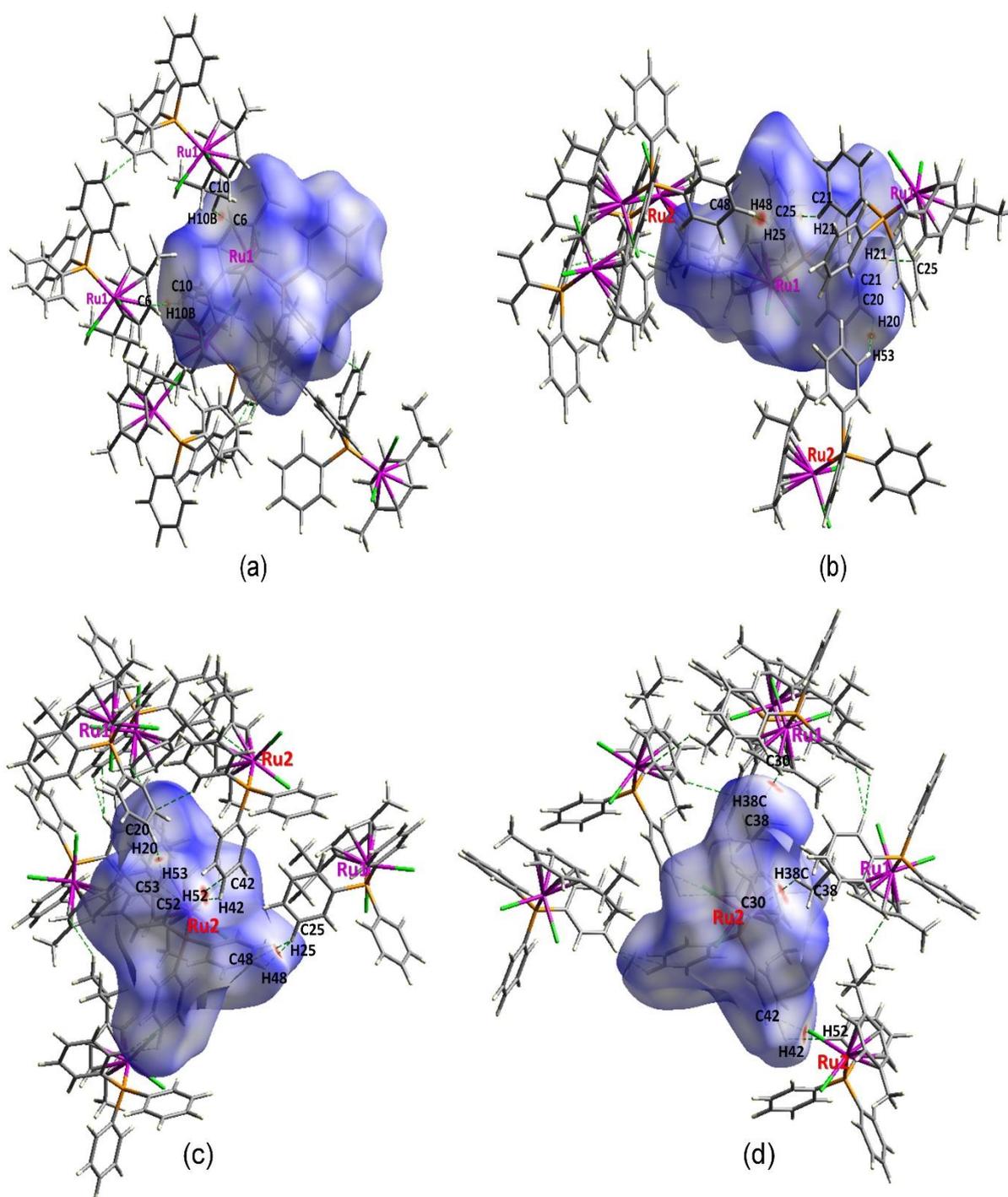


Figure 4 The intermolecular contacts of molecule 1 surfaces (a and b) and molecule 2 surfaces (c and d) with its neighbors for the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex.

Absorption

The data from the photophysical study and vertical electronic transitions calculated were presented in Table 2 and supplementary data Figure S7. The absorption spectrum of the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex shows three maximum absorption

bands at wavelengths (with molar extinction coefficient) of 228 nm ($8.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), 373 nm ($4.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) and 496 nm ($1.2 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), respectively. To interpret the electronic transitions yielding the absorption bands, the polarizable continuum model (PCM) of dichloromethane was used to

simulate the electronic absorption spectrum using time-dependent on density functional theory (TDDFT). The PCM-TD-PBE0/6-31+G*+LANL2DZ basis sets were used for the calculation. The electronic transitions of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex is shown as vertical lines in Figure 5 aligning to the experimental absorption spectrum. The main transitions regarding those three absorption bands arise from charge transfer transition. The band at 496 nm is belong to ligand-to-

ligand charge transfer transition (LLCT) from PPh₃ to *p*-cymene moiety giving HOMO→LUMO (79%) transition ($\lambda_{\text{calc.}} = 516$ nm, Osc. Strength (*f*) = 0.0084). The HOMO→L+1 (65%) transition is shown by the band at 373 nm ($\lambda_{\text{calc.}} = 395$ nm, Osc. Strength (*f*) = 0.0213), with mixed MLCT (d-Ru(1)→ π^* -P(PPh₃) and XLCT (Cl→ π^* -P(PPh₃) halogen to ligand charge transfer as shown in Figure 6. Calculation data are collected in Table 2.

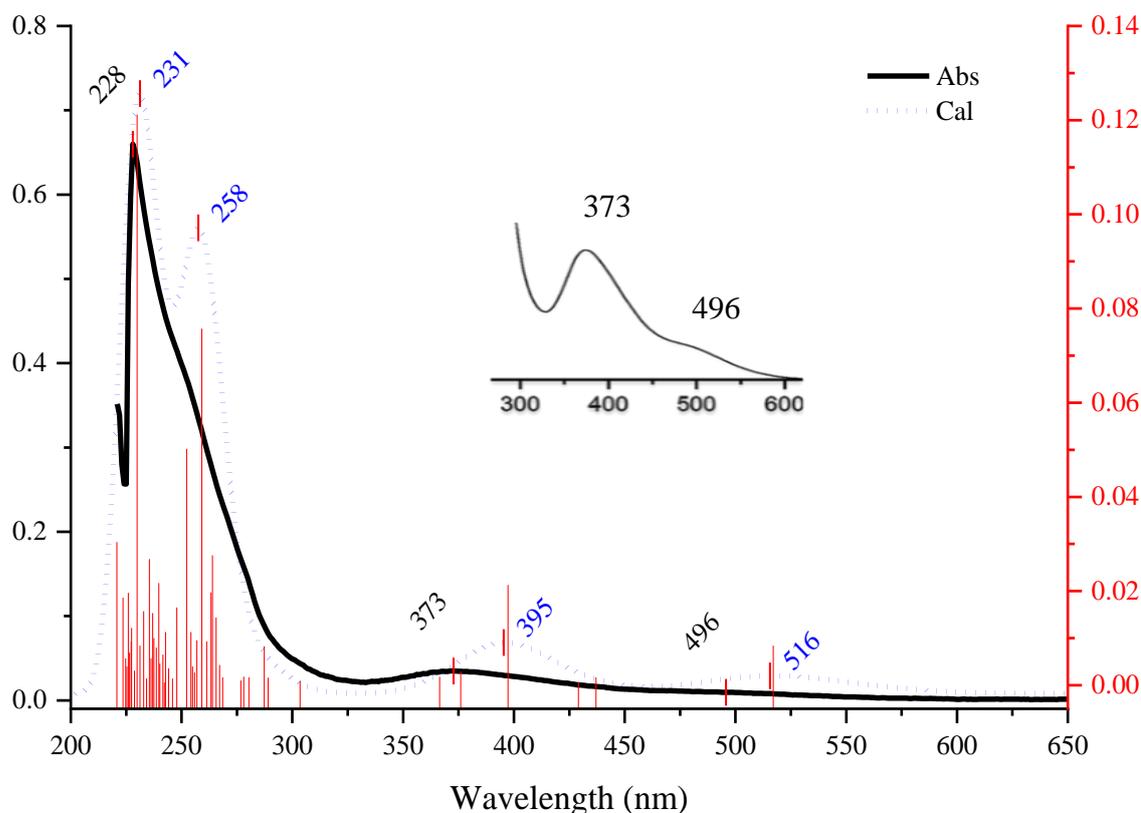
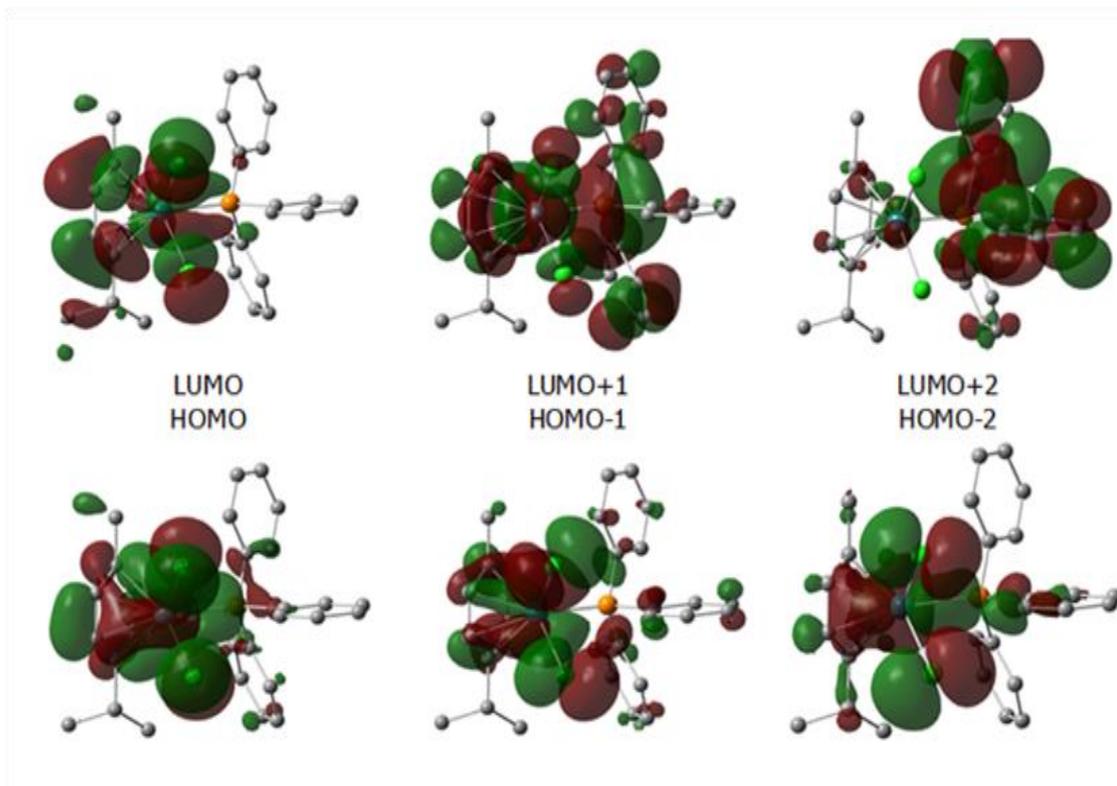


Figure 5 The UV– Visible absorption spectra overlaid with the PCM- TD- PBE0/ 6-31+G* +LANL2DZ simulated spectra (dotted line). Corresponding oscillator strengths are shown as sets of vertical lines.

Table 2 Photophysical data and vertical electronic transitions calculated for Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex.

No.	Wavelength (nm)		Osc. Strength (f)	Major contribution	Assignment
	Cal	Exp			
1	516	496 (sh)	0.0084	HOMO→LUMO (79%)	LLCT (PPh ₃ → <i>p</i> -cymene)
4	395	373	0.0213	HOMO→L+1 (65%)	MLCT, XLCT (Cl→PPh ₃)
19	258	-	0.0757	H-5→L+1 (39%)	LLCT (PPh ₃ → <i>p</i> -cymene) LMCT (PPh ₃ →Ru)
41	231	228	0.1212	H-4→L+2 (18%) H-3→L+2 (42%)	XLCT (Cl→PPh ₃)

sh = shoulder

**Figure 6** Contour plots of HOMO and LUMO molecular orbitals of the Ru (*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex.

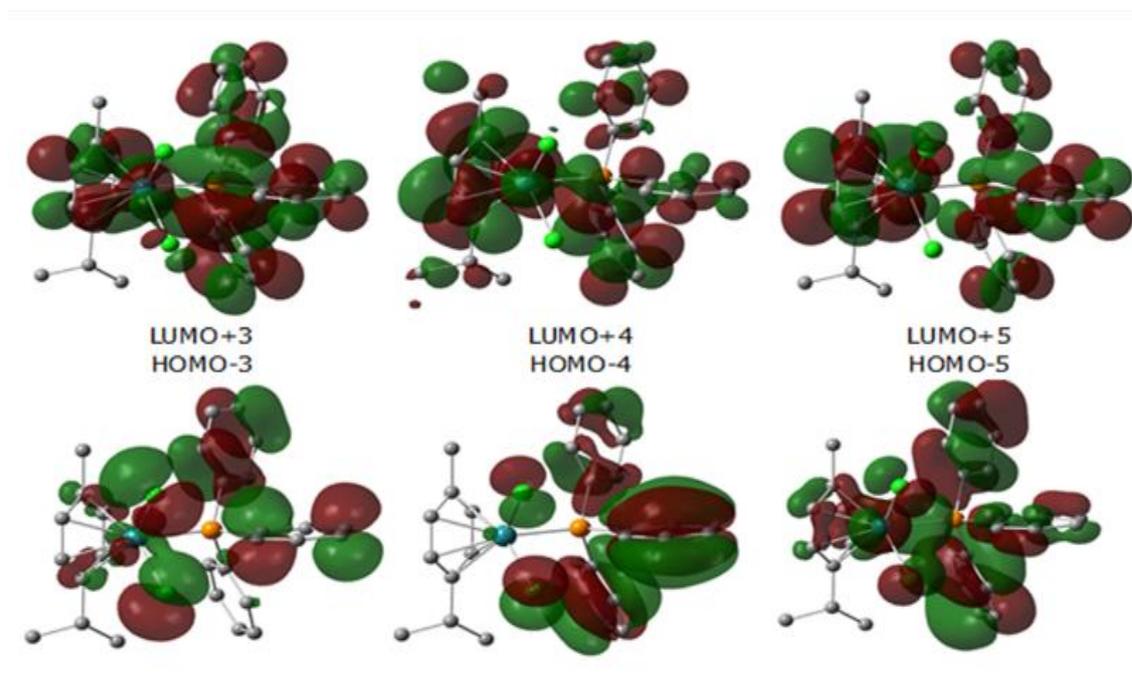


Figure 6 (continued)

Anticancer activity

Figure 7 shows the plot of cell viability percentage against the tested concentration of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex in the range 0.01 to 100 μM respectively, for MCF-7, HCC1937, and MDA-MB-231 cell lines. The Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex showed the best activity for the *in vitro* cytotoxicity selectively against the MCF-7 cell line, presenting an IC₅₀ value of 15.99 μM, which showed better sensitivity than that of cisplatin and Phosphine (PPh₃) free ligand,

as summarized in Table 3. For the other examined breast cancer cells, the IC₅₀ values were all less sensitive than cisplatin, with concentration higher than 100 μM against those two cell lines. The result for MCF-7 corresponds to the report from Honorato *et al.* (2020). The presence of PPh₃ which is a lipophilic group, can increase the cellular uptake of the complex, influencing the cytotoxicity toward the cancer cell. Nevertheless, in order to explain selectivity to MCF-7, further, for the possible mechanism of cancer cell inhibition.

Table 3 IC₅₀ mean values (μM) against HCC1937, MCF-7 and MDA-MB-231 cells after 48 hrs of treatment.

Metal complex	IC ₅₀ (μM)		
	MCF-7	HCC1937	MDA-MB-231
Cisplatin	42.2 ± 8 ^{*,**}	23.4 ± 7 ^{*,**}	128.2 ± 7 ^{*,**}
RuPPh ₃	15.99 ± 5 ^{*,**}	>100 ^{*,**}	>100 ^{*,**}
PPh ₃	>100 ^{*,**}	54.3 ± 0.2 ^{*,**}	>100 ^{*,**}

The following symbols represent statistically significant differences: * p < 0.01, compared to the IC₅₀ values of the same complex on cell lines; and **p > 0.001, compared to the IC₅₀ values of the complexes on each cell line.

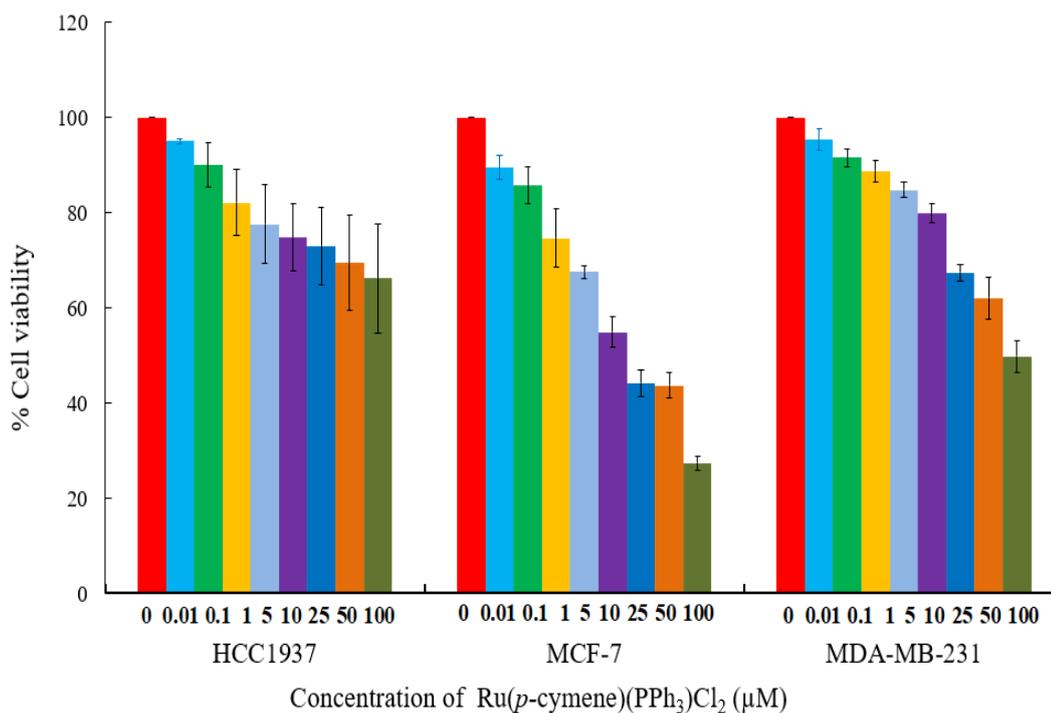


Figure 7 The chart shows the cytotoxic effect of Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ at concentrations of 0, 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 25, 50, and 100 μM on the cell viability of HCC1937, MCF-7 and MDA-MB-231 cells after 48 hrs.

CONCLUSION

Single crystal x-ray diffraction, elemental analysis, and spectroscopy methods were used to analyze the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex. The geometry of this complex adopts a distorted pseudo-tetrahedral. H-bonding is evident in both intramolecular and intermolecular interactions within the crystal structure. Density functional theory identified that the absorption band at 393 nm, with a shoulder of 496 nm, arises from the mixing character of charge transfer transitions. As a result of this investigation, the Ru(*p*-cymene)(PPh₃)Cl₂ complex was assessed for its cytotoxicity selectively against human breast cancer cell line MCF-7 a lower IC₅₀ value than that of cisplatin.

ACKNOWLEDGMENT

NL would like to extend our sincere gratitude to the Royal Scholarship under Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn Education Project and the Graduate School, Prince of Songkla University, for providing Mr. Vannara Soem with the

opportunity and financial support to pursue his master's degree at the Division of Physical Science, Faculty of Science, Prince of Songkla University. We also thank the Ministry of Education and the Faculty of Science at PSU for their financial support, as well as the financial funding from the Center for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), the Commission on Higher Education.

REFERENCES

- Allardyce, C. S. and Dyson, P. J. 2001. Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects. **Platinum Metals Reviews** 45: 62.
- Bergamo, A. and Sava, G. 2011. Ruthenium anticancer compounds: Myths and realities of the emerging metal-based drugs. **Dalton Transactions** 40(31): 7817-7823.
- Biancalana, L., Zacchini, S., Ferri, N., Lupo, M.G., Pampaloni, G. and Marchetti, F. 2017. Tuning the cytotoxicity of ruthenium(II) para-cymene complexes by mono-substitution at a triphenylphosphine

- /phenoxydiphenylphosphine ligand. **Dalton Transactions** 46(47) : 16589-16604.
- Brissos, R. F. , Clavero, P. , Gallen, A. , Grabulosa, A., Barrios, L.A., Caballero, A. B. , Korrodi- Gregório, L. , Pérez-Tomás, R., Muller, G., Soto-Cerrato, V. and Gamez, P. 2018. Highly Cytotoxic Ruthenium(II)-Arene Complexes from Bulky 1- Pyrenylphosphane Ligands. **Inorganic Chemistry** 57(23): 14786-14797.
- Chuklin, P., Chalempnanaphan, V., Nhukeyaw, T., Saithong, S., Chainok, K., Phongpaichit, S., Ratanaphan, A. and Leesakul, N. 2017. Synthesis, X-ray structure of organometallic ruthenium(II) *p*-cymene complexes based on P- and N- donor ligands and their *in vitro* antibacterial and anticancer studies. **Journal of Organometallic Chemistry** 846: 242-250.
- Dkhar, L., Banothu, V., Kaminsky, W. and Kollipara, M.R. 2020. Synthesis of half sandwich platinum group metal complexes containing pyridyl benzothiazole hydrazones: Study of bonding modes and antimicrobial activity. **Journal of Organometallic Chemistry** 914: 121225.
- Elsegood, M.R.J., Smith, M.B. and Sanchez-Ballester, N.M. 2006. Dichloro(η^6 -*p*-cymene)(triphenylphosphine) -ruthenium (II). **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online** 62(11): 2838-2840.
- Farrugia, L.J. 2012. WinGX and ORTEP for Windows: An update. **Journal of Applied Crystallography** 45(4): 849-854.
- Govindaswamy, P., Mozharivskyj, Y.A. and Kollipara, M.R. 2004. New neutral and cationic η^6 - arene ruthenium complexes with phosphine and amine ligands: Syntheses and molecular structures of [(η^6 - *p*- cymene) Ru (NH₂CH₂C₆ H₅) Cl₂] , [(η^6 - C₆Me₆) Ru(PPh₂Py) Cl₂] and [(η^6 - C₆Me₆) Ru(PPh₂Py)Cl]⁺. **Polyhedron** 23(18): 3115-3123.
- Herry, B., Batchelor, L.K., Roufousse, B., Romano, D. , Baumgartner, J. , Borzova, M. , Reifensahl, T., Collins, T., Benamrane, A., Weggelaar, J., Correia, M.C., Dyson, P.J. and Blom, B. 2019. Heterobimetallic Ru(μ - dppm) Fe and homobimetallic Ru(μ -dppm)Ru complexes as potential anti- cancer agents. **Journal of Organometallic Chemistry** 901: 120934.
- Honorato, J. , Oliveira, K. M. , Leite, C. M. , Colina- Vegas, L. , Nóbrega, J. A. , Castellano, E.E., Ellena, J., Correa, R.S. and Batista, A. A. 2020. “ Half-Sandwich”/Ru^{II} Anticancer Complexes Containing Triphenylphosphine and *p*-Substituted Benzoic Acids. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 31: 2237-2249.
- Klaimanee, E. , Nhukeyaw, T. , Saithong, S. , Ratanaphan, A. , Phongpaichit, S. , Tantirungrotechai, Y. and Leesakul, N. 2021. Half-sandwich ruthenium(II) *p*- cymene complexes based on organophosphorus ligands: Structure determination, computational investigation, *in vitro* antiproliferative effect in breast cancer cells and antimicrobial activity. **Polyhedron** 204: 115244.
- Lapasam, A., Dkhar, L., Joshi, N., Poluri, K.M. and Kollipara, M.R. 2019. Antimicrobial selectivity of ruthenium, rhodium, and iridium half sandwich complexes containing phenyl hydrazone Schiff base ligands towards *B. thuringiensis* and *P. aeruginosa* bacteria. **Inorganica Chimica Acta** 484: 255-263.
- Li, J. , Tian, M. , Tian, Z. , Zhang, S. , Yan, C. , Shao, C. and Liu, Z. 2018. Half-sandwich iridium(III) and ruthenium(II) complexes containing P[^]P-chelating ligands: A new class of potent anticancer agents with unusual redox features. **Inorganic Chemistry** 57(4): 1705-1716.
- Ludwig, G. , Kaluđerović, G.N. , Bette, M. , Block, M. , Paschke, R. and Steinborn, D. 2012. Highly active neutral ruthenium(II) arene complexes: Synthesis, characterization, and investigation of their anticancer

- properties. **Journal of Inorganic Biochemistry** 113: 77-82.
- Mawnai, I.L., Adhikari, S., Dkhar, L., Tyagi, J.L., Poluri, K.M. and Kollipara, M.R. 2019. Synthesis and antimicrobial studies of half- sandwich arene platinum group complexes containing pyridylpyrazolyl ligands. **Journal of Coordination Chemistry** 72(2): 294-308.
- MacRae, C.F., Sovago, I., Cottrell, S.J., Galek, P.T.A., McCabe, P., Pidcock, E., Platings, M., Shields, G.P., Stevens, J.S., Towler, M. and Wood, P.A. 2020. Mercury 4.0: From visualization to analysis, design and prediction. **Journal of Applied Crystallography** 53: 226-235.
- Mennucci, B., Cancès, E. and Tomasi, J. 1997. Evaluation of solvent effects in isotropic and anisotropic dielectrics and in ionic solutions with a unified integral equation method: Theoretical bases, computational implementation, and numerical applications. **Journal of Physical Chemistry B** 101(49): 10506-10517.
- Murray, B.S., Babak, M.V., Hartinger, C.G. and Dyson, P.J. 2016. The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors. **Coordination Chemistry Reviews** 306: 86-114.
- Neethu, K.S., Eswaran, J., Theetharappan, M., Nattamai S.P.B., Neelakantan, M.A. and Velusamy, K. M. 2019. Organoruthenium(II) complexes featuring pyrazole-linked Schiff base ligands: Crystal structure, DNA/BSA interactions, cytotoxicity and molecular docking. **Applied Organometallic Chemistry** 33(3): 1-16.
- Orhan, E., Dülger, G., Alpay, M., Öksüz, N. and Dülger, B. 2022. Synthesis, antimicrobial and antiproliferative activities of new self- assembly benzimidazole-bridged aren ruthenium rectangles in human breast cancer cells. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry** 102(1-2): 45-54.
- Pettinari, R., Pettinari, C., Marchetti, F., Skelton, B.W., White, A.H., Bonfili, L. and Eleuteri, A.M. 2014. Arene-ruthenium(II) acylpyrazolonato complexes: apoptosis-promoting effects on human cancer cells. **Journal of medicinal chemistry** 57(11): 4532-4542.
- Rohini, G., Haribabu, J., Aneesrahman, K.N., Bhuvanesh, N. S. P., Ramaiah, K., Karvembu, R. and Sreekanth, A. 2018. Half-sandwich Ru(II) (η^6 -*p*-cymene) complexes bearing N-dibenzosuberenyl appended thiourea for catalytic transfer hydrogenation and *in vitro* anticancer activity. **Polyhedron** 152: 147-154.
- Rojas, S., Carmona, F. J., Barea, E. and Maldonado, C.R. 2017. Inorganic mesoporous silicas as vehicles of two novel anthracene- based ruthenium metalloarenes. **Journal of Inorganic Biochemistry** 166: 87-93.
- Roy, L.E., Hay, P.J. and Martin, R.L. 2008. Revised basis sets for the LANL effective core potentials. **Journal of Chemical Theory and Computation** 4(7): 1029-1031.
- Sáez, R., Lorenzo, J., Prieto, M.J., Font-Bardia, M., Calvet, T., Omeñaca, N., Vilaseca, M. and Moreno, V. 2014. Influence of PPh₃ moiety in the anticancer activity of new organometallic ruthenium complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry** 136: 1-12.
- Sheldrick, G.M. 2015. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry** 71: 3-8.
- Spackman, P. R., Turner, M. J., McKinnon, J. J., Wolff, S. K., Grimwood, D. J., Jayatilaka, D., and Spackman, M.A. 2021. CrystalExplorer: A program for Hirshfeld surface analysis, visualization, and quantitative analysis of molecular crystals. **Journal of Applied Crystallography** 54(3) : 1006-1011.
- Subarkhan, M.K.M. and Ramesh, R. 2016. Ruthenium(II) arene complexes containing benzhydrazone ligands: Synthesis, structure and antiproliferative activity.

Inorganic Chemistry Frontiers
3(10): 1245-1255.

- Tabares, J.P.G., Santos, R.L.S.R., Cassiano, J.L., Zaim, M.H., Honorato, J., Batista, A.A., Teixeira, S.F., Ferreira, A.K., Viana, R.B., Martínez, S.Q., Stábile, A.C. and de Oliveira Silva, D. 2019. A Ru(II) - *p*- cymene compound bearing naproxen-pyridineamide. Synthesis, spectroscopic studies, computational analysis and *in vitro* anticancer activity against lung cells compared to Ru(II) - *p*- cymene-naproxen and the corresponding drug ligands. **Inorganica Chimica Acta** 489: 27-38.
- Yellol, J., Pérez, S.A., Buceta, A., Yellol, G., Donaire, A., Szumlas, P., Bednarski, P.J., Makhoulfi, G., Janiak, C., Espinosa, A. and Ruiz, J. 2015. Novel C,N-Cyclometalated Benzimidazole Ruthenium(II) and Iridium(III) Complexes as Antitumor and Antiangiogenic Agents: A Structure-Activity Relationship Study. **Journal of Medicinal Chemistry** 58(18): 7310-7327.
- Zeng, L., Gupta, P., Chen, Y., Wang, E., Ji, L., Chao, H. and Chen, Z.S. 2017. The development of anticancer ruthenium(II) complexes: From single molecule compounds to nanomaterials. **Chemical Society Reviews** 46(19): 5771-5804.

การศึกษาแบบจำลองการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนในเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ร่วมกับอุปกรณ์ไหลเวียนอากาศเสียเพื่อเพิ่มพลังงานจากการแผ่รังสี

Numerical Study of Hydrogen Combustion on Micro Combustor with Exhaust Gas Recirculation Jacket for Enhancement of Emissive Power

อมรรัตน์ แก้วประดับ* และ สำเรง จักรใจ

Amornrat Kaewpradap* and Sumrerng Jugjai

Received: 6 October 2023, Revised: 18 December 2023, Accepted: 2 January 2024

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มุ่งเน้นการศึกษาแบบจำลองการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนสำหรับเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก (Micro combustor) เพื่อเพิ่มการแปลงผันพลังงานจากจากไฮโดรเจนเป็นพลังงานไฟฟ้า โดยวิเคราะห์ที่อุณหภูมิผิวเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กและพลังงานจากการแผ่รังสี (Emissive power) เพื่อส่งผ่านไปยังอุปกรณ์กำเนิดไฟฟ้า งานวิจัยนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบ ได้แก่ รูปทรงสี่เหลี่ยม ทรงกระบอก และรูปทรงหกเหลี่ยม อุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้ (Exhaust Gas Recirculation, EGR) ที่อัตราการไหลของก๊าซไฮโดรเจน 1.8551×10^{-5} kg/s และที่อัตราส่วนสมมูลเท่ากับ 1.0 จากผลการศึกษาพบว่า รูปทรงหกเหลี่ยมและรูปทรงกระบอกส่งผลต่ออุณหภูมิผิวเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กสูงกว่ารูปทรงสี่เหลี่ยม (แบบจำลองอ้างอิง) $18.8-19.7$ °C และพลังงานจากการแผ่รังสีเพิ่มขึ้นจากแบบจำลองอ้างอิงรูปทรงสี่เหลี่ยม 12.2-12.4% นอกจากนี้ การเพิ่มอุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้รูปแบบทรงกระบอก (Cylindrical EGR, CEGR) และรูปแบบทรงหกเหลี่ยม (Hexagonal EGR, HEGR) ส่งผลให้มีพลังงานจากการแผ่รังสีจากเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กสูงขึ้น 2.0 วัตต์ และ 1.6 วัตต์ ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก รูปทรงกระบอกร่วมกับอุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้รูปแบบทรงกระบอกและวัสดุพอร์น สามารถผลิตพลังงานได้สูงสุดจากการแผ่รังสี 12.26 วัตต์ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากแบบจำลองอ้างอิง 33.7%

คำสำคัญ: เครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก, อุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้ทรงกระบอก, อุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้ทรงหกเหลี่ยม, อุณหภูมิผิว, พลังงานจากการแผ่รังสี

ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เขตทุ่งครุ กรุงเทพมหานคร 10140

Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's University of Technology Thonburi, ThungKhru, Bangkok 10140, Thailand.

* ผู้เขียนที่ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): amornrat.kae@kmutt.ac.th

ABSTRACT

This research is to study the numerical model of hydrogen combustion in a micro combustor to enhance the energy converted to electricity by analyzing wall temperature and emissive power. This research focuses on the affected parameters of micro combustor geometry (rectangle, cylinder, hexagon), exhaust gas recirculation (EGR) at a hydrogen mass flow rate of 1.8551×10^{-5} kg/s, and an equivalence ratio of 1.0. As the result, wall temperatures ranging from 18.8 to 19.7 °C and emissive power between 12.2 and 12.4% were observed from cylindrical and hexagonal micro combustor, which were higher than those of rectangular micro combustor. Moreover, the installation of hexagonal EGR and cylindrical EGR with micro combustor could enhance emissive power by 1.6 and 2.0 watt, respectively. This study indicates that the design of a cylindrical micro combustor with cylindrical EGR, covered with porous media, could achieve the highest emissive power of 12.26 watts, which is 33.7% higher than that of the referenced model.

Key words: micro combustor, cylindrical EGR, hexagonal EGR, wall temperature, emissive power

บทนำ

ปัจจุบันมีแนวโน้มการใช้พลังงานไฟฟ้าเพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นพลังงานปลายทางที่มีการใช้งานสะดวก ส่งผลให้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการแปลงผันพลังงานจากเชื้อเพลิงฟอสซิล พลังงานหมุนเวียน และพลังงานรูปแบบอื่นเป็นพลังงานไฟฟ้า การแปลงผันพลังงานเคมีจากกระบวนการเผาไหม้เพื่อผลิตพลังงานไฟฟ้าเป็นกระบวนการที่มีการใช้งานอย่างแพร่หลาย เช่น เครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก (Micro combustor) เป็นเทคโนโลยีการแปลงผันพลังงานจากการเผาไหม้ที่มีศักยภาพเนื่องจากมีขนาดเล็ก สะดวกต่อการใช้งาน มีความหนาแน่นพลังงานมากกว่าแบตเตอรี่ จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง (Jejurkar and Mishra, 2009) เครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กเป็นแหล่งพลังงานสำหรับชุดผลิตพลังงานไฟฟ้า (Power generator) จากการเผาไหม้เชื้อเพลิงโดยแปลงผันพลังงานผ่านอุปกรณ์รับคลื่นจากการแผ่รังสีแปลงผันเป็นพลังงานไฟฟ้า (Thermophotovoltaic, TPV) (Lei *et al.*, 2016) เครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กเป็น

แหล่งกำเนิดพลังงานไฟฟ้าขนาดเล็ก ซึ่งมีการใช้งานโดรนเพื่อการสำรวจ อุปกรณ์การสื่อสารทางการทหาร หุ่นยนต์ และดาวเทียมงานวิจัยในอดีตงานวิจัยที่มีการเพิ่มการแผ่รังสีด้วยวัสดุที่มีค่าการนำความร้อนสูง (Wan *et al.*, 2015) นอกจากนี้ยังมีการปรับปรุงการเผาไหม้ด้วยการออกแบบช่องเตรียมเผาไหม้ (Su *et al.*, 2015) และวัสดุพอร์นในเครื่องเผาไหม้เพื่อเพิ่มช่วงการเผาไหม้ (Yang *et al.*, 2011) สำหรับการออกแบบห้องเผาไหม้สำหรับเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ยังมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องโดยออกแบบให้มีช่องเผาไหม้หลายช่อง (Su *et al.*, 2016) การใช้เทคนิคช่องเผาไหม้แบบขั้นเพื่อลดความเร็วเชื้อเพลิง (Aravind *et al.*, 2018) และลักษณะคล้ายกับเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนเพื่อส่งเสริมการเผาไหม้ให้สมบูรณ์ (Wan and Fan, 2015)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาข้างต้น เนื่องจากขนาดของเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ข้อจำกัดของเครื่องมือวิจัย และการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจน ที่มีความเร็วของการเผาไหม้สูง อาจก่อให้เกิดอันตรายจากการทดลองจริงได้ ดังนั้น งานวิจัยส่วนใหญ่จึงมีการศึกษาและพัฒนา

จากแบบจำลองการเผาไหม้ด้วยวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณแบบสามมิติเพื่อศึกษานวัตกรรมตัวเร่งปฏิกิริยาสำหรับการเผาไหม้ในห้องเผาไหม้ขนาดเล็ก (Di Sarli *et al.*, 2020) และการศึกษาแบบจำลองการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนและอากาศในห้องเผาไหม้ขนาดเล็กด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อศึกษาและออกแบบห้องเผาไหม้ขนาดเล็กในเครื่องยนต์กังหันก๊าซขนาดเล็ก (Hua *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาแบบจำลองการเผาไหม้ด้วยเชื้อเพลิงไฮโดรเจนในเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ซึ่งมีความเร็วในการเผาไหม้สูง น้ำหนักเบา และให้ค่าความร้อนสูง ช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการเผาไหม้ มลพิษน้อย (Pan *et al.*, 2015) และการศึกษาแบบจำลองนี้ได้นำไปสู่การศึกษากการทดลองจากเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาและพัฒนาเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก โดยศึกษาจากแบบจำลองเครื่องเผาไหม้รูปทรงสี่เหลี่ยมจำนวนสองชั้นสี่ช่องเผาไหม้ ด้วยเชื้อเพลิงไฮโดรเจน (Zuo *et al.*, 2017) ด้วยการออกแบบรูปทรงเครื่องเผาไหม้และอุปกรณ์การนำไอเสียจากการเผาไหม้กลับมาใช้ใหม่ด้วยวิธีพลศาสตร์ของไหลเชิงคำนวณ เพื่อศึกษาอิทธิพลของรูปทรงและการนำไอเสียกลับมาใช้ใหม่ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเผาไหม้ เพิ่มอุณหภูมิผิวและพลังงานจากการแผ่รังสี และเพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการแปลงพลังงานสำหรับชุดผลิตพลังงานไฟฟ้าด้วยเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้แนวทางในการวิจัยโดยศึกษาและพัฒนาเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญสำหรับชุดพลังงานไฟฟ้า ดังภาพที่ 1 โดยเริ่มจากการเผาไหม้ในห้องเผาไหม้ขนาดเล็กและมีการแผ่รังสีผ่านผนังไปยังอุปกรณ์แปลงพลังงานความร้อนเป็นพลังงานไฟฟ้า (Thermophotovoltaic, TPV)

เพื่อแปลงผันพลังงานความร้อนจากการแผ่รังสีไปเป็นพลังงานไฟฟ้า การศึกษานี้จากพื้นฐานการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนจากแบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กจากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Zuo *et al.* (2017) ที่อัตราส่วนสมมูลจากเชื้อเพลิงและอากาศตามทฤษฎี และศึกษารูปทรงเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ได้แก่ ทรงกระบอกและทรงหกเหลี่ยม โดยแสดงแผนภาพทางเข้าของเชื้อเพลิง ดังภาพที่ 2 นอกจากนี้ยังมีออกแบบอุปกรณ์เพื่อนำไอเสียกลับมาใช้ใหม่ เพื่อศึกษาอิทธิพลต่ออุณหภูมิผิวเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก พลังงานจากการแผ่รังสี และประสิทธิภาพการแปลงผันพลังงาน โดยมีรายละเอียดระเบียบวิธีวิจัยดังนี้

1. ชุดผลิตพลังงานไฟฟ้าด้วยเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก

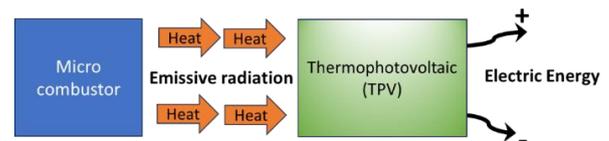


Figure 1 Micro combustor power generation set.

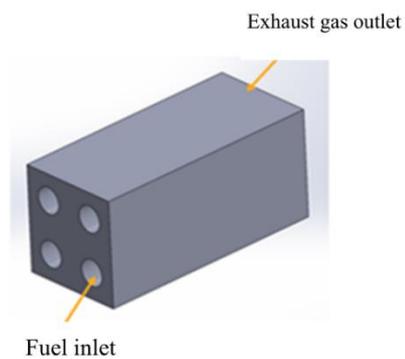
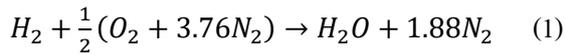


Figure 2 Diagram of fuel inlet and exhaust gas outlet from micro combustor

2. สมการการเผาไหม้เชื้อเพลิงไฮโดรเจน

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาแบบจำลองการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนในเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ซึ่งอ้างอิงตามทฤษฎีการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนและอากาศ เป็นไปตามสมการที่ (1)



3. พลังงานจากการแผ่รังสี (Emissive power)

พลังงานจากการแผ่รังสี เป็นพลังงานที่ได้จากการถ่ายเทความร้อนจากผนังเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ด้วยคุณสมบัติของคลื่นความร้อนไปยังอุปกรณ์แปลงผันพลังงานความร้อนเป็นพลังงานไฟฟ้า โดยพลังงานจากการแผ่รังสีเป็นไปตามสมการที่ 2 โดยมีตัวแปรที่สำคัญได้แก่ อุณหภูมิ ฟังก์ชันของการแผ่รังสี และค่าสัมประสิทธิ์การแผ่รังสีความร้อน

$$E_{0-\lambda} = \varepsilon \times f_\lambda \times \sigma \times T^4 \quad (2)$$

$E_{0-\lambda}$ คือ พลังงานในการแผ่รังสีความร้อนตามความยาวคลื่นรังสี (W)

ε คือ สัมประสิทธิ์การแผ่รังสีความร้อน

f_λ คือ ฟังก์ชันของการแผ่รังสี

σ คือ ค่าคงที่ของ Stefan-Boltzmann 5.67×10^{-8} (W/m² · K⁴)

T คือ อุณหภูมิผิวของ micro combustor (K)

4.ประสิทธิภาพการแปลงผันพลังงาน (Conversion efficiency) ประสิทธิภาพการแปลงผันพลังงาน คือ อัตราส่วนการแปลงผันพลังงานไฟฟ้าต่อพลังงานจากเชื้อเพลิงที่ป้อนเข้าไปทั้งหมดดังสมการที่ 3

$$\eta_{system} = \frac{E_{electric}}{\dot{m}_{fuel} \times LHV_{fuel}} \quad (3)$$

\dot{m}_{fuel} คือ อัตราการไหลของเชื้อเพลิง (kg/s)

LHV_{fuel} คือ ค่าความร้อนของเชื้อเพลิง (kJ/kg)

5. แบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก

แบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ศึกษาโดยใช้โปรแกรม ANSYS fluent เป็นโปรแกรมที่นำมาใช้วิเคราะห์ปัญหาทางด้านวิศวกรรม โดยโปรแกรมมีความแม่นยำในการประมวลผล และมีเทคโนโลยีการวิเคราะห์ที่ทรงประสิทธิภาพ โดยโปรแกรมจะให้การแก้ และทำนายการไหลบริเวณวัตถุที่สนใจ ซึ่งโปรแกรมจะทำการทำนายจากสมการพื้นฐาน และสมมติฐานแบบจำลองที่เกี่ยวข้องซึ่งประกอบไปด้วยแบบจำลองการไหลแบบปั่นป่วน (turbulence model) แบบจำลองการแผ่รังสี (radiation model) และแบบจำลองการไหลแบบปั่นป่วน k-epsilon

6. แบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กต้นแบบ

แบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กต้นแบบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นแบบจำลองจากงานวิจัยของ Zuo *et al.* (2017) โดยเป็นแบบจำลองเครื่องเผาไหม้สองชั้นที่ช่องจ่ายด้วยเชื้อเพลิงไฮโดรเจน

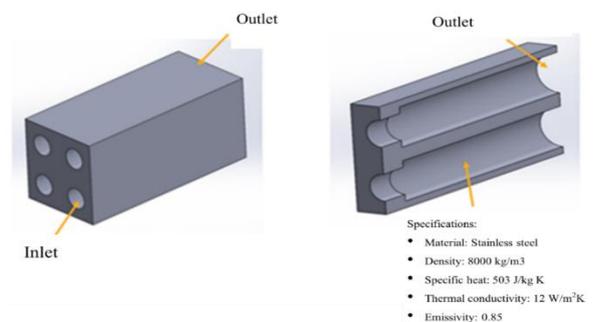


Figure 3 Micro combustor model (Zuo *et al.*, 2017)

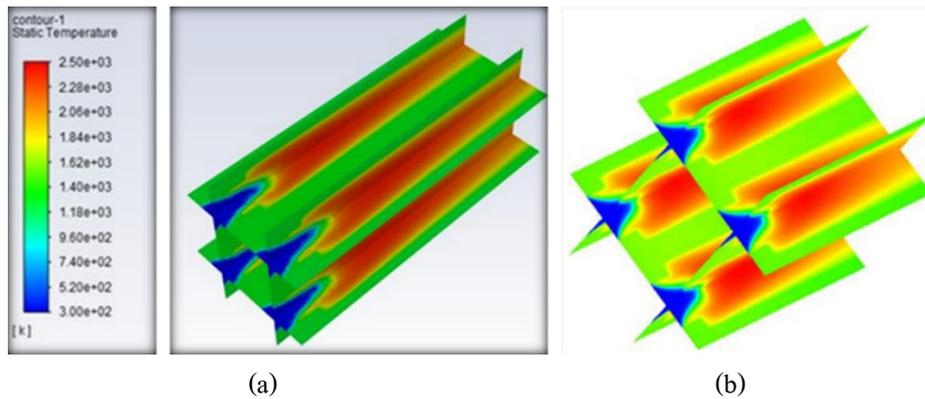


Figure 4 Comparison between temperature distribution of
a) Present study and b) Referenced model (Zuo *et al.*, 2017)

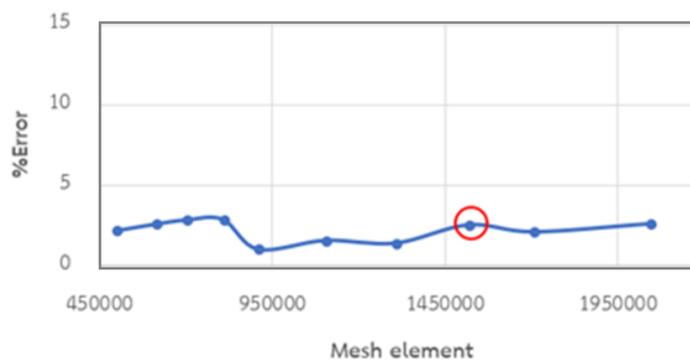


Figure 5 Mesh independent method for validated model

7. แบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก

การศึกษาแบบจำลองต้นแบบเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กที่ใช้ในการพัฒนามาจากแบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก ชนิดสองชั้นสี่ช่องการเผาไหม้ (Zuo *et al.*, 2017) ดังภาพที่ 3 ที่เป็นรูปทรงสี่เหลี่ยม โดยคำนวณผ่านโปรแกรม ANSYS fluent 2020 R1 เทียบผลกับงานวิจัยของ Zuo *et al.* (2017) ที่อัตราการไหลของก๊าซไฮโดรเจน 1.8551×10^{-5} kg/s และที่อัตราส่วนสมมูลเท่ากับ 1.0 ซึ่งผลที่ได้จากการคำนวณผ่านโปรแกรมสามารถเก็บผลของอุณหภูมิเฉลี่ยที่ผิวนอกได้เท่ากับ 1314.87 K มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยที่อ้างอิงของ Zuo *et al.* (2017) คือ 1373.98 K คิดเป็นค่าความคลาดเคลื่อน 4.0% รวมไปถึงรูปแบบการกระจายของอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกันและยอมรับแบบจำลองเพื่อนำไปพัฒนาต่อไป ดังภาพที่ 4 นอกจากนี้ยังใช้วิธี

Mesh independent เพื่อให้การศึกษาแบบจำลองมีขอบเขตในการคำนวณเหมาะสมกับเวลาในการคำนวณ โดยส่งผลกระทบต่อความคลาดเคลื่อนของอุณหภูมิผิวน้อยที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 5 ในการวิจัยนี้มุ่งเน้นการออกแบบรูปทรงเครื่องเผาไหม้และการนำไอเสียจากการเผาไหม้กลับมาใช้ใหม่โดยการสร้างอุปกรณ์ครอบเครื่องเผาขนาดเล็กปิดด้านท้ายรูปทรงกลมและทรงหกเหลี่ยม เพื่อศึกษาอิทธิพลของรูปทรงและการนำไอเสียกลับมาใช้ใหม่ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเผาไหม้ เพิ่มอุณหภูมิผิวและพลังงานจากการแผ่รังสี โดยรูปแบบเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กและอุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้ใหม่ที่นำมาศึกษาได้แก่รูปทรงหกเหลี่ยม และทรงกระบอก ดังภาพที่ 6 และภาพที่ 7 กรณีศึกษาแบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กและการนำไอเสียกลับมาใช้ใหม่แสดงในตารางที่ 1

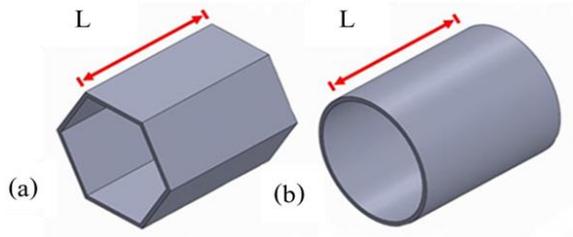


Figure 6 Micro combustor models a) Hexagonal geometry and b) Cylindrical geometry with length (L).

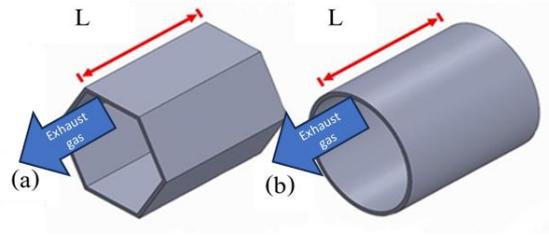


Figure 7 Air jacket models a) Hexagonal geometry and b) Cylindrical geometry with length (L)

Table 1 Micro combustor models with variation of geometry (Rectangular, Cylinder and Hexagon) and air jacket.

Case	Micro combustor/Air jacket model	Geometry
Referenced model (Zuo <i>et al.</i> , 2017)	Rectangular micro combustor (RMC)	
1	Cylindrical micro combustor (CMC)	
2	Hexagonal micro combustor + Hexagonal Air jacket	
3	Hexagonal micro combustor + Hexagonal air jacket	
4	Hexagonal micro combustor + Cylindrical air jacket	
5	Cylindrical micro combustor + Cylindrical air jacket	
6	Cylindrical micro combustor + Hexagonal air jacket	

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การศึกษาแบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก จากกรณีศึกษาทั้ง 6 กรณี แสดงผลการศึกษาอิทธิพล ของรูปทรงเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กและการนำไอเสีย

กลับมาใช้ใหม่ต่อการกระจายอุณหภูมิผิว อุณหภูมิผิว เฉลี่ย และค่าพลังงานจากการแผ่รังสี ดังนี้

1. อิทธิพลของรูปทรงเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก

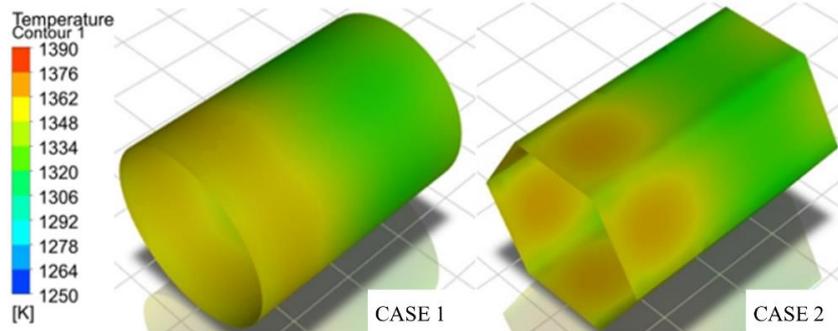


Figure 8 Temperature distribution on micro combustor model case 1 and 2.

จากผลการศึกษาเครื่องเผาไหม้ต้นแบบของ Zuo *et al.* (2017) ยังมีการกระจายตัวของอุณหภูมิที่ บริเวณของมุมสี่เหลี่ยม และพลังงานในการถ่ายเท ความร้อนค่อนข้างต่ำ หากพัฒนาสองส่วนนี้ได้คาดว่า จะส่งผลให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น จึงเพิ่มช่องการ เผาไหม้จากเดิมมีสี่ช่องเป็นหกช่องการเผาไหม้ และ เปลี่ยนรูปทรงเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กเป็นหกเหลี่ยม และทรงกระบอก จากผลการศึกษาพบว่าผลของการ คำนวณผ่าน โปรแกรมพบว่าเมื่อทำการเพิ่มช่อง

การเผาไหม้ เครื่องเผาไหม้รูปทรงกระบอกและรูปทรง หกเหลี่ยมสามารถทำให้เกิดการกระจายตัวของ อุณหภูมิที่ดียิ่งขึ้นดังภาพที่ 8 และส่งผลให้อุณหภูมิผิว เฉลี่ยและค่าพลังงานจากการแผ่รังสีสูงขึ้นตามลำดับ ดังตารางที่ 2 โดยเครื่องเผาไหม้รูปทรงกระบอก และ รูปทรงหกเหลี่ยมให้อุณหภูมิสูงสุดที่ 1337.58°C และ 1338.53°C ตามลำดับ รวมถึงพลังงานจากการแผ่รังสี สูงสุดที่ 10.29 วัตต์ และ 10.31 วัตต์ สูงกว่าต้นแบบ (Zuo *et al.*, 2017) 12.4%

Table 2 Comparison of mean outer wall temperature between variations of micro combustor geometry (rectangular, cylinder and hexagon).

Micro combustor geometry	Mean outer wall temperature (K)	Emissive power (W)
Rectangular (Zuo <i>et al.</i> , 2017)	1318.82	9.17
Cylinder	1337.58	10.29
Hexagon	1338.53	10.31

2. อิทธิพลของการนำไอเสียกลับมาใช้ใหม่

การนำไอเสียกลับมาใช้ใหม่เป็นเทคนิคที่คาดว่าจะช่วยให้เพิ่มอุณหภูมิอากาศและเชื้อเพลิงขาเข้าเครื่องเผาไหม้ให้สูงขึ้นและอุณหภูมิผิวสม่ำเสมอขึ้น จากกรณีศึกษาที่ 3-6 มีการกระจายอุณหภูมิดีขึ้นสำหรับกรณี ที่ 4 และ 5 ซึ่งใช้อุปกรณ์ครอบ

ทรงกระบอกเพื่อนำไอเสียกลับมาใช้ใหม่สำหรับเครื่องเผาไหม้ทรงกระบอกและทรงหกเหลี่ยมตามลำดับ นอกจากนี้ภาพที่ 8 แสดงอุณหภูมิผิวกรณี ที่ 5 มีอุณหภูมิผิวเฉลี่ยสูงสุดที่ 1308.69 °C และตารางที่ 3 แสดง พลังงานจากการแผ่รังสีสูงสุดที่ 12.26 วัตต์ สูงกว่าต้นแบบ (Zuo *et al.*, 2017) 33.7%

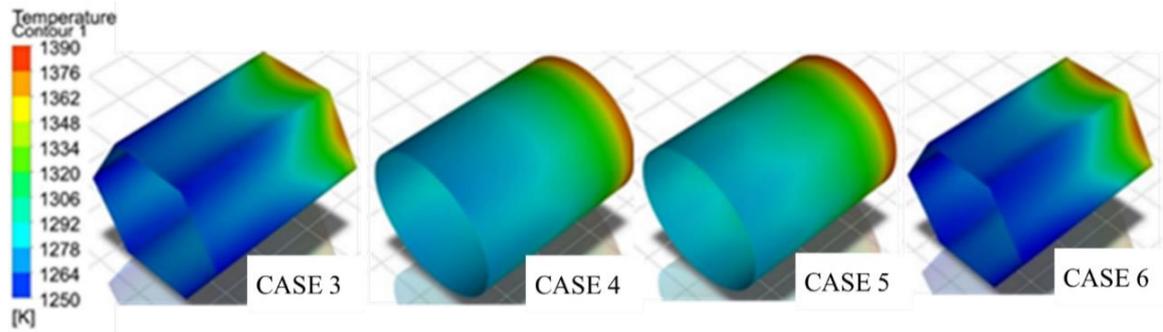


Figure 8 Temperature distribution on micro combustor model case 4, 5 and 6.

Table 3 Average flame temperature from micro combustor model case 3, 4, 5 and 6.

Case	Mean wall temperature (K)	Emissive power (W)
3	1289.49	11.57
4	1290.62	11.65
5	1308.69	12.26
6	1304.65	11.95

สรุป

การศึกษาแบบจำลองการเผาไหม้ก๊าซไฮโดรเจนสำหรับเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก (Micro combustor) เพื่อเพิ่มการแปลงผันพลังงานจากจากไฮโดรเจนเป็นพลังงานไฟฟ้า เพื่อเพิ่มอุณหภูมิผิวเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กและพลังงานจากการแผ่รังสีเพื่อส่งผ่านไปยังอุปกรณ์กำเนิดไฟฟ้า การศึกษาแบบจำลองต้นแบบเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กที่ใช้ในการพัฒนามาจากแบบจำลองเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กชนิดสองชั้นสี่ช่องการเผาไหม้ (Zuo *et al.*, 2017) โดยคำนวณผ่านโปรแกรม ANSYS fluent 2020 R1

เทียบผลกับงานวิจัยของ Zuo *et al.* (2017) มีความคลาดเคลื่อน 4.0% ซึ่งสามารถยอมรับแบบจำลองเพื่อนำไปพัฒนาต่อได้ จากแบบจำลองดังกล่าว งานวิจัยนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบ ได้แก่ รูปทรงของเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็ก และอุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้ (Exhaust Gas Recirculation, EGR) จากผลการศึกษาพบว่ารูปทรงหกเหลี่ยมและรูปทรงกระบอกส่งผลต่ออุณหภูมิผิวเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กสูงกว่ารูปทรงสี่เหลี่ยมและพลังงานจากการแผ่รังสีสูงกว่าต้นแบบ นอกจากนี้ การเพิ่มอุปกรณ์นำไอเสียกลับมาใช้รูปแบบทรงกระบอก (Cylindrical EGR) และอุปกรณ์นำไอเสีย

กลับมาใช้รูปแบบทรงหกเหลี่ยม (Hexagonal EGR) ส่งผลให้มีอุณหภูมิผิวเครื่องเผาไหม้ขนาดเล็กสูงขึ้น และพลังงานจากการแผ่รังสีเพิ่มขึ้น จากผลการศึกษากฎที่ 5 การออกแบบเครื่องเผาไหม้

ก๊าซไฮโดรเจนขนาดเล็กรูปทรงกระบอก ร่วมกับอุปกรณ์เพื่อนำไอเสียกลับมาใช้รูปทรงกระบอก สามารถเพิ่มอุณหภูมิผิวและพลังงานจากการแผ่รังสีได้สูงที่สุดและสูงขึ้น 33.7% จากแบบจำลองต้นแบบ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณนายวันชาติ มโนหรรทัด นายวรวิทย์ ปิ่นมังกร และนายปิยณัฐ บุญโอพาร สำหรับการรวบรวมข้อมูล รวมถึงขอขอบคุณห้องวิจัย และปฏิบัติการพลังงานและการเผาไหม้ ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี สำหรับสถานที่เพื่อการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Aravind, B., Raghuram, G.K.S, Kishore, V.R. and Kumar, S. 2018. Compact design of planar stepped micro combustor for portable thermoelectric power generation. **Energy Conversion and Management** 156: 224-234.

Jejurkar, S. and Misha, D.P. 2009. A review of recent patents on micro-combustion and applications. **Recent Patents on Engineering** 3(3): 194-209.

Hua, J.S., Wu, M. and Kurichi, K.M. 2005. Numerical simulation of the combustion of hydrogen-air mixture in micro-scaled chambers Part II: CFD analysis for a micro-combustor.

Chemical Engineering Science 60(13): 3507-3515.

Lei, Y., Wei, C. and Lei, J. 2016. Combustion and direct energy conversion inside a micro combustor. **Applied Thermal Engineering** 100: 348-355.

Pan, J.F., Wu, D., Liu, Y.X., Zhang, H.F., Tang, A.K. and Xue, H. 2015. Hydrogen/oxygen premixed combustion characteristics in micro porous media combustor. **Applied Energy** 160: 802-807.

Di Sarli, V., Trofa, M. and Di Benedetto, A. 2020. A Novel Catalytic Micro-Combustor Inspired by the Nasal Geometry of Reindeer: CFD Modeling and Simulation. **Catalyst** 10(6): 606.

Su, Y., Song, J., Chai, J., Cheng, Q., Luo, Z., Lou, C. and Fu, P. 2015. Numerical investigation of a novel micro combustor with double cavity for micro thermophotovoltaic system. **Energy Conversion and Management** 106: 173-180.

Su, Y., Cheng, Q., Song, J. and Si, M. 2016. Numerical study on a multiple-channel micro combustor for a micro-thermophotovoltaic system. **Energy Conversion and Management** 120: 197-205.

Wan, J. and Fan, A. 2015. Effect of solid material on the blow-off limit of CH₄/air flames in a micro combustor with a plate flame holder and preheating channel. **Energy Conversion and Management** 101: 552-560.

Wan, J., Fan, A., Yao, H. and Wei, L. 2015. Effect of thermal conductivity of solid wall on combustion efficiency of a micro – combustor

with cavities. **Energy Conversion and Management** 96: 605-612.

Yang, W.M., Chou, S.K., Chua, K.J., Li, J. and Zhao, X. 2011. Research on modular micro combustor – radiator with and without porous media. **Chemical Engineering Journal** 168(2): 799-802.

Zuo, W., Jiaqiang E., Han, D. and Jin, Y. 2017. Numerical investigations on thermal performance of double-layer four-channel micro combustors for micro-thermophotovoltaic system. **Energy Conversion and Management** 150: 343-355.

การพัฒนาแบบจำลองเพื่อพยากรณ์การปล่อยไนโตรเจนออกไซด์ (NO_x) ของโรงไฟฟ้าน้ำพองด้วย Machine Learning

Development of Nitrogen Oxides (NO_x) Emission Prediction Model of Nam Phong Power Plant with Machine Learning

วิสิทธิ์ ธีระวงศ์¹ นที พนากานต์^{2*} สุจินต์ บุรีรัตน์² ฉัญฉวีวัฒน์ พลดี² และ ชนกนันท์ สุขกำเนิด³
Wisit Teerawong¹, Natee Panagant^{2*}, Sujin Bureerat², Nantiwat Pholdee²
and Chanoknun Sookkumnerd³

Received: 1 November 2023, Revised: 27 December 2023, Accepted: 2 January 2024

บทคัดย่อ

ก๊าซไนโตรเจนออกไซด์ (Nitrogen Oxides : NO_x) เป็นกลุ่มก๊าซที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม โดยมีแหล่งกำเนิดหลักจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงในเครื่องยนต์และกระบวนการอุตสาหกรรม ดังนั้นเพื่อปฏิบัติตามข้อกำหนด โรงไฟฟ้าน้ำพองจึงติดตั้งเครื่องตรวจวัดมลพิษทางอากาศจากปล่องแบบอัตโนมัติอย่างต่อเนื่อง (Continuous Emission Monitoring System : CEMS) และรายงานค่าไปยังหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง อย่างไรก็ตามระบบ CEMS เป็นระบบที่มีความซับซ้อนมีค่าใช้จ่ายสูง ประกอบกับในปี พ.ศ. 2565 ประเทศไทยได้ประกาศใช้ข้อกำหนดใหม่ที่อนุญาตให้รายงานค่า NO_x โดยวิธีคาดคะเนแทนระบบ CEMS ได้ จึงได้นำมาสู่การศึกษาและพัฒนาแบบจำลองเพื่อพยากรณ์การปล่อย NO_x ของโรงไฟฟ้าน้ำพองด้วย Machine Learning โดยในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพแบบจำลองที่แตกต่างกันจำนวน 6 Algorithms ได้แก่ Linear Regression, Decision Tree, Random Forest, XGBoost, K-Nearest Neighbors และ Backpropagation Multilayer Perceptron Neural Network ซึ่งพบว่าแบบจำลองของ Random Forest มีประสิทธิภาพการพยากรณ์ที่สูงกว่าแบบจำลองอื่น ๆ โดยมีค่า MAE และ MAPE ต่ำสุด และค่า R² สูงสุด อีกทั้งการศึกษานี้ยังพบว่าอุณหภูมิไอน้ำที่ฉีดเข้าห้องเผาไหม้ของเครื่องกังหันก๊าซเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญต่อความแม่นยำของแบบจำลองและมีผลต่อการเกิด NO_x ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางควบคุมหรือลดปริมาณการปล่อย NO_x โดยไม่กระทบต่อประสิทธิภาพของโรงไฟฟ้า

คำสำคัญ: พยากรณ์การปล่อย NO_x, Machine Learning, โรงไฟฟ้าน้ำพอง, CEMS, PEMS

¹ โรงไฟฟ้าน้ำพอง (กฟผ.) อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40310

¹ Nam Phong Power Plant (EGAT), Nam Phong, Khon Kaen 40310, Thailand.

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาโครงสร้างมูลฐานอย่างยั่งยืน ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

² Sustainable Infrastructure Research and Development Center, Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University, Muang, Khon Kaen 40002, Thailand.

³ ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

³ Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University, Muang, Khon Kaen 40002, Thailand.

* Corresponding author, e-mail: natepa@kku.ac.th

ABSTRACT

Nitrogen Oxides (NO_x) are harmful gases to human health and the environment. These emissions primarily result from fuel combustion in engines and industrial processes. To meet regulatory requirements, the Nam Phong Power Plant in Thailand has implemented Continuous Emission Monitoring Systems (CEMS) to measure and report NO_x emissions to regulatory authorities. However, considering the high costs associated with installing and maintaining CEMS, as well as recent changes in Thai legislation allowing for predictive NO_x measurement methods, it is worth exploring the use of Machine Learning as a reliable method for estimating NO_x emissions accurately. In this study, a comprehensive comparison was conducted on six Machine Learning algorithms: Linear Regression, Decision Tree, Random Forest, XGBoost, K-Nearest Neighbors, and Backpropagation Multilayer Perceptron Neural Network. Among these models, Random Forest emerged as the top performer, exhibiting superior performance metrics, including the lowest MAE, MAPE, and the highest R² scores. These results underscore the potential accuracy and reliability of Random Forest in predicting NO_x emissions. Furthermore, research on feature importance has revealed the significant influence of certain parameters on model accuracy. These parameters include steam injection flow, steam injection temperature, and ambient conditions. The influence of controllable factors, such as the temperature of steam injection, on NO_x emissions is noteworthy. These findings not only hold promise for enhancing the precision of predictive models but also present opportunities to decrease NO_x emission levels while maintaining plant efficiency.

Key words: NO_x prediction, machine learning, Nam Phong power plant, CEMS, PEMS

INTRODUCTION

Nitrogen Oxides (NO_x) are harmful gases that have been identified as major contributors to air pollution, with negative impacts on both the environment and human health (United States Environmental Protection Agency, 2023). The primary sources of NO_x include fuel combustion in engines and manufacturing processes. To comply with regulations, power plants in Thailand, including the Nam Phong Power Plant, have installed Continuous Emission Monitoring Systems (CEMS) to measure and report their NO_x emissions to regulatory authorities (Department of Industrial Works, 2007). However, CEMS is a complex and expensive system, which has led to a search for alternative methodologies. Additionally, the introduction of new environmental regulations in Thailand (Ministry of Industry, 2022) enables the utilization of alternative methods for measuring pollutant emissions, such as a predictive method. Machine Learning (ML) is a branch of Artificial Intelligence (AI) that has proven successful in various industries for prediction tasks. Therefore, the Nam Phong Power Plant is considering developing

an ML-based NO_x prediction model as a more cost-effective alternative to CEMS.

In recent years, the studies of predicting NO_x emissions from gas turbines, diverse algorithms and methodologies have been explored across several studies. Kaya *et al.* (2019) introduced a publicly available dataset and employed Extreme Learning Machines (ELMs), emphasizing feature selection based on linear projection weights. Their work highlighted the importance of recognizing that the Machine Learning principle of "one size does not fit all" is applicable when employing decision fusion schemes. Another study by Rezazadeh (2020) delved into adaptive algorithms for NO_x prediction, proposing the K-Nearest Neighbor (K-NN) algorithm and stressing the dynamic nature of power generation, advocating for accurate datasets. Kochueva and Nikolskii (2021) proposed a combined model using symbolic regression models and fuzzy classification, achieving metrics surpassing previous works. Huang *et al.* (2022) introduced a Neural Network model with an adjustable intermediate layer that demonstrated improved accuracy and adaptability, considering humidity effects. Finally, Chawathe (2021) underscored the importance of explainability in predictive

emission monitoring systems, achieving numerical accuracy comparable to less interpretable models.

Despite these advancements, certain research gaps persist. A notable limitation is the concentration of studies on specific types of gas turbines, indicating the need for broader applications across various power plant configurations (Chien, 2003). Additionally, the importance of ambient weather conditions as a key feature in emission prediction has been underscored in existing researches (Rezazadeh, 2020; Potts *et al.*, 2023; Chawathe, 2021). Consequently, there is a compelling need to conduct additional studies within the specific context of the Nam Phong Power Plant, Thailand. This facility operates as a gas-fired combined-cycle power plant and employs steam injection systems for NO_x control, a unique aspect not explored in previous studies. Investigating the applicability and effectiveness of NO_x prediction with Machine Learning in such a specialized setting is crucial for a comprehensive understanding of its capabilities in this specific domain.

This study involves a thorough exploration of a diverse set of Machine Learning algorithms, encompassing six different approaches. The study employs Linear Regression, Decision Tree, Random Forest, Extreme Gradient Boosting (XGBoost), K-Nearest Neighbors (K-NN), and Backpropagation Multilayer Perceptron Neural Network

(BPMLP-NN) to predict NO_x emissions. The performance of these ML algorithms is assessed using various statistical metrics, and the relationships between input variables and output predictions are scrutinized through feature importance analysis.

MATERIALS AND METHODS

Machine Learning (ML) is a subfield of Artificial Intelligence (AI) as shown in Figure 1, that enables systems to learn and improve from experience without explicit programming (Brown, 2021). Unlike traditional programming, which relies on step-by-step instructions, ML takes a data-driven approach. By analyzing patterns in data, ML systems can make informed decisions or predictions based on what they have learned. A fundamental concept in ML is the notion of a "model." A model serves as a representation of the patterns and relationships found within a given dataset. This process involves training the ML system using labeled data, where both input data and corresponding outcomes are provided. During training, the internal parameters of the system get adjusted to minimize any discrepancies between its predictions and actual outcomes. Once effectively trained, this model can then be utilized to make accurate predictions on new datasets that have not been previously encountered or analyzed.

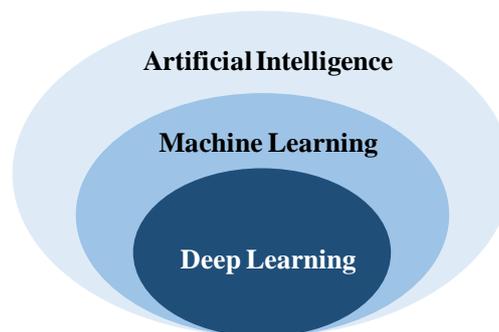


Figure 1 Machine Learning a subfield of Artificial Intelligence

To accomplish the study's goals, the NO_x emission prediction models for Nam Phong Power Plant are constructed through a multi-step methodology, depicted in Figure 2.

This figure visually outlines the sequential process involved in developing the models, emphasizing the utilization of a ML approach for accurate predictions.

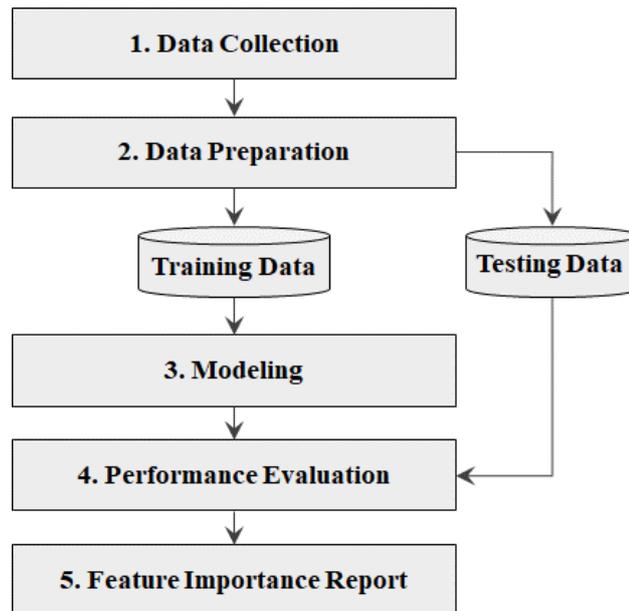


Figure 2 Machine Learning development approach

1. Data Collection

The NO_x prediction model was developed using input data obtained from gas turbine unit-21 (GT-21) and gas turbine unit-22

(GT-22) operational data during 1st to 30th September 2022. The data had a 1-minute sampling interval with 43,200 entries and 46 input parameters per unit, as listed in Table 1

Table 1 Input parameters

Item	Input Parameters	Unit	GT#21				GT#22			
			MEAN	STD.	MAX.	MIN.	MEAN	STD.	MAX.	MIN.
1	Gas Turbine Generation	MW	79.3	4.9	99.8	60.1	79.2	4.9	102.3	60.3
2	Gas Turbine Reactive Power	MVAR	7.1	8.8	39.8	-15.9	6.4	8.9	38.7	-16.7
3	Generator Current	KA	3.3	0.2	4.3	2.5	3.3	0.2	4.3	2.5
4	Generator Voltage	KV	13.7	0.2	14.3	13.2	13.7	0.2	14.3	13.2
5	Generator Power Factor	-	0.5	0.9	1.0	-1.0	0.5	0.9	1.0	-1.0
6	Fuel Gas Pressure	kg/cm ²	23.1	0.1	23.9	22.6	23.1	0.1	23.8	22.6
7	Fuel Command	%	49.9	0.9	52.9	45.4	51.1	1.0	55.0	46.2
8	Gas Turbine Speed	RPM	2999.9	2.0	3005.6	2992.9	2999.9	2.0	3006.4	2992.9
9	Inlet Guide Vane Command	%	4.3	5.6	73.5	0.0	7.0	6.2	47.9	0.0
10	Inlet Guide Vane Feedback	%	4.2	5.6	73.3	-0.3	7.2	6.1	48.9	-0.9
11	Exhaust Damper Command	%	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	0.0	100.0	100.0
12	Exhaust Damper Feedback	%	103.0	0.1	103.3	102.6	103.8	0.0	104.6	103.0
13	Compressor Inlet Air Temperature	°C	26.0	2.6	34.1	21.3	25.8	2.6	34.1	20.9
14	Rotor Cooling Air Temp. (Right)	°C	186.7	4.8	205.8	173.7	192.6	5.8	330.4	179.1
15	Rotor Cooling Air Temp. (Left)	°C	187.6	5.0	207.7	174.5	192.4	5.7	329.0	179.2
16	Disc Cavity Row-2 Temp. (Right)	°C	359.4	5.0	371.3	336.5	333.4	4.4	348.0	313.1
17	Disc Cavity Row-2 Temp. (Left)	°C	412.5	7.3	425.1	372.9	360.3	4.7	373.3	338.6
18	Disc Cavity Row-3 Temp. (Right)	°C	325.8	6.0	340.2	297.3	365.5	6.8	378.5	326.2
19	Disc Cavity Row-3 Temp. (Left)	°C	329.0	5.7	342.8	302.5	383.8	7.1	397.2	343.7
20	Disc Cavity Row-4 Temp. (Right)	°C	381.1	9.7	397.0	333.1	329.3	7.2	361.4	291.6
21	Disc Cavity Row-4 Temp. (Left)	°C	406.1	9.4	418.8	357.4	360.8	8.8	398.7	314.6
22	Blade Path Temp. (Average)	°C	554.7	13.9	564.7	476.2	558.7	13.6	598.9	482.1
23	Exhaust Gas Temp. (Average)	°C	542.8	10.7	546.6	482.0	542.5	11.5	548.4	478.1
24	Fuel Gas Flow	kNm ³ /h	28.2	1.2	32.6	23.5	28.1	1.1	33.5	23.5
25	Fuel Gas Supply Temperature	°C	30.0	1.7	35.2	25.2	29.8	1.7	34.9	25.2
26	Steam Injection Flow	T/H	4.5	1.9	14.0	2.5	4.2	1.9	14.3	2.3
27	Water Injection Flow	T/H	0.0	0.1	3.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
28	Compressor Outlet Air Temp.	°C	368.3	5.5	390.9	353.5	370.8	5.5	393.5	356.9

Table 1 (Continuous)

Item	Input Parameters	Unit	GT#21				GT#22			
			MEAN	STD.	MAX.	MIN.	MEAN	STD.	MAX.	MIN.
29	Combustor Shell Pressure	kg/cm2	9.4	0.3	11.6	8.7	9.5	0.3	11.4	8.9
30	H2 Cooling Water Temp (Sensor-33)	oC	45.0	0.4	47.1	43.8	42.6	2.1	48.2	37.4
31	H2 Cooling Water Temp (Sensor-34)	oC	44.3	0.2	45.3	43.4	42.8	2.0	48.0	37.6
32	Steam Injection Temperature	oC	445.0	10.9	456.3	408.8	442.4	10.1	451.7	404.6
33	Compressor Index Pressure	mmH2O	988.0	56.0	1634.0	943.2	1000.4	71.3	1357.9	882.6
34	Raw NOx	PPM	96.8	6.8	102.5	67.8	97.2	7.5	111.0	66.4
35	Excessive Oxygen	%	15.2	0.2	16.1	15.0	15.2	0.2	16.0	14.6
36	Compressor Inlet Air Flow	kg/s	323.0	7.7	403.3	314.1	324.9	10.9	373.4	305.6
37	Fuel Gas Diff. Pressure	mmH2O	2477.7	200.3	3296.0	1685.1	2468.0	200.5	3482.5	1684.2
38	Inlet Air Diff. Pressure	mmH2O	19.3	1.6	43.0	17.9	20.1	1.6	42.1	18.3
39	NOx correction by 7% O2	PPM	235.5	13.6	250.6	173.9	234.9	15.2	268.2	171.2
40	HRSG Inlet Gas Pressure	mmH2O	95.0	65.0	201.6	-3.1	200.5	11.2	275.2	186.0
41	HRSG Outlet Gas Pressure	mmH2O	9.6	0.7	15.5	-3.8	9.9	0.8	17.1	7.1
42	HRSG Inlet Gas Temperature	oC	541.8	10.3	546.4	483.3	537.5	10.6	549.2	478.3
43	HRSG Outlet Gas Temperature	oC	112.4	0.8	119.5	110.8	107.1	0.9	112.6	106.1
44	Steam Turbine Generation	MW	94.7	1.7	96.5	85.5	94.7	1.7	96.5	85.5
45	Ambient Temperature	oC	27.5	2.6	35.4	23.2	27.5	2.6	35.4	23.2
46	Relative Humidity	%	85.9	9.4	97.1	50.0	85.9	9.4	97.1	50.0

2. Data Preparation

Data preparation steps included data cleaning, normalization, and partitioning, with cleaning to remove missing or invalid data, normalization to scale data to a common range, and partitioning to split data into training and testing sets for ML model training and evaluation. A 70:30 splitting ratio (Witten and Frank, 2005) was employed in this study.

3. Modeling

Modeling plays a crucial role in the research process, providing the necessary analytical tools to analyze large datasets and derive meaningful insights. In order to predict NOx emissions from gas turbine units, this study employed a diverse range of ML algorithms that offer distinct strengths and perspectives for analysis. The selected algorithms utilized in this study include Linear Regression, known for its simplicity and ability to interpret results; Decision Tree, which provides a visual and intuitive approach; Random Forest, an ensemble method built on Decision Trees that offers powerful modeling capabilities; XGBoost, an advanced Gradient Boosting framework recognized for its speed and efficiency;

K-NN, a non-parametric method based on proximity principles; as well as BPMLP-NN which mimics the interconnected structure of biological neural networks and is particularly effective at handling complex patterns.

In order to achieve optimal performance, the algorithms used in this study underwent thorough training using preprocessed data from previous stages. However, training alone does not guarantee accurate predictions. To further enhance predictive accuracy, a careful hyperparameter tuning process was implemented using the “GridSearchCV” methodology, which is a function that comes in Scikit-learn’s package (Great Learning Team, 2023). This optimization procedure systematically works through multiple combinations of parameter tunes, cross-validating as it goes to determine which tune gives the best performance. The specific hyperparameters selected after comprehensive tuning for each respective algorithm are presented in Table 2.

By employing this multifaceted modeling approach and conducting rigorous optimization, it is ensured that a comprehensive and accurate prediction of NOx emissions from the gas turbine units is achieved.

Table 2 Hyper-Parameters after tuning

Algorithms	Linear Regression	Decision Tree	Random Forest	XGBoost	K-NN	BPMLP-NN
Hyper-Parameters	Default	- criterion : mse - max_dept : 8 - max_leaf_nodes : 100 - min_samples_leaf : 100 - min_simple_split : 10	Default	Default	n : 19	- input layer : 30 neurals - hidden layers : 128 neurals : Act. Func. : Relu - output layer : 1 neural : Linear - epochs : 100 - loss : MAE - Optimizer : Adam

4. Performance Evaluation

Performance evaluation serves as a critical checkpoint in the study, where the efficacy of the established ML models in forecasting NO_x emissions is rigorously tested. The evaluation framework utilized in this study is built on seven robust performance metrics that paint a comprehensive picture of the model's performance, not only in terms of accuracy but also the efficiency and variability of predictions.

These vital metrics encompass:

4.1 Mean Absolute Error (MAE): providing insights on the average magnitude of errors between the true and predicted values. A lower MAE indicates better performance.

$$MAE = \frac{1}{N} \sum_i^N |Y_i - \hat{Y}_i| \quad (1)$$

4.2 Mean Absolute Percentage Error (MAPE): offering a scale-independent indicator of prediction accuracy which represents on percentage (%). A lower MAE indicates better performance.

$$MAPE = \frac{100}{N} \sum_i^N \left| \frac{Y_i - \hat{Y}_i}{Y_i} \right| \quad (2)$$

4.3 Coefficient of Determination (R²): depicting how well the predicted outcomes match with the actual values. The R² value ranges from 0 to 1. A higher value suggests that a larger proportion of the variability in the dependent variable is explained by the model, indicating a better fit.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i^N (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sum_i^N (Y_i - \bar{Y}_i)^2} \quad (3)$$

4.4 Standard Deviation (σ): revealing the dispersion of prediction errors. A lower standard deviation in prediction errors indicates more consistent model performance, while a higher standard deviation suggests greater variability in the accuracy of predictions.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i^N (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{N}} \quad (4)$$

4.5 Maximum Error: denoting the highest deviation observed.

4.6 Training Time: highlighting the duration taken to train the model.

4.7 Prediction Time: representing the prediction time of the model.

Where Y_i , \hat{Y}_i , \bar{Y}_i and N denote the NO_x value measured from CEMS, the NO_x value predicted by ML model, the averaged NO_x value measured by CEMS, and the number of samples, respectively.

Moreover, this investigation will undertake a Wilcoxon Signed Rank Test (Rosner *et al.*, 2006) of MAPE at a 5% significance level. This non-parametric test compares the median of paired differences in two datasets. The test assigns signs (+ or -) to the differences based on their direction and tests if the signs are randomly distributed. A p-value less than 0.05 means the median difference is significantly different from zero. This indicates a significant difference in prediction accuracy between two models or methods. A positive (+) difference means the

first model or method has higher MAPE, which is worse. A negative (-) difference means the second model or method has lower MAPE, which is better. The test provides insights into the relative performance of the models or methods.

5. Feature Importance Report

Feature importance reports were generated to determine the relative significance of input features in a NO_x emission prediction model, highlighting the critical factors for accurate predictions.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Predictive Model Performances

The assessment of ML models predicting NO_x levels in gas turbines GT-21

and GT-22 is depicted in Figure 3 and Figure 4. These visuals showcase the strong alignment between predicted values and actual measurements from the CEMS. The figure incorporates six Machine Learning models- Linear Regression, Decision Tree, Random Forest, XGBoost, K-NN, and BPMLP-NN. The time series data covers NO_x emissions from 1st to 30th September, with blue and orange marks representing actual and predicted values, respectively. The level of alignment signifies model accuracy. This visualization underscores the efficacy of ML in predicting NO_x emissions.

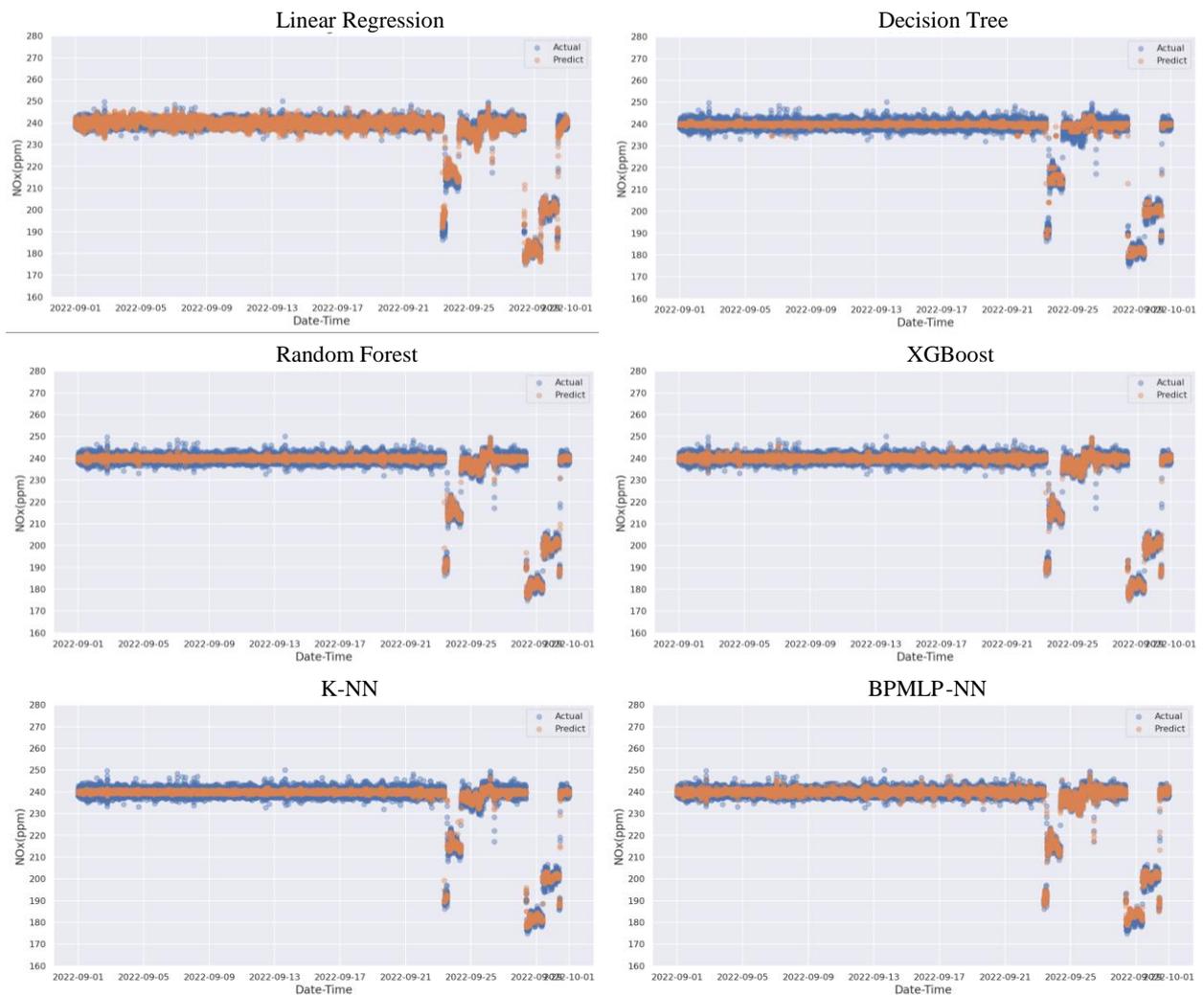


Figure 3 NO_x comparison between predicted values and actual measurement values of GT-21

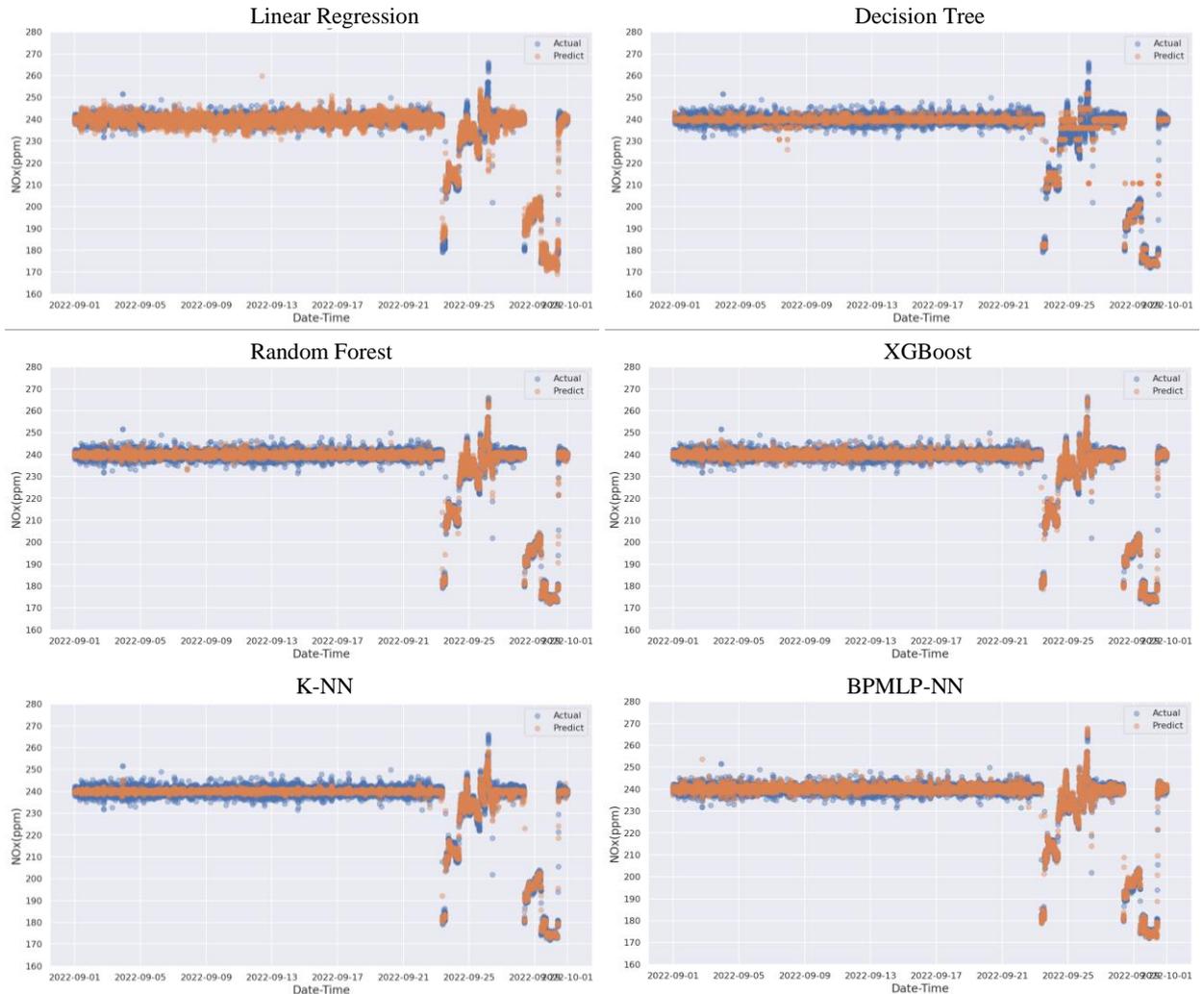


Figure 4 NOx comparison between predicted values and actual measurement values of GT-22

1.1 Predictive Model Performance of GT-21

For GT-21, performance metrics in Table 3 highlight the superiority of the Random Forest model. It exhibits the lowest MAE at 1.184 ppm, emphasizing its high accuracy.

Random Forest also excels in MAPE at 0.505 % and R² at 0.986, underscoring its predictive accuracy and data variance explanation. Additionally, it minimizes prediction errors with a low Standard Deviation of Error (ERR_STDev) of 1.557 ppm.

Table 3 Performance Metrics of GT-21

Parameters	Linear Regression	Decision Tree	Random Forest	XGBoost	K-NN	BPMLP-NN
MAE (ppm)	1.694	1.379	1.184	1.204	1.285	1.236
MAPE (%)	0.724	0.591	0.505	0.513	0.549	0.526
R ²	0.973	0.977	0.986	0.986	0.984	0.986
ERR_STDev (ppm)	2.210	2.014	1.557	1.564	1.716	1.572
ERR_Max (ppm)	29.634	49.293	28.776	19.285	33.265	23.003
ERR_Max (%)	15.819	25.954	15.361	10.295	17.757	12.279
Training_Time (sec)	0.152	1.009	108.258	7.205	0.003	135.383
Predict_Time (sec)	0.005	0.003	0.451	0.017	42.534	0.372

Results of Wilcoxon Signed Rank tests are presented in Table 4 to investigate the significant difference in performance of algorithms of GT-21. The result further corroborates the superiority of the Random Forest model at a 5% significance level. The test compares the MAPE of each pair of models and assigns a sign (+ or -) based on which model has lower MAPE. A (+) sign

means that the model in the row has significantly lower MAPE than the model in the column, indicating better prediction performance. A (-) sign means that there is no significant difference between the MAPE of the two models. The Random Forest model has all (+) signs, indicating that it has significantly lower MAPE than other models.

Table 4 Wilcoxon Signed Rank Test of MAPE results of GT-21 at 5% significant level

Algorithms	Linear Regression	Decision Tree	Random Forest	XGBoost	K-NN	BPMLP-NN
Linear Regression	N/A	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Decision Tree	(+)	N/A	(-)	(-)	(-)	(-)
Random Forest	(+)	(+)	N/A	(+)	(+)	(+)
XGBoost	(+)	(+)	(-)	N/A	(+)	(+)
K-NN	(+)	(+)	(-)	(-)	N/A	(-)
BPMLP-NN	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	N/A

1.2 Predictive Model Performance of GT-22

For GT-22, the performance metrics are represented in Table 5. The Random Forest remains the top performer, with the lowest MAE (0.99 ppm.), MAPE (0.42%), and strong

R^2 values at 0.992. It also excels in minimizing prediction errors with a low ERR_STDev at 1.374 ppm. Moreover, it showcases the lowest ERR_Max in this context, signifying robustness in handling extreme prediction errors.

Table 5 Performance Metrics of GT-22

Parameters	Linear Regression	Decision Tree	Random Forest	XGBoost	K-NN	BPMLP-NN
MAE(ppm)	1.925	1.365	0.990	1.038	1.134	1.051
MAPE(%)	0.823	0.584	0.420	0.441	0.482	0.453
R^2	0.968	0.971	0.992	0.991	0.989	0.991
ERR_STDev(ppm)	2.733	2.571	1.374	1.418	1.615	1.397
ERR_Max(ppm)	49.875	55.480	17.143	20.945	36.409	22.728
ERR_Max(%)	18.744	20.850	8.494	10.378	19.507	12.177
Training_Time(sec)	0.026	0.636	141.265	9.432	0.006	128.638
Predict_Time(sec)	0.008	0.003	0.955	0.021	24.400	0.304

In alignment with the findings for GT-21, the Wilcoxon Signed Rank Test outcomes for GT-22, as presented in Table 6, further substantiate the supremacy of the Random Forest model at a 5% significance

level. The Random Forest model displays exclusively (+) signs, underscoring its consistent and statistically significant superiority in achieving lower MAPE compared to alternative models.

Table 6 Wilcoxon Signed Rank Test of MAPE results of GT-22 at 5% significant level

Algorithms	Linear Regression	Decision Tree	Random Forest	XGBoost	K-NN	BPMLP-NN
Linear Regression	N/A	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Decision Tree	(+)	N/A	(-)	(-)	(-)	(-)
Random Forest	(+)	(+)	N/A	(+)	(+)	(+)
XGBoost	(+)	(+)	(-)	N/A	(+)	(+)
K-NN	(+)	(+)	(-)	(-)	N/A	(-)
BPMLP-NN	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	N/A

In conclusion, Random Forest consistently stands out as the top model for predictive accuracy in both GT-21 and GT-22. However, this heightened accuracy comes at the cost of longer training times. Conversely, Decision Tree and XGBoost offer a balanced compromise between accuracy and speed, making them suitable choices when real-time predictions are essential. The choice of model should be made thoughtfully, aligning with the specific application requirements while considering both performance and time constraints.

2. Feature Importance Analysis

The feature importance for gas turbines GT-21 and GT-22 models is displayed in Table 7 and Table 8, where they are ranked by their top ten average scores. These scores, ranging from 0 to 100%, signify the degree of importance, with higher scores reflecting greater significance.

2.1 Feature Importance Analysis of GT-21

In the case of GT-21, different Machine Learning algorithms produce varying importance rankings for features. Linear Regression identifies "Steam Injection Flow" as the most important, while Decision Tree places great emphasis on "Steam Injection Temperature." Random Forest and XGBoost concur with the significance of "Steam Injection Temperature." In contrast, K-NN deviates, prioritizing "Steam Injection Flow." BPMLP-NN aligns with Decision Tree, Random Forest and XGBoost models in highlighting "Steam Injection Temperature." Across these algorithms, "Steam Injection Temperature," "Steam Injection Flow," and "Relative Humidity" consistently emerge as the top three features with the highest average importance scores.

Table 7 Top 10 Feature importance of GT-21

Input Parameters	Linear Regression	Decision Tree	Random Forest	XGBoost	K-NN	BPMLP-NN	Average
Steam Injection Temperature	5.334	92.844	88.477	80.879	27.384	18.375	52.216
Steam Injection Flow	15.459	3.283	3.596	3.214	61.727	16.931	17.368
Relative Humidity	13.077	0.096	0.183	0.186	0.635	14.979	4.859
Ambient Temperature	11.471	0.001	0.119	0.147	0.404	12.827	4.162
Combustor Shell Pressure	12.193	0.009	0.072	0.077	0.046	3.310	2.618
Compressor Inlet Air Temp.	1.068	3.319	2.588	5.578	0.293	2.385	2.539
Steam Turbine Generation	0.099	0.000	2.638	7.994	1.033	1.357	2.187
Disc Cavity Row-3 Temp.	8.815	0.000	0.679	0.252	0.185	1.171	1.850
Disc Cavity Row-2 Temp.	6.484	0.254	0.183	0.316	0.148	1.502	1.481
Compressor Outlet Air Temp.	5.548	0.000	0.141	0.061	0.214	1.517	1.247

2.2 Feature Importance Analysis of GT-22

For GT-22, the feature importance analysis again reveals variations depending on the algorithm used. Linear Regression points to "HRSG Inlet Gas Temperature" as the most significant feature, while Decision Tree designates "Steam Turbine Generation" with the highest importance. Random Forest concurs by emphasizing

"Steam Turbine Generation," and XGBoost follows suit. In contrast, K-NN underscores "Steam Injection Flow," and BPMLP-NN assigns importance to "Relative Humidity." The top three features with the highest average importance scores for GT-22 are "Steam Turbine Generation," "Steam Injection Flow," and "Steam Injection Temperature."

Table 8 Top 10 Feature importance of GT-22

Input Parameters	Linear Regression	Decision Tree	Random Forest	XGBoost	K-NN	BPMLP-NN	Average
Steam Turbine Generation	0.560	85.295	59.298	91.772	1.178	2.527	40.105
Steam Injection Flow	8.829	4.181	4.865	1.574	59.290	12.372	15.185
Steam Injection Temperature	4.803	5.757	29.728	3.823	24.434	13.289	13.639
Relative Humidity	8.160	3.493	3.108	1.474	1.403	14.961	5.433
Blade Path Temp.	12.746	0.055	0.106	0.049	0.167	6.944	3.345
HRSG Inlet Gas Temp.	14.506	0.003	0.069	0.045	0.155	2.006	2.797
Ambient Temperature	7.141	0.099	0.161	0.074	0.472	6.486	2.405
Combustor Shell Pressure	12.584	0.268	0.037	0.016	0.050	0.737	2.282
Exhaust Gas Temp.	4.787	0.012	0.088	0.025	0.094	8.266	2.212
Fuel Gas Flow	6.094	0.000	0.041	0.015	0.010	2.151	1.385

The consistency in the prominence of "Steam Injection Temperature" and "Steam Injection Flow" across different algorithms for both GT-21 and GT-22 underscores their crucial roles in predicting NOx emissions. However, the specific rankings may vary, highlighting the need to tailor feature selection to the chosen model. Furthermore, the interdependencies between variables suggest that simplifying the problem by eliminating certain dependent variables in future studies may enhance model accuracy. These findings provide valuable guidance for understanding the factors influencing NOx emissions in gas turbines and offer insights for refining predictive models.

CONCLUSION

In conclusion, this research emphasizes the potential of Machine Learning, particularly Random Forest, for accurate forecasting of NOx emissions at the Nam Phong Power Plant. It aligns with Thailand's evolving environmental regulations and underscores the relevance of data-driven insights in emissions monitoring and mitigation efforts. While Random Forest excels in predictive accuracy, models like

Decision Tree and XGBoost strike a balance between accuracy and speed, making them suitable for real-time predictions. The synergy of technological advancements and regulations highlights the significance of swiftly adopting NOx prediction systems at the Nam Phong Power Plant.

Moreover, the analysis of feature importance highlights the potential for reducing NOx emissions without compromising plant efficiency by controlling factors like steam injection temperature. These insights hold practical implications, benefiting public health, air quality, and minimizing the ecological impact, while also contributing to a more environmentally aware and sustainable future.

However, it's important to note that the analysis used data from a limited time frame (Sep 1-30, 2022), raising concerns about long-term model performance representativeness. Future studies should include data from various seasons and years for extended model stability evaluation.

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to express our sincere gratitude to the Electricity Generating Authority

of Thailand (EGAT) for the financial support of this study. Special appreciation goes to Mr. Somkate Thongthom, Chief of Maintenance, and the Nam Phong Power Plant team for their unwavering commitment and data accessibility, enriching the depth and credibility of this study.

REFERENCES

- Brown, S. 2021. **Machine learning, explained - MIT Sloan**. Artificial Intelligence. Available Source: <https://mitsloan.mit.edu/ideas-made-to-matter/machine-learning-explained>, September 3, 2023.
- Chawathe, S.S. 2021. Explainable predictions of industrial emissions, pp. 1-7. *In 2021 IEEE International IOT, Electronics and Mechatronics Conference (IEMTRONICS)*. IEEE, New Jersey.
- Chien, T.W., Chu, H., Hsu, W.C., Tseng, T.K., Hsu, C.H. and Chen, K.Y. 2003. A feasibility study on the predictive emission monitoring system applied to the Hsinta power plant of Taiwan power company. **Journal of the Air & Waste Management Association** 53(8): 1022-1028.
- Department of Industrial Works. 2007. **Notification of Department of Industrial Works 2007 Title: Data Transmission into the system of Continuous Emission Monitoring System**. Government Gazette vol.124, Special Part 196. (dated October 10, 2007). (in Thai)
- Great Learning Team. 2023. **Hyperparameter Tuning with GridSearchCV**. AI and Machine Learning. Available Source: <https://www.mygreatlearning.com/blog/gridsearchcv>, September 5, 2023.
- Huang, D., Tang, S., Zhou, D. and Hao, J. 2022. NOx emission estimation in gas turbines via interpretable neural network observer with adjustable intermediate layer considering ambient and boundary conditions. **Measurement** 189: 110429.
- Kaya, H., Tüfekci, P. and Uzun, E. 2019. Predicting CO and NOx emissions from gas turbines: novel data and a benchmark PEMS. **Turkish Journal of Electrical Engineering and Computer Sciences** 27(6): 4783-4796.
- Kochueva, O. and Nikolskii, K. 2021. Data analysis and symbolic regression models for predicting CO and NOx emissions from gas turbines. **Computation** 9(12): 139.
- Ministry of Industry. 2022. **Notification of Department of Industrial Works 2022 Title: Mandating factories to install special tools or equipment for reporting air pollutants emitted from factory stacks**. Government Gazette vol. 139, Special Part 131. (dated April 1, 2022). (in Thai)
- Potts, R., Hackney, R. and Leontidis, G. 2023. Tabular machine learning methods for predicting gas turbine emissions. **Machine Learning & Knowledge Extraction** 5(3): 1055-1075.
- Rezazadeh, A. 2020. Environmental pollution prediction of NOx by predictive modelling and process analysis in natural gas turbine power plants. **ArXiv** 1: 8978.
- Rosner, B., Glynn, R.J. and Lee, M.L.T. 2006. The Wilcoxon signed rank test for paired comparisons of clustered data. **Biometrics** 62:185-192.
- United States Environmental Protection Agency. 2023. **Basic information about NO2**. Nitrogen Dioxide (NO2) Pollution. Available Source: <https://www.epa.gov/no2-pollution/basic-information-about-no2>, September 4, 2023.
- Witten, I. H. and Frank, E. 2005. **Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques**. 2nd ed. Elsevier, Amsterdam.

**ผลของอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina* Willdenow)
ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์ และการป้องกันภาวะออกซิเดชัน
ในปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus* Burchell)
Effect of Kam Kung Alga (*Chara corallina* Willdenow) on the Growth
Performance, Total Carotenoid and Oxidative Defense of
African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell)**

วรรณิณี จันทร์แก้ว^{1*} วัฒนา วัฒนกุล² มนต์สรวง ยางทอง³ สุริยะ จันทร์แก้ว⁴ และ มณี ศรีชะนันท์¹
Wanninee Chankaew^{1*}, Wattana Wattanakul², Monsuang Yangthong³, Suriya Chankaew⁴ and Manee Srichanan¹

Received: 10 February 2022, Revised: 20 August 2022, Accepted: 10 March 2023

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สาหร่ายก้ามกุ้งเสริมในอาหารปลาดุกรัสเซียต่อการเจริญเติบโต ปริมาณแคโรทีนอยด์และการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยมีการผสมสาหร่ายก้ามกุ้งผงละเอียดแบบแห้งในอาหารที่ระดับ 0, 2, 4, 6 และ 8 % ทำการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน ใช้ปลาที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 11.24±0.01 กรัมต่อตัว ผลการศึกษาพบว่าปลาดุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2 % มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสูตรควบคุม ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ 8 % มีค่าสูงกว่าสูตรควบคุม และ 2% ($p < 0.05$) ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาและปริมาณกลูตาไธโอนในตับของปลาดุกรัสเซียมีแนวโน้มว่า มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของสาหร่ายในสูตรอาหารมีมากขึ้น การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาดุกรัสเซียที่ระดับ 4 % มีแนวโน้มเป็นระดับที่เหมาะสมในการลดระดับการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ในตับของปลาที่เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน จากผลการศึกษาที่สรุปได้ว่าควรเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารที่ระดับไม่เกิน 2 %

¹ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

¹ Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thongsong, Nakhon Si Thammarat, 80110, Thailand.

² คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง 92150

² Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang 92150, Thailand.

³ สาขาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร 86160

³ Disciplines of Technology Agriculture, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Pathio, Chumphon 86160, Thailand.

⁴ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80000

⁴ Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Muang, Nakhon Si Thammarat 80000, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): wanninee.c@rmutsv.ac.th

และสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาดุกกรัสเซียได้

คำสำคัญ: สาหร่ายก้ามกุ้ง, ปลาดุกกรัสเซีย, การเติบโตของปลา, การป้องกันภาวะออกซิเดชัน

ABSTRACT

A feeding trial was conducted to study the effects of diets supplemented with Kam Kung alga (*Chara corallina*) on growth performance, total carotenoid and oxidative defense of African Sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* Burchell. Dried powdered of *C. corallina* was added to the basal diet at 0% (control), 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 % and fed to the catfish for 60 days. The initial size of the catfish was 11.24 ± 0.01 g/fish. The results found that the mean daily growth, weight gain, average daily growth and specific growth rate of the fish fed with alga supplemented feed (2.0 %) were significantly different from the control diet ($p < 0.05$). Flesh of African Sharptooth catfish fed a diet supplement with *C. corallina* at 8.0 % was higher than the control group and the 2.0% group ($p < 0.05$). The total carotenoid in flesh and glutathione in liver of catfish were related to the level of alga in the diet. The fish fed with 4% algal supplemented feed tended towards an optimal feed level for decreasing lipid peroxidation in the liver when evaluated at the 2nd month. These findings indicated that alga supplemented should not exceed 2 % in the African Sharptooth catfish diet, and that *C. corallina* led to reduced oxidative stress in the African Sharptooth catfish.

Key words: Kam Kung, African Sharptooth catfish, fish growth, oxidative defense

บทนำ

ปลาดุกที่เลี้ยงเพื่อการค้าในประเทศไทยมีหลายชนิด เช่น ปลาดุกดำน ปลาดุกอูย ปลาดุกบักอูย แต่ปลาเหล่านี้มักประสบปัญหาเรื่องการเจริญเติบโตช้า ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูง ปัจจุบันเกษตรกรได้หันมาเลี้ยงปลาดุกกรัสเซีย (ปลาดุกอูยเทศ) มากขึ้นโดยปลาดุกกรัสเซียจัดเป็นปลาน้ำจืดที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีรสชาติดี เนื้อนุ่ม เป็นที่ต้องการของตลาด โดยเฉพาะทางเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ (Promya and Chimanat, 2011) สำหรับการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์เพื่อการเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีการเจริญเติบโตดี ส่งเสริมสุขภาพ และ

เพิ่มสีให้กับสัตว์น้ำนั้นได้มีการศึกษาและใช้กันเป็นเวลานานในสาหร่ายหลายชนิด เช่น สาหร่ายฮีมาโตคอคคัสในการเพิ่มสีเนื้อของปลาเทราท์ (Sommer *et al.*, 1992) สาหร่ายสไปรูไลน่า เพื่อศึกษาความเจริญเติบโต ความสมบูรณ์เพศ และระบบภูมิคุ้มกันในปลาแฟนซีคาร์ฟ (Promya *et al.*, 2012) การใช้สาหร่ายไค (*Cladophora glomerata*) เลี้ยงปลานิล (Ruangsomboon and Choochote, 2004) และ การใช้สาหร่ายไค (*Cladophora* spp.) เลี้ยงปลาหนังกุผสม (Amornlerdpison *et al.*, 2015) ซึ่งสาหร่ายดังกล่าวมีผลให้สัตว์น้ำมีสุขภาพที่ดี มีผลต่อการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาในปลาดุกกรัสเซียนั้นได้มีการใช้สาหร่ายสไปรูไลน่าและสาหร่ายไคเพื่อ

ศึกษาการเจริญเติบโต คุณภาพของเนื้อและการ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ซึ่งพบว่าสาหร่ายสไปรูลิน่าระดับ 5 % เหมาะสมในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีรวมทั้ง เพิ่มระดับแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาได้ (Promya and Chimanat, 2011) ในส่วนของสาหร่ายก้ามกุ้ง (*Chara corallina*) นั้นเป็นสาหร่ายน้ำจืดกินได้ชนิดแรกของ สาหร่ายไฟที่สามารถนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ได้ (Chankaew *et al.*, 2018) และยังไม่มีการรายงานการ นำมาใช้ในการเลี้ยงปลากินเนื้อ ซึ่งสาหร่ายก้ามกุ้งมี คุณค่าทางโภชนาการที่ดีเช่นเดียวกับสาหร่ายน้ำจืด ทั่วไป โดยมีค่าโปรตีนที่สูง ($17.08 \pm 0.32 - 23.35 \pm 0.24$ %) มีรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น ลูทีน ซีแซนทีน และเบต้า-แคโรทีน รวมถึงมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการ เช่น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Chankaew *et al.*, 2020)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นกลุ่มของเอนไซม์ และไม่ใช่เอนไซม์ (Yangthong *et al.*, 2009) และ การศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชันทำได้โดยการวัด ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระโดยการวัดจาก ปริมาณสารชีวโมเลกุลที่เปลี่ยนแปลงไปหรือถูกทำลายโดย อนุมูลอิสระ โดยสารชีวโมเลกุลที่ไวต่อการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระคือ ไกมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ซึ่งไกมันถือเป็นสารชีวโมเลกุล ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากไกมัน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ การที่ไกมัน ถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระมีผลให้มีการเพิ่มขึ้น ของค่ามาลอน ไดอัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดจาก ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation, LPO) (Marcogliese *et al.*, 2005; Rueda-Jasso *et al.*, 2004) สืบเนื่องจากผลการศึกษาที่ผ่านมาที่มีรายงานว่า สาหร่ายก้ามกุ้งมีสารสำคัญที่ติดต่อสุขภาพ การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต การใช้ ประโยชน์จากอาหาร ปริมาณแคโรทีนอยด์ และ

การป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาตุกรัสเซีย ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้ง ซึ่งได้ใช้ สาหร่ายที่มีลักษณะทางกายภาพที่ไม่เหมาะต่อ การบริโภคและเป็นส่วนเหลือจากการบริโภคสด

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสาหร่ายก้ามกุ้ง

นำสาหร่ายก้ามกุ้งมาล้างทำความสะอาด และล้างลมแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกว่าสาหร่ายแห้ง แล้วนำมาบดให้ละเอียด นำ สาหร่ายไปวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของ สาหร่ายก้ามกุ้ง ได้แก่ โปรตีน ไกมัน เยื่อใย เถ้า ตามวิธีการของ AOAC (2000) ซึ่งสาหร่ายก้ามกุ้ง มีประมาณของโปรตีน ไกมัน เยื่อใย เถ้า และ คาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 17.08, 0.17, 12.28, 25.54 และ 44.93 % ตามลำดับ

2. การวางแผนการทดลอง การเตรียมวัตถุดิบอาหาร ปลา และการประกอบสูตรอาหารทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ สุ่ม ตลอด (completely randomized design) ที่มี 6 ชุดการทดลอง ๑ ละ 3 ซ้ำ ซึ่งมีการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 2, 4, 6 และ 8 % และ อาหาร เิงพาณิชย์ โดยคำนวณสูตรอาหารจากวัตถุดิบให้มี โปรตีนรวมและไกมัน 30 % และ 6 % ตามลำดับ โดย มีส่วนผสมของวัตถุดิบของอาหารดังตารางที่ 1 ผลิต อาหารอัดเม็ดลอยน้ำ เมื่อผสมส่วนประกอบวัตถุดิบที่ มีลักษณะแห้งผสมเข้าด้วยกันแล้วจึงเทลงเครื่องผสม อาหาร นาน 10 นาที เติมน้ำมันพืชแล้วผสมให้ ส่วนผสมเข้ากันดี แล้วจึงเติมน้ำสะอาด 30-35 % จากนั้นทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันในเครื่องอัด อาหารเม็ดลอยน้ำ อัดอาหารและปล่อยอาหารออก จากเครื่องอัดเม็ดอาหารผ่านหน้าแวนที่มีขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยปล่อยด้วยความเร็ว 83.08 รอบ/วินาที และ ตัดด้วยความเร็ว 59.17 รอบ/วินาที

นำอาหารไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6-8 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการร่อนเพื่อกำจัด

เศษอาหารผงออกไป บรรจุใส่ถุงพลาสติก เก็บไว้ที่ตู้เย็นในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของวัตถุดิบในสูตรอาหารของอาหารทดลองที่ใช้เลี้ยงปลาครุฑเสียด

พารามิเตอร์	ระดับสาหร่ายในสูตรอาหาร				
	0%	2%	4%	6%	8%
วัตถุดิบ					
ปลาป่น	20	20	20	20	20
กากเนื้อในปาล์ม	15	15	15	15	15
กากถั่วเหลือง	34.55	33.8	33.04	32.27	31.52
รำข้าว	15	15	15	15	15
สาหร่าย	0	2	4	6	8
ปลายข้าว	12.63	11.37	10.12	8.89	7.63
แป้งมันสำปะหลัง	2	2	2	2	2
น้ำมันพืช	0.32	0.33	0.34	0.34	0.35
เกลือ	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
วิตามินผสม	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
แร่ธาตุผสม	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
รวม	100	100	100	100	100
องค์ประกอบทางเคมี					
โปรตีน	29.90±0.27 ^b	28.99±0.21 ^c	29.21±0.10 ^c	30.44±0.17 ^a	29.94±0.11 ^b
ไขมัน	6.25±0.07 ^a	5.66±0.22 ^a	5.10±0.05 ^a	5.61±0.16 ^a	5.48±0.18 ^a
ความชื้น	9.44±0.08 ^a	9.56±0.08 ^a	9.30±0.10 ^a	6.77±0.18 ^b	5.87±0.00 ^c
เถ้า	11.34±0.15 ^d	12.52±0.17 ^c	12.53±0.16 ^c	13.45±0.06 ^b	14.93±0.33 ^a
เยื่อใย	6.50±0.97 ^a	6.18±0.97 ^a	6.70±0.20 ^a	7.74±0.32 ^a	8.74±0.74 ^a

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. การเตรียมสัตว์ทดลองและระบบการเลี้ยง

นำพันธุ์ปลาครุฑเสียด มาอนุบาลโดยใช้อาหารเชิงพาณิชย์ วันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุ่มคัดขนาดของปลาใส่ถึงทดลอง จำนวน 30 ตัว/ถัง เป็นระยะเวลา 5 วัน เพื่อปรับสภาพปลาให้เข้ากับหน่วยทดลอง เมื่อครบ

เวลาคัดปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกันใส่ถึงทดลองที่มีขนาด 200 ลิตรที่ได้เติมน้ำปริมาตร 100 ลิตร ซึ่งมีความหนาแน่น 200 ตัว/ลูกบาศก์เมตร (Kari *et al.*, 2021) บันทึกข้อมูลน้ำหนักเริ่มต้น และหาค่าเฉลี่ยเริ่มต้นของปลาที่ทดลอง โดยปลาได้น้ำหนักเฉลี่ย 11.24±0.01 กรัม/ตัว ในระหว่างการทดลองให้อาหาร

โดยให้กินจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง เวลา 08.30 น. และ 17.30 น. เปลี่ยนถ่ายน้ำและทำความสะอาดถังทดลอง สัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในช่วงบ่ายก่อนการให้อาหาร ระหว่างการทดลองมีการตรวจสอบพฤติกรรม ลักษณะอาการของปลา เช่น พฤติกรรมการกินอาหาร ของปลาและลักษณะผิดปกติภายนอกที่อาจเกิดขึ้น และตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาคุกรัสเซีย หลังจากที่ได้รับอาหารทุก 15 วัน โดยชั่งน้ำหนัก

ปลา บันทึกจำนวนปลาที่เหลือเพื่อคำนวณค่าอัตราการรอดตาย น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และบันทึกปริมาณการกินอาหารของปลา ตลอดการทดลองเพื่อคำนวณการเจริญเติบโตและ ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา โดยมีสูตรในการคำนวณดังนี้

(1) อัตราการรอดตาย (survival rate: %)

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

(2) น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (weight gain: กรัม/ตัว)

$$= \text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}$$

(3) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR %/วัน)

$$= \frac{(\ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \ln \text{ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}) \times 100}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

(4) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily growth: ADG)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

(5) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio: FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม/ตัว)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)}}$$

(6) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio: PER)

$$= \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่กินไป (กรัม)}}$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมจากเนื้อปลาล้างสิ้นสุดการทดลองโดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงจาก de Quiros and Costa (2006) โดยทำการแล่นเนื้อปลาแล้วสุมเนื้อปลาน้ำหนัก 3 กรัม (น้ำหนักเปียก) ใส่ในโถงบดเติมผงโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 9 กรัม บดจนแห้งเป็นผงละเอียด เติมเอทานอล

95% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร กับโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 60% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บดตัวอย่างเนื้อปลาล้างจนละลายที่ได้เป็นสีใส (ทำซ้ำ 3-4 ครั้ง) เก็บสารละลายส่วนใสไว้ในขวดสีชา และเทใส่กระบอกตวงเพื่อวัดปริมาณส่วนใสที่ได้ หลังจากนั้นนำตัวอย่างใส่ในกรวยแยกสารเติมไดเอทิลอีเทอร์ในอัตรา 1:1 เติมโซเดียมคลอไรด์ 9% ลงไป เขย่า

แล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นแล้วปล่อยชั้นสีขาวขุ่นส่วนชั้นล่างทิ้งไปเก็บชั้นใสของแคโรทีนอยด์ไว้ เติมนโซเดียมคลอไรด์ 9 % แล้วเขย่าและวางทิ้งให้แยกชั้นสีใสและสีเหลืองปล่อยชั้นสีใสทิ้ง แล้วเก็บสารละลายสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ไว้ วัดปริมาตร

สารสกัดแคโรทีนอยด์ หลังจากนั้นนำสารสกัดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ ดังสมการ ดังนี้

$$\text{ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม / กรัมของน้ำหนักเปียก)} = \frac{A_{450} \times \text{ปริมาตรสารสกัด} \times 1,000}{260 \times \text{มิลลิกรัมของเนื้อพลาสติก}}$$

5. การศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชัน และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิดกลูตาไธโอนรวม

ทำการประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาที่รับประทานทดลองเป็นเวลา 60 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างตับ เพื่อวัด lipid peroxides หรือ วัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ และวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิด กลูตาไธโอนรวม (Glutathione) ที่อยู่ในรูป GSSG และ GSH โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปมีรายละเอียด ดังนี้

1) การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาไลโปเปอร์ออกซิเดชันด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit (Sigma-Aldrich; MAK 085) โดยสกัดจากเนื้อเยื่อตับของปลาทดลองชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ ใช้ตับปลาน้ำหนัก 20 มิลลิกรัม เติมน MDA lysis buffer ปริมาณ 600 ไมโครลิตร และ สาร BHT (100x)

6 ไมโครลิตร บดตัวอย่างด้วยเครื่อง hand homogenizer และหมุนเหวี่ยงภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเร็ว 13,000 xg เป็นเวลา 10 นาที ผสมส่วนใส 200 ไมโครลิตรผสมกับสาร thiobarbituric acid (TBA) ที่ละลายในกรดอะซิติก (glacial acetic acid) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที (ป้องกันตัวอย่างจากแสงภายนอก) ตั้งสารละลายให้เย็น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,600 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ผสมส่วนใสปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (Biochrom, EZ Read 2000) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานของ MDA โดยคำนวณค่าความเข้มข้นของ MDA จากสมการ

$$\text{ความเข้มข้นของ MDA สำหรับตัวอย่าง (นาโนโมล / มิลลิลิตร)} = (S_u / S_v) \times D$$

เมื่อ S_u = ปริมาณ MDA ของตัวอย่างเมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานของ MDA (นาโนโมล)
 S_v = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)
 D = ระดับการเจือจางของตัวอย่าง

2) การวัดปริมาณกลูตาไธโอนรวม ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Glutathione Assay Kit (Sigma-

Aldrich; CS 0260) โดยวิเคราะห์จากตัวอย่างตับปลาหลังทดลอง ชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ สลบลบด้วย

น้ำมันกานพลู และผ้าตัดดับปลาและล้างด้วย PBS buffer ซึ่งเนื้อเยื่อตับน้ำหนัก 30 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด Microtube และแช่ตัวอย่างในอ่างน้ำแข็งแห้งทันที แล้วบดด้วยสารละลาย 5 % Sulfosalicylic acid (SSA) ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง และบดตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 2 - 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำตัวอย่างหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสที่ได้เจือจางความเข้มข้นตามความเหมาะสม และวัดปริมาณกลูตาไธโอน โดยใช้ตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับกับชุดน้ำยาสำเร็จรูป (cocktail, working mixture) 150 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย buffer, co-factor mixture, enzyme

mixture, DTNB (dithiobis 2-nitrobenzoic acid) บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติม NADPH solution ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร แบบ kinetic reaction วัดค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ 30 วินาที นาน 4 นาที คำนวณค่า total glutathione (GSH) โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของ GSH standard stock solution นำตัวอย่างที่ได้วัดปริมาณโปรตีน โดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของตัวอย่างตามวิธี Lowry *et al.* (1951) คำนวณปริมาณกลูตาไธโอนรวม จากสมการ

$$\text{ปริมาณกลูตาไธโอนรวม (นาโนโมลของ GSH / มิลลิลิตรของตัวอย่าง)} = \frac{\Delta A_{412}/\text{min (sample)} \times \text{dilution}}{\Delta A_{412}/\text{min (1 nmole)} \times \text{vol}}$$

เมื่อ $\Delta A_{412}/\text{min (sample)}$ = ความชันกราฟของตัวอย่าง a

$\Delta A_{412}/\text{min (1 nmole)}$ = ความชันกราฟของสารมาตรฐาน GSH standard stock solution

dil = ระดับการเจือจางของตัวอย่าง

vol = ปริมาตรของตัวอย่างในปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลพารามิเตอร์ต่าง ๆ มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้การเปรียบเทียบตามวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 20.0

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา

จากการทดลองเลี้ยงปลาคูกรัสเซียด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับที่แตกต่างกันเป็นเวลา 60 วัน พบว่าระดับของสาหร่ายก้ามกุ้งใน

อาหารส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลา คือค่าน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน โดยปลาที่ได้รับสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 2% มีค่าการเจริญเติบโตสูงที่สุด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลากลุ่มที่ได้รับสาหร่ายระดับ 4% แต่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับ 6 และ 8% รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ ($p < 0.05$) ด้านอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2% มีค่า 2.83 ± 0.22 %/วัน โดยไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรผสมสาหร่ายระดับ 4% และสูตรควบคุม แต่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 6

และ 8% รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ ($p < 0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 6% มีค่าต่ำที่สุด (1.93 ± 0.26 % /วัน) (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาค่าต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของปลาพบว่าที่ระดับ 2.0 % มีผลให้ปลามีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ มีแนวโน้มว่าเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการนำสาหร่ายก้ามกุ้งมาผสมในสูตรอาหาร เนื่องจากให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับสูตรควบคุม สูตรผสมสาหร่าย 4.0 % และอาหารเชิงพาณิชย์ แต่มีความแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย 6.0 และ 8.0 % รวมทั้งพบว่าเมื่อระดับของสาหร่ายที่ผสมในอาหารสูงขึ้นตั้งแต่ 6.0 และ 8.0 % มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่มีค่าสูงขึ้น อาจมีผลมาจากปริมาณเชื้อใยในสูตรอาหารที่มีปริมาณมากขึ้นเมื่อผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้นตามลำดับ ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยเชื้อใยในอาหารทดลอง เนื่องจากปลาคุกรัสเซียเป็นปลากินเนื้อ จึงมีผลให้สูตรอาหารที่ผสมสาหร่ายในระดับ 6.0 และ 8.0 % มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันของปลามีค่าต่ำกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ โดยมีความสอดคล้องกับการใช้สาหร่ายผสมนาง (*Gracilaria fisherii*) ที่ระดับ 30 % ในอาหารปลานิลแปลงเพศที่ส่งผลให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำกว่าสูตรควบคุม (Phromkerd, 2014) จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถผสมสาหร่ายก้ามกุ้งลงในอาหารเลี้ยงปลาคุกรัสเซียได้ที่ระดับ 2.0 % โดยไม่ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของปลา ผลการศึกษาครั้งนี้ได้ผลการศึกษาในทำนองเดียวกับการใช้สาหร่ายสาปรูไลน่าทดแทนปลาป่นในการเลี้ยงปลานิลซึ่งพบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ให้อาหารผสม

สาหร่ายสาปรูไลน่า 5 และ 10 % มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Tongsiri *et al.*, 2012)

อย่างไรก็ตามเนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดหรือแต่ละกลุ่มนั้นมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน รวมถึงระดับการผสมสาหร่ายในอาหารปลาแต่ละชนิดมีระดับที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการกินอาหารของปลาและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีนจากพืชของปลาแต่ละชนิดแตกต่างกัน จึงส่งให้ระดับที่เหมาะสมในการนำสาหร่ายไปผสมในสูตรอาหารมีความต่างกันออกไปเช่นการใช้สาหร่ายสาปรูไลน่าสดที่ระดับ 0, 5, 10 และ 100 % ในสูตรอาหารปลานิล มีผลให้ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลามีความแตกต่างกันที่ระดับ 5 และ 10 % ของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาดีที่สุด (Tongsiri *et al.*, 2012) ส่วนการใช้สาหร่ายไค (*C. glomerata*) เป็นอาหารเลี้ยงปลานิล 4 ระดับ ได้แก่ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 % พบว่าทุกระดับให้ผลการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน (Ruangsombon and Choochote, 2004)

อัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่ได้รับสาหร่ายทุกระดับโดยมีค่าอยู่ในช่วง $53.33 \pm 15.28 - 75.00 \pm 5.00$ % ยกเว้นปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 6% มีอัตราการรอดตายสูงสุด (ตารางที่ 2) มีแนวโน้มว่าในสาหร่ายก้ามกุ้งมีสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะสารพฤกษเคมีกลุ่มสำคัญหลายชนิด (Chankaew *et al.*, 2020) และปริมาณรงควัตถุ 2 กลุ่มคือ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ รวมถึงมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาด้วย (ตารางที่ 2) และปริมาณกลูตาไธโอนในปลา (ตารางที่ 3) ที่เพิ่มขึ้นตามระดับของสาหร่ายในอาหาร จึงมีความเป็นไปได้ว่าสาหร่ายในอาหารทดลองมีผลให้สุขภาพของปลาโดยสามารถลดความเครียดทำให้ปลาสุขภาพดีเช่นเดียวกับการใช้

สาหร่ายเตา (*Spirogyra* spp.) มาเสริมในอาหารเลี้ยงปลาชนิดซึ่งสามารถเพิ่มอัตราการรอดได้ดี (Teerawat *et al.*, 2002)

ปริมาณอาหารที่ปลากินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วง $40.67 \pm 12.17 - 57.47 \pm 11.18$ กรัม/ตัว แต่ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปลาที่ได้รับสาหร่ายผสมอาหารระดับ 2% มีค่าดีที่สุดไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่าย 4% และอาหารสูตรควบคุม รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ (ตารางที่ 2) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายระดับสูงขึ้นคือ 6 และ 8% มีค่าอัตราการเปลี่ยนเป็นเนื้อสูงสุด โดยมีค่า 1.79 ± 0.27 และ 1.81 ± 0.35 ตามลำดับ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาทดลองมีความแตกต่างกันในปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายในระดับที่แตกต่างกันคือปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับ 2% มีค่าสูงที่สุด (3.22 ± 0.51) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลากลุ่มที่ได้รับสาหร่ายระดับ 4% (2.76 ± 0.41) แต่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและปลาที่ได้รับสาหร่ายที่ระดับ 6 และ 8% รวมทั้งอาหารเชิงพาณิชย์ ($p < 0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายระดับสูงขึ้นคือ 6 และ 8% มีค่าต่ำที่สุดมีค่า 1.87 ± 0.31 และ 1.89 ± 0.33 ตามลำดับ

2. ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลา

ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารทดลองตลอดระยะเวลา 60 วัน พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 8.0 % มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อสูงกว่าสูตรอาหารควบคุม สูตรผสมสาหร่ายที่ระดับ 2.0 % และสูตรอาหารเชิงพาณิชย์ ($p < 0.05$) และสูตรอาหารที่ผสมสาหร่ายที่ระดับ 4.0%, 6.0% และ 8.0 % มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาปริมาณของแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารสูตรผสมสาหร่าย 8.0 % มีค่าเท่ากับ 0.569 ± 0.30 มก./ก. ตัวอย่าง โดยเมื่อปลาได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลามีค่าเพิ่มขึ้นจากสูตรควบคุมประมาณ 3.69 เท่า ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการใช้สาหร่ายไถ (*C. glomerata*) ในอาหารปลานิลที่พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทุกระดับมีค่าสูงและมีความแตกต่างทางสถิติกับสูตรควบคุม โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่าย 7.5 % มีค่ามากกว่าสูตรควบคุม 4 - 13 เท่า (Ruangsomboon and Choochote, 2004) นอกจากนี้ยังเป็นไปทำนองเดียวกับการใช้สาหร่ายสไปรูไลน่าและสาหร่ายไถในการเลี้ยงปลาคุกรัสเซียเป็นเวลา 60 วัน ซึ่งมีผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรผสมสาหร่ายไถ 5 % เท่ากับ 2.37 ± 0.15 ไมโครกรัมต่อกรัมของเนื้อปลา ซึ่งมากกว่าสูตรผสมสาหร่ายสไปรูไลน่า 5, 3 และ 0 % ตามลำดับ (Promya *et al.*, 2009) ผลการศึกษารังนี้สอดคล้องกับการใช้สาหร่ายสไปรูไลน่าสผสมในอาหารสำเร็จรูปในการเลี้ยงปลานิลแดง ที่ส่งผลให้มีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นตามระดับของสาหร่ายที่ผสมในอาหาร (Promya *et al.*, 2007) จะเห็นได้ว่าสาหร่ายก้ามกุ้งมีแนวโน้มว่ามีศักยภาพในการเพิ่มปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาคุกรัสเซียได้ ซึ่งในเนื้อปลาที่มีการสะสมสารแคโรทีนอยด์ก็จะมีผลให้มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคมากขึ้น รวมทั้งสามารถเพิ่มมูลค่าของปลาและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมากขึ้นด้วย (Qiufen *et al.*, 2012) นอกจากนี้ ผู้ผลิตอาหารสัตว์น้ำนิยมใช้สาหร่ายผสมในอาหารปลาสวยงามเนื่องจากปลาไม่สามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์เองได้ (Li *et al.*, 2016; Sathyaruban *et al.*, 2021) อย่างไรก็ตาม การสะสมแคโรทีนอยด์ในตัวปลานั้นมีการสะสมใน

หลายอวัยวะเช่น ผิวหนัง ไข่ ตับปลา และระบบ
ทางเดินอาหาร ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์
มากขึ้นจึงควรมีการศึกษาในอวัยวะดังกล่าวร่วมด้วย

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต อัตรารอด ปริมาณอาหารที่ปลากิน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และ
ปริมาณแกลโรทีนอยด์ในเนื้อของปลาตุกรัสเซียที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายก้ามกุ้งในระดับต่างกัน
เป็นระยะเวลา 60 วัน

พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง					อาหารเชิงพาณิชย์
	1 (0%)	2 (2.0 %)	3 (4.0 %)	4 (6.0%)	5 (8.0%)	
น้ำหนักเฉลี่ย						
ต่อตัว (ก./ตัว)	44.30±4.15 ^{bc}	61.92±7.95 ^a	57.76±12.54 ^{ab}	36.04±5.80 ^c	39.88±4.64 ^c	40.79±13.81 ^c
น้ำหนักที่						
เพิ่มขึ้น (ก./ตัว)	33.06±4.15 ^{bc}	50.67±7.95 ^a	46.52±12.54 ^{ab}	24.80±5.80 ^c	28.64±4.64 ^c	29.55±13.81 ^c
อัตราการเจริญ						
เติบโตเฉลี่ย						
ต่อวัน (ก./ตัว)	0.55±0.07 ^{bc}	0.84±0.13 ^a	0.78±0.21 ^{ab}	0.41±0.10 ^c	0.48±0.08 ^c	0.49±0.23 ^c
อัตราการเจริญ						
เติบโตจำเพาะ						
(%/ วัน)	2.28±0.16 ^{abc}	2.83±0.22 ^a	2.70±0.37 ^{ab}	1.93±0.26 ^c	2.10±0.20 ^{bc}	2.08±0.56 ^{bc}
อัตราการ						
รอดตาย (%)	66.67±7.64 ^b	53.33±10.41 ^b	53.33±15.28 ^b	98.33±2.89 ^a	75.00±5.00 ^b	63.33±22.55 ^b
ปริมาณอาหารที่						
ปลากิน (ก./ตัว)	48.46±7.83 ^a	54.38±5.19 ^a	57.47±11.18 ^a	43.24±3.15 ^a	50.73±0.73 ^a	40.67±12.17 ^a
อัตราการเปลี่ยน						
อาหารเป็นเนื้อ	1.47±0.17 ^{ab}	1.09±0.16 ^a	1.26±0.17 ^a	1.79±0.27 ^b	1.81±0.35 ^b	1.31±0.35 ^{ab}
ประสิทธิภาพ						
การใช้โปรตีน	2.30±0.26 ^{bc}	3.22±0.51 ^a	2.76±0.41 ^{ab}	1.87±0.31 ^c	1.89±0.33 ^c	2.35±0.49 ^{bc}
แกลโรทีนอยด์						
(ไมโครกรัม./ก						
น้ำหนักเปียก)	0.154±0.01 ^b	0.262±0.07 ^b	0.429±0.23 ^{ab}	0.459±0.05 ^{ab}	0.569±0.30 ^a	0.173±0.04 ^b

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอนี้เป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

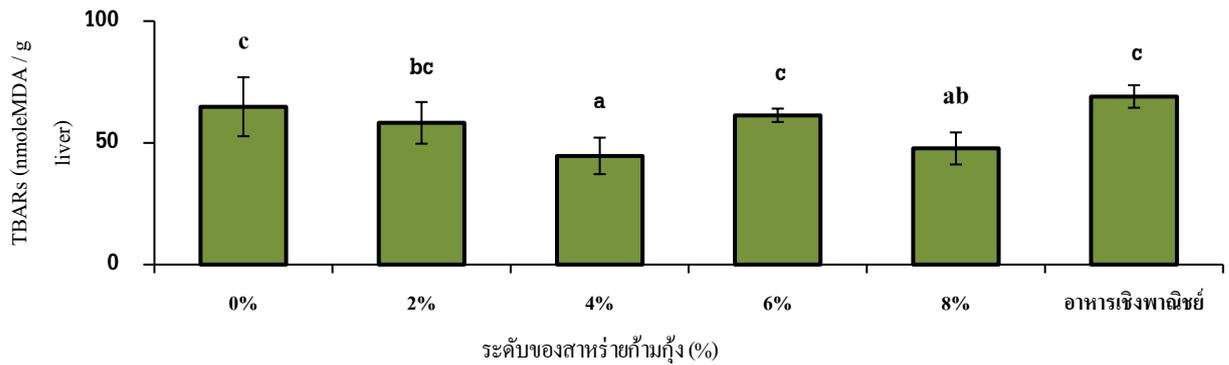
3. การป้องกันภาวะออกซิเดชันในปลาตุกรัสเซีย

3.1 ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

จากการทดลองเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาครัสเตเชียเป็นระยะเวลา 60 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันโดยวัดระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่เป็นผลผลิตของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation, LPO) ในตัวอย่างตับของปลาครัสเตเชีย พบว่าการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารมีผลให้ลดปริมาณการเกิด LPO ในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายที่ระดับในปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมสาหร่ายที่ระดับ 4 และ 8% ซึ่งมีค่าการเกิด LPO ที่ต่ำกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารเชิงพาณิชย์ โดยมีค่า 44.63±7.50 และ 47.69±6.57 nmol MDA / g liver ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารเชิงพาณิชย์ แต่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายที่ระดับ 6% มีค่า 61.31±2.75 nmol MDA / g liver ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรควบคุม สูตรที่เสริมสาหร่ายที่ระดับ 2% และอาหารเชิงพาณิชย์ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 1) การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาครัสเตเชียส่งผลต่อระดับการเกิด LPO โดยการเสริมสาหร่ายที่ระดับ 4 และ 8% มีผลลดการเกิด LPO ซึ่งเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันภายในเซลล์ ซึ่งเป็นผลดีต่อตัวสัตว์น้ำในการเป็นเกราะป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชัน ผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาในปลาน้ำจืดบางชนิด เช่น ในปลาหนังลูกผสม (*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*) ที่พบว่าการเสริมสาหร่ายไค (*Cladophora* spp.) ในอาหารที่ระดับ 5-10% มีผลให้ลดระดับการเกิด LPO ในตับลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในเดือนที่ 5 และเดือนที่ 7 (Amornlerdpison *et al.*, 2015) และการใช้สาหร่ายเตา (*Spirogyra* sp.) ผสมในอาหารที่ระดับเดียวกันคือ

5-10% เป็นระยะเวลา 4 เดือน มีผลในการลดระดับการเกิด LPO ในไตและตับของปลานิลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Teerawat *et al.*, 2002)

ปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อเยื่อตับปลาครัสเตเชียกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งที่ระดับ 4 และ 8 % มีแนวโน้มต่ำกว่าปลาในสูตรควบคุม สูตรเสริมสาหร่ายที่ระดับ 2 และ 6 % และอาหารเชิงพาณิชย์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการได้รับอาหารเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งมีผลให้ลดการเกิด LPO ซึ่งคือภาวะเครียดออกซิเดชันที่มีสาเหตุมาจากไขมันโดยเมื่อไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์เมมเบรนถูกอนุมูลอิสระ เข้าทำลายจะเกิดขบวนการ LPO ซึ่งเป็นตัวหลักที่สร้างความเสียหายให้แก่เซลล์และทำให้เซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Hermes-Lima *et al.*, 1998) จากข้อมูลการเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาครัสเตเชียต่อภาวะเครียดออกซิเดชันมีแนวโน้มว่าการเสริมสาหร่ายสามารถลดระดับการเกิด LPO ได้ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้ให้ผลการลดปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อเยื่อตับปลาที่ไม่ชัดเจน อาจสืบเนื่องจากระยะเวลาในการเลี้ยงปลาเพียง 60 วัน เท่านั้น ซึ่งต่างจากรายงานของการเลี้ยงปลาหนังลูกผสม โดยใช้สาหร่ายไค (Amornlerdpison *et al.*, 2015) และการเลี้ยงปลานิลโดยใช้สาหร่ายเตา (Teerawat *et al.*, 2002) ซึ่งใช้เวลาในการเลี้ยงปลาเป็นเวลายาวนานน้อย 4 เดือน นอกจากนี้เพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น อาจจะต้องมีการทดลองเฉพาะด้านการป้องกันภาวะออกซิเดชันและควรให้ปลาทดลองอยู่ในสภาวะที่ได้รับความเครียด (stress) ก่อนได้รับอาหารสูตรผสมสาหร่าย ดังเช่นการศึกษาในสารสกัดด้วยน้ำร้อนของสาหร่าย *Sargassum* sp. ในการเลี้ยงปลากระพงขาว (Yangthong *et al.*, 2012)



ภาพที่ 1 ระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) ของปลาดุกกรัสเซียที่ได้รับอาหารเสริมสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับแตกต่างกัน
หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3.2 ปริมาณกลูตาไธโอนรวม

จากการศึกษาปริมาณกลูตาไธโอนรวม (GSH) ในปลาดุกกรัสเซียหลังจากได้รับอาหารทดลองที่เสริมสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับต่าง ๆ กัน พบว่าระดับของสารต้านอนุมูลอิสระส่งผลต่อปริมาณกลูตาไธโอนรวม โดยพบว่าปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเสริมสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับ 6 และ 8 % ซึ่งมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ไม่ได้รับการผสมสารต้านอนุมูลอิสระ (สูตรควบคุม) มีค่า 171.00 ± 23.90 nmol GSH/mL sample และ 184.77 ± 12.52 nmol GSH/mL sample ตามลำดับ (ตารางที่ 3) แต่การเสริมในระดับที่ต่ำกว่าคือ 2 และ 4 % ให้ค่า GSH ที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและอาหารเชิงพาณิชย์ มีค่า 130.90 ± 3.13 nmol GSH/mL sample และ 135.08 ± 9.83 nmol GSH/mL sample ตามลำดับ ($p > 0.05$) การเสริมสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารมีผลต่อการเพิ่มปริมาณ GSH ในตัวอย่างตัวของปลาดุกกรัสเซียที่ได้รับอาหารเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยปลาดุกที่ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับสูงคือ 6 และ 8 % มีระดับ GSH สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและปลาที่ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับต่ำคือ 2 % และ 4 % ซึ่ง

แตกต่างกับการศึกษาในปลาหนังลูกผสมที่ได้รับอาหารเสริมสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับ 2.5-10.0 % ที่ไม่มีผลต่อระดับ GSH ในเม็ดเลือดแดง (Amornlerdpison *et al.*, 2015) ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากอวัยวะที่ใช้ในการวัดที่แตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาโดย Rodriguez-Ariza *et al.* (1994) ที่รายงานว่าตับเป็นอวัยวะที่ตอบสนองต่อระดับ GSH ในปลา โดยกลูตาไธโอนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย เป็นตัวช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกายของคนหรือสัตว์

ปริมาณ GSH ในเนื้อเยื่อตับปลาดุกกรัสเซียกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมสารต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่เสริมในสูตรอาหาร (ตารางที่ 3) ซึ่ง GSH คือไตรเปปไทด์ (tripeptide) ที่มีโครงสร้างประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กรดกลูตามิก ซิสเตอีน และไกลซีน จับกับหมู่ซัลเฟอร์ด้วยพันธะโควาเลนต์ (Struznka *et al.*, 2005) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่เป็นเอนไซม์ แต่เป็นสารร่วม (co-enzyme) ของเอนไซม์ GPx โดย GSH มีบทบาทในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาการเกิด LPO (Pinho *et al.*, 2005) โดยจะทำให้ปฏิกิริยาถูกชะของการเกิด LPO ภายในเซลล์สิ้นสุดลง (Storey, 1996)

ตารางที่ 3 ปริมาณกลูตาไธโอนรวมในปลาคุกรัสเซียที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งระดับแตกต่างกัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณกลูตาไธโอน (nmol GSH/mL sample)
1. 0% (ควบคุม)	133.12±4.17 ^c
2. 2%	130.90±3.13 ^c
3. 4%	135.08±9.83 ^c
4. 6%	171.00±23.90 ^{ab}
5. 8%	184.77±12.52 ^a
6. อาหารเชิงพาณิชย์	143.94±11.27 ^{bc}

หมายเหตุ: ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ระดับของสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลาทดลองพบว่าระดับที่ 2% มีแนวโน้มว่าเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด ในด้านการเจริญเติบโตเนื่องจากมีอัตราการแลกเนื้อต่ำแต่มีอัตราการรอดต่ำ ไม่สามารถลดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน รวมทั้งไม่สามารถเพิ่มระดับกลูตาไธโอนได้ ในขณะที่เมื่อระดับสาหร่ายมีเพิ่มขึ้นเป็นระดับ 6% ส่งผลให้ค่าอัตราการแลกเนื้ออาหารเป็นเนื้อและปริมาณแคโรทีนอยด์สูงขึ้น มีอัตราการตายเพิ่มขึ้น ซึ่งแนวโน้มว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสาหร่ายในสูตรอาหารจะส่งผลดีขึ้นในการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาเพิ่มขึ้นเนื่องจากปลาได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายเพิ่มมากขึ้น แต่เมื่ออาหารมีสาหร่ายเป็นส่วนผสมมากขึ้นส่งผลให้ค่าอัตราการแลกเนื้อมีค่าสูง อาจมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยของปลาคุกรัสเซียซึ่งเป็นปลากินเนื้อรวมทั้งผนังเซลล์ของสาหร่ายก้ามกุ้งเป็นสารเซลลูโลส (Peerapompisal, 2006) ทำให้การประสิทธิภาพในการย่อยเยื่อใยลดลง ดังนั้น แนวทางในการใช้สาหร่ายก้ามกุ้งมาเป็นอาหารให้ได้ประสิทธิภาพมากขึ้นโดยสามารถเพิ่มระดับของสาหร่ายในสูตรอาหาร สามารถใช้วิธีการสกัดสาหร่ายที่เหมาะสมเพื่อนำสารสำคัญมาผสมในสูตรอาหารหรือการใช้วิธีการหมักสาหร่ายด้วยวิธีการ

ต่าง ๆ ก่อนจะนำมาผสมในสูตรอาหาร คาดว่าจะส่งผลให้ปลาโตดีขึ้น ค่าอัตราการแลกเปลี่ยนเป็นเนื้อต่ำลง มีภาวะป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันดีขึ้นและการสะสมแคโรทีนอยด์ในเนื้อสูงขึ้น อย่างไรก็ตามควรให้สัดส่วนของไขมันในสูตรอาหารด้วยเนื่องจากปริมาณไขมันที่น้อยเกินไปจะทำให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำลง ซึ่งในสูตรอาหารของการทดลองนี้มีแนวโน้มว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสาหร่ายในสูตรอาหารทำให้ปริมาณไขมันในสูตรอาหารลดลง

สรุป

การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งเป็นวัตถุดิบอาหารปลาคุกรัสเซียเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าปลาคุกรัสเซียที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายที่ระดับ 2% มีค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสูตรควบคุม และมีแนวโน้มว่าเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดในการนำสาหร่ายก้ามกุ้งมาผสมในสูตรอาหารปลาคุกรัสเซีย การเสริมสาหร่ายที่ระดับ 6% มีค่าอัตราการตายที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับสูตรควบคุม ปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของสาหร่ายในอาหารมากขึ้น การเสริมสาหร่ายก้ามกุ้งในอาหารปลา

ดูกรัสเซียที่ 4 และ 8 % สามารถลดระดับการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในตับของปลาได้ ในขณะที่การเสริมสาหร่ายที่ระดับ 6 และ 8 % ส่งผลให้เพิ่มปริมาณ กลูตาไธโอนรวมในปลาคูกรัสเซียได้ ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าสาหร่ายก้ามกุ้งสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาคูกรัสเซียได้และควรเสริมในอาหารปลารัสเซียที่ระดับไม่เกิน 2 %

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว) ที่ได้สนับสนุนทุนการวิจัยในแผนบูรณาการวิจัยงบประมาณประจำปี 2563 ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

Amornlerdpison, D., Ngernjan, M., Mengumphan, K. and Junthip, R. 2015. Active compounds and oxidative defense of *Cladophora* spp. in hybrid catfish. **KMUTT Research and Development Journal** 33(4): 393-405. (in Thai)

AOAC. 2000. **Official methods of association of official analytical chemists.** Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Chankaew, W., Amornlerdpison, D., Mahae, N., Na Nakorn, W. and Amornwiriychai, V. 2018. *Chara corallina* Klein ex Willdenow (Charales), A new report of edible freshwater alga in southern Thailand, p.16. *In The 7th International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development.* Bali, Indonesia.

Chankaew, W., Yangtong, M. and Sangkaew, J. 2020. Evaluation of antioxidant activity and phytochemical from KamKung (*Chara corallina* Klein ex C.L.Willdenow). **Princess of Naradhiwas University Journal** 12(3): 296-314. (in Thai)

de Quiros, A.R. and Costa, H.S. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma sample: a review. **Journal of Food Composition and Analysis** 19: 97-111.

Hermes-Lima, M., Storey, J.M. and Storey, K.B. 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. **Comparative Biochemistry Physiology** 120: 437-448.

Kari, Z.A., Kabir, M.A., Mat, K., Rusli, N.D., Razab, M.K.A., Ariff, N.N.A., Edinur, H.A., Rahim, M.Z.A., Pati, S., Dawood, M.A.O. and Wei, L.S. 2021. The possibility of replacing fish meal with fermented soy pulp on the growth performance, blood biochemistry, liver and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture Reports** 21(1): 100815.

Li, T., He, C., Ma, Z., Xing, W., Jiang, N., Li, W., Sun, X. and Luo, L. 2016. Effect of different carotenoids on pigmentation of blood parrot (*Cichlasoma sypilum* x *Cichlasoma citrinellum*). **Journal of Aquaculture Research & Development** 7(3): 1000414.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement

- with folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry** 193(1): 256-275.
- Marcogliese, D.J., Brambilla, L.G., Gagné, F. and Gendron, A.D. 2005. Joint effects of parasitism and pollution on oxidative stress biomarkers in Yellow perch (*Perca flavescens*). **Diseases of Aquatic Organisms** 63(1): 77-84.
- Peerapornpisal, Y. 2006. **Phycology**. 2nd ed. ChiangMai University, ChiangMai. (in Thai)
- Phromkerd, W. 2014. Utilization from *Gracilaria fisheri* for feed Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Wicha Journal** 33(1): 52-64. (in Thai)
- Pinho, G.L.L., Rosa, M.D., Maciel, F.E., Bianchini, A., Yunes, J.S., Proenca, L.A.O. and Monserrat, J.M. 2005. Antioxidant responses and oxidative stress after microcystin exposure in the hepatopancreas of an estuarine crab species. **Ecotoxicology Environmental Safety** 61(3): 353-360.
- Promya, J., Ungsethaphan, T. and Srinuansom, K. 2007. Effect of raw *Spirulina* on growth performance, nutrition values and carotenoid in red Tilapia (*Oreochromis* sp.). **Journal of Fisheries Technology Research** 1(1): 30-41. (in Thai)
- Promya, J., Srinuansom, K. and Chitmanat, C. 2009. Effect of *Spirulina platensis* and *Cladophora* on growth performance, meat quality and immunity stimulation capacity of African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*). **Journal of Fisheries Technology Research** 62(6): 511-518. (in Thai)
- Promya, J. and Chimanat, C. 2011. The effect of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African Catfish (*Clarias gariepinus*). **International Journal of Agriculture and Biology** 13: 77-82.
- Promya, J., Thongmee, B. and Srinuansom, K. 2012. The effect of *Spirulina platensis* feeding on growth performance, gonadosomatic index and immunity stimulating capacity of fancy carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). **Journal of Fisheries Technology Research** 6(1): 11-22. (in Thai)
- Qiufen, D., Yong, Y. and Shi, S. 2012. Nutrition and changes in fish body colouration in catfish. **AQUA Culture Asia Pacific Magazine** 8(1): 26-28.
- Rodriguez-Ariza, A., Toribio, F. and Lopez-Barea, J. 1994. Rapid determination of glutathione status in fish liver using high-performance lipid chromatography and electrochemical detection. **Journal Chromatography B: Biomedical Sciences Applications** 656 (2): 311-318.
- Ruangsomboon, R. and Choochote, S. 2004. Chemical composition and growth performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets supplemented with green alga, *Cladophora glomerata*. **King Mongkut's Agricultural Journal** 32(2): 1-8. (in Thai)
- Rueda-Jasso, R., Conceicao, L.E.C., Dias, J., De Coen, W., Gomes, E., Roes, J.F., Soares, F., Dinis, M.T. and Sorgeloos, P. 2004. Effect dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole

- (*Solea senegalensis*) juvenile. **Aquaculture** 231: 417-433.
- Sathyaruban, S., Ulawnduge, D.I., Yohi, S. and Kuganathan, S. 2021. Potential natural carotenoid sources for the colouration of ornamental fish: a review. **Aquaculture International** 29: 1507-1528.
- Sommer, T.R., D'Souza, F.M.L. and Morrissy, N.M. 1992. Pigmentation of adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga, *Haematococcus pluvialis*. **Aquaculture** 106(1): 63-74.
- Storey, K.B. 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 29(12): 1715-1733.
- Struznka, L., Chalimoniuk, M. and Sulkowski, G. 2005. The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity. **Toxicology** 212(2-3): 185-194.
- Teerawat, R., Kriangsak, M., Chutima, S., Rattanapon, J. and Amornlerdpison, D. 2002. Antioxidant activity of *Spirogyra* sp. and effect of its supplementation on growth performance of Tilapia in cage culture. **Journal of Fisheries Technology Research** 6(2): 23-34. (in Thai)
- Tongsiri, S., Mengumphan, K. and Peerapompisal, Y. 2012. A study on the growth and carotenoid content in the flesh of Makong Giant Catfish fed with *Spirulina*. **KKU Science Journal** 40(1): 198-207. (in Thai)
- Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthong, W. 2009. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. **Plant Foods Human Nutrient** 64(3): 218-223.
- Yangthong, M., Thawonsuwan, J., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthong, W. 2012. Effects of hot-water from *Sargassum* sp. on antibacterial activity, non-specific immunity and TBARS production on Asian Seabass (*Lates calcarifer*, Bloch). **Kasetsart University Fisheries Research Bulletin** 36(3): 30-42.

คุณลักษณะทางเคมีฟิสิกส์และจลนศาสตร์การสลายตัวของใบอ้อย ของใบอ้อยโดยใช้การวิเคราะห์เทอร์โมกราวิเมตริก

Physicochemical Characterization and Thermal Decomposition Kinetic of Sugarcane Leave using Thermogravimetric Analysis

จารุณี เข้มพิลา^{1*} ภูมินทร์ คงโต² และ ชัชฎาภา เกตุวงศ์³

Jarunee Khempila^{1*}, Pumin Kongto² and Chatyapha Ketwong³

Received: 3 April 2023, Revised: 25 August 2023, Accepted: 25 September 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาคุณลักษณะด้านเชื้อเพลิง จลนศาสตร์และพลวัตการสลายตัวของใบอ้อย (พันธุ์ขอนแก่น 3) เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวภาพแข็ง โดยวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี องค์ประกอบแบบประมาณ องค์ประกอบแบบละเอียด ค่าความร้อนสูง หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ และจลนศาสตร์การสลายตัวของใบอ้อย ด้วยวิธีวิเคราะห์เทอร์โมกราวิเมตริก (Thermogravimetric analysis) แบบนอนไอโซเทอร์มอล (Non-isothermal) ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ในช่วงอุณหภูมิ 25-800 องศาเซลเซียส ที่อัตราการให้ความร้อนคงที่ 3 ระดับ คือ 5 10 และ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยใช้ 2 แบบจำลองคือ Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) และ Flynn-Wall-Ozawa (FWO) ผลการศึกษาพบว่า ใบอ้อยมีองค์ประกอบเซลลูโลสมากที่สุด (ร้อยละ 41.41) รองลงมาคือ เฮมิเซลลูโลส (ร้อยละ 36.68) และลิกนินมีค่าน้อยที่สุด (ร้อยละ 6.39) ปริมาณคาร์บอนคงตัว สารระเหย ไม้ และค่าความร้อนสูงของใบอ้อยมีค่าร้อยละ 14.38 69.63 9.04 และ 17.76 เมกะจูลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ อัตราส่วนอะตอมของออกซิเจนต่อคาร์บอน (O/C) และไฮโดรเจนต่อคาร์บอน (H/C) ของใบอ้อยมีค่าเป็น 0.77 และ 1.64 ตามลำดับ อีกทั้งพบความเข้มของพีการสันของหมู่ไฮดรอกซิลจึงจำเป็นต้องปรับปรุงคุณภาพก่อนนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงแข็ง ผลการคำนวณค่าพลังงานก่อกัมมันต์เฉลี่ยด้วยแบบจำลอง KAS และ FWO พบว่ามีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน คือ 197.66 และ 197.88 กิโลจูลต่อโมล ตามลำดับ

คำสำคัญ: ใบอ้อย, เชื้อเพลิงชีวภาพ, จลนศาสตร์, การสลายตัวของใบอ้อย, การวิเคราะห์เทอร์โมกราวิเมตริก

¹ สาขาวิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

¹ Physics Program, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Mahasarakham University, Muang, Maha Sarakham 44000, Thailand.

² ศูนย์วิจัยชีวมวล พลังงาน และเทคโนโลยียั่งยืน คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

² Biomass Energy and Sustainable Technologies, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand.

³ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

³ Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Mahasarakham University, Muang, Maha Sarakham 44000, Thailand.

* ผู้รับผิดชอบประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): jarunee.kh@rmu.ac.th Tel. 08 2135 1536

ABSTRACT

In this study, the fuel characteristics, thermal decomposition behavior, and kinetics of sugarcane leaves (Khon Kaen 3) were investigated as a solid biofuel. Characterization of the sugarcane leaves was undertaken in terms of chemical composition, proximate and ultimate analyses, heating value, and functional group. Thermal decomposition (25-800 °C) was analyzed in nitrogen atmospheres by non-isothermal thermogravimetry analysis using heating rates of 5, 10, and 20 °C/min. The kinetic analysis was carried out via two model-free methods: the Kissinger–Akahira–Sunose (KAS) and the Flynn–Wall–Ozawa (FWO). The results showed that sugarcane leaves contained the highest value of cellulose (41.41%), followed by hemicellulose (36.68%), and lignin (6.39%). The fixed carbon, volatile matter, ash, and higher heating value of sugarcane leaves were 14.38%, 69.63%, 9.04%, and 17.76 MJ/kg, respectively. The atomic oxygen-to-carbon (O/C) and hydrogen-to-carbon (H/C) ratios of sugarcane leaves were 0.77 and 1.64, respectively, which are not suitable for use as solid fuels. Additionally, the hydroxyl group oscillations were presented in sugarcane leaves; therefore, the quality of sugarcane leaves should be improved. The kinetics analysis showed that the mean activation energies of the KAS and the FWO models were similar, namely 197.66 kJ/mol and 197.88 kJ/mol, respectively.

Key words: sugarcane leave, biofuel, kinetic, thermal decomposition, thermogravimetric analysis

บทนำ

ข้าว อ้อย ข้าวโพด มันสำปะหลัง ยางพารา และ ปาล์มน้ำมัน เป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศ นอกจากผลผลิตหลักที่ได้จากพืชเหล่านี้แล้วยังมีส่วนที่เป็นเศษเหลือทางการเกษตรหรือชีวมวลจำนวนมาก ที่นำมาใช้ประโยชน์ด้านพลังงาน ซึ่งเกิดจาก กระบวนการเพาะปลูก เก็บเกี่ยวและแปรรูปผลผลิต ได้แก่ ชีวมวลจากข้าวโพด (ลำต้นข้าวโพดและ ชังข้าวโพด) ชีวมวลจากข้าว (ฟางข้าวและแกลบ) ชีวมวลจากอ้อย (ใบอ้อยและชานอ้อย) ชีวมวลจาก มันสำปะหลัง (ลำต้น เปลือกและเหง้ามันสำปะหลัง) ชีวมวลจากปาล์ม (ลำต้น ใบและทางปาล์ม ทะลาย ปาล์มเปล่า เส้นใยและกะลาปาล์ม) ชีวมวลจาก ไม้ยางพารา (กิ่งก้าน ปลายไม้ ปีกไม้ และขี้เลื่อย) และ ชีวมวลจากมะพร้าว (เปลือก กาบ และกะลามะพร้าว) ดังนั้น ชีวมวลเหล่านี้จึงมีศักยภาพด้านปริมาณอีกทั้ง

ยังสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงในโรงไฟฟ้าชีวมวล ซึ่ง ณ ปี 2565 ประเทศไทยมีจำนวนโรงไฟฟ้าชีวมวล ทั้งสิ้น 79 แห่ง (Rattanapreechachai, 2023) โดยใช้ เชื้อเพลิงจากชีวมวลที่หลากหลาย ได้แก่ ข้าว อ้อย ข้าวโพด มันสำปะหลัง มะพร้าว และปาล์ม ไม้ยางพารา ไม้ยูคาลิปตัส ไม้เบญจพรรณ ไม้ไผ่ ใบไผ่ หญ้าเนเปียร์ รากไม้ และน้ำกากส่า จากที่กล่าวมา ข้างต้น เมื่อพิจารณาชีวมวลจากอ้อย พบว่าชานอ้อย ได้นำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับโรงไฟฟ้าแต่ยังมี ชีวมวลบางส่วนที่มีศักยภาพในการใช้เป็นเชื้อเพลิง และมีปริมาณมากแต่ยังมิได้มีการรวบรวม เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงอย่างเป็นทางการนั้นคือ ใบอ้อย จากข้อมูลสถิติการส่งออกพบว่าประเทศไทยส่งออก น้ำตาลที่ได้จากการแปรรูปอ้อยเป็นอันดับสองของ โลกรองจากบราซิล ในปี พ.ศ. 2563-2564 มีปริมาณ ผลผลิตอ้อยสูงถึง 135.9 ล้านตัน และเมื่อพิจารณา

ปริมาณผลผลิตประกอบกับค่าสัดส่วนการเกิด วัสดุเหลือใช้จากปริมาณผลผลิต (Residue to Product Ratio, RPR) พบว่า ชานอ้อย และใบอ้อย (รวมยอด อ้อย) มีปริมาณเศษเหลือประมาณร้อยละ 20 และ 30 ตามลำดับ ปัจจุบันโรงงานน้ำตาลใช้ชานอ้อยเป็น เชื้อเพลิงหลักเพื่อผลิตไฟฟ้าใช้ในโรงงาน ดังนั้น จึงนับได้ว่าชานอ้อยมีศักยภาพเป็นศูนย์กลางในการ นำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวมวลเมื่อเทียบกับใบอ้อย ขณะที่ใบและยอดอ้อยเป็นเศษเหลือที่เกิดใน กระบวนการเก็บเกี่ยวและเหลือทิ้งไว้ในพื้นที่ปลูก ปัจจุบันใบอ้อยบางส่วนเริ่มนำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงใน โรงงานน้ำตาลซึ่งเป็นผลจากมาตรการส่งเสริมของ ภาครัฐที่ต้องการลดปัญหามลพิษจากฝุ่น PM 2.5 และ หมอกควันที่มาจากเผาใบอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยว โดยพบว่า ในช่วงปี พ.ศ. 2554-2564 โรงงานน้ำตาล มีปริมาณการรับซื้ออ้อยไฟไหม้ลดลงมากกว่าร้อยละ 60 จากปี พ.ศ. 2554 ซึ่งในปี พ.ศ. 2564 นั้นปริมาณ อ้อยทั้งหมดที่โรงงานรับซื้อจำนวน 92 ล้านตัน มีสัดส่วนเป็นปริมาณอ้อยไฟไหม้ร้อยละ 27 เท่านั้น อย่างไรก็ตามการใช้ใบอ้อยเป็นเชื้อเพลิงยังมีปริมาณ ไม่มากเมื่อเทียบกับปริมาณเศษเหลือที่มีอยู่ ทั้งนี้การ นำใบและยอดอ้อยมาเป็นเชื้อเพลิงในการเผาไหม้ หรือเผาไหม้ร่วมกับชานอ้อยหรือชีวมวลประเภท อื่น ๆ นั้นจำเป็นต้องอ้างอิงที่จะต้องพิจารณาสมบัติด้าน การเป็นเชื้อเพลิงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้จะนำไปใช้เป็น เชื้อเพลิงสำหรับเผาไหม้โดยตรงแล้ว การปรับปรุง ทางความร้อนจึงเป็นอีกหนึ่งกระบวนการที่ช่วย ปรับปรุงสมบัติของเชื้อเพลิงให้ดีขึ้นซึ่งเป็น กระบวนการแปรสภาพชีวมวลเป็นผลิตภัณฑ์ด้วย กระบวนการทางเคมีความร้อนส่งผลให้อินทรีย์สาร ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของชีวมวลเกิดการสลายตัว และการรวมตัวทางเคมีจากการได้รับความร้อน ภายใต้อุณหภูมิที่จำกัดออกซิเจน ได้ผลิตภัณฑ์อยู่ในรูป ของทั้งก๊าซ ของเหลว และของแข็ง กระบวนการปรับ

สภาพทางความร้อนจะแตกต่างกันที่ช่วงอุณหภูมิที่ ใช้ในการปรับปรุงและชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น การปรับปรุงสมบัติเชื้อเพลิงแข็งเพื่อให้ใกล้เคียงกับ ถ่านหินด้วยกระบวนการทอรรีแฟกชัน หรือ กระบวนการไฮโดรเทอร์มอลคาร์บอนไนเซชัน หรือ เปลี่ยนรูปไปเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพเหลวด้วย กระบวนการไพโรไลซิส หรือแก๊สชีวภาพด้วย กระบวนการแก๊สซิฟิเคชันจำเป็นต้องทราบสมบัติ ของชีวมวลนั้น ๆ เพื่อประกอบการพิจารณาเลือก กระบวนการเปลี่ยนรูปที่เหมาะสมต่อไป องค์ประกอบหลักทางเคมีที่สำคัญสำหรับชีวมวล ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยทั่วไปชีวมวลประเภทไม้ เช่น ไม้เนื้อแข็ง จะมี องค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ประมาณร้อยละ 35-50 20-30 และ 25-30 ตามลำดับ (Jahirul *et al.*, 2012) ส่วนชีวมวลประเภทที่ไม่ใช่ไม้ เช่น ชานอ้อย จะมีองค์ประกอบดังกล่าวประมาณ ร้อยละ 44.43 22.90 และ 17.52 ตามลำดับ (Maryana *et al.*, 2014) กระบวนการไพโรไลซิส หรือ กระบวนการแก๊สซิฟิเคชันมีประสิทธิภาพในการ เปลี่ยนรูปชีวมวลที่มีปริมาณองค์ประกอบส่วนมาก เป็นเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ขณะที่กระบวนการ ทอรรีแฟกชันหรือกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล คาร์บอนไนเซชันมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนรูป ชีวมวลที่มีลิกนินเป็นองค์ประกอบหลัก สมบัติอื่น ๆ ที่ใช้พิจารณาเลือกกระบวนการเปลี่ยนรูปทางความ ร้อนที่เหมาะสมกับชีวมวลนั้น ๆ ได้แก่ องค์ประกอบ แบบประมาณ องค์ประกอบแบบละเอียด ค่าความ ร้อน หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ รวมถึงพฤติกรรมการสลายตัวทางความร้อน

สำหรับการปรับปรุงสภาพเชื้อเพลิงด้วย กระบวนการทางเคมีความร้อน เช่น ทอรรีแฟกชัน ไฮโดรเทอร์มอลคาร์บอนไนเซชัน กระบวนการเหล่านี้ อาศัยความร้อนเพื่อให้เกิดการสลายตัวของ

องค์ประกอบหลักของชีวมวล (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ด้วยเหตุที่องค์ประกอบดังกล่าวมีโครงสร้างที่แตกต่างกันทำให้เกิดกลไกที่ซับซ้อนในการกระตุ้นให้เปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ การวิเคราะห์จลนศาสตร์จึงมีความสำคัญต่อการศึกษาพฤติกรรมการสลายตัวของเชื้อเพลิงที่ต้องการปรับสภาพ ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจกลไกและพลังงานที่ใช้เพื่อการสลายตัวทางความร้อนของชีวมวลได้ นอกจากนี้จะเป็นข้อมูลสำคัญต่อการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ การประเมินความเป็นไปได้ และการกำหนดขนาดในการใช้งานระดับอุตสาหกรรม (Ciuta *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2017; Dhyan and Bhaskar, 2018) อีกด้วย โดยเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์พฤติกรรมการสลายตัวทางความร้อนประกอบกับการวิเคราะห์จลนศาสตร์คือการใช้แบบจำลองการสลายตัวที่ไม่มีรูปแบบ (Model-free) เพื่อคำนวณหาพลังงานก่อกัมมันต์ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ทางด้านจลนศาสตร์ที่สำคัญ

อย่างไรก็ตาม จากการทบทวนวรรณกรรม พฤติกรรมการสลายตัวทางความร้อน และการวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของไบโอดีเซลพบว่ามีการศึกษาเป็นส่วนน้อยเมื่อเทียบกับชานอ้อย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจวิเคราะห์สมบัติด้านเชื้อเพลิงของไบโอดีเซลอันได้แก่ ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี องค์ประกอบแบบละเอียดและแบบประมาณ ค่าความร้อน หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ และศึกษาพฤติกรรมการสลายตัวตลอดจนวิเคราะห์จลนศาสตร์การสลายตัวทางความร้อนของไบโอดีเซลด้วยการวิเคราะห์เทอร์โมกราวิเมตริก (Thermogravimetric Analysis, TGA) แบบนอนไอโซเทอร์มอล (Non-isothermal) ที่อัตราการให้ความร้อน 3 ระดับ คือ 5 10 และ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยใช้แบบจำลองการสลายตัวที่ไม่มีรูปแบบคือ Flynn-Wall-Ozawa method (FWO) และ Kissinger- Akahira-Sunose

(KAS) คำนวณพลังงานกระตุ้นเพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการนำชีวมวลจากไบโอดีเซลไปใช้เป็นเชื้อเพลิงร่วมกับชีวมวลชนิดอื่น ๆ หรือใช้เป็นฐานข้อมูลเพื่อใช้ประโยชน์ด้านพลังงานในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. กระบวนการเตรียมชีวมวลตัวอย่าง

ชีวมวลตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยคือ ไบโอดีเซลแห้งพันธุ์ขอนแก่น 3 ตัวอย่างจะถูกลดขนาดด้วยเครื่องสับหยาบ ก่อนนำไปลดความชื้นด้วยพลังงานแสงอาทิตย์ แล้วบดให้ละเอียดและร่อนแยกด้วยตะแกรงให้ได้ตัวอย่างที่มีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตร (Peng *et al.*, 2012) อบตัวอย่างอีกครั้งด้วยตู้อบลมร้อน รุ่น UF 110 ยี่ห้อ memmert ประเทศเยอรมัน โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Toptas *et al.*, 2015) แล้วปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องภายในภาชนะที่ควบคุมความชื้น บรรจุใส่ถุงกันความชื้นเตรียมไว้สำหรับการทดสอบและวิเคราะห์สมบัติต่อไป

2. การวิเคราะห์สมบัติของชีวมวลตัวอย่าง

2.1 องค์ประกอบทางเคมีของไบโอดีเซล

ไบโอดีเซลเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ซึ่งประกอบด้วยสารอินทรีย์ที่สำคัญ 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังกล่าวทำได้โดยการวิเคราะห์สัดส่วนเชื้อเพลิงที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลาง (Neutral detergent fiber, NDF) เชื้อเพลิงที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (Acid detergent fiber, ADF) และลิกนิน (Acid detergent lignin, ADL) ด้วยวิธีดีเทอร์เจนต์ (Detergent) (Goering and Van Soest, 1970; Van Soest *et al.*, 1991; Latimer, 2016) โดยวิเคราะห์ซ้ำ 2 ครั้ง แล้วนำเสนอผลการทดสอบที่ได้แสดงค่าเป็นร้อยละ โดยน้ำหนัก (wt.%, dry basis)

2.2 องค์ประกอบแบบประมาณ

วิเคราะห์องค์ประกอบแบบประมาณ (Proximate analysis) ได้แก่ ปริมาณความชื้น (Moisture) สารระเหยได้ (Volatile matter) คาร์บอนคงตัว (Fixed carbon) และ เถ้า (Ash) ด้วยเครื่อง Macro thermogravimetric analyzer รุ่น TGA 701 ยี่ห้อ LECO ประเทศสหรัฐอเมริกา ตามมาตรฐาน ASTM E1756-08 โดยวิเคราะห์ซ้ำ 2 ครั้ง ผลการทดสอบที่ได้แสดงค่าเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (wt.%, as received basis)

2.3 องค์ประกอบแบบละเอียดและค่าความร้อน

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ที่มีอยู่ในไบอ้อย ได้แก่ คาร์บอน (Carbon: C) ไฮโดรเจน

(Hydrogen: H) ไนโตรเจน (Nitrogen: N) และ กำมะถัน (Sulphur: S) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุ CHNS/O รุ่น flash 2000 ประเทศอิตาลี ตามมาตรฐาน ASTM D4239 ผลการทดสอบที่ได้แสดงค่าเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (wt.%, dry basis) แล้วนำผลการวิเคราะห์แบบละเอียดไปใช้ในการประมาณค่าความร้อนสูง (Higher heating value, HHV) ในหน่วยของเมกะจูลต่อกิโลกรัม งานวิจัยนี้ อ้างอิงสมการเอมพิริคัล (Empirical) ของ Friedl *et al.* (2005) ดังสมการที่ (1) เนื่องจากปริมาณคาร์บอนและไฮโดรเจนของไบอ้อยมีค่าอยู่ในเงื่อนไขที่สมการกำหนด และประมาณค่าความร้อนต่ำ (Lower heating value, LHV) อ้างอิงตามสมการของ Brachi *et al.* (2016) ดังสมการที่ (2)

$$\text{HHV(MJ/kg)} = 5.22\text{C}^2 - 319\text{C} - 1647\text{H} + 38.6\text{CH} + 133\text{N} + 21028 \quad (1)$$

$$\text{LHV(MJ/kg)} = \text{HHV} - 2.442 \left(8.936 \times \frac{\text{H}}{100} \right) \quad (2)$$

เมื่อ HHV คือ ค่าความร้อนสูง (เมกะจูลต่อกิโลกรัม), LHV คือ ค่าความร้อนต่ำ (เมกะจูลต่อกิโลกรัม), C คือ ร้อยละของปริมาณคาร์บอน (%), H คือ ร้อยละของปริมาณไฮโดรเจน (%) และ N คือ ร้อยละของปริมาณไนโตรเจน (%)

2.4 หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ในไบอ้อยด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FTIR Spectrometer) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Nicolet 6700 ในช่วงเลขคลื่นตั้งแต่ 4000 ถึง 400 cm^{-1} เนื่องจากไบอ้อยเป็นของแข็งจึงเลือกใช้เทคนิคแผ่นโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr-disk) ซึ่ง KBr ไม่ดูดกลืนรังสีอินฟราเรดในช่วงเลขคลื่นดังกล่าวทำให้สามารถวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ในชีวมวลได้ ผลวิเคราะห์แสดงในรูปของร้อยละการส่งผ่าน (Transmittance, %T)

2.5 การสลายตัวทางความร้อน

ศึกษาการสลายตัวทางความร้อนของไบอ้อยโดยวิธีวิเคราะห์พฤติกรรมสลายตัวทางความร้อนแบบนอนไอโซเทอร์มอล ด้วยเครื่องวิเคราะห์เทอร์โมกราวิเมตริก รุ่น TGA 701 ยี่ห้อ LECO ประเทศสหรัฐอเมริกา ภายใต้สภาวะบรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ในช่วงอุณหภูมิ 25-800 องศาเซลเซียส ที่อัตราการให้ความร้อน (β) คงที่ 3 ระดับ คือ 5 10 และ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที แล้วสร้างกราฟการเปลี่ยนแปลงมวลเมื่อเทียบกับอุณหภูมิ (TGA) และกราฟอัตราการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับอุณหภูมิ (Derivative thermogravimetry, DTG)

3. จลนศาสตร์การสลายตัวทางความร้อน

Kinetics Committee of the International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC Kinetics Committee) (Vyazovkin *et al.*, 2011) แนะนำการวิเคราะห์จลนศาสตร์โดยใช้แบบจำลองการสลายตัวที่ไม่มีรูปแบบ ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่พิจารณารูปแบบปฏิกิริยา สามารถวิเคราะห์ได้ง่ายและช่วยลดค่าความคลาดเคลื่อน ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ (E_a) คำนวณได้จากกราฟอัตราการให้ความร้อน (β) ค่าต่าง ๆ ที่สัดส่วนการสลายตัว (α) ค่าเดียวกัน โดยใช้รูปแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First-order reaction) (Zhang *et al.*, 2022) แบบจำลองที่ได้รับความนิยมในการใช้เพื่อคำนวณพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาการสลายตัวทางความร้อนของชีวมวล เช่น วิธี Flynn-Wall-Ozawa method (FWO) และ วิธี Kissinger- Akahira-Sunose (KAS)

3.1 วิธี Flynn-Wall-Ozawa method (FWO)

เป็นวิธีที่ใช้การประมาณค่าแบบเชิงเส้นแทนการอินทิเกรตพจน์ของอุณหภูมิ ซึ่งมีรูปแบบดังสมการที่ (3) (He *et al.*, 2019) สามารถคำนวณ

ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ได้จากความชันของกราฟเส้นตรงซึ่งเป็นการสัมพันธ์ระหว่าง $\ln \beta$ กับ $1/T$ ซึ่งความชันจากกราฟมีค่าเท่ากับ $-1.052(E_a/R)$ (Sharara and Sadaka, 2014; Kaur *et al.*, 2018) จึงสามารถนำไปใช้ในการหาค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาการสลายตัวทางความร้อนของชีวมวลได้

3.2 วิธี Kissinger-Akahira-Sunose method (KAS)

เป็นวิธีที่นิยมนำไปใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อหาค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการสลายตัวทางความร้อนของชีวมวลซึ่งมีสถานะเป็นของแข็ง โดยใช้การประมาณของ Doyle's approximation (Doyle, 1962) ดังสมการที่ (4) คำนวณค่าพลังงานก่อกัมมันต์ได้จากความชันของกราฟเส้นตรงซึ่งเป็นการสัมพันธ์ระหว่าง $\ln(\beta/T_p^2)$ กับ $1/T_p$ ซึ่งความชันจากกราฟมีค่าเท่ากับ E_a/R สามารถนำไปใช้ในการคำนวณค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาการสลายตัวทางความร้อนของชีวมวลได้ (Yuan *et al.*, 2017) ข้อดีของวิธีนี้คือไม่จำเป็นต้องทราบกลไกการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวทางความร้อนที่เกิดขึ้น

$$\ln \beta = \ln \left[\frac{AE_a}{Rg(\alpha)} \right] - 5.331 - 1.052 \left(\frac{E_a}{RT} \right) \quad (3)$$

$$\ln \left(\frac{\beta}{T_p^2} \right) = \ln \left[\frac{AR}{E_a g(\alpha)} \right] - \frac{E_a}{RT} \quad (4)$$

เมื่อ $g(\alpha)$ คือ อนุพันธ์ของจลนศาสตร์, α คือ สัดส่วนการสลายตัว, β คือ อัตราการให้ความร้อน (องศาเซลเซียสต่อวินาที), E_a คือ พลังงานก่อกัมมันต์ของปฏิกิริยาการสลายตัว (กิโลจูลต่อโมล), A คือ แฟกเตอร์ความถี่ (Frequency factor) (นาที่⁻¹), R คือ ค่าคงที่ของแก๊ส มีค่าเป็น 8.314 จูลต่อโมล-เคลวิน, $k(T)$ คือ ค่าคงที่ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างพอสมควรสำหรับแต่ละปฏิกิริยา, T คือ อุณหภูมิสัมบูรณ์ (เคลวิน) และ T_p คือ อุณหภูมิ ณ ตำแหน่งที่มวลเกิดการสลายตัวสูงสุด (เคลวิน)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. องค์ประกอบทางเคมีของใบอ้อย

ใบอ้อยเป็นวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ที่ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 3 ชนิดคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จากตารางที่ 1 พบว่า ใบอ้อยมีส่วนประกอบของปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด รองลงมาคือเฮมิเซลลูโลส โดยมีค่าเป็นร้อยละ 41.41 และ 36.68 ตามลำดับ โครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส (Glucose) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) เป็นหมู่หลัก เรียงต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (Glycosidic bond) ได้เป็นสายยาวที่มีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบทำให้เซลลูโลสมีความแข็งแรง มีอุณหภูมิของการหลอมเหลว (Melting range) สูง ดังนั้นใบอ้อยซึ่งมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบมากถึงร้อยละ 41 โดยประมาณ เมื่อเกิดการสลายในช่วงอุณหภูมิ 300-400 องศาเซลเซียส (Waters *et al.*, 2017) จึงส่งผลต่อค่าความร้อนของเชื้อเพลิงแข็งเนื่องจากเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมีค่าความร้อนสูง 18.6 เมกะจูลต่อกิโลกรัม (Dietenberger and Hasburgh, 2016) และเป็นที่น่าทึ่งที่ทราบว่าชีวมวลที่มีปริมาณลิกนินสูงสามารถใช้ในการเปลี่ยนรูปเป็นเชื้อเพลิงที่ให้พลังงานสูงได้ เนื่องจากลิกนินมีค่า

ความร้อนสูง 23.2 – 25.6 เมกะจูลต่อกิโลกรัม กิโลกรัม (Dietenberger and Hasburgh, 2016) อย่างไรก็ตาม สัดส่วนของปริมาณลิกนินในใบอ้อยที่พบในการศึกษานี้มีค่าร้อยละ 6.52 ซึ่งต่ำกว่าวัสดุประเภทไม้ซึ่งมีลิกนินเป็นองค์ประกอบร้อยละ 25 (Novaes *et al.*, 2010) แต่เมื่อพิจารณาวัสดุชีวมวลอื่น ๆ ที่มีใช้ประเภทไม้ (Non-wood materials) ส่วนมีปริมาณลิกนินต่ำเช่นกัน เช่น เส้นใยกล้วย เปลือกถั่วเหลือง ใบสับปะรด มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 4.9 – 7.77 (Owonubi *et al.*, 2021) ใบอ้อยมีเพียงเส้นใบ (Vein) แดกแขนงออกมาจากเส้นกลางใบ (Midrib) เพื่อลำเลียงสารต่าง ๆ จากท่อน้ำเลี้ยงไปสู่ทุก ๆ เซลล์ของใบได้ทั่วถึง ดังนั้นจึงเป็นส่วนของพืชที่ได้มีความแข็งแรงพบปริมาณลิกนินในสัดส่วนที่ไม่มากนัก และพบว่ามีค่าน้อยกว่าผลการศึกษาของ Pereira *et al.* (2015) ที่พบว่าใบอ้อยมีปริมาณลิกนินร้อยละ 11.13 แม้จะมีปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่ใกล้เคียงกันทั้งนี้อาจเนื่องด้วยความแตกต่างกันไปตามจีโนไทป์ (Genotype) ของอ้อย และสภาพแวดล้อมการเจริญเติบโต (Mason *et al.*, 2020) ซึ่งปริมาณลิกนินที่แตกต่างกันส่งผลต่อค่าความร้อน (Demirbas, 2001) ของชีวมวลด้วยเช่นกัน

Table 1 Chemical components of sugarcane leaf

Biomass	Chemical component (wt.%, dry basis)				References
	Cellulose	Hemicellulose	Lignin	Other*	
Sugarcane leaf	41.41±0.18	36.68±0.38	6.39±0.19	15.53±0.01	Present work
	41.09	35.07	11.13	-	(Pereira <i>et al.</i> , 2015)
	40.8	28.7	22.7	13.7	(Franco <i>et al.</i> , 2013)
Sugarcane bagasse	44.43±0.86	22.9±0.67	17.52±0.65	14.18±0.24	(Maryana <i>et al.</i> , 2014)

*Calculated by difference (Cellulose + Hemicellulose + Lignin + Other = 100%).

2. องค์ประกอบแบบประมาณของใบอ้อย

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบแบบประมาณของใบอ้อย พบว่าใบอ้อยแห้งมีปริมาณคาร์บอนคงตัว สารระเหย ความชื้น และเถ้า ร้อยละ 14.38 69.63 6.96 และ 9.04 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาปริมาณคาร์บอนคงตัวพบว่า มีค่าใกล้เคียงกับชานอ้อยที่เป็นเศษเหลือจากพืชชนิดเดียวกันและใช้เป็นเชื้อเพลิงแข็งเผาไหม้ร่วมกับไม้สับให้ความร้อนในโรงงานผลิตน้ำตาล ปริมาณสารระเหยของใบอ้อยมีค่าสูงเช่นเดียวกับชีวมวลประเภทอื่น เช่น แกลบ และไม้ ซึ่งมีปริมาณสารระเหยร้อยละ 70.64 และ 85.4 ตามลำดับ (Yadav *et al.*, 2019) เนื่องจากสารระเหยเป็นองค์ประกอบในชีวมวลที่เผาไหม้ได้ ดังนั้นจึงช่วยให้ลุกติดไฟได้ง่ายเมื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง (Wu *et al.*, 2012) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารระเหยของชานอ้อยพบว่า ใบอ้อยมีปริมาณสารระเหยต่ำกว่าชานอ้อย ดังนั้นใบอ้อยจึงมีข้อได้เปรียบด้านปริมาณผลได้เชิงมวลในการผลิตเป็นเชื้อเพลิงแข็ง เนื่องจากชีวมวลที่มีปริมาณสารระเหยในสัดส่วนที่สูงเมื่อนำไปผ่านการปรับสภาพทางความร้อน เช่น ด้วยกระบวนการไพโรไลซิส จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวและแก๊สมากกว่าของแข็ง เมื่อพิจารณาปริมาณเถ้าของใบอ้อยพบว่ามีค่าร้อยละ 9.04 ซึ่งสูงกว่าชานอ้อยที่มีเถ้าร้อยละ 6.72 เนื่องจากชานอ้อยเป็นส่วนประกอบของลำต้นอ้อยที่มีลักษณะเป็นเส้นใย (Fiber) จึงมีลักษณะเป็นองค์ประกอบมากกว่า ดังนั้นภายหลังการเผาไหม้ที่สมบูรณ์จึงเหลือเถ้าในปริมาณที่น้อยกว่าใบอ้อย หากเถ้ามีปริมาณมากจะส่งผลต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนรูปเชื้อเพลิงไปเป็นพลังงานความร้อนเนื่องจากเถ้าเป็นส่วนที่เผาไหม้ไม่ได้ ซึ่งใบอ้อยเป็นชีวมวลที่ไม่มีไม้ (Non-woody biomass) ดังนั้นจึงมีปริมาณเถ้าสูงกว่าชีวมวลประเภทไม้ อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับชีวมวลอื่นที่มีไม้และได้นำมาใช้เป็นเชื้อเพลิงแล้วนั้นพบว่า

ชีวมวลเหล่านั้น บางชนิดมีปริมาณเถ้าที่สูงกว่าใบอ้อย เช่น แกลบ ลำต้นข้าวโพด มีปริมาณเถ้าร้อยละ 17.06 (Alias *et al.*, 2014) และ 10.5 (Reza *et al.*, 2014) ตามลำดับ

3. องค์ประกอบแบบละเอียดของใบอ้อย

ใบอ้อยมีองค์ประกอบเป็นคาร์บอนร้อยละ 41.41 ซึ่งน้อยกว่าชานอ้อยดังแสดงในตารางที่ 2 อย่างไรก็ตาม ปริมาณคาร์บอนของใบอ้อยยังคงมีค่าอยู่ในช่วงของชีวมวลประเภทไม้เขตร้อนคือร้อยละ 41.9 – 51.6 (Thomas and Martin, 2012) ซึ่งปริมาณคาร์บอนในชีวมวลส่งผลโดยตรงต่อค่าความร้อนของเชื้อเพลิงแข็งเนื่องจากคาร์บอนเป็นองค์ประกอบที่สามารถเผาไหม้และปลดปล่อยพลังงานในรูปความร้อน ปริมาณออกซิเจนของใบอ้อยมีค่าร้อยละ 42.41 ซึ่งพบในรูปของ น้ำ ซิลิเกต คาร์บอนเนต และกลุ่มของสารคาร์บอนิล (Carbonyl) ปริมาณออกซิเจนสอดคล้องกับค่าความร้อนของชีวมวลเนื่องจากการสลายพันธะออกซิเจนในเชื้อเพลิงแข็งเป็นปฏิกิริยาดูดความร้อน (Endothermic reaction) จึงส่งผลให้ค่าความร้อนที่ได้จากเชื้อเพลิงมีค่าลดลงเนื่องจากสูญเสียความร้อนบางส่วนไปกับการใช้เพื่อสลายตัวของออกซิเจน (Reza *et al.*, 2014) ในขณะที่ใบอ้อยมีองค์ประกอบเป็นไฮโดรเจน กำมะถัน และไนโตรเจน ร้อยละ 5.72 0.15 และ 0.60 ตามลำดับ ซึ่งมีสัดส่วนน้อยมากเมื่อเทียบกับสัดส่วนของคาร์บอนและออกซิเจน ไฮโดรเจนในชีวมวลเป็นส่วนหนึ่งของความชื้นเมื่อนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงเผาไหม้ พันธะในสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะแตกออก ไฮโดรเจนจะรวมกับออกซิเจนก่อตัวเป็นไอน้ำ จากนั้นคาร์บอนจะรวมตัวกับออกซิเจนที่เหลือ ซึ่งจะก่อตัวเป็นคาร์บอนแข็งหรือกลายเป็นแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) แม้ว่าสัดส่วนของกำมะถันและไนโตรเจนมีค่าน้อยแต่สามารถก่อให้เกิดแก๊สพิษขณะเผาไหม้ได้ เช่น

คาร์บอนมอนอกไซด์ คาร์บอนไดออกไซด์ และกำมะถันที่เผาไหม้ในออกซิเจนจะได้แก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO₂) เป็นผลิตภัณฑ์หลักซึ่งเป็นสาเหตุของฝนกรด อีกทั้งการเผาไหม้ในโตรเจนก่อให้เกิดแก๊สไนโตรเจนออกไซด์ (NO_x) อย่างไรก็ตามพบว่าไบอ้อยมีปริมาณไนโตรเจนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับชีวมวลที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงแข็งอื่น ๆ เช่น เหง้ามันสำปะหลังร้อยละ 0.85 (Kamonwat *et al.*, 2021) ชั่งข้าวโพดร้อยละ 2.1 (Okot *et al.*, 2023) และฟางข้าวร้อยละ 4.43 (Ahmad *et al.*, 2013) เป็นต้น ขณะที่อัตราส่วนออกซิเจนต่อคาร์บอน (O/C) และไฮโดรเจนต่อคาร์บอน (H/C) ของไบอ้อยมีค่าเป็น 0.77 และ 1.64 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ยังไม่เหมาะสมสำหรับการใช้

เป็นเชื้อเพลิงแข็งเนื่องจากอัตราส่วนอะตอมที่เหมาะสมควรมีค่าต่ำกว่า 1.0 (Tumuluru, 2015) อีกทั้งมีค่าสูงกว่าช่วงอัตราส่วนอะตอมของถ่านหินลิกไนต์ซึ่งมีค่า O/C และ H/C ในช่วง 0.2 – 0.38 และ 0.8 – 1.3 ตามลำดับ (Reza *et al.*, 2014) ซึ่งเชื้อเพลิงชีวมวลทุกชนิดมีปริมาณออกซิเจนและไฮโดรเจนสูงกว่าถ่านหินขณะที่มีคาร์บอนน้อยกว่า สอดคล้องกับปริมาณสารระเหยและความชื้นในชีวมวลซึ่งสูงกว่ามากเมื่อเทียบกับถ่านหิน (Osvalda Senneca, 2007) ดังนั้นในการนำชีวมวลมาใช้เป็นเชื้อเพลิงจึงจำเป็นต้องปรับสภาพเพื่อปรับปรุงสมบัติให้ใกล้เคียงถ่านหินจึงจะสามารถเผาไหม้ร่วมกับถ่านหินได้

Table 2 Ultimate, proximate and heating values of sugarcane leaf

Analysis	Sugarcane leaf [Present work]	Sugarcane leaf and top (Chatrattanawet <i>et al.</i> , 2018)	Sugarcane bagasse (Castellanos <i>et al.</i> , 2012)
Proximate analysis (wt.%, as received basis)			
Moisture	6.96±0.03	9.20	4.26
Fixed Carbon	14.38±0.47	16.90	11.03
Volatiles	69.63±0.55	67.80	77.99
Ash	9.04±0.05	6.10	6.72
Ultimate analysis (wt.%, dry basis)			
C	41.41±0.12	46.152	47.63
H	5.72±0.01	5.632	6.16
N	0.60±0.08	0.443	0.42
O*	42.41±0.08	41.485	38.46
S	0.15±0.02	0.188	0.31
O/C molar ratio	0.77	0.67	0.61
H/C molar ratio	1.64	1.45	1.54
Molecular formula	C ₄ H ₆ O ₃		
Heating value (MJ/kg, dry basis)			
LHV	16.39±0.04		
HHV	17.76±0.05		16.73

*Calculated by difference (C+H+N+O+S+Ash = 100%).

4. หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ในใบอ้อย

ชีวมวลเป็นสารประกอบอินทรีย์ดังนั้นจึงมีพันธะเป็นองค์ประกอบมากกว่า 1 พันธะ และแต่ละพันธะนั้นจะมีรูปแบบการสั่นได้หลายรูปแบบที่มีความถี่ต่าง ๆ ดังเช่น การปรากฏลักษณะแถบสเปกตรัมความถี่สูงที่เลขคลื่น 3336 cm^{-1} สอดคล้องกับการสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) การสั่นที่เลขคลื่นประมาณ $2917\text{--}2849\text{ cm}^{-1}$ สอดคล้องกับการสั่นของสารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (-CH) ในแอลกอฮอล์และฟีนอล (Reza *et al.*, 2014) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส การสั่นที่เลขคลื่นประมาณ 1729 cm^{-1} สอดคล้องกับการสั่นของพันธะ C=O ในโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส (Zheng *et al.*, 2015) เนื่องจากลิกนินเป็นองค์ประกอบที่มีสารประกอบประเภทอะโรมาติก (Aromatic) อยู่มาก ดังนั้นจึงสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงแถบการสั่นของหมู่ฟังก์ชันที่เกี่ยวข้องกับลิกนินได้ที่เลขคลื่น 1604 cm^{-1} และ 1513 cm^{-1} (Tu *et al.*, 2018) เนื่องจากเป็นแถบการสั่นที่เกี่ยวข้องกับหมู่ C=O และ C=C ที่ยึดกันเป็นสารประกอบอะโรมาติก การปรากฏพิคที่ 1219 cm^{-1} สอดคล้องกับลักษณะการสั่นของพันธะ C-O-C ในเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (Wang *et al.*, 2019) ส่วนพิคที่เลขคลื่น 1157 cm^{-1} สัมพันธ์กับพันธะอีเทอร์ (C-O-C) ในโครงสร้างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส การปรากฏพิคที่ 1033 cm^{-1} สอดคล้อง

การสั่นของพันธะ C-O ในเมทอกซี (Methoxy) ในโครงสร้างเซลลูโลส และพิคที่เลขคลื่น 897 cm^{-1} สอดคล้องกับพันธะ C-H ในเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส จากผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ในใบอ้อยพบว่า ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันจำนวนมากที่บ่งชี้ถึงโครงสร้างของใบอ้อย โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์สายยาวจำพวกเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยพิคที่เลขคลื่น 1033 cm^{-1} มีความเข้มมากที่สุด สอดคล้องกับองค์ประกอบทางเคมีของใบอ้อยที่มีสัดส่วนของเซลลูโลสมากที่สุด เช่นเดียวกันกับพิคความถี่สูงที่เลขคลื่น 3336 cm^{-1} บ่งบอกถึงการมีอยู่ของหมู่ไฮดรอกซิลในใบอ้อย ทำให้ใบอ้อยมีคุณสมบัติชอบน้ำ (Hydrophilic) ดังนั้นจึงมีปฏิสัมพันธ์กับน้ำได้ง่าย ส่งผลให้การเก็บกักชีวมวลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงต้องประสบกับปัญหาการย่อยสลายทางชีวภาพเนื่องจากความชื้นในอากาศ ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลสามารถพบได้ในชีวมวลทุกชนิดเนื่องจากองค์ประกอบหลักของชีวมวลเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ล้วนมีหมู่ไฮดรอกซิลและพันธะ C-H ในโครงสร้างทั้งสิ้น (Zhuang *et al.*, 2020) ดังนั้นในการนำชีวมวลหรือใบอ้อยไปใช้เป็นเชื้อเพลิงจึงจำเป็นที่จะต้องปรับสภาพเช่นเดียวกันเพื่อลดปริมาณหมู่ไฮดรอกซิลให้ผลิตภัณฑ์ของแข็งภายหลังการปรับสภาพมีสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic)

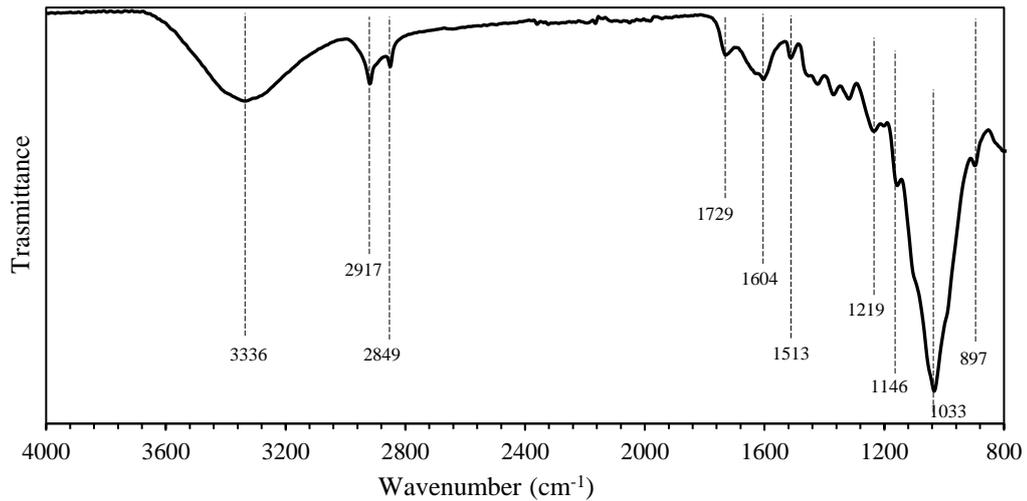


Figure 1 FTIR spectra of sugarcane leaf

5. การสลายตัวทางความร้อนของใบอ้อย

ความสัมพันธ์ระหว่างมวลที่เหลือของใบอ้อยที่อุณหภูมิต่าง ๆ ที่อัตราการให้ความร้อน 3 ระดับ (5 10 และ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที) แสดงได้ดังภาพที่ 2 พบว่าการสลายตัวทางความร้อนของใบอ้อยแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือดีไฮเดรชัน (Dehydration) ดีโวลาทิลไลเซชัน (Devolatilization) และการเกิดถ่าน (Char formation) ขั้นที่ 1 เกิดการสลายตัวด้วยกลไกการเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน ในช่วงอุณหภูมิ 30-125 องศาเซลเซียส เป็นปฏิกิริยาระเหยน้ำออกจากชีวมวลทำให้สูญเสียมวลไปร้อยละ 3.88 โดยพื้นที่ใต้กราฟของช่วงนี้มีค่ากว้างขึ้นตามอัตราการให้ความร้อนที่สูงขึ้น ขั้นที่ 2 เกิดกลไกปฏิกิริยาดีโวลาทิลไลเซชันซึ่งจะปลดปล่อยสารระเหยออกจากชีวมวลเนื่องจากการสลายตัวของสารประกอบอินทรีย์ เกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 175-375 องศาเซลเซียส ทำให้สูญเสียมวลไปร้อยละ 59.3 ช่วงที่สองคือการสลายตัวของ

เฮมิเซลลูโลสที่เกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิ 171-312 องศาเซลเซียส ซึ่งอยู่ในช่วงที่เฮมิเซลลูโลสสลายตัวได้มากที่สุด (200-300 องศาเซลเซียส) (Cai *et al.*, 2013) ช่วงที่สามสอดคล้องกับการสลายตัวของเซลลูโลสในช่วงอุณหภูมิ 320-408 องศาเซลเซียส และซ้อนทับกับการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ทำให้เกิดการสูญเสียมวลมากที่สุดซึ่งตำแหน่งของอุณหภูมิจุดนี้แสดงถึงความไวของปฏิกิริยา ถ้าอุณหภูมินี้ต่ำหมายถึงสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดี เมื่อสังเกตพิกที่มีอัตราการสูญเสียมวลมากที่สุดพบว่าตรงกับค่าอุณหภูมิที่ขยับสูงขึ้นตามอัตราการให้ความร้อนเนื่องจากที่อัตราการให้ความร้อนสูงจะส่งผลทำให้ชีวมวลได้รับความร้อนในปริมาณที่เพียงพอหรือมากกว่าผลต่างของอุณหภูมิ (Temperature gradient) ระหว่างภายนอกและภายในของอนุภาคชีวมวล ดังนั้นจึงเกิดการสลายตัวได้มาก

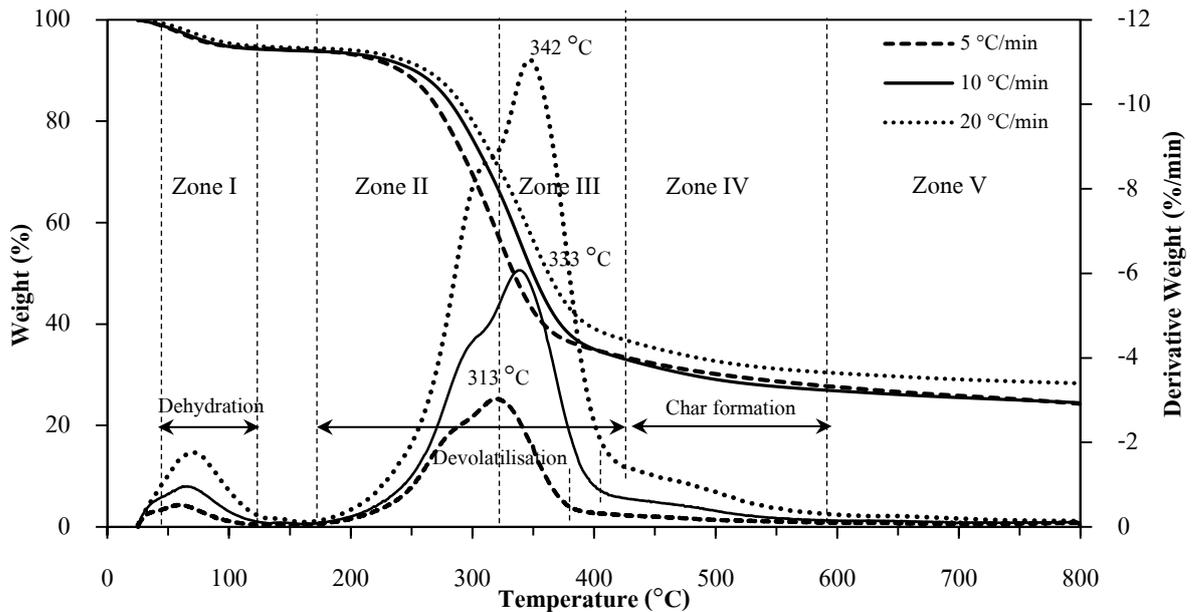


Figure 2 TGA and DTG of sugarcane leaf

ขั้นที่ 3 เกิดกลไกการฟอร์มตัวเป็นถ่าน ซึ่งช่วงนี้เกิดการสลายตัวของลิกนิน อัตราของการสูญเสียมวลเกิดขึ้นได้ช้ากว่าเมื่อเทียบกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส การสูญเสียมวลเกิดขึ้นได้มากตามอัตราการให้ความร้อนที่สูงขึ้น โดยเริ่มต้นที่อุณหภูมิในช่วง 300-400 องศาเซลเซียส จนถึงอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส สังเกตได้ว่าที่อัตราการให้ความร้อนเป็น 5 10 และ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที ส่งผลให้อุณหภูมิเริ่มต้นของไบอ้อยที่ใช้เพื่อการฟอร์มตัวเป็นถ่านมีค่าเป็น 380 410 และ 430 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สรุปได้ว่าอุณหภูมิเริ่มต้นของชีวมวลที่ใช้เพื่อการฟอร์มตัวเป็นถ่านมีค่าสูงขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของอัตราการให้ความร้อน ซึ่งแสดงพฤติกรรมฮิสเทอรีซิสของอุณหภูมิเนื่องจากอัตราการให้ความร้อน (Nhuchhen *et al.*, 2014) ดังนั้นจึงปรากฏพีค DTG ขยับจากตำแหน่ง 313 องศาเซลเซียส ไปที่ตำแหน่ง 333 และ 342 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่ามวลคงเหลือ (Residual mass) ที่อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส ของอัตราการให้ความร้อนเป็น 5 10 และ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที มีค่าเป็นร้อยละ 24.3

24.5 และ 28.40 ตามลำดับ นั่นคือมวลคงเหลือซึ่งส่วนใหญ่กลายเป็นถ่านชาร์แล้วนั้นมีความสูงชันตามการเพิ่มขึ้นของอัตราการให้ความร้อน เนื่องจากที่อัตราการให้ความร้อนสูง จะส่งผลต่อการถ่ายโอนความร้อนเข้าสู่อนุภาคชีวมวลในระยะเวลาที่สั้นลงกว่าอัตราการให้ความร้อนต่ำ ดังนั้นอินทรียสาร (เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน) จึงเกิดการสลายตัวทางความร้อนได้ลดลง ส่งผลให้เกิดการสูญเสียมวลน้อยกว่า (Mass loss) ดังนั้นมวลคงเหลือจึงมีค่าสูงขึ้นเมื่ออัตราการให้ความร้อนมีค่าสูงขึ้น

6. จลนศาสตร์การสลายตัวทางความร้อนของไบอ้อย

การวิจัยนี้ใช้แบบจำลอง Kissinger – Akahira – Sunose (KAS) และแบบจำลอง Flynn–Wall– Ozawa (FWO) เพื่อคำนวณค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการสลายตัวทางความร้อนของไบอ้อย โดยใช้ข้อมูลการสลายตัวทางความร้อนที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมตริกในการสร้างกราฟเส้นถดถอย (Linear regression) ของค่าสัดส่วนการสลายตัว α ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.1-1.0 ดังแสดงในภาพที่ 3 พบว่าการใช้สมการ First-order chemical reaction

model ในการคำนวณค่าพลังงานก่อกัมมันต์ มีค่า R^2 ก่อนข้างต่ำที่ α เท่ากับ 0.1 เนื่องจากเป็นช่วงการระเหยของน้ำซึ่งมิใช่การสลายตัวทางความร้อนของสารอินทรีย์ในชีวมวล (Okot *et al.*, 2023) และ α เท่ากับ 1.0 มีค่า R^2 ก่อนข้างต่ำเช่นเดียวกัน R^2 มีค่า

ค่อนข้างสูง (0.9978-0.9989) ในช่วงสัดส่วนการสลายตัว α เท่ากับ 0.2-0.9 ซึ่งค่าพลังงานก่อกัมมันต์ที่คำนวณด้วยวิธี FWO และ KAS มีค่าในช่วง 186.6-210.0 และ 185.6-211.4 กิโลจูลต่อโมล ตามลำดับ

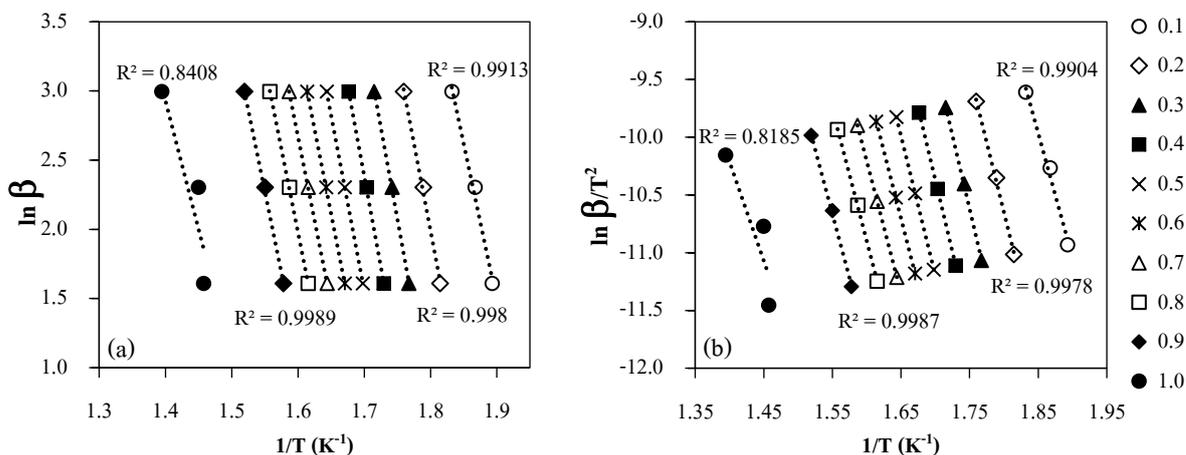


Figure 3 Integral model for activation energy calculation of sugarcane leaf (a) FWO (b) KAS

การเปลี่ยนแปลงค่าพลังงานก่อกัมมันต์ขณะเกิดการสลายตัวทางความร้อนของใบอ้อยแบ่งเป็น 3 ช่วงดังภาพที่ 4 โดยช่วงที่ 1 ครอบคลุมค่าสัดส่วนการสลายตัว α เท่ากับ 0.1 มีค่าพลังงานก่อกัมมันต์เป็น 180.1 กิโลจูลต่อโมล จากผลการศึกษาของ Ikegwu *et al.* (2021) พบว่า พลังงาน ก่อกัมมันต์ ของ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และลิกนิน มีค่าในช่วง 169.7-186.8 204.2-212.5 และ 237.1-266.6 กิโลจูลต่อโมล ตามลำดับ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าพลังงานก่อกัมมันต์ในช่วงนี้ใช้เพื่อการสลายตัวของเฮมิเซลลูโลส เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสมีโครงสร้างผลึกโพลีเมอร์แบบไม่เป็นระเบียบ (Amorphous) (Mamleev *et al.*, 2006) ดังนั้นจึงสลายตัวได้ง่าย ใช้พลังงานก่อกัมมันต์ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับ เซลลูโลส และลิกนิน นอกจากนี้พลังงานก่อกัมมันต์ในช่วงนี้ยังใช้เพื่อการระเหยน้ำ และทำให้สารประกอบเบาเกิดการสลายตัว (Abu Ghalia and Dahman, 2017) ส่วน

ช่วงที่ 2 ครอบคลุมค่าสัดส่วนการสลายตัว α เท่ากับ 0.2-0.6 มีค่าพลังงานก่อกัมมันต์สูงขึ้นอยู่ในช่วง 194.3-210.0 กิโลจูลต่อโมล โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 202.4 กิโลจูลต่อโมล ซึ่งใกล้เคียงกับช่วงที่ใช้เพื่อการสลายตัวของเซลลูโลส เนื่องจากเซลลูโลสเป็นโพลีเมอร์ที่มีโครงสร้างผลึกแบบผสมระหว่างโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (Crystalline) และโครงสร้างแบบไม่เป็นระเบียบ ซึ่งโครงสร้างที่เป็นระเบียบจะมีความแข็งแรงดังนั้นจึงใช้พลังงานก่อกัมมันต์สูงขึ้นกว่าช่วงที่ 1

ช่วงที่ 3 ครอบคลุมค่าสัดส่วนการสลายตัว α เท่ากับ 0.7-0.9 มีค่าพลังงานก่อกัมมันต์เฉลี่ยเป็น 189.8 กิโลจูลต่อโมล ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับช่วงที่ 2 สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Barzegar *et al.* (2020) พบว่าพลังงานก่อกัมมันต์มีค่าสูงขึ้นจนกระทั่งถึง α เท่ากับ 0.6 พลังงานก่อกัมมันต์จึงมีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าเฉลี่ยเป็น 188-189 กิโลจูลต่อโมล ซึ่งเป็น

ช่วงเริ่มการสลายตัวของลิกนิน การสลายตัวของลิกนินนั้นสามารถเกิดขึ้นได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ซึ่งควรใช้พลังงานก่อกัมมันต์สูงในการใช้เพื่อการสลายตัวทางความร้อน ดังเช่นแนวโน้มของพลังงานก่อกัมมันต์ตั้งการศึกษาของ Phuakpunk *et al.* (2020) แต่เนื่องด้วยไบอ้อยมีปริมาณลิกนินเพียงร้อยละ 6.52 จึงใช้พลังงานก่อกัมมันต์ต่ำส่งผลให้มีแนวโน้มลดต่ำลงในช่วงนี้

ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของไบอ้อยที่คำนวณด้วยวิธี FWO และ KAS มีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกันคือ 197.66 และ 197.88 กิโลจูลต่อ โมล ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kumar *et al.* (2019) ที่พบว่าค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของการสลายตัวทางความร้อนของไบอ้อยที่คำนวณด้วยวิธี FWO และ

KAS มีค่าเป็น 204.78 และ 205.63 กิโลจูลต่อ โมล ความแตกต่างของพลังงานก่อกัมมันต์ในพีชชนิดเดียวกันเกิดขึ้นได้จาก สายพันธุ์ พื้นที่เพาะปลูก ซึ่งส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของชีวมวล นอกจากนี้ค่าพลังงานก่อกัมมันต์ของไบอ้อยยังมีค่าใกล้เคียงกับฟางข้าว (192.66 กิโลจูลต่อ โมล) (Kongkaew *et al.*, 2015) และแกลบ (205.64-206.61 กิโลจูลต่อ โมล) (Arranz *et al.*, 2021) เนื่องจากเป็นพืชใบประเภทที่มีไซไมล์และลิวินมีปริมาณลิกนินต่ำ เช่นเดียวกัน จึงสามารถกล่าวได้ว่า สามารถปรับสภาพทางความร้อนชีวมวล ไบอ้อย แกลบ และ ฟางข้าวร่วมกันได้เพื่อลดต้นทุนในในกระบวนการแยกส่วนวัตถุดิบ

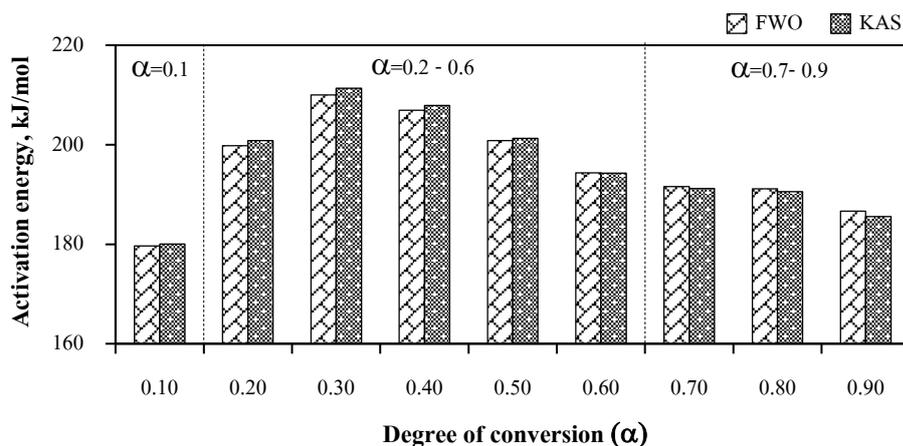


Figure 4 Activation energies extracted from FWO and KAS models

สรุป

ไบอ้อยเป็นเศษเหลือภายหลังจากการเก็บเกี่ยวที่ถูกทิ้งไว้ในพื้นที่เพาะปลูกและกำจัดโดยการเผา ก่อให้เกิดมลพิษในอากาศอย่างต่อเนื่อง จาก การศึกษานี้พบว่าไบอ้อยมีสมบัติด้านเชื้อเพลิงที่สามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงแข็งเพื่อการเผาไหม้เป็น พลังงานความร้อนได้โดยมีค่าความร้อนสูงเป็น 17.76 เมกะจูลต่อกิโลกรัม ซึ่งใกล้เคียงกับขานอ้อยที่ถูกใช้

เป็นเชื้อเพลิงชีวมวลในโรงงานน้ำตาล อีกทั้งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตน้ำมันชีวภาพหรือแก๊สชีวภาพได้เนื่องจากมีสารระเหยได้ในปริมาณสูง อัตราส่วน อะตอม O/C และ H/C ของไบอ้อยมีค่าสูงกว่าถ่านหิน ลิกไนต์ซึ่งควรต้องผ่านการปรับสภาพทางความร้อน ก่อนนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงแข็งในการเผาไหม้ร่วมกับ ถ่านหิน พลังงานก่อกัมมันต์ของไบอ้อยมีค่าใกล้เคียง กับฟางข้าวและแกลบ ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็น

เชื้อเพลิงเผาไหม้ร่วมกับฟางข้าวและแกลบได้ ถึงแม้จะพบการสันแบบยึดของงมูไฮดรอกซิลซึ่งส่งผลให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพขณะจัดเก็บแต่สามารถลดผลกระทบนี้ได้ด้วยการปรับสภาพทางความร้อนซึ่งควรศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อนำไปสู่การใช้ไบออยเป็นเชื้อเพลิงแข็งอย่างเป็นรูปธรรม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สาขาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และศูนย์วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ที่สนับสนุนห้องปฏิบัติการในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Abu Ghalia, M. and Dahman, Y. 2017. 15-Synthesis and utilization of natural fiber-reinforced poly (lactic acid) bionanocomposites, pp. 313-345. In Jawaid, M., Md Tahir, P. and Saba, N., eds. **Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering.** Woodhead Publishing, Sawston, UK.

Ahmad, R., Hamidin, N. and Md Ali, U.F. 2013. Effect of dolomite on pyrolysis of rice straw. **Advanced Materials Research** 795: 170-173.

Alias, N., Ibrahim, N., Hamid, M.K., Hasbullah, H., Ali, R.R., Sadikin, A.N. and Asli, U.A. 2014. Thermogravimetric analysis of rice husk and coconut pulp for potential biofuel production by flash pyrolysis. **The Malaysian Journal of Analytical Sciences** 18(3): 705-710.

Arranz, J.I., Miranda, M.T., Montero, I. and Sepulveda, F.J. 2021. Thermal Study and Emission Characteristics of Rice Husk Using TG-MS. **Materials** 14(20): 6203.

Barzegar, R., Yozgatligil, A., Olgun, H. and Atimtay, A.T. 2020. TGA and kinetic study of different torrefaction conditions of wood biomass under air and oxy-fuel combustion atmospheres. **Journal of the Energy Institute** 93(3): 889-898.

Brachi, P., Miccio, F., Miccio, M. and Ruoppolo, G. 2016. Torrefaction of tomato peel residues in a fluidized bed of inert particles and a fixed-bed reactor. **Energy Fuels** 30: 4858-4868.

Cai, J., Wu, W., Liu, R. and Huber, G.W. 2013. A distributed activation energy model for the pyrolysis of lignocellulosic biomass. **Green Chemistry** 15(5): 1331-1340.

Castellanos, A., Monteiro de Pinho, J., Leiroz, A. and Cruz, M. 2012. Detailed one-dimensional model for biomass gasification in a bubbling fluidized bed, pp. 1-8. In **14th Brazilian Congress of Thermal Sciences and Engineering.** Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brazil.

Chatrattanawet, N., Kanjanasorn, W., Authayanun, S., Saebea, D. and Patcharavorachot, Y. 2018. Biomass Steam Gasification of Sugarcane Leftover for Green Diesel Production. **Chemical Engineering Transactions** 70: 1693-1698.

Ciuta, S., Patuzzi, F., Baratieri, M. and Castaldi, M.J. 2014. Biomass energy behavior study during pyrolysis process by intraparticle gas

- sampling. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis** 108: 316-322.
- Demirbas, A. 2001. Relationships between lignin contents and heating values of biomass. **Energy Conversion and Management** 42(2): 183-188.
- Dhyani, V. and Bhaskar, T. 2018. A comprehensive review on the pyrolysis of lignocellulosic biomass. **Renewable Energy** 129: 695-716.
- Dietenberger, M.A. and Hasburgh, L.E. 2016. Wood Products: Thermal Degradation and Fire, pp. 9712-9716. In White, R.H. and Dietenberger, M.A., eds. **Encyclopedia of Materials: Science and Technology**. USDA Forest Products Laboratory, Madison, WI, USA.
- Doyle, C.D. 1962. Estimating isothermal life from thermogravimetric data. **Journal of Applied Polymer Science** 6(24): 639-642.
- Franco, H.C.J., Pimenta, M.T.B., Carvalho, J.L.N., Graziano Magalhaes, P.S., Rossell, C.E.V. and Braunbeck, O.A. 2013. Assessment of sugarcane trash for agronomic and energy purposes in Brazil. **Scientia Agricola** 70(5): 305-312.
- Friedl, A., Padouvas, E., Rotter, H. and Varmuza, K. 2005. Prediction of heating values of biomass fuel from elemental composition. **Analytica Chimica Acta** 544: 191-198.
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. **Agricultural Handbook No. 379**. Agricultural Research Service, Washington, D.C., USA.
- He, Q., Ding, L., Gong, Y., Li, W., Wei, J. and Yu, G. 2019. Effect of torrefaction on pinewood pyrolysis kinetics and thermal behavior using thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology** 280: 104-111.
- Ikegwu, U.M., Ozonoh, M. and Daramola, M.O. 2021. Kinetic Study of the Isothermal Degradation of Pine Sawdust during Torrefaction Process. **ACS Omega** 6(16): 10759-10769.
- Jahirul, M.I., Rasul, M.G., Chowdhury, A.A. and Ashwath, N. 2012. Biofuels Production through Biomass Pyrolysis-A Technological Review. **Energies** 5(12): 4952-5001.
- Kamonwat, N., Pongtanawat, K., Wasawat, K., Parinvadee, C., Bunyarit, P., Duangta, K. and Prasert, P. 2021. Upgrading properties of biochar fuel derived from cassava rhizome via torrefaction: Effect of sweeping gas atmospheres and its economic feasibility. **Case Studies in Thermal Engineering** 23: 100823.
- Kaur, R., Gera, P., Jha, M.K. and Bhaskar, T. 2018. Pyrolysis kinetics and thermodynamic parameters of castor (*Ricinus communis*) residue using thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology** 250: 422-428.
- Kongkaew, N., Pruksakit, W. and Patumsawad, S. 2015. Thermogravimetric Kinetic Analysis of the Pyrolysis of Rice Straw. **Energy Procedia** 79: 663-670.
- Kumar, M., Sabbarwal, S., Mishra, P.K. and Upadhyay, S.N. 2019. Thermal degradation kinetics of sugarcane leaves (*Saccharum officinarum* L) using thermo-gravimetric and differential scanning calorimetric studies. **Bioresource Technology** 279: 262-270.

- Latimer, G.W. 2016. **Official methods of analysis of AOAC INTERNATIONAL**. 20th ed. Rockville, Maryland, USA.
- Mamleev, V., Bourbigot, S., Le Bras, M., Yvon, J. and Lefebvre, J. 2006. Model-free method for evaluation of activation energies in modulated thermogravimetry and analysis of cellulose decomposition. **Chemical Engineering Science** 61(4): 1276-1292.
- Maryana, R., Ma'rifatun, D., Wheni, A.I., Satriyo, K.W. and Angga Rizal, W. 2014. Alkaline Pretreatment on Sugarcane Bagasse for Bioethanol Production. **Energy Procedia** 47: 250-254.
- Mason, P.J., Furtado, A., Marquardt, A., Hodgson-Kratky, K., Hoang, N.V., Botha, F.C., Papa, G., Mortimer, J.C., Simmons, B. and Henry, R.J. 2020. Variation in sugarcane biomass composition and enzymatic saccharification of leaves, internodes and roots. **Biotechnol Biofuels** 13: 201.
- Nhuchhen, D., Basu, P. and Acharya, B. 2014. A Comprehensive Review on Biomass Torrefaction. **International Journal of Renewable Energy & Biofuels** 2014: 506376.
- Novaes, E., Kirst, M., Chiang, V., Winter-Sederoff, H. and Sederoff, R. 2010. Lignin and biomass: A negative correlation for wood formation and lignin content in trees. **Plant Physiology** 154(2): 555-561.
- Okot, D.K., Bilsborrow, P.E., Phan, A.N. and Manning, D.A.C. 2023. Kinetics of maize cob and bean strawpyrolysis and combustion. **Heliyon** 9(6): e17236.
- Osvalda Senneca. 2007. Kinetics of pyrolysis, combustion and gasification of three biomass fuels. **Fuel Processing Technology** 88(1): 87-97.
- Owonubi, S.J., Agwuncha, S.C., Malima, N.M., Shombe, G.B., Makhatha, E.M. and Neerish, R. 2021. Non-woody Biomass as Sources of Nanocellulose Particles: A Review of Extraction Procedures. **Frontiers in Energy Research** 9: 608825.
- Peng, J.H., Bi, H.T., Sokhansanj, S. and Lim, J.C. 2012. A Study of Particle Size Effect on Biomass Torrefaction and Densification. **Energy & Fuels** 26(6): 3826-3839.
- Pereira, S.C., Maehara, L., Machado, C.M.M. and Farinas, C.S. 2015. 2G ethanol from the whole sugarcane lignocellulosic biomass. **Biotechnology for Biofuels** 8(44):1-16.
- Phuakpunk, K., Chalernsinsuwan, B. and Assabumrungrat, S. 2020. Comparison of chemical reaction kinetic models for corn cob pyrolysis. **Energy Reports** 6: 168-178.
- Rattanapreechachai, S. 2023. Information on biomass fuel purchases for various types of Thailand biomass power stations in 2022. **Department of Alternative Energy Development and Efficiency**. Available Source: <https://webkc.dede.go.th/testmax/node/6248>, August 15, 2023. (in Thai)
- Reza, M.T., Emerson, R., Uddin, M.H., Gresham, G. and Coronella, C. 2014. Ash reduction of corn stover by mild hydrothermal preprocessing. **Biomass Conversion and Biorefinery** 5: 21-31.

- Reza, M.T., Uddin, M.H., Lynam, J.G. and Coronella, C.J. 2014. Engineered pellets from dry torrefied and HTC biochar blends. **Biomass and Bioenergy** 63: 229-238.
- Sharara, M. and Sadaka, S. 2014. Thermogravimetric Analysis of Swine Manure Solids Obtained from Farrowing, and Growing-Finishing Farms. **Journal of Sustainable Bioenergy Systems** 4(1): 75-86.
- Thomas, S.C. and Martin, A.R. 2012. Carbon content of tree tissues: a synthesis. **Forests** 3(2): 332-352.
- Toptas, A., Yildirim, Y., Duman, G. and Yanik, J. 2015. Combustion behavior of different kinds of torrefied biomass and their blends with lignite. **Bioresource Technology** 177: 328-336.
- Tu, R., Jiang, E., Yan, S., Xu, X. and Rao, S. 2018. The pelletization and combustion properties of torrefied Camellia shell via dry and hydrothermal torrefaction: A comparative evaluation. **Bioresource Technology** 264: 78-89.
- Tumuluru, J.S. 2015. Comparison of Chemical Composition and Energy Property of Torrefied Switchgrass and Corn Stover. **Frontiers in Energy Research** 3: 1-11.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science** 74: 3583-3597.
- Vyazovkin, S., Burnham, A.K., Criado, J.M., Pérez-Maqueda, L.A., Popescu, C. and Sbirrazzuoli, N. 2011. ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. **Thermochimica Acta** 520(1): 1-19.
- Wang, Y., Qiu, L., Zhu, M., Sun, G., Zhang, T. and Kang, K. 2019. Comparative Evaluation of Hydrothermal Carbonization and Low Temperature Pyrolysis of *Eucommia ulmoides* Oliver for the Production of Solid Biofuel. **Scientific Reports** 9(1): 5535.
- Wang, Y., Tan, H., Wang, X., Du, W., Mikulcic, H. and Duic, N. 2017. Study on extracting available salt from straw/woody biomass ashes and predicting its slagging/fouling tendency. **Journal of Cleaner Production** 155: 164-171.
- Waters, C.L., Janupala, R.R., Mallinson, R.G. and Lobban, L.L. 2017. Staged thermal fractionation for segregation of lignin and cellulose pyrolysis products: An experimental study of residence time and temperature effects. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis** 126: 380-389.
- Wu, K.T., Tsai, C.J., Chen, C.S. and Chen, H.W. 2012. The characteristics of torrefied microalgae. **Applied Energy** 100: 52-57.
- Yadav, K., Tyagi, M., Kumari, S. and Jagadevan, S. 2019. Influence of Process Parameters on Optimization of Biochar Fuel Characteristics Derived from Rice Husk: A Promising Alternative Solid Fuel. **BioEnergy Research** 12(4): 1052-1065.
- Yuan, X., He, T., Cao, H. and Yuan, Q. 2017. Cattle manure pyrolysis process: Kinetic and

- thermodynamic analysis with isoconversional methods. **Renewable Energy** 107: 489-496.
- Zhang, J., Sekyere, D.T., Niwamanya, N., Huang, Y., Barigye, A. and Tian, Y. 2022. Study on the Staged and Direct Fast Pyrolysis Behavior of Waste Pine Sawdust Using High Heating Rate TG-FTIR and Py-GC/MS. **ACS Omega** 7(5): 4245-4256.
- Zheng, A., Zhao, Z., Chang, S., Huang, Z., Zhao, K., Wei, G., He, F. and Li, H. 2015. Comparison of the effect of wet and dry torrefaction on chemical structure and pyrolysis behavior of comcobs. **Bioresource Technology** 176: 15-22.
- Zhuang, J., Li, M., Pu, Y., Ragauskas, A.J. and Yoo, C.G. 2020. Observation of Potential Contaminants in Processed Biomass Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Applied Sciences** 10(12): 4345.

กลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลัง
สำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ในการสุ่มตัวอย่างอย่างง่าย

**Restructured Class of Ratio Type Exponential Estimators for Estimating
the Population Means in Simple Random Sampling**

ณภัทน์จันทร์ ด่านสวัสดิ์*

Napattchan Dansawad*

Received: 9 May 2021, Revised: 12 July 2021, Accepted: 11 May 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้นำเสนอกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลัง สำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ภายใต้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน (Simple Random Sampling Without Replacement: SRSWOR) ซึ่งผู้วิจัยได้พัฒนามาจากตัวประมาณที่นำเสนอโดย Cochran (1977); Sisodia and Dwivedi (1981); Singh and Tailor (2003); Subramani and Kumarapandiyan (2012); Bahl and Tuteja (1991); Kadilar (2016) ทั้งนี้ ได้มีการศึกษาคุณสมบัติที่สำคัญบางประการของกลุ่มของตัวประมาณที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ เช่น ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย (Mean Squared Error: MSE) และความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุด (Minimum Mean Squared Error: MMSE) และทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนที่นำเสนอกับตัวประมาณอัตราส่วนตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ในทางทฤษฎี และการประยุกต์กับข้อมูลจริง โดยใช้ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย และ ค่าร้อยละประสิทธิภาพสัมพัทธ์ (Percent Relative Efficiencies: PRE) เป็นเกณฑ์ในการเปรียบเทียบ ภายใต้สถานการณ์เดียวกัน ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนที่นำเสนอขึ้นมาใหม่มีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอัตราส่วนตัวอื่น ๆ

คำสำคัญ: ตัวประมาณอัตราส่วน, ค่าเฉลี่ยประชากร, ตัวแปรช่วย, ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย

ABSTRACT

This paper proposes a restructured class of ratio type exponential estimators for estimating the population means under simple random sampling without replacement (SRSWOR) scheme. The author has developed the estimator proposed by Cochran (1977), Sisodia and Dwivedi (1981), Singh and Tailor (2003), Singh and Tailor (2003), Subramani and Kumarapandiyan (2012), Bahl and Tuteja (1991), and Kadilar (2016). The expressions for the Mean Squared Error (MSE), and Minimum Mean Squared Error (MMSE) of approximation have been obtained. In addition, the values of MSE and Percent of Relative Efficiencies (PRE) have also been compared with the considered existing competing ratio estimators both theoretically and numerically under the same conditions. The results of this study show that the proposed estimators perform better than the existing ratio estimators.

Key words: ratio estimators, population mean, auxiliary variable, mean squared error

บทนำ

ในการวิจัยเชิงสำรวจ นักวิจัยมักประสบกับปัญหาหรืออุปสรรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรวบรวมข้อมูลจากประชากรที่สนใจศึกษา เช่น จำนวนประชากรที่สนใจศึกษามีขนาดใหญ่เกินไป มีงบประมาณไม่เพียงพอ หรือมีเวลาที่จำกัดสำหรับการเก็บรวบรวมข้อมูล ฯลฯ และเพื่อแก้ปัญหาหรืออุปสรรคดังกล่าวมา ผู้วิจัยจึงนิยมใช้เทคนิคการเลือกตัวอย่าง (Sampling Technique) เข้ามาช่วย เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับประชากรที่สนใจศึกษามากที่สุด จากนั้นจะทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากตัวอย่างที่เลือกมาแทนการเก็บรวบรวมข้อมูลจากประชากรโดยตรง และเมื่อได้ข้อมูลที่ต้องการจากตัวอย่างแล้ว นักวิจัยจึงนำข้อมูลที่ได้ออกไปใช้ในการวิเคราะห์ อธิบาย และสรุปผลเกี่ยวกับลักษณะของประชากรที่สนใจศึกษา รวมถึงอาจนำไปใช้ในการสร้างตัวประมาณ (Estimator) โดยหนึ่งในตัวประมาณที่เป็นที่นิยมในปัจจุบัน ได้แก่ ตัวประมาณที่ใช้ในการประมาณค่าเฉลี่ยของ

ประชากร ภายใต้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ได้คืน

กล่าวคือ ผู้วิจัยจะทำการสุ่มตัวอย่างขนาด n จากประชากรขนาด N และจะกำหนดให้ Y เป็นตัวแปรที่สนใจศึกษา ในการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร \bar{Y} ผู้วิจัยจะประมาณด้วยค่าเฉลี่ยตัวอย่าง \bar{y} ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวประมาณที่ไม่เอนเอียงของ \bar{Y} และในทางทฤษฎีถ้าหากทราบว่าตัวแปร Y มีความสัมพันธ์กับตัวแปรช่วย X และทราบค่าต่าง ๆ ของตัวแปรช่วย X เช่น ค่าเฉลี่ย \bar{X} หรือค่าผลรวม T_X เป็นต้น ผู้วิจัยอาจสร้างตัวประมาณในรูปแบบอื่น ๆ ซึ่งอาจทำให้ได้ตัวประมาณที่มีประสิทธิภาพในการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร \bar{Y} ที่ดีขึ้น อีกทั้งในทางทฤษฎียังพบว่าในกรณีที่ตัวแปร Y และตัวแปรช่วย X มีความสัมพันธ์เชิงเส้นในทิศทางเดียวกันในทางบวก (Positive Correlation) ตัวประมาณ อัตราส่วน (Ratio Estimator) จะมีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณผลคูณ (Product Estimator) แต่ในทางกลับกันถ้าหากพบว่าตัวแปร Y และตัวแปรช่วย X มีความสัมพันธ์เชิงเส้น

ในทิศทางตรงกันข้าม (Negative Correlation) จะพบว่าตัวประมาณผลคูณจะมีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอัตราส่วน

นอกจากนี้ นักวิจัยหลาย ๆ ท่าน เช่น Cochran (1977); Sisodia and Dwivedi (1981); Bahl and Tuteja (1991); Singh and Tailor (2003);

Subramani and Kumarapandiyam (2012); Kadilar (2016) ได้พัฒนาและสร้างตัวประมาณอัตราส่วนโดยใช้ประโยชน์จากตัวแปรช่วย X สำหรับใช้ในการประมาณค่าเฉลี่ยประชากร รายละเอียดต่าง ๆ ของตัวประมาณแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวประมาณอัตราส่วนสำหรับการประมาณค่าเฉลี่ยประชากรที่เกี่ยวข้อง

ลำดับที่	ตัวประมาณ	ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย
1	$t_0 = \bar{y}$ Unbiased Estimator	$\lambda \bar{Y}^2 C_y^2$
2	$t_1 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X}}{\bar{x}} \right)$ Cochran (1977)	$\lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 + C_x^2 \eta_1 (\eta_1 - 2K))$
3	$t_2 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + C_x}{\bar{x} + C_x} \right)$ Sisodia and Dwivedi (1981)	$\lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 + C_x^2 \eta_2 (\eta_2 - 2K))$
4	$t_3 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + \rho_{yx}}{\bar{x} + \rho_{yx}} \right)$ Singh and Tailor (2003)	$\lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 + C_x^2 \eta_3 (\eta_3 - 2K))$
5	$t_4 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_3}{\bar{x} + Q_3} \right)$ Subramani and Kumarapandiyam (2012)	$\lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 + C_x^2 \eta_4 (\eta_4 - 2K))$
6	$t_5 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_r}{\bar{x} + Q_r} \right)$ Subramani and Kumarapandiyam (2012)	$\lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 + C_x^2 \eta_5 (\eta_5 - 2K))$
7	$t_6 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_d}{\bar{x} + Q_d} \right)$ Subramani and Kumarapandiyam (2012)	$\lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 + C_x^2 \eta_6 (\eta_6 - 2K))$
8	$t_7 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_a}{\bar{x} + Q_a} \right)$ Subramani and Kumarapandiyam (2012)	$\lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 + C_x^2 \eta_7 (\eta_7 - 2K))$
9	$t_8 = \bar{y} \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$ Bahl and Tuteja (1991)	$\lambda \bar{Y}^2 \left(C_y^2 + \frac{1}{4} C_x^2 (1 - 4K) \right)$

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	ตัวประมาณ	ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย
10	$t_9 = \bar{y} \left(\frac{\bar{X}}{\bar{x}} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$ Kadilar (2016)	$\lambda \bar{Y}^2 \left(C_y^2 + \frac{(2\alpha - 1)}{4} C_x^2 ((2\alpha - 1) - 4K) \right)$

เมื่อ $f = \frac{n}{N}$, $K = \frac{\rho_{yx} C_y}{C_x}$, $\lambda = \frac{(1-f)}{n}$, $C_y^2 = \frac{S_y^2}{\bar{Y}^2}$, $C_x^2 = \frac{S_x^2}{\bar{X}^2}$, $Q_r = Q_3 - Q_1$, $Q_d = \frac{Q_3 - Q_1}{2}$, $Q_a = \frac{Q_3 + Q_1}{2}$,
 $\eta_1 = \frac{\bar{X}}{\bar{X}} = 1$, $\eta_2 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + C_x}$, $\eta_3 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + \rho_{yx}}$, $\eta_4 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + Q_3}$, $\eta_5 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + Q_r}$, $\eta_6 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + Q_d}$, $\eta_7 = \frac{\bar{X}}{\bar{X} + Q_a}$

โดยที่ C_y คือ สัมประสิทธิ์การแปรผันของประชากรของตัวแปรที่สนใจศึกษา Y

C_x คือ สัมประสิทธิ์การแปรผันของประชากรของตัวแปรช่วย X (Coefficient of Variation)

ρ_{yx} คือ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของประชากรระหว่างตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และตัวแปรช่วย X (Correlation Coefficient)

β_2 คือ สัมประสิทธิ์ความโค้ง (Coefficient of Kurtosis) ของประชากรของตัวแปรช่วย X

β_1 คือ สัมประสิทธิ์ความเบ้ (Coefficient of Skewness) ของประชากรของตัวแปรช่วย X

Q_1 คือ ค่าของข้อมูลที่ตรงกับควอไทล์ที่ 1 ของประชากรของตัวแปรช่วย X

Q_3 คือ ค่าของข้อมูลที่ตรงกับควอไทล์ที่ 3 ของประชากรของตัวแปรช่วย X

Q_r คือ พิสัยควอไทล์ (Inter quartile range : IQR) ของประชากรของตัวแปรช่วย X

Q_d คือ ส่วนเบี่ยงเบนควอร์ไทล์ หรือกึ่งช่วงควอร์ไทล์ (Semi-Interquartile Range: IR) ของประชากรของตัวแปรช่วย X

Q_a คือ ค่าเฉลี่ยควอไทล์ (Quartile Average) ของประชากรของตัวแปรช่วย X

α คือ ค่าคงที่ใด ๆ ที่ทำให้ตัวประมาณที่น่าเสนอ มีความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุด

จากตัวประมาณอัตราส่วนต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำเสนอกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังสำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร ภายใต้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน โดยกลุ่มของตัวประมาณที่น่าเสนอนี้พัฒนามาจากตัวประมาณที่น่าเสนอโดย Cochran (1977); Sisodia and Dwivedi (1981); Singh and Tailor (2003); Subramani and Kumarapandiyam (2012); Bahl and Tuteja (1991); Kadilar (2016) นอกจากนี้ ผู้วิจัยจะมีการศึกษาคูณสมบัติที่สำคัญ

บางประการของตัวประมาณที่น่าเสนอ เช่น ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย และความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุด พร้อมทั้งจะทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณที่น่าเสนอ กับตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในเชิงทฤษฎี และการประยุกต์ใช้กับข้อมูลจริง

วิธีดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยฉบับนี้ผู้วิจัยมีความสนใจจะนำเสนอกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลข

ซึ่งกำลังสำหรับประมาณค่าเฉลี่ยประชากร โดยจะพัฒนามาจากตัวประมาณที่นำเสนอโดย Cochran (1977); Sisodia and Dwivedi (1981); Singh and Tailor (2003); Subramani and Kumarapandiyani (2012); Bahl and Tuteja (1991); Kadilar (2016) ภายใต้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ใส่คืน โดยวิธีการดำเนินการวิจัยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. การนำเสนอกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลัง

ผู้วิจัยจะนำเสนอกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลัง โดยจะปรับปรุงจากตัวประมาณที่ถูกนำเสนอโดย Cochran (1977); Sisodia and Dwivedi (1981); Singh and Tailor (2003); Subramani and Kumarapandiyani (2012); Bahl and Tuteja (1991); Kadilar (2016) แสดงดังตารางที่ 1

2. การคำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยและค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุดของกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลัง

เนื่องจากการประมาณค่าเฉลี่ยประชากรในตัวแปรที่สนใจศึกษา จะถูกประมาณด้วยค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวประมาณที่ไม่เอนเอียง (Unbiased Estimator) ดังนั้น ก่อนการคำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย และค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุดของกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ ผู้วิจัยจะทำการจัดรูปแบบของกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังที่นำเสนอขึ้นมาใหม่ ให้อยู่ในพจน์ความคลาดเคลื่อน (Error Terms) โดยกำหนดให้ $\bar{y} = \bar{Y}(1+e_0)$ และ $\bar{x} = \bar{X}(1+e_1)$ เมื่อ $E(e_0) = E(e_1) = 0$, $E(e_0^2) = \lambda C_y^2$,

$E(e_1^2) = \lambda C_x^2$, และ $E(e_0e_1) = \lambda \rho_{yx} C_y C_x$ และจากนั้น ผู้วิจัยจะทำการคำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยและค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุดของตัวประมาณที่นำเสนอ

3. ต่อมาผู้วิจัยจะนำกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังที่นำเสนอในขั้นตอนที่ 1 มาทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกับตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ในทางทฤษฎี และการประยุกต์กับข้อมูลจริง

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยแสดงดังเป็นขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ผู้วิจัยจะนำเสนอกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังที่ได้จากการพัฒนามาจากตัวประมาณที่นำเสนอโดย Cochran (1977); Sisodia and Dwivedi (1981); Singh and Tailor (2003); Subramani and Kumarapandiyani (2012); Bahl and Tuteja (1991); Kadilar (2016) ดังรูปแบบต่อไปนี้

$$T_N = \bar{y} \left(\frac{a\bar{X} + b}{a\bar{x} + b} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right) \quad (1)$$

เมื่อ α คือค่าคงที่ใด ๆ ที่ทำให้ตัวประมาณอัตราส่วน T_N มีความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุดในขณะที่ a และ b คือฟังก์ชันหรือค่าคงที่ใด ๆ ที่สนใจศึกษา และถ้าผู้วิจัยแทนค่า a และ b ที่สนใจศึกษาลงในสมการที่ (1) จะปรากฏผลดังตารางที่ 2 ดังนี้

ตารางที่ 2 สมาชิกบางส่วนของกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังที่นำเสนอ T_N

ลำดับที่	ตัวประมาณ	ฟังก์ชันหรือค่าคงที่	
		a	b
1	$T_{N2} = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + C_x}{\bar{x} + C_x} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$	1	C_x
2	$T_{N3} = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + \rho_{yx}}{\bar{x} + \rho_{yx}} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$	1	ρ_{yx}
3	$T_{N4} = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_3}{\bar{x} + Q_3} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$	1	Q_3
4	$T_{N5} = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_r}{\bar{x} + Q_r} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$	1	Q_r
5	$T_{N6} = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_d}{\bar{x} + Q_d} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$	1	Q_d
6	$T_{N7} = \bar{y} \left(\frac{\bar{X} + Q_a}{\bar{x} + Q_a} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{x}}{\bar{X} + \bar{x}} \right)$	1	Q_a

2. การคำนวณหาความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังตัวใหม่ที่นำเสนอ T_N จากสมการที่ (1) ผู้วิจัยจะทำการแทนค่า $\bar{y} = \bar{Y}(1+e_0)$ และ $\bar{x} = \bar{X}(1+e_1)$ จะได้

$$\begin{aligned}
 T_1 &= \bar{Y}(1+e_0) \left(\frac{a\bar{X} + b}{a\bar{X}(1+e_1) + b} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{X}(1+e_1)}{\bar{X} + \bar{X}(1+e_1)} \right) \\
 &= \bar{Y}(1+e_0) \left(\frac{a\bar{X} + b}{a\bar{X} + a\bar{X}e_1 + b} \right)^\alpha \exp \left(\frac{\bar{X} - \bar{X} - \bar{X}e_1}{\bar{X} + \bar{X} + \bar{X}e_1} \right) \quad (2)
 \end{aligned}$$

เมื่อแทนค่า $\theta = \frac{\bar{X}}{a\bar{X} + b}$ ลงในสมการที่ (2) จะได้ว่า

$$\begin{aligned}
 T_N &= \bar{Y}(1+e_0) \left(\frac{\frac{\bar{X}}{\theta}}{\frac{\bar{X}}{\theta} + a\bar{X}e_1} \right)^\alpha \exp \left(\frac{-e_1}{2+e_1} \right) \\
 &= \bar{Y}(1+e_0) \left(1 - \alpha a \theta e_1 + \frac{\alpha(\alpha+1)}{2} a^2 \theta^2 e_1^2 \right) \exp \left(\frac{-e_1}{2+e_1} \right) \\
 &= \left[\bar{Y} - \bar{Y} \alpha a \theta e_1 + \bar{Y} \frac{\alpha(\alpha+1)}{2} a^2 \theta^2 e_1^2 + \bar{Y} \frac{e_1}{2} - \bar{Y} \frac{\alpha a \theta e_1^2}{2} + \bar{Y} \frac{e_1^2}{4} + \bar{Y} e_0 - \bar{Y} \alpha a \theta e_0 e_1 + \bar{Y} \frac{e_0 e_1}{2} \right] \quad (3)
 \end{aligned}$$

โดยความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณอัตราส่วนตัวใหม่ที่นำเสนอ T_N จะหาได้จาก

$$\begin{aligned}
 MSE(T_N) &= E(T_N - \bar{Y})^2 \\
 &= E\left(\left[\bar{Y} - \bar{Y}\alpha a\theta e_1 + \bar{Y}\frac{\alpha(\alpha+1)}{2}a^2\theta^2 e_1^2 + \bar{Y}\frac{e_1}{2} - \bar{Y}\frac{\alpha a\theta e_1^2}{2} + \bar{Y}\frac{e_1^2}{4} + \bar{Y}e_0 - \bar{Y}\alpha a\theta e_0 e_1 + \bar{Y}\frac{e_0 e_1}{2}\right] - \bar{Y}\right)^2 \\
 &= E\left(-\bar{Y}\alpha a\theta e_1 + \bar{Y}\frac{\alpha(\alpha+1)}{2}a^2\theta^2 e_1^2 + \bar{Y}\frac{e_1}{2} - \bar{Y}\frac{\alpha a\theta e_1^2}{2} + \bar{Y}\frac{e_1^2}{4} + \bar{Y}e_0 - \bar{Y}\alpha a\theta e_0 e_1 + \bar{Y}\frac{e_0 e_1}{2}\right)^2 \\
 &= \bar{Y}^2 E\left(-\alpha a\theta e_1 + \frac{\alpha(\alpha+1)}{2}a^2\theta^2 e_1^2 + \frac{e_1}{2} - \frac{\alpha a\theta e_1^2}{2} + \frac{e_1^2}{4} + e_0 - \alpha a\theta e_0 e_1 + \frac{e_0 e_1}{2}\right)^2 \\
 &= \bar{Y}^2 E\left(\alpha^2 a^2 \theta^2 e_1^2 + \frac{e_1^2}{4} + e_0^2 - \alpha a\theta e_1^2 - 2\alpha a\theta e_0 e_1 + e_0 e_1\right) \tag{4}
 \end{aligned}$$

แทนค่า $E(e_0) = E(e_1) = 0$, $E(e_0^2) = \lambda C_y^2$, $E(e_1^2) = \lambda C_x^2$, และ $E(e_0 e_1) = \lambda \rho_{yx} C_y C_x$ ลงในสมการ (4) และจัดรูปสมการใหม่อีกครั้ง จะได้ความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณ T_N คือ

$$MSE(T_N) = \lambda \bar{Y}^2 \left(C_y^2 + (2\alpha a\theta - 1) \frac{C_x^2}{4} ((2\alpha a\theta - 1) - 4K) \right) \tag{5}$$

ในการหาความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยของตัวประมาณ T_N ที่มีค่าต่ำที่สุด จะหาจากอนุพันธ์อันดับหนึ่งของ T_N เทียบกับค่า α และให้เท่ากับ 0 จะได้

$$\frac{\partial MSE(T_N)}{\partial \alpha} = 2\alpha a^2 \theta^2 C_x^2 - a\theta C_x^2 - 2a\theta K C_x^2 = 0 \tag{6}$$

แก้สมการหาค่า α จากสมการที่ (6) จะได้

$$\alpha = \frac{1+2K}{2a\theta} = \alpha_{opt} \tag{7}$$

และหาอนุพันธ์อันดับที่สองของ T_N เทียบกับค่า α จะได้

$$\frac{\partial^2 MSE(T_i)}{\partial \alpha^2} = 2a^2 \theta^2 C_x^2 \tag{8}$$

ภายใต้เงื่อนไข θ มีค่ามากกว่า 0 เนื่องจาก $\theta^2 > 0$ เสมอ ดังนั้น $\theta < 0$ หรือ $\theta > 0$ จะทำให้เทอม $2a^2 \theta^2 C_x^2 > 0$ ซึ่งจะทำให้สมการ (8) มีค่ามากกว่า 0 เสมอ ดังนั้นจะได้ว่ากลุ่มของตัวประมาณ T_N จะมีความคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยที่ต่ำที่สุด และจะแทนค่า α_{opt} จากสมการ (8) ลงในสมการ (5) จะได้

$$\begin{aligned} \min.MSE(T_N) &= \lambda \bar{Y}^2 \left(C_y^2 + 2 \left(\frac{1+2K}{2a\theta} \right) a\theta - 1 \right) \frac{C_x^2}{4} \left(2 \left(\frac{1+2K}{2a\theta} \right) a\theta - 1 \right) - 4K \Big) \\ &= \lambda \bar{Y}^2 \left(C_y^2 + (1+2K-1) \frac{C_x^2}{4} ((1+2K-1) - 4K) \right) \\ &= \lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 - K^2 C_x^2) \end{aligned} \tag{9}$$

และแทนค่า $K = \frac{\rho_{yx} C_y}{C_x}$ ลงในสมการที่ (9) จะได้

$$\begin{aligned} \min.MSE(T_N) &= \lambda \bar{Y}^2 \left[C_y^2 - \left(\frac{\rho_{yx} C_y}{C_x} \right)^2 C_x^2 \right] \\ &= \lambda \bar{Y}^2 (C_y^2 - \rho_{yx}^2 C_y^2) \\ &= \lambda \bar{Y}^2 C_y^2 (1 - \rho_{yx}^2) \end{aligned} \tag{10}$$

3. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพ

ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ และตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัยจะพิจารณาจากค่าคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ยต่ำสุด โดยจะทำการเปรียบเทียบในเชิงทฤษฎีและการประยุกต์ใช้กับข้อมูลจริง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

3.1 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณเชิงทฤษฎี

ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ และตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทางทฤษฎี จะพิจารณาภายใต้เงื่อนไขต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ กับตัวประมาณตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

ลำดับที่	การเปรียบเทียบ	เงื่อนไข
1	$\min.MSE(T_N) < MSE(t_0)$	$\rho_{yx}^2 > 0$
2	$\min.MSE(T_N) < MSE(t_i); i = 1, \dots, 7$	$(C_y \rho_{yx} - C_x \eta_i)^2 > 0$
3	$\min.MSE(T_N) < MSE(t_8)$	$(C_x - 2\rho_{yx} C_y)^2 > 0$
4	$\min.MSE(T_N) < MSE(t_9)$	$((2\alpha - 1)C_x - 2\rho_{yx} C_y)^2 > 0$
5	$\min.MSE(T_N) < MSE(T_{Ni}); i = 2, \dots, 7$	$((2\alpha\theta - 1)C_x - 2\rho_{yx} C_y)^2 > 0$

จากตารางที่ 3 พบว่า กลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ จะมีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณ

ตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ก็ต่อเมื่อเงื่อนไขต่าง ๆ ที่กำหนดไว้ในตารางที่ 3 เป็นจริง

3.2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณโดยการประยุกต์ใช้กับข้อมูลจริง

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอกับตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัยใช้ข้อมูลจริงจำนวน 2 ชุด ซึ่งเก็บรวบรวมโดย Murthy (1967) โดยข้อมูลชุดที่ 1 เป็นข้อมูลเกี่ยวกับการผลิตสินค้าชนิดหนึ่ง จากทั้งสิ้น 80 โรงงานในเขตเมือง โดยกำหนดให้ผลผลิตสินค้าจากทั้ง 80 โรงงานเป็นตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และขนาดโรงงานเป็นตัวแปรช่วย X ข้อมูลลักษณะประชากรที่เก็บรวบรวมได้มีดังต่อไปนี้

$$N = 80, n = 20, \bar{Y} = 51.8264, \bar{X} = 11.2646, \\ \rho_{yx} = 0.9413, C_y = 0.3542, C_x = 0.7507, \\ S_y = 18.3569, S_x = 8.4563, Q_3 = 16.9750, \\ Q_r = 11.8250, Q_d = 5.9125, Q_a = 11.0625$$

ในขณะที่ข้อมูลชุดที่ 2 เป็นข้อมูลเกี่ยวกับการผลิตสินค้าชนิดหนึ่ง จากทั้งสิ้น 80 โรงงานในเขตเมือง เมื่อกำหนดให้ตัวแปรที่สนใจศึกษา Y แทนผลผลิตสินค้าจากทั้ง 80 โรงงาน และตัวแปรช่วย X แทนจำนวนคนงานที่ทำงานในโรงงาน ข้อมูลลักษณะ

ประชากรที่เก็บรวบรวมได้จากข้อมูลชุดที่ 2 มีดังต่อไปนี้

$$N = 80, n = 20, \bar{Y} = 51.8264, \bar{X} = 2.8513, \\ \rho_{yx} = 0.9150, C_y = 0.3542, C_x = 0.9484, \\ S_y = 18.3569, S_x = 2.7042, Q_3 = 4.4750, \\ Q_r = 3.6150, Q_d = 1.8075, Q_a = 2.6675$$

ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอกับตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง จะพิจารณาจากคลาดเคลื่อนกำลังสองเฉลี่ย โดยกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ จะมีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ก็ต่อเมื่อ $MSE(T_N) < MSE(\hat{\theta})$ โดยที่ $\hat{\theta}$ เป็นตัวประมาณตัวอื่น ๆ จากนั้นจะทำการคำนวณหาค่าร้อยละประสิทธิภาพสัมพัทธ์ (Percent Relative Efficiencies: PRE) จาก

$$PRE(\hat{\theta}) = \frac{MSE(\bar{y})}{MSE(\hat{\theta})} \times 100 \quad (11)$$

ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวประมาณโดยการประยุกต์ใช้กับข้อมูลจริงแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่า MSE และ PRE ของตัวประมาณภายใต้ประชากรที่ศึกษาจากข้อมูลชุดที่ 1 และ ชุดที่ 2

ข้อมูลชุดที่ 1			ข้อมูลชุดที่ 2		
ตัวประมาณ	MSE	PRE	ตัวประมาณ	MSE	PRE
t_0	12.6366	100.0000	t_0	12.6366	100.0000
t_1	11.9793	105.4870	t_1	11.3151	111.6795
t_2	11.2581	112.2444	t_2	11.1881	112.9467
t_3	10.4503	120.9214	t_3	10.6849	118.2660
t_4	9.5562	132.2353	t_4	9.2610	136.4497
t_5	9.5486	132.3403	t_5	8.9489	141.2093
t_6	9.4830	133.2551	t_6	8.6761	145.6485

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ข้อมูลชุดที่ 1			ข้อมูลชุดที่ 2		
ตัวประมาณ	MSE	PRE	ตัวประมาณ	MSE	PRE
t_7	9.1470	138.1496	t_7	7.8291	161.4050
t_8	8.6172	146.6444	t_8	4.3265	292.0779
t_9	8.4005	150.4262	t_9	4.2552	296.9688
T_{N2}	6.9998	180.523	T_{N2}	3.8890	324.9331
T_{N3}	6.3357	199.4493	T_{N3}	3.8077	331.8656
T_{N4}	5.8587	215.6903	T_{N4}	3.7855	333.8152
T_{N5}	4.3561	290.0924	T_{N5}	3.6290	348.2152
T_{N6}	3.8627	327.1463	T_{N6}	3.4063	370.9798
T_{N7}	3.2968	383.2995	T_{N7}	3.3415	378.1713
T_N	1.4400	877.5447	T_N	2.0569	614.3450

จากตารางที่ 4 เมื่อพิจารณาภายใต้ข้อมูลที่ทำการศึกษาชุดเดียวกัน พบว่า ค่า MSE และ PRE ของตัวประมาณแต่ละตัว มีค่าที่ค่อนข้างใกล้เคียงกัน โดยกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ เป็นตัวประมาณเดียวที่มีค่า MSE ที่ต่ำที่สุด และมีค่า PRE ที่สูงที่สุด ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า กลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ เป็นตัวประมาณที่มีประสิทธิภาพดีกว่าตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทุกตัว

เมื่อพิจารณาจากข้อมูลชุดที่ 1 พบว่า นอกจากกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอแล้ว ตัวประมาณ T_{N7} ที่มีการนำค่าเฉลี่ยควอไทล์ (Q_a) มาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของตัวประมาณ จะมีประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับตัวกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอมากที่สุด โดยมีประสิทธิภาพน้อยกว่ากลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอเพียง 2.29 เท่า ในขณะที่ตัวประมาณ t_0 จัดเป็นตัวประมาณที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ น้อยที่สุด โดยตัวประมาณ t_0 มี

ประสิทธิภาพน้อยกว่ากลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอประมาณ 8.77 เท่า

ในทำนองเดียวกัน เมื่อพิจารณาจากข้อมูลชุดที่ 2 พบว่า ตัวประมาณ T_{N7} มีประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอมากที่สุด โดยมีประสิทธิภาพน้อยกว่ากลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอเพียง 1.62 เท่า ในขณะที่ตัวประมาณ t_0 เป็นตัวประมาณที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับกลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอ น้อยที่สุด โดยตัวประมาณ t_0 มีประสิทธิภาพน้อยกว่ากลุ่มของตัวประมาณ T_N ที่นำเสนอประมาณ 6.14 เท่า

ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกลุ่มของตัวประมาณที่นำเสนอ T_N และตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ตัวประมาณ $t_0, t_1, t_2, t_3, t_4, t_5, t_6, t_7, t_8, t_9, T_{N2}, T_{N3}, T_{N4}, T_{N5}, T_{N6}$ และ T_{N7} ในทางทฤษฎี จะพบว่า กลุ่มของตัวประมาณที่นำเสนอ T_N จะมีประสิทธิภาพดีกว่า

ตัวประมาณอื่น ๆ ทั้งหมด ถ้าเงื่อนไขต่าง ๆ ที่แสดง คังตารางที่ 2 เป็นจริง ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพของกลุ่มของตัวประมาณที่นำเสนอ T_N กับตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยการประยุกต์ใช้ กับข้อมูลจริง จะพบว่า กลุ่มของตัวประมาณที่ นำเสนอ T_N จะให้ค่า MSE ที่ต่ำที่สุด และให้ค่า PRE ที่ สูง ที่ สุด เมื่อ เทียบ กับ ตัว ประมาณ $t_0, t_1, t_2, t_3, t_4, t_5, t_6, t_7, t_8, t_9, T_{N2}, T_{N3}, T_{N4}, T_{N5}, T_{N6}$ และ T_{N7} ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า กลุ่มของ ตัวประมาณที่นำเสนอ T_N มีประสิทธิภาพดีกว่า ตัวประมาณ ตัวประมาณอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทุกตัวทั้ง ในทางทฤษฎีและการประยุกต์ใช้กับข้อมูลจริง ภายใต้สถานการณ์ที่สัมพันธ์สหสัมพันธ์ของ ประชากรระหว่างตัวแปรที่สนใจศึกษา Y และ ตัวแปรช่วย X มีค่าเป็นบวก ซึ่งสอดคล้องกับ งานวิจัยของ (Subramani, 2016; Baghel and Yadav, 2020)

สรุป

จากการนำเสนอกลุ่มของตัวประมาณ อัตราส่วนแบบเลขชี้กำลังสำหรับประมาณค่าเฉลี่ย ประชากร ภายใต้การเลือกตัวอย่างสุ่มแบบง่ายแบบไม่ ใส่คืน ซึ่งผู้วิจัยได้พัฒนามาจากตัวประมาณที่ นำเสนอ โดย Cochran (1977); Sisodia and Dwivedi (1981); Singh and Tailor (2003); Subramani and Kumarapandiyan (2012); Bahl and Tuteja (1991); Kadilar (2016) พบว่า ผลจากการเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพระหว่างกลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วน แบบเลขชี้กำลังที่นำเสนอ กับตัวประมาณอัตรา ส่วนตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ตัวประมาณ $t_0, t_1, t_2, t_3, t_4, t_5, t_6, t_7, t_8, t_9, T_{N2}, T_{N3}, T_{N4}, T_{N5}, T_{N6}$ และ T_{N7} ทั้งในทางทฤษฎีและการประยุกต์ใช้กับ ข้อมูลจริงให้ผลที่สอดคล้องกัน กล่าวคือ ภายใต้ สถานการณ์เดียวกัน กลุ่มของตัวประมาณอัตราส่วนที่

นำเสนอ T_N จะยังคงมี ประสิทธิภาพดีกว่าตัว ประมาณอื่น ๆ และมีประสิทธิภาพมากเพียงพอที่จะ นำไปใช้ได้ต่อไป ในกรณีที่มีการศึกษาภายใต้ สถานการณ์เดียวกันกับงานวิจัยฉบับนี้

เอกสารอ้างอิง

- Baghel, S. and Yadav, S.K. 2020. Restructured Class of Estimators for Population Mean Using an Auxiliary Variable Under Simple Random Sampling Scheme. **Journal of Applied Mathematics, Statistics and Informatics** 16(1): 61-75.
- Bahl, S. and Tuteja, R.K. 1991. Ratio and product type estimator. **Information and Optimization Sciences** 12: 159-163.
- Cochran, W.G. 1977. **Sampling Techniques**. 3rd ed. John Wiley and Sons, New York.
- Kadilar, G.O. 2016. A New Exponential Type Estimator for the Population Mean in Simple Random Sampling. **Journal of Modern Applied Statistical Methods** 15(2): 207-214.
- Murthy, M.N. 1967. **Sampling Theory and Methods**. Statistical Publishing Society, Calcutta.
- Singh, H.P. and Tailor, R. 2003. Use of Known Correlation Coefficient in Estimating the Finite Population Mean. **Statistics in Transition** 6: 555-560.
- Sisodia, B.V.S. and Dwivedi, V.K. 1981. A Modified ratio Estimator Using Coefficient of Variation of Auxiliary Variable. **Journal of Indian Society Agricultural Statistics** 33: 13-18.

Subramani, J. and Kumarapandiyan, G. 2 0 1 2 .

Modified Ratio Estimators for Population Mean Using Function of Quartiles of Auxiliary Variable. **Bonfring International Journal of Industrial Engineering and Management Science** 2(2): 19-23.

Subramani, J. 2 0 1 6. A Modified Approach in

Linear Regression Estimator in Simple Random Sampling. **Journal of Advance Research in Applied Mathematics and Statistics** 1(2): 1-7.